

E.N.S.A. de Rennes

Chaire de :

N° D' ORDRE

SERIE

N° DE SERIE

THESE

présentée devant :

L'ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE RENNES

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'ENSAR

Mention : PRODUCTIONS VEGETALES ET
AMÉLIORATION DES PLANTES

par

FRANCISCO ANZUETO

**ETUDE DE LA RESISTANCE DU CAFEIER (*Coffea* sp.)
A *MELOIDOGYNE* SP. ET *PRATYLENCHUS* SP.**

LABORATOIRE DE NEMATOLOGIE CIRAD-IRFA
SERVICE DE GENETIQUE CIRAD-CP

Soutenu le 17 Mars 1993 devant le Jury :

M.	Y. HERVE	PRESIDENT
Mme	F. PERSON-DEDRYVER	RAPPORTEURS
M.	A.B. ESKES	
MM.	A. CHARRIER	MEMBRES DU JURY
	J.L. SARAH	
	B. DECAZY	

E.N.S.A. de Rennes

Chaire de :

N° D' ORDRE :
SERIE :
N° DE SERIE :

THESE

présentée devant :

L'ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE DE RENNES

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'ENSAR

Mention : PRODUCTIONS VEGETALES ET
AMÉLIORATION DES PLANTES

par

FRANCISCO ANZUETO

**ETUDE DE LA RESISTANCE DU CAFEIER (*Coffea* sp.)
A *MELOIDOGYNE* SP. ET *PRATYLENCHUS* SP.**

LABORATOIRE DE NEMATOLOGIE CIRAD-IRFA
SERVICE DE GENETIQUE CIRAD-CP

Soutenu le 17 Mars 1993 devant le Jury :

M.	Y. HERVE	PRESIDENT
Mme	F. PERSON-DEDRYVER	RAPPORTEURS
M.	A.B. ESKEs	
MM.	A. CHARRIER	MEMBRES DU JURY
	J.L. SARAH	
	B. DECAZY	

SOMMAIRE

	Page
1. INTRODUCTION GENERALE	1
2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	4
2.1 RESISTANCE DES PLANTES AUX NEMATODES	4
2.1.1 Introduction	
2.1.2 Classification des nématodes	
2.1.3 Relations plante-nématode.	
2.1.4 Utilisation de la résistance	
2.1.5 Héritabilité et durabilité de la résistance	
2.1.6 Limites de l'utilisation de la résistance	
2.1.7 Possibilités des plantes transgéniques	
2.2 LE CAFEIER ET SA CULTURE	8
2.2.1 Les espèces cultivées	
2.2.3 Quelques techniques culturales de <u>C. arabica</u>	
2.3 LES NEMATODES DU CAFEIER	11
2.3.1 <u>Meloidogyne</u> spp.	
2.3.1.1 Introduction	
2.3.1.2 Dégâts des espèces les plus importantes	
2.3.1.3 Complexes de pathogènes	
2.3.1.4 Le cycle biologique	
2.3.1.5 Identification d'espèces de <u>Meloidogyne</u> .	
2.3.2 <u>Pratylenchus</u> spp.	
2.3.2.1 Introduction	
2.3.2.2 Les principales espèces trouvées sur caféier	
2.3.2.3 Le cycle biologique	
2.3.2.4 Identification des espèces	

2.4 RESISTANCE DU CAFEIER AUX NEMATODES	18
2.4.1 <u>Meloidogyne</u> spp.	18
2.4.1.1 Mécanismes de la résistance	
2.4.1.2 Les test de résistance	
2.4.1.3 Utilisation de la résistance	
2.4.2 <u>Pratylenchus</u> spp.	22
2.4.2.1 Mécanismes de résistance ou de tolérance	
2.4.2.2 Tests de résistance	
2.4.2.3 Utilisation de la résistance	
2.4.3 Conclusions	23
3. MATERIEL ET METHODES	25
3.1 Introduction	25
3.2 Le matériel végétal	25
3.2.1 Type et origine du matériel utilisé	
3.2.2 Conduite des plants	
3.3 Les nématodes utilisés	29
3.3.1 <u>Meloidogyne</u> spp.	
3.3.2 <u>Pratylenchus</u> sp.	
3.4 Méthodes d'évaluation de la résistance	31
3.4.1 <u>Meloidogyne</u> spp.	
3.4.1.1 Le type d'inoculum	
3.4.1.2 Variables observées.	
3.4.2 <u>Pratylenchus</u> sp.	

3.5 Méthodes statistiques	33
3.5.1 Etudes avec <u>Meloidogyne</u> spp.	
3.5.2 Etudes avec <u>Pratylenchus</u> sp.	
4. ETUDE DE LA RESISTANCE DES CAFEIERS A <u>MELOIDOGYNE</u> SPP.	35
4.1 INTRODUCTION	35
4.2 CONDITIONS EXPERIMENTALES APPLIQUEES	36
4.3 <u>COFFEA ARABICA</u>	39
4.3.1 Variabilité des origines éthiopiennes	39
4.3.1.1 Introduction	
4.3.1.2 Résultats et discussion	
4.3.1.3 Conclusion	
4.3.2 Etude des populations F2	49
4.3.2.1 Introduction	
4.3.2.2 Conditions expérimentales	
4.3.2.3 Résultats et discussion	
4.3.2.4 Conclusions	
4.3.3 Résistance de lignées éthiopiennes vis-à-vis de deux souches de <u>Meloidogyne</u> spp.	58
4.3.3.1 Introduction	
4.3.3.2 Résultats et discussion	
4.3.3.3 Conclusions	
4.3.4 Autres origines de <u>C. arabica</u>	62
4.3.4.1 Introduction	
4.3.4.2 Résultats et discussion	
4.3.4.3 Conclusions	

4.4	<u>COFFEA CANEPHORA</u>	66
4.4.1	Introduction	
4.4.2	Résultats et discussion	
4.4.3	Conclusions	
4.5	QUELQUES ASPECTS HISTOLOGIQUES DE LA RESISTANCE DE <u>C.ARABICA</u> A <u>MELOIDOGYNE</u> SP.	76
4.5.1	Introduction	
4.5.2	Objectif	
4.5.3	Conditions expérimentales	
4.5.4	Résultats et discussion	
4.5.4.1	Plante sensible	
4.5.4.2	Plante résistante	
4.5.5	Conclusion	
5.	ETUDE DE LA RESISTANCE OU TOLERANCE DES CAFEIERS A <u>PRATYLENCHUS</u> SP.	85
5.1	ETUDES METHODOLOGIQUES	85
5.1.1	Objectifs	85
5.1.2	<u>Coffea arabica</u>	85
5.1.2.1	Conditions expérimentales	
5.1.2.2	Résultats et discussion	
5.1.3	<u>Coffea canephora</u>	91
5.1.3.1	Conditions expérimentales	
5.1.3.2	Résultats et discussion	
5.1.4	Discussion et conclusion	94

5.2 Etude de la variabilité génétique	95
5.2.1 Objectif	
5.2.2 <u>C. arabica</u>	95
5.2.2.1 Origines du Yémen	
5.2.2.1.1 Conditions expérimentales	
5.2.2.1.2 Résultats et discussion	
5.2.2.2 Origines éthiopiennes	
5.2.2.2.1 Introduction	
5.2.2.2.2 Conditions expérimentales	
5.2.2.3 Résultats et discussion	
5.2.3 Evaluation de descendance de <u>C. canephora</u>	101
5.2.5.1 Conditions expérimentales	
5.2.5.2 Analyse de l'effet "pot"	
5.2.5.3 Différences entre génotypes	
5.2.4 Discussion et conclusion	105
6. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	106
6.1 CONCLUSIONS GENERALES	106
6.2 POSSIBILITES D'UTILISATION DE LA RESISTANCE ET/OU TOLERANCE	108
6.3 RECOMMANDATIONS POUR LA SELECTION EN AMERIQUE CENTRALE	111
BIBLIOGRAPHIE	113

1. INTRODUCTION GENERALE

La récolte mondiale de café se situe entre 90 et 100 millions de sacs de 60 kilos produits dans plus de soixante-dix pays de la ceinture inter-tropicale. La filière caféière a représenté dans les années 1980, un chiffre d'affaires moyen de dix milliards de dollars, avec de fortes fluctuations inter-annuelles. Il s'agit donc d'un des tout premiers marchés mondiaux de produits agricoles, avec le sucre, le blé, la viande bovine et le coton (DAVIRON et LERIN, 1990).

La caféiculture de l'Amérique Latine fournit 65% de la production mondiale. Elle constitue la principale source de revenus pour de nombreux pays de cette région. Son implantation s'est faite vers la moitié du XVIIIème siècle et environ deux cents ans plus tard, on assiste au début de la modernisation des techniques culturales du caféier. Dans les premiers temps la monoculture ne connaissait pas de contraintes sérieuses, mais, par la suite de redoutables aléas d'ordre parasitaire apparaissent sur le territoire Brésilien, le ravageur des baies (Hypothenemus hampei F.) en 1924, et la rouille orangée (Hemileia vastatrix Berk et Br) en 1970. On a assisté alors à une dissémination progressive de ces parasites vers les autres pays latino-américains. Depuis, de grands efforts nationaux et régionaux ont été consacrés à la recherche de méthodes de lutte et à la vulgarisation des solutions proposées pour faire face à ces problèmes. Paradoxalement des parasites endémiques, les **nématodes**, déprédateurs des racines du caféier, vont rester pratiquement insoupçonnés durant de nombreuses années. On peut s'étonner que peu d'attention ait été prêtée à ce problème, responsable de pertes évaluées à 15% à l'échelle mondiale (SASSER, 1979). Cela pourrait s'expliquer en partie par la caractéristique souterraine de ces parasites et par le manque d'informations précises sur leur présence et sur leur action pathogène. En outre, les symptômes d'attaque des caféiers par les nématodes sont rarement spécifiques et donc difficilement décelables. A cet égard, il faut signaler que la culture du café a été réalisée pendant longtemps sur des défriches de forêts, et que les problèmes de nématodes sont devenus plus importants avec la pérennisation de la culture caféière. Vers les années 50-60 on assiste à un développement des travaux concernant les nématodes associés au caféier, portant sur :

- l'évaluation de l'efficacité de produits nématicides,
- la description sommaire des espèces,
- une ébauche sur les potentialités offertes par la résistance de certaines variétés.

La lutte chimique est alors privilégiée et, seuls quelques pays, tels le Guatemala et l'Inde, commencent à s'intéresser à l'utilisation de porte-greffes résistants et/ou tolérants, sans qu'il y ait eu pourtant, un travail de sélection stricto sensu.

A l'heure actuelle, plusieurs facteurs ont entraîné un regain d'intérêt pour la recherche concernant la résistance des caféiers aux nématodes. On assiste à une remise en cause des

produits nématicides: - leur coût, - leur efficacité ponctuelle et leur métabolisation rapide qui permet à court terme une recolonisation des sols par les nématodes, - leur application relativement dangereuse pour l'opérateur, - les résidus qu'ils libèrent dans le milieu environnant (le sol, les eaux) et particulièrement le risque de résidus dans les graines. Dans un contexte mondial d'excédents de production, l'enjeu pour les pays producteurs porte de plus en plus sur la qualité du produit.

Les nématodes les plus importants affectant le caféier sont : Meloidogyne spp. et Pratylenchus spp. Mondialement, on connaît de graves problèmes provoqués par Pratylenchus spp. en Indonésie, Inde et Amérique Centrale, et par Meloidogyne spp au Brésil, Amérique Centrale et Indonésie. Les dégâts provoqués par ces nématodes vont des symptômes presque imperceptibles jusqu'à la dégénérescence de la plante, voire la mort. Au Guatemala les nématodes provoquent des dégâts sur plus de la moitié de la surface en production, et dans certaines régions du pays, la culture d'*arabica* demande impérativement des mesures de contrôle.

La résistance génétique du caféier a été étudiée seulement au cours des dernières décennies. Au Brésil, d'importants résultats ont été obtenus vis-à-vis de Meloidogyne spp. concernant Pratylenchus seuls quelques travaux ont été menés en Inde, mais aucun travail de sélection pour la résistance n'a été conduit en Amérique.

Il existe actuellement un consensus dans les pays d'Amérique Centrale sur la gravité du problème posé par les nématodes, et sur la priorité qu'il faut donner à la recherche sur la résistance variétale comme meilleure alternative économique pour la maîtrise de ces parasites. Le présent travail de thèse s'inscrit dans cette approche. Les objectifs spécifiques sont :

1. Etude méthodologique, orientée notamment vers l'évaluation de la résistance/tolérance vis-à-vis de Pratylenchus sp.,
2. Etude de la variabilité génétique pour la résistance à Meloidogyne spp et Pratylenchus sp., au sein de C. arabica (variétés cultivées et introductions d'Ethiopie et du Yémen) et de C. canephora,
3. Comparaison de la résistance du caféier vis-à-vis de souches de Meloidogyne sp. de Guatemala et une souche virulente de Meloidogyne sp. du Brésil,
4. Etude du mode de transmission de la résistance.

Les travaux de recherche ont été menés au sein du Laboratoire Commun de Nématologie du CIRAD-IRFA sous l'encadrement des Services d'Amélioration des Plantes et d'Entomologie du CIRAD-CP, et du Service de Nématologie du CIRAD-IRFA. Les thèmes abordés sont présentes de la façon suivante :

- le chapitre 2 est consacré à une revue de l'état de connaissances sur la résistance des plantes aux nématodes en général, en développant le cas spécifique du caféier,

- le chapitre 3 présente les matériels et les méthodes qui sont communs aux différentes expérimentations menées dans le cadre de cette recherche,

- le chapitre 4 concerne les résultats obtenus vis-à-vis de Meloidogyne spp. La première partie présente une discussion sur les aspects méthodologiques des tests de résistance ; la deuxième partie présente les résultats des évaluations de la résistance sur des génotypes appartenant aux espèces C. arabica et C. canephora,

- le chapitre 5 concerne Pratylenchus sp., et présente dans une première partie les essais concernant la mise au point du test de résistance ; dans une deuxième partie sont présentés les essais d'évaluation de résistance,

- le chapitre 6 contient les conclusions générales du travail et les perspectives de l'utilisation des sources de résistance identifiées dans cette démarche expérimentale, en rapport avec le processus de sélection.

2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1 RESISTANCE DES PLANTES AUX NEMATODES

2.1.1 Introduction

On trouve en abondance des nématodes dans tous les sols arables, surtout dans les horizons superficiels. Une proportion importante de ces nématodes s'attaque aux plantes. Ils constituent, par exemple, 50% environ de ceux qui peuplent les sols des milieux naturels en équilibre, tels que la prairie permanente (De GUIRAN, 1983). La culture, comme toute perturbation, modifie cet équilibre et favorise les espèces qui peuvent se nourrir des plantes cultivées. En cas de monoculture les populations peuvent atteindre des niveaux élevés et occasionner d'importantes pertes de rendement.

Au cours de l'évolution, les plantes ont développé des mécanismes qui les rendent résistantes à l'invasion d'un pathogène. La résistance des plantes résulte de phénomènes qui freinent plus ou moins la pénétration et/ou le développement du parasite et qui peuvent intervenir avant ou après l'établissement de la relation parasitaire : lors de l'éclosion des oeufs, lors de la pénétration des nématodes dans les racines ou pendant le développement à l'intérieur des tissus. La résistance de la plante et la pathogénicité du parasite sont considérées comme le résultat d'une adaptation qui résulte d'un équilibre établi depuis des millénaires au cours de la co-évolution de l'hôte et du parasite. Néanmoins, une variété hôte peut-être résistante à un parasite avec lequel elle n'a jamais été en contact.

2.1.2 Classification des nématodes

Par simplification, les nématodes phytoparasites sont fréquemment classés dans trois groupes d'après leur relation avec la plante : 1. Les **ectoparasites** vivent en permanence dans le sol mais les individus ne pénètrent pas dans les racines ; ils percent l'épiderme ou les cellules internes à l'aide de leur stylets (Xiphinema, Tylenchorhynchus, ...). 2. Chez les **semi-endoparasites**, seulement la partie antérieure du corps des nématodes pénètre dans les racines, la partie postérieure reste dans le sol (Trophotylenchulus, Tylenchulus, ...). 3. Les **endoparasites** sont des nématodes qui pénètrent entièrement dans les tissus des racines. Ils sont classés dans deux sous-groupes, les **endoparasites migrants**, qui pénètrent chez l'hôte et se déplacent en se nourrissant à l'intérieur des tissus, où ils provoquent des dommages importants ; ensuite ils peuvent migrer d'une racine à l'autre (Pratylenchus, Radopholus, ...). Chez les **endoparasites sédentaires** les premiers stades juvéniles pénètrent dans les racines, gagnent un endroit situé assez profondément dans les tissus, où ils s'installent pour se nourrir, les femelles qui en sont issues grossissent rapidement et restent immobiles (Meloidogyne, Heterodera, ...).

Ce classement n'est pas mutuellement exclusif. Les modes de vie des nématodes et les types de relations qu'ils établissent avec la plante sont très divers, entraînant toute une gradation de sous-classes ou de catégories.

2.1.3 Relations plante-nématode.

Les endoparasites sédentaires sont caractérisés par une haute spécialisation de la relation parasitaire avec leur hôte. Quelques cellules modifiées par la présence du nématode vont permettre à celui-ci de se nourrir, se développer et assurer sa reproduction. Cette relation étroite entre le nématode et l'hôte est contrôlée par les systèmes génétiques des deux organismes. Elle a abouti au développement de gènes de résistance chez de nombreuses espèces de plantes cultivées. Par opposition, la relation entre hôtes et la majorité des endoparasites migrateurs est moins spécialisée. Ces nématodes se comportent en "brouetteurs" et n'ont pas besoin d'une réponse spécialisée de la part de l'hôte pour développer leur parasitisme ; les exemples de résistance des plantes et/ou cultivars vis-à-vis de ces nématodes sont peu nombreux.

De la même façon, seuls quelques rares ectoparasites provoquent une réponse cellulaire spécifique de la plante, la plupart de ces nématodes n'établissent pas une relation durable avec leur hôte. En conséquence, on peut considérer que la pression de sélection chez l'hôte, entraînant l'apparition de gènes de résistance, est aussi moins forte que pour les endoparasites sédentaires.

Du côté du parasite, les termes suivants seront adoptés dans ce travail de recherche :

Une **souche de nématodes** est une population (variable ou pure) d'une origine spécifique (géographique ou d'une variété de plante).

Le **pouvoir pathogène** est la capacité d'une souche de provoquer des symptômes ou des dégâts à la plante hôte.

Le terme **agressivité** est utilisé pour indiquer le niveau général de pathogénicité, et le terme **virulence** pour indiquer le niveau de pathogénécité spécifique de différentes souches du pathogène (races), par rapport à des hôtes qui contiennent des gènes de résistance spécifique. Cette terminologie correspond à celle employé par VANDERPLANK (1968) pour décrire la relation hôte-parasite dans le cas de maladies fongiques.

La **résistance** décrit l'habilité de l'hôte à empêcher le développement et la reproduction du nématode (COOK & EVANS, 1987). Le terme "résistance" est un concept quantitatif utilisé pour la comparaison entre génotypes de plantes. Un génotype résistant ne permet aucune, ou seulement une faible, reproduction du nématode. Un génotype partiellement résistant permet un niveau de reproduction intermédiaire et un génotype sensible permet une multiplication élevée du nématode.

Le concept de **tolérance** est également un concept relatif, qui décrit les préjudices causés à l'hôte en termes de réduction de la croissance végétative ou du rendement (COOK & EVANS, 1987). Un génotype "tolérant" peut exprimer la totalité de ses rendements ou seulement une faible réduction de rendements en cas de moyenne ou forte infestation. Par contre, en présence d'une trop forte infestation de nématodes, la croissance ou la production peut être notablement affectée.

2.1.4 Utilisation de la résistance

C'est avec les **endoparasites sédentaires**, particulièrement les nématodes à kystes (Heterodera et Globodera) et les nématodes à galles (Meloidogyne), que la résistance des plantes aux nématodes a été le plus étudiée et mise à profit. La résistance de la tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) vis-à-vis de M. incognita, M. javanica et M. arenaria est conférée par le gène Mi, qui est un gène majeur dominant, dérivé de L. peruvianum (WATTS, 1947). Le gène Mi se trouve à la base de toutes les variétés de tomate résistantes aux nématodes à galles. Par ailleurs, chez Prunus, la résistance à M. incognita et à M. javanica que l'on trouve chez le porte-greffe Nemaguard, est aussi conférée par un gène majeur dominant, dérivé de P. persica. En Californie le Nemaguard est utilisé dans 85% des plantations d'amandes, nectarines, pêches et prunes (SHERMAN et al., 1981). La résistance de la pomme de terre (Solanum tuberosum) à l'égard du nématode à kyste, (Globodera rostochiensis), est basée également sur un gène dominant, le gène H1, originaire de Solanum tuberosum sp. andigena. Cette résistance a été transférée à divers cultivars commerciaux, qui ont alors été établis à échelle commerciale sur des terrains infestés depuis 30 ans (JONES, 1985).

Les résultats obtenus avec ces trois exemples montrent l'efficacité de l'utilisation de gènes de résistance simples pour le contrôle des endoparasites sédentaires. Mais il est parfois difficile de trouver des variétés résistantes à l'égard des nématodes sédentaires. Ainsi aucune variété de Citrus n'a pu être sélectionnée, qui soit résistant à Tylenchulus semipenetrans (semi-endoparasite), agent du "slow decline" (BAINES et al., 1978).

La résistance à quelques groupes de nématodes **endoparasites migrants** a été également identifiée, et utilisée avec succès, notamment contre les nématodes des parties aériennes ; c'est le cas du trèfle (Trifolium pratense), la luzerne (Medicago sativa) (CAUBEL et al., 1985), et l'avoine (Avena sativa) (CLAMOT, 1985), dont on trouve des variétés résistantes à l'égard de Ditylenchus dipsaci, ou encore avec moins de succès contre Aphelenchoides besseyi chez le riz (LUC et REVERSAT, 1985), et A. ritzemabosi du Chrysanthemum spp. En ce qui concerne les endoparasites migrants des parties racinaires on peut signaler un important travail de recherche chez Prunus spp. pour la résistance à Pratylenchus vulnus (CULVER, 1989).

Seules quelques rares informations peuvent être trouvées sur la résistance aux nématodes ectoparasites ; c'est le cas de la vigne (Vitis spp.) où les références de la résistance vis-à-vis de Xiphinema index suggèrent, de façon général, un mécanisme de tolérance. Cependant, on assiste à la diminution des populations de nématodes chez quelques génotypes de Vitis. Cela suggère donc, dans ce cas typique, l'expression d'une résistance partielle, qui peut être expliquée par le fait que ce nématode a une relation de parasitisme beaucoup plus spécialisée avec son hôte que la plupart des autres ectoparasites ; selon HARRIS (1990), Xiphinema provoque des modifications cellulaires chez la plante, telle qu'une hypertrophie des cellules. Mais généralement le tri variétal pour la résistance aux autres nématodes ectoparasites s'avère en général très difficile.

2.1.5 Héritabilité et durabilité de la résistance

Les gènes de résistance peuvent être classés d'après leurs effets sur l'expression de la résistance (gènes majeurs face aux gènes mineurs), l'aptitude pour les nématodes à contourner la résistance (résistance "horizontale", non spécifique et durable par opposition à la résistance verticale, spécifique et non durable), et le type d'héritabilité (monogénique, oligogénique et polygénique) (VANDERPLANK, 1968).

Deux études bibliographiques sur la résistance aux nématodes établissent le bilan suivant : 52 % des cas étudiés relèvent d'une résistance de type monogénique dominante, 28% de type oligogénique, et 20 % de type polygénique ; les exemples portent notamment sur les endoparasites sédentaires (BINGEFORS, 1982 ; SIDHU, 1981). Les types monogénique et oligogénique sont préférables pour un transfert relativement facile vers les cultivars adaptés, mais ce type de résistance est généralement spécifique et moins durable. Cependant, l'extension de nouvelles races de nématodes étant assez lente, même la résistance spécifique peut avoir une durabilité agronomique acceptable. En effet, les sélectionneurs continuent à privilégier la résistance monogénique en raison de sa simplicité génétique et de son haut niveau d'expression (ROBERTS, 1990).

2.1.6 Limites de l'utilisation de la résistance

Pour l'utilisation de variétés ou de porte-greffe résistants, on doit prendre en considération un certain nombre de limitations :

- comme ceci a été noté auparavant, la variabilité pour la résistance vis-à-vis de certains types de nématodes, tels les ectoparasites et les endoparasites migrants, est limitée;

- les gènes de résistance concernent souvent un petit nombre d'espèces voire une seule espèce. En conséquence, on risque d'aboutir à un développement plus important d'autres espèces

confinées jusqu'alors au statut de parasites secondaires. Ceci est observé dans les vergers de pêcheurs greffés sur Nemaguard, porte-greffe résistant aux Meloidogyne, dont les populations de Criconemella xenoplax sont devenues plus importantes depuis lors (BERNHARD et al., 1985) ;

- la pression de sélection exercée par le gène de résistance peut favoriser l'apparition de races plus virulentes ;

- certains types de résistance à l'égard des nématodes résultent, en tout ou partie, d'une hypersensibilité cellulaire de l'hôte, qui limite le développement du parasite, mais qui peuvent tout de même occasionner des dégâts chez de jeunes plants, notamment si la population initiale du nématode est élevée (RITTER, 1985).

2.1.7 Possibilités des plantes transgéniques

A moyen terme, on peut supposer que le génie génétique apportera des solutions complémentaires pour obtenir la résistance aux nématodes. Ceci est souhaitable, notamment pour les nématodes pour lesquels l'on n'a pas trouvé une résistance efficace de la plante hôte. A l'heure actuelle, il semble que certains gènes utilisables pour le transfert ont été identifiés (MURRAY, 1991). Une demande de brevet a été déposée sur la découverte et pour l'utilisation de toxines de Bacillus thuringiensis ayant une activité spécifique vis-à-vis des nématodes (EUROPEAN PATENT OFFICE, 1989). Si cette activité se confirme, on pourrait envisager la transformation génétique de plantes avec des gènes codant pour ce type de toxines pour l'obtention de résistance aux nématodes.

2.2 LE CAFEIER ET SA CULTURE

2.2.1 Les espèces cultivées

Les caféiers du genre Coffea appartiennent à la famille des Rubiacées, tous d'origine africaine ou malgache. On connaît actuellement plus d'une centaine d'espèces de Coffea. Deux d'entre elles sont essentiellement cultivées, le C. arabica L. et C. canephora Pierre. Environ 75 % de la production mondiale correspondent à C. arabica.

C. arabica est la seule espèce de caféiers autogame avec cependant un taux de pollinisation croisé qui varie de 5 à 20% (CHARRIER, 1978 ; MONACO, et al., 1963). Il présente l'originalité d'être un allotétraploïde amphidiploïde ($2n = 4X = 44$). Le centre d'origine exact de C. arabica n'est pas connu, mais il apparaît clairement que son centre de diversification se situe en zone d'altitude (1500 m à 2500 m) dans les sous-bois des forêts du Sud-Ouest de l'Ethiopie. Il a été introduit et cultivé au Yémen à partir du 14ème siècle (ESKES & MUKRED, 1989). L'expansion mondiale de la culture de C. arabica a été réalisée à partir de caféiers du Yémen. Il fut introduit au 17^{ème} siècle en Inde et à Ceylan puis en Indonésie, dans l'île de Java. C'est

cette origine qui, à partir du Jardin Botanique d'Amsterdam (un seul plant), a été d'abord transférée au Surinam puis en Guyane Française, ainsi qu'au Jardin Botanique de Paris. A la même époque une deuxième origine yéménite fut introduite à la Réunion (C. arabica var. Bourbon), puis au Brésil vers la moitié du 19^{ème} siècle (CARVALHO, 1988). C'est à partir de ces deux origines bien identifiées de C. arabica que la culture du caféier s'est étendue en Amérique. En conséquence, la base génétique de la majorité des C. arabica cultivés en ce continent est très étroite. Ceci a été mis en relief avec la dispersion de la rouille orangée (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.) dans les pays latino-américains depuis 1970 (CHARRIER, 1985), cette maladie attaquant pratiquement toutes les variétés de C. arabica cultivées. En ce qui concerne les nématodes, on constate une situation analogue, c'est-à-dire une sensibilité pratiquement généralisée des variétés de C. arabica cultivés en Amérique vis-à-vis de ces parasites (CAMPOS, 1990 ; GONÇALVES, 1992 ; SCHIEBER, 1968).

C. canephora, comme toutes les autres espèces sauvages de *Coffea*, est diploïde ($2n = 2X = 22$) et strictement auto-incompatible. En conséquence les descendance de C. canephora proviennent de fécondations croisées et manifestent un important polymorphisme. Les analyses de la diversité génétique des C. canephora issus des populations sylvestres et prélevés sur l'ensemble de l'aire de répartition de cette espèce en Afrique, démontrent qu'il existe à l'intérieur de l'espèce, deux groupes principaux : le groupe "Guinéen" et le groupe "Congolais" (BERTHAUD, 1986). Cette espèce s'est adaptée dans les zones tropicales humides, de 0 à 800 d'altitude.

Les dégâts dus à la rouille orangée dans les plantations de C. arabica de Ceylan et d'Indonésie, à la fin du XIX siècle (SCHIEBER et ZENTMYER, 1983), ainsi que les difficultés de son acclimatation dans les régions tropicales de basse altitude, sont à l'origine de la mise en culture directe de quelques espèces de caféiers spontanés d'Afrique. Pour C. canephora, dont le produit commercial est connu sous le nom de Robusta, la mise en culture est récente, depuis un siècle environ. Parmi les espèces diploïdes, les caféiers Robusta se sont imposés par leur adaptation à basse altitude, leur vigueur, leur productivité et leur résistance à la rouille orangée. Plus tard on remarquera en Amérique Latine, leur intéressant comportement (de résistance ou de tolérance) à l'égard des nématodes (CHITWOOD & BERGER, 1960 ; SCHIEBER & SOSA, 1960).

Très peu d'autres espèces de *Coffea* sont utilisées commercialement. C. liberica est encore cultivée dans certaines régions africaines et en Asie Sud-est. Certains auteurs signalent que cette espèce peut avoir de résistance vis-à-vis des nématodes ou d'autres ravageurs de racines du caféier (ESKES, 1991 ; GARCIA, 1991).

2.2.3 Quelques techniques culturales de C. arabica

On se limitera aux aspects techniques qui peuvent avoir une relation directe avec le problème posé par les nématodes.

Le semis des graines se fait généralement en germoir, la terre du germoir est allégée avec du sable ; la germination dure de quarante-cinq à soixante jours. Ensuite les jeunes plantules sont repiquées soit dans des sacs en polyéthylène remplis de terreau, soit sur des plates-bandes. Placés en pépinière les plants vont rester de 6 à 12 mois. Ils sont ensuite plantés au champ, dans le but, généralement, de renouveler une caféière ancienne. Dans la plupart des cas, les jeunes caféiers sont plantés entre les caféiers adultes qui seront arrachés progressivement dans le temps. En Amérique Centrale la densité de plantation de la nouvelle caféière est comprise entre 5.000 et 7.000 plants par hectare. Chez le petit planteur il est commun de trouver des cultures associées (Musa, Citrus ...). Le cycle productif du caféier début entre la 2ème et la 3ème année. Quelques années après, l'opération essentielle est la taille du caféier, dont l'objectif est la production maximale de bois fructifère et la suppression de bois improductif. La fertilisation minérale est toujours conseillée ; elle est très liée à l'utilisation ou non des arbres d'ombrage. Les caféiers produisent mieux en pleine lumière, mais cette productivité doit être soutenue par des apports de fertilisants. S'il n'est pas possible d'assurer cette pratique, on conseille alors la plantation d'un ombrage léger dont l'apport de matière organique compense en partie l'absence de fertilisation minérale. En milieu tropical pluvieux, les mauvaises herbes se développent abondamment. Les techniques de désherbage sont en alternance l'utilisation des herbicides et le désherbage mécanique (manuel). De manière générale on estime la durée de vie économiquement productive d'une plantation entre 20 et 30 ans, au bout desquels, généralement, on replantera des caféiers.

Il faut signaler que les nématodes associés au caféier sont également des parasites de plusieurs espèces d'arbres d'ombrage, des cultures associées, et des mauvaises herbes présentes dans les caféières (CALDERON-VEGA, 1989 ; LORDELLO, 1972).

Les toutes jeunes plantules (en germoir et pépinière) sont très sensibles aux nématodes ; les mesures de lutte préventive sont impératives au cours de cette étape initiale. En pépinière l'eau d'arrosage doit être contrôlée car elle peut être contaminée par les nématodes (CAMPOS, 1990). Ces aspects sont très souvent négligés, et le transport de plants infestés par les nématodes à partir des pépinières est vraisemblablement la cause principale de leur dissémination (ARANGO, et al., 1982 ; GONÇALVES et al., 1978). D'autre part, au champ, la taille des parties aériennes de la plante entraîne une réduction importante de la masse racinaire par dégénérescence (84% environ chez les plantes recepées, MIGUEL et al., 1984). De ce fait le rapport entre masse racinaire et nématodes est abaissé avec pour conséquence un impact plus fort des nématodes sur la plante après le recepage.

2.3 LES NEMATODES DU CAFEIER

2.3.1 Meloidogyne spp.

2.3.1.1 Introduction

Les nématodes du genre Meloidogyne, endoparasites sédentaires, sont des parasites obligatoires des parties souterraines des plantes. Ce sont des parasites très importants en agriculture. Très polyphages, ils sont largement répandus dans le monde.

CHITWOOD (1949) détache l'espèce Heterodera marioni du genre Heterodera et en fait un genre distinct nommé Meloidogyne ; il décrit Meloidogyne exigua comme l'espèce type.

Les Meloidogyne entraînent la formation de galles sur les racines des plantes qu'ils parasitent et sont ainsi très facilement repérables. En cas d'infection forte, les galles peuvent envahir tout le système racinaire. Les caféiers infestés montrent d'une part un manque de vigueur suivi d'une chlorose, voire une chute prématurée des feuilles, et d'autre part une plus grande sensibilité aux aléas climatiques, comme la sécheresse. ARRUDA & REISS (1960) indiquent une diminution de 30% de la hauteur des plantes, et une réduction de 50% de la production lors des deux premières récoltes, causées par M. incognita.

On peut trouver plusieurs espèces du genre Meloidogyne sur racines de C. arabica. Au moins 13 espèces différentes, ont été décrites dans le monde en association avec le café (LORDELLO, 1972 ; WHITEHEAD, 1969). Les espèces les plus répandues sur le caféier sont : M. exigua, M. incognita, et M. coffeicola (LORDELLO, 1972). Recemment une nouvelle espèce a été signalée sur le caféier au Costa Rica, Meloidogyne arabicida (LOPEZ & SALAZAR, 1989). D'autres espèces d'importance secondaire sont également reportées (CAMPOS, 1990).

2.3.1.2 Dégâts des espèces les plus importantes

Meloidogyne exigua est l'espèce la plus communément citée comme nématode phytoparasite du caféier en Amérique Latine. JOBERT (1878) avait déjà signalé que des nématodes étaient les responsables d'un dépérissement des caféiers dans une région du Brésil. GOELDI (1887) fera la description de l'espèce en cause quelques années plus tard.

Cette espèce provoque la formation de galles arrondies typiques et la masse d'oeufs se développe à l'intérieur de l'épiderme des racines (MORERA, 1986). Il n'y a pas de destruction des racines et donc en général, pas de mortalité des plantes. Par contre, les jeunes plantules contaminées en pépinière peuvent exprimer au champ une réduction de leur croissance et une chute des feuilles, suivies d'un dépérissement aggravé pendant la saison sèche. En utilisant des plantules saines à la sortie de la pépinière et avec un entretien

convenable des plantations, la présence de ce nématode au champ affecte peu la production. Cependant dans le cas où les caféiers sont plantés en sols sableux ou érodés, ou en condition de carences hydriques, les dégâts peuvent être importants (GONÇALVES, 1992).

Meloidogyne incognita a été signalé pour la première fois comme parasite du caféier au Guatemala par CHITWOOD & BERGER (1960). Dix ans plus tard, LORDELLO & MELLO FILHO (1970) relèvent leur présence au Brésil, pays où ce nématode provoque des dégâts importants sur le caféier. Sur les jeunes plantules en pépinière on peut observer la formation de galles typiques sur les racines. Au champ, les racines parasitées présentent une très forte destruction de leurs tissus corticaux, les plants contaminés dépérissent peu à peu, parfois jusqu'à la mort. Ce nématode est un facteur limitant important pour l'implantation de nouvelles caféières, ainsi que pour l'entretien des plantations déjà contaminées (LORDELLO, 1984). Cette espèce est donc considérée comme nettement plus pathogène que M. exigua (MORAIS & LORDELLO, 1977). Les traitements nématicides sont peu efficaces contre M. incognita (CURI et al., 1977).

Quatre "races" ont été identifiées à l'intérieur de M. incognita avec une pathogénéicité spécifique vis-à-vis d'espèces végétales différentes (tabac, coton, piment, melon, arachide et tomate) (SASSER, 1979). Toutes ces races peuvent attaquer le caféier, qui n'est donc pas un hôte différentiel. L'existence de races du nématode vis-à-vis de divers géotypes de caféiers sera traité plus loin.

Meloidogyne coffeicola a été décrite au Brésil par LORDELLO & ZAMITH (1960). Il n'y a pas de citation d'occurrence dans d'autres pays. Au Brésil, sa distribution reste restreinte. Ce nématode entraîne également la destruction des tissus corticaux des racines du caféier, mais, on n'observe pas la formation de galles.

Meloidogyne arabicida est une espèce nouvelle décrite au Costa Rica par LOPEZ & SALAZAR (1989). Les critères retenus pour l'identification de M. arabicida, ont porté sur la morphologie de la figure périnéale de la femelle et sur des caractères de la région céphalique des juvéniles du deuxième stade (J2), ainsi que des femelles et mâles adultes. Cette espèce n'a pas été identifiée par isoenzymes. Elle est associée à un dépérissement racinaire des caféiers qui peut aboutir à la mort des plants en quelques années au Costa Rica. Ce dépérissement est lié à des attaques de l'appareil racinaire se manifestant par un développement de galles très grosses et liégeuses ("corchiosis") sur les racines principales et sur le pivot lui-même qui sont rapidement détruits (SARAH, 1990).

2.3.1.3 Complexes de pathogènes

SOUZA (1977) réalise un étude en serre sur la relation entre M. exigua et Rhizoctonia solani. Il observe sur des plantules de C. arabica et de C. canephora une nécrose beaucoup plus importante des racines ainsi q'une chute des feuilles plus accentuée lorsqu'il fait des inoculations simultanées des deux pathogènes. Ceci n'implique pas forcément une interaction entre ces pathogènes au champ, car R. solani est un pathogène de jeunes plantules seulement.

Au Costa Rica, CALDERON-VEGA (1989) relève la présence de champignons des genres Fusarium, Cylindrocladium et Phialophora en association avec le nématode M. arabicida, comme responsables du dépérissement du caféier.

2.3.1.4 Le cycle biologique

Le cycle des Meloidogyne comprend une phase exophyte qui va de la ponte jusqu'à la pénétration des larves du deuxième stade larvaire dans les racines, et une phase endophyte qui comprend la suite du développement et la reproduction à l'intérieur des tissus.

La femelle pond ses oeufs dans une gangue gélatineuse qui les maintient rassemblés. A l'intérieur de cette ponte on trouve des oeufs à divers stades de leur développement, y compris des juvéniles du deuxième stade (J2). SANTOS et FERRAZ (1977) n'ont pas trouvé d'effet des exsudats racinaires du caféier sur l'éclosion des juvéniles. Les juvéniles néonates (2ème stade juvénile), seul stade responsable des infestations du système racinaire des plantes, se déplacent dans le sol à la recherche des racines d'une plante hôte. Ces juvéniles sont vermiformes, d'une longueur variant de 300 à 500 μm et d'environ 10 μm de diamètre. Les J2 sont incapables de se nourrir entre l'éclosion et la pénétration dans les racines, ils doivent donc puiser dans leurs réserves pour traverser cette période. Le vieillissement physiologique des J2 amène une diminution de leur pouvoir de pénétration dans les racines (De GUIRAN & NETSCHER, 1970). Ils sont également très sensibles aux températures relativement élevées (VRAIN, 1977).

Les J2 pénètrent au niveau de la zone de différenciation et d'élongation cellulaire des racines (DROPKIN, 1969) ; ensuite, elles se déplacent dans et entre les cellules jusqu'à atteindre le cylindre central au niveau duquel elles s'immobilisent. La présence des J2 provoque des modifications anatomiques avec déformation du tissu vasculaire. Ceci aboutit à la formation de cellules géantes syncytiales dont la coalescence produit les galles.

Après trois mues supplémentaires la différenciation sexuelle se réalise. Dans des conditions favorables de nutrition et de densité le juvénile s'oriente vers un développement en femelle (DAVIDE et TRIANTAPHYLLOU, 1968). Les jeunes femelles se nourrissent à partir des cellules géantes induites situées à

proximité de leur stylet buccal. Ces femelles grossissent rapidement et commencent à pondre 3 à 4 semaines après la pénétration. Elles présentent alors la forme typique d'une "poire", avec une longueur variant entre 500 et 1200 μm , et une largeur comprise entre 300 et 600 μm environ. La plus grande partie de leur corps est occupée par deux ovaires. Dans la partie postérieure du corps, se sont développées des glandes qui débouchent dans le rectum et produisent la substance gélatineuse dans laquelle les oeufs sont placés. Cette substance constitue une barrière entre le milieu extérieur et l'oeuf et permet à ce dernier, dans un milieu très sec par exemple, de terminer son développement puis d'attendre en état de vie ralentie, le retour de conditions favorables à l'éclosion (De GUIRAN & NETSCHER, 1970). La femelle continue sa production d'oeufs pendant deux ou trois mois (TAYLOR et SASSER, 1978). Une femelle peut ainsi pondre jusqu'à 3000 oeufs (De GUIRAN, 1983). LIMA (1984) note pour *M. exigua*, une période de 32-42 jours à 25-30 °C pour accomplir leur cycle.

Pour plusieurs espèces, dont *M. incognita* et *M. javanica*, le rôle des mâles dans la reproduction est nul. Ces espèces pratiquent une parthénogénèse obligatoire (DALMASSO & BERGE, 1975 ; TRIANTAPHYLLOU & HIRSCHMANN, 1973).

2.3.1.5 Identification d'espèces de Meloidogyne.

L'identification rigoureuse d'une population de nématodes présente un intérêt capital pour le développement et l'utilisation de variétés végétales résistantes. Les études fondamentales sur les relations hôte-pathogène, demandent également une parfaite caractérisation de l'espèce du parasite.

Chez Meloidogyne un des principaux critères retenus pour l'identification des espèces, pendant plusieurs années, était la morphologie de la figure périnéale de la femelle. Cependant, il existe une grande variabilité au sein de la descendance d'une seule femelle pour ce caractère, ce qui limite l'intérêt de ce critère et rend très incertaine l'identification des espèces (NETSCHER, 1978). Plus récemment, le microscope électronique à balayage a permis de mettre en évidence certains caractères spécifiques dans la région céphalique des juvéniles ainsi que des femelles et mâles adultes, mais leur interprétation demande un haut niveau de connaissance et la méthode est trop lourde pour des études de populations.

Un autre critère utilisé pour la différenciation intra et interspécifique est le recours à une gamme de hôtes (espèces végétales) différentiels. Cette méthode a été utilisée par SASSER (1979). Cependant on arrive rapidement à un grand nombre de plantes hôtes et dans le cas de mélange d'espèces de nématodes, le système devient trop peu pratique. On doit aussi noter que ces espèces hôtes ne présentent aucun intérêt pour la différenciation de races du nématode vis-à-vis des génotypes de caféier.

Des travaux récents ont montré l'intérêt, en nématologie, de la caractérisation d'espèces de nématodes par l'analyse de leurs systèmes d'isoenzymes. Les premières études chez Meloidogyne ont été réalisées par HUSSEY et al. (1972), mais, il a fallu la miniaturisation de ces techniques pour obtenir des spectres isoenzymatiques individualisés (DALMASSO & BERGE, 1978). Utilisant cette méthode, DALMASSO & BERGE (1983) et JANATI (1979) ont étudié plusieurs systèmes isoenzymatiques sur des femelles prises individuellement, et ont montré que les isoestérases permettaient une identification précise des espèces M. incognita, M. javanica et M. arenaria.

De nombreuses populations de Meloidogyne ont été examinées et leur appartenance à des espèces décrites a été confirmé par analyse des isoestérases (JANATI et al., 1982 ; ESBENSHADE & TRIANTHAPHYLLOU, 1985). Cinq populations issues de racines de caféiers (collectées au Brésil, Peru et Surinam) montrent des zymogrammes qui ne correspondent pas à des espèces de nématodes connues. Leur profil enzymatique, pour les isoestérases, correspond au phénotype nommé "F1" (F1 = "fast", à cause de sa vitesse de migration lors de l'électrophorèse).

La population de Meloidogyne provenant des caféiers du Guatemala, et que l'on utilise dans cette étude, présente le même phénotype F1 ; il en est de même pour une autre population prélevée sur caféier à Cuba (De GUIRAN, communication personnelle). L'observation seule des symptômes de l'attaque de nématodes sur le caféier (racines et parties aériennes) au Guatemala, avait suggéré qu'il s'agissait de M. incognita (JAEHN, 1990).

Récemment, SANTOS et HIRSCHMANN TRIANTHAPHYLLOU (1992) ont mené une importante étude, avec 88 populations de Meloidogyne qui proviennent du caféier, prélevées en différentes régions du Brésil ; cinq phénotypes enzymatiques d'isoestérases (ESBENSHADE & TRIANTHAPHYLLOU, 1985) ont été déjà répertoriés :

- I1 = M. incognita (23 populations)
- VF1 = M. exigua (17 populations)
- J3 = M. javanica (13 populations)
- F1 = espèce non identifiée (15 populations)
- I2 = espèce non identifiée (10 populations)
- absence de bandes (1 population)
- sans résultats pour l'instant (9 populations)

Ces résultats semblent bouleverser l'idée classique que les seuls espèces importants de Meloidogyne sur le caféier sont M. incognita et M. exigua. Apparemment d'autres espèces destructives sont fréquemment trouvées dans plusieurs pays producteurs de café.

2.3.2 Pratylenchus spp.

2.3.2.1 Introduction

Ces nématodes appartiennent à la famille des Pratylenchidae Thorne, 1949 (Siddiqi 1963). Les Pratylenchus sont des endoparasites migrants, c'est à dire des nématodes mobiles à tous les stades de développement. Le cycle complet se déroule dans les racines. Ils font des dégâts sur de nombreuses cultures, telles que la canne à sucre, le caféier, l'ananas, l'igname, le bananier, l'avocatier, les citrus, l'arachide, le cotonnier, le maïs, le soja, etc... .

A l'intérieur du genre Pratylenchus, on peut trouver des espèces bisexuelles à reproduction amphimictique : P. penetrans, P. vulnus, et P. coffeae ; et des espèces à reproduction parthénogénétique : P. neglectus, P. zeae, et P. brachyurus (SIDDIQI, 1986).

Les espèces les plus répandues sur caféier sont : P. coffeae et P. brachyurus. D'autres espèces d'importance secondaire sont également signalées : P. goodeyi, P. pratensis, et P. loosi (CAMPOS, 1990).

Ces nématodes provoquent des lésions profondes dans les racines, pouvant entraîner leur dépérissement plus ou moins total et rapide. Au point d'infection, une nécrose noirâtre se développe qui s'étend d'abord à toute la surface de la racine, et ensuite à l'intérieur de la racine. A ce stade, le parenchyme cortical est détruit, causant la séparation du cortex du cylindre central.

Sur les jeunes caféiers on observe, initialement, une chlorose des feuilles, suivie d'un dépérissement des branches primaires. Chez les caféiers très endommagés, les symptômes vont évoluer jusqu'à la mort prématurée des plantes. Au champ on observe des symptômes de réduction de croissance et de chlorose. Des foyers de dégâts sont fréquemment observés lors des attaques de nématodes.

De sévères dégâts ont été décrits en pépinière de café en Amérique Centrale sur C. arabica et en Indonésie sur C. canephora et C. arabica (ABREGO et HOLDEMAN, 1961 ; BALLY et REYDON, 1931 ; ESKES, 1991).

2.3.2.2 Les principales espèces trouvées sur caféier

P. coffeae est l'espèce du genre Pratylenchus la plus largement citée comme parasite du caféier dans de nombreux pays producteurs : au Guatemala (SCHIEBER & SOSA, 1960), au Salvador (ABREGO et HOLDEMAN, 1961), au Costa Rica (FIGUEROA & PERLAZA, 1982), en République Dominicaine, (SCHIEBER & GRULLON, 1969), au Brésil (MONTEIRO & LORDELLO, 1972), en Inde (PALANICHAMY, 1973), et en Indonésie (BALLY & REYDON). La description des symptômes observés sur les racines (nécrose, séparation du cortex du cylindre central ...) et sur les parties aériennes (chlorose,

dépérissement...) sont similaires dans tous les rapports concernant les Pratylenchus qui attaquent le caféier (LORDELLO, 1972 ; WHITEHEAD, 1968 ; CHITWOOD & BERGER, 1960).

P. brachyurus a été signalé comme parasite du caféier au Brésil (LORDELLO, 1984). Dans ce pays, D'ANTONIO et al., (1981) rapportent la présence de P. brachyurus dans 20% des échantillons prélevés dans l'état de Minas Gerais, mais ils ne présentent pas une estimation des dégâts.

P. loosi est plutôt cité sur théier en Asie, notamment au Japon et au Sri Lanka (SIVAPALAN, 1972). HUTCHINSON, cité par WHITEHEAD, (1969) rapporte la présence de P. loosi sur caféier à Ceylan (Sri Lanka), sans mentionner non plus, le niveau de dégâts.

Récemment deux nouvelles espèces ont été décrites sur caféier : Pratylenchus panamensis à Panama (SIDDIQI et al., 1991) et Pratylenchus gutierrezii au Costa Rica (GOLDEN et al., 1992). L'importance de ces espèces reste inconnue.

Des inoculations croisées de plusieurs populations de P. coffeae provenant de C. arabica sur sept espèces hôtes différents, ont relevé des différences dans la reproduction et le pouvoir pathogène des nématodes vis-à-vis de ces espèces (KUMAR & VISWANATHAN, 1972). Il n'y a pas d'information sur l'existence éventuelle de races de Pratylenchus à l'égard du caféier.

2.3.2.3 Le cycle biologique

Ce nématode filiforme peut pénétrer dans les racines à n'importe quel stade de son développement, et en sortir pour pénétrer dans de nouvelles racines. Les oeufs sont déposés dans les racines ou dans le sol. MORENO-VAQUERANO (1980), présente une étude du cycle de P. coffeae menée en laboratoire, à 24-26 °C. L'oeuf est retenu pendant 14 jours dans la cavité utérine de la femelle jusqu'au moment de l'éclosion sous la forme du deuxième stade juvénile. Ce résultat concorde avec des observations faites sur des jeunes caféiers inoculés artificiellement où l'on observe l'apparition de ce deuxième stade larvaire 16 jours après l'inoculation (MORENO-VAQUERANO, 1980). A partir de la deuxième mue, tous les stades sont infectieux. Viennent ensuite trois stades juvéniles. Les adultes apparaissent au bout de 29-32 jours. La température optimale de reproduction de P. coffeae est de 29.5 °C (SIDDIQI, 1972). Chez P. brachyurus la femelle étend sa ponte sur environ 33 jours à raison d'un oeuf par jour.

2.3.2.4 Identification des espèces

Dans le genre Pratylenchus, l'identification des espèces est basée essentiellement sur des critères morphologiques et morphométriques des femelles et des mâles (s'ils sont présents). HANDOO & GOLDEN (1989) répertorient 63 espèces, et LUC (1987) 60 espèces. Il semblerait que l'analyse du polymorphisme d'isoenzymes n'a pas encore été très utilisée pour

l'identification des espèces de Pratylenchus. Dans le seul travail trouvé sur ce sujet, PAYAN & DICKSON (1990) ont utilisé l'électrophorèse à focalisation isoélectrique pour la comparaison de cinq populations de P. brachyurus. Ils ont trouvé des différences entre populations, pour deux systèmes enzymatiques.

2.4 RESISTANCE DU CAFEIER AUX NEMATODES

2.4.1 Meloidogyne spp.

2.4.1.1 Mécanismes de la résistance

Les mécanismes de défense active des plantes vis-à-vis des nématodes phytopathogènes sont divers. Ils concernent les phénomènes de reconnaissance, de répulsion, de résistance à la pénétration, la production de toxines et l'hypersensibilité. On sait que l'essentiel de la résistance aux Meloidogyne se traduit par des réactions de type hypersensibilité (DALMASSO et al., 1985), mais on connaît mal les voies biochimiques qui participent à cette réaction de la plante, qui implique la mort de cellules de l'hôte sur le point d'infection, et par conséquent celle du pathogène (DROPKIN, 1969). La réaction d'hypersensibilité est déclenchée tôt avant l'apparition des cellules géantes (DROPKIN, 1969), cependant, les observations histopathologiques des réactions d'incompatibilité aux nématodes indiquent des débuts d'altérations des noyaux et des modifications de la densité du cytoplasme (McCLURE et al., 1974). Chez les plantes résistantes on peut trouver toute une gradation de réactions correspondant aux niveaux de compatibilité entre la plante et le nématode : des cellules géantes mal formées qui n'autorisent pas un développement normal du parasite (les femelles n'ont pas une fécondité normale), jusqu'à l'hypersensibilité qui représenterait un degré de résistance plus marqué. On constate une certaine correspondance entre la composition en gènes de résistance d'un cultivar et sa réaction histologique (HENDY et al., 1985), mais, on ne peut dire si cette gradation dans la résistance est le résultat d'une somme d'effets différents qui s'additionnent ou s'il s'agit d'un seul et même mécanisme plus ou moins accentué (DALMASSO et al., 1985).

D'autre part, les composés phénoliques sont associés de façon évidente à la présence des nématodes dans les variétés de tomate résistantes, mais leur rôle n'est en fait pas encore bien élucidé (JARQUIN-BARBERENA, 1989). MULLER & BORGER (1940) indiquent que les plantes produisent des substances de défense appelées phytoalexines en réponse à l'infection par un parasite. On associe l'induction de phytoalexine par les nématodes au phénomène d'hypersensibilité (KEEN, 1981)

2.4.1.2 Les test de résistance

Au champ les tests de résistance impliquent la plantation de génotypes de caféiers dans des sols infestés. Cette méthode a été utilisée au Brésil, pour sélectionner une variété porte-greffe résistante à M. incognita. Ce type de tests est lent et

présente d'autres inconvénients, tels que une distribution peu uniforme de l'inoculum, et des infestations de nématodes polyespécifiques.

D'un autre côté, les tests de résistance en serre ou en laboratoire reposent sur l'infestation artificielle des plants par différents moyens. Pour la multiplication de l'inoculum, on pratique couramment l'élevage des Meloidogyne sur des plants de tomate ; des quantités importantes de juvéniles et d'oeufs peuvent ainsi être récupérées de façon simple. La plupart des études sur le caféier ont été menées en utilisant des populations de Meloidogyne pures et un inoculum constitué soit de morceaux de racines porteuses de galles, soit par une suspension de nématodes (oeufs ou larves) obtenue par broyage de racines infestées (GONCALVES & FERRAZ, 1987).

Ces dernières années, les évaluations de résistance du caféier ont été faites en utilisant des oeufs comme inoculum. BOLIVAR (1984) et MORERA & LOPEZ (1987) ont inoculé chaque plantule de café (au stade cotylédons déployés) avec 15.000 oeufs et les observations ont été réalisées 75 à 80 jours après l'inoculation. GONÇALVES & FERRAZ (1987) ont utilisé avec succès, un inoculum plus faible (2.300 à 6.000 oeufs) et une période d'incubation de 90 jours.

Pour le caféier différents critères d'évaluation de résistance ont été utilisés. Une des méthodes est basée sur des concepts développés par TAYLOR (1967). Cet auteur classe les plantes en sensibles, résistantes ou immunes selon la possibilité qui ont les nématodes de s'y reproduire ; il propose un classement des plantes-hôtes pour la résistance par rapport à la reproduction des nématodes chez les variétés sensibles (IR = indice de reproduction) :

- témoin sensible : taux de reproduction des nématodes normal (IR = 100%)
- légèrement résistantes, IR = 25 à 50%
- modérément résistantes, IR = 10 à 25%
- résistantes, IR = 1 à 10%
- très résistantes, IR = moins de 1%
- immunes : celles chez lesquelles la reproduction des nématodes est nulle.

Ce classement repose sur la reproduction des nématodes chez une variété sensible (témoin). Ceci limite donc la comparaison des résultats entre plusieurs expérimentations, où différents variétés sensibles peuvent être utilisées comme témoin.

Une autre méthode utilise le critère de TAYLOR & SASSER (1978) basé sur le nombre de masses d'oeufs produits, et rapporté à une échelle de 0 à 5, qui représente l'indice de masses (IM): 0 = 0 masses d'oeufs ; 1 = 1-2 ; 2 = 3-10 ; 3 = 11-30 ; 4 = 31-100 ; et, 5 = + 100 . Cette échelle a ensuite été adaptée par HADISOEGANDA & SASSER (1982) pour classer les plantes selon leur niveau de résistance : très résistante, IM de 0 à 1 ; résistante, IM de 1.1 à 3 ; modérément résistante, IM de 3.1 à 3.5 ;

légèrement résistante, IM de 3.6 à 4 ; sensible, IM de 4.1 à 5. L'application de cette méthode est liée à l'utilisation de doses d'inoculum élevées (5000 oeufs par plante).

L'indice de reproduction des nématodes (IR) a été utilisé comme le critère principal de classement de résistance dans des tri variétaux. Cependant, SASSER et al. (1984) considèrent que l'IR ne constitue pas le meilleur indicateur de la résistance des plantes, mais qu'il est surtout un élément de comparaison entre plantes pour leur aptitude à la reproduction des nématodes. Ces chercheurs suggèrent l'intégration de deux critères, d'une part l'indice de galles (ou de masses d'oeufs), et d'autre part le pouvoir reproductif des nématodes dans la plante représenté par le facteur de reproduction des nématodes R (facteur R = population initiale/ population finale). CANTO-SAENZ (1982) propose la dénomination suivante pour évaluer le degré de résistance des plantes (tableau 1)

Tableau 1. DESIGNATION DES NIVEAUX DE RESISTANCE D'APRES CANTO-SAENZ (1982).

Indice de galles ou de masses d'oeufs	Pouvoir reproductif (facteur R)	Désignation du degré de résistance
≤ 2	< 1	résistante
≤ 2	> 1	tolérante
> 2	< 1	hypersensible
> 2	> 1	sensible

Cette Désignation n'a pas été utilisée pour le caféier. La plupart des travaux d'évaluation de la résistance du caféier aux Meloidogyne, ont été basés sur la notation des indices de galles, qui représentent le nombre de galles par système racinaire ou par gramme de racines (CURI et al., 1970 ; FAZOULI et al., 1974 ; FERREIRA et NETTO, 1977). Certains auteurs ont également fait des notations subjectives des dégâts sur le système racinaire du caféier (AREVALO et al., 1977 ; JAEHN et REBEL, 1984). Selon MENDES et al., (1977) on doit éviter la seule notation de galles. Selon eux, le meilleur paramètre est la production d'oeufs.

GONÇALVES & FERRAZ (1987) ont comparé l'indice de reproduction (IR) avec l'indice de masses (IM) pour tester la résistance du caféier à M. incognita. Les auteurs ont trouvé une forte corrélation entre les résultats des deux méthodes, ils recommandent l'IM pour les criblages préliminaires et l'IR pour faire des tests plus précis.

2.4.1.3 Utilisation de la résistance

En général très peu de génotypes de C. arabica ont été rapportés comme résistants à Meloidogyne spp. : Amphylo (introduction éthiopienne) a été classée comme résistante à l'égard de M. incognita et M. exigua, les types Rume Sudan et Ennarea sont résistants à M. exigua seulement (REBEL & FAZUOLI, 1978). Quelques origines de Tanzanie et d'Ethiopie se sont

montrées résistants à M. incognita et M. javanica (ARANGO et al., 1982). Ces quelques génotypes de C. arabica identifiés comme résistants à Meloidogyne spp. n'ont pas été utilisés dans les programmes d'amélioration, probablement en raison de leur manque de vigueur végétative et/ou d'une productivité faible (CARVALHO, 1988).

Au Brésil, des plants des variétés Catuai et Mundo Novo (sensibles) ont été greffés sur des porte-greffes d'Amphylo et ensuite plantés dans des champs contaminés par M. incognita. Ces plantes ont montré des productions nettement supérieures aux caféiers témoins franc de pied (REBEL & FAZUOLI, 1978). Par contre, les études conduites dans d'autres régions du Brésil ont mis en évidence une sensibilité du porte-greffe Amphylo à M. incognita. Cela peut suggérer l'existence de virulence spécifique de différentes races de M. incognita ou la présence d'autres espèces du genre Meloidogyne, associées au café dans ce pays (FAZUOLI et al., 1987).

L'**Hybride de Timor** (HDT) d'origine interspécifique constitue une population hétérogène de caféiers (GOLÇALVES & RODRIGUEZ 1976) d'une valeur particulière dans les programmes d'amélioration du caféier. Cette population est porteuse de gènes de résistance, dérivés de C. canephora, contre différentes maladies et ravageurs du caféier. La résistance à la rouille orangée est l'une des qualités les plus appréciées. FAZUOLI & LORDELLO (1978) signalent l'existence de niveaux variables de résistance de l'HDT à l'égard de Meloidogyne spp. Cette résistance a été également soulignée chez quelques descendances de croisements entre l'HDT et des variétés de C. arabica, telles que **Sarchimor** (Villa Sarchi x HDT) (FAZUOLI, 1983) et des lignées de **Catimor** (Caturra x HDT) (ECHEVERRI, 1989). Ces descendances encore expérimentales, font l'objet de plusieurs essais au champ en Amérique Centrale dans le cadre d'études menées sur la résistance à la rouille orangée.

A l'heure actuelle, la recherche de résistance chez le caféier, se base notamment sur l'utilisation de porte-greffes de l'espèce diploïde et auto-incompatible, C. canephora. Tel est le cas au Guatemala où la résistance ou tolérance au champ, du cultivar **Robusta** de C. canephora vis-à-vis de Meloidogyne exigua a été signalée il y a plus de trente ans (SCHIEBER & SOSA, 1960). Par la suite dans ce pays, la technique de greffage développée par REYNA (1966) est utilisée à grande échelle pour greffer l'arabica sur la variété **Robusta**. Pourtant, il n'y a pas eu aucun travail de vérification de la résistance des différentes populations de C. canephora utilisés dans ce pays.

Au Brésil, des essais implantés dans des champs contaminés par les nématodes, ont permis l'identification de génotypes résistants à Meloidogyne spp. La résistance à M. incognita du génotype LC 2258 de C. canephora, cv. **Robusta** a notamment été signalée (FAZUOLI, et al., 1987). A l'origine, ce matériel présentait environ 70% de plants résistants. Par la suite le travail de sélection, mené notamment en conditions de serre, a élevé la proportion de plantes résistantes à un niveau proche de

100% (GONÇALVES & FERRAZ, 1987 ; FAZUOLI, 1986). Cette population est à l'origine d'une variété porte-greffe résistante sélectionnée et dénommée "Apoata" (FAZUOLI, 1986). L'Apoata est maintenant utilisée par les planteurs brésiliens comme porte-greffe des variétés de C. arabica, Mundo Novo et Catuai.

Du fait de la spécificité de la résistance des plantes à l'égard des Meloidogyne, il est important de prendre en compte l'existence de races du parasite. On a déjà signalé que pour M. incognita, on relève 4 races en relation avec des espèces végétales différentielles utilisés par SASSER (1979) (LORDELLO et al., 1987 ; MEDINA FILHO et al., 1981). En ce qui concerne le caféier, des variations d'ordre pathogénique vis-à-vis du caféier ont été signalées chez M. exigua au Brésil (CURI, 1970) et au Costa Rica (MORERA & LOPEZ, 1987). Aucune variation de ce type n'a été suggérée pour M. coffeicola.

2.4.2 Pratylenchus spp.

2.4.2.1 Mécanismes de résistance ou de tolérance

Il a été signalé plus haut que chez la plupart des endoparasites migrants, il n'y a pas besoin d'une réponse spécialisée de l'hôte pour permettre le développement du parasitisme de la part du nématode. Les réactions de l'hôte sont généralement limitées à un brunissement des cellules lié à la production de phénols (LUC & REVERSAT, 1985). On ne connaît pas de réactions biochimiques ou histologiques concernant la résistance vis-à-vis de Pratylenchus.

On a observé au champ, de longue date, une plus grande tolérance de C. canephora par rapport à C. arabica vis-à-vis de Pratylenchus (CHITWOOD & BERGER, 1960). KUMAR (1982) présente une étude, menée en laboratoire, sur les relations entre P. coffeae et les espèces C. arabica et C. canephora. Il signale que chez C. arabica le développement des populations est plus rapide ; ceci peut être un indicatif de différences de résistance entre ces deux espèces de caféier.

2.4.2.2 Tests de résistance

Il y a une absence quasi totale d'information sur l'évaluation de résistance/tolérance du caféier vis-à-vis de Pratylenchus spp. On peut citer quelques petites expérimentations conduites en pépinière, tel est le cas de chercheurs indiens ayant utilisé six jeunes caféiers (stade de 1ère paire de feuilles) de chaque génotype en évaluation : ces plants ont été inoculés individuellement avec une dose de 25 nématodes. Les observations ont été faites 5 mois plus tard, et ont porté sur la multiplication du nématode et sur les différences de croissance végétative entre les caféiers inoculés et des caféiers témoin non inoculés (Anon., 1971).

Un autre étude sur les relations P. coffeae / caféier a été menée sur trois espèces de caféier (Anon., 1973) : C. arabica, C. canephora, et C. excelsa. Les plantes étaient de trois âges différents (40, 120 et 365 jours), et ont été inoculées avec trois doses différentes de nématodes (50, 500 et 5000 individus). Les observations ont été faites au bout de 10 mois. Les résultats montrent des interactions entre les facteurs étudiés. L'inoculation à faible dose diminue la croissance des plantules de C. arabica. L'inoculation avec les deux autres doses, et notamment la dose la plus forte, a eu un impact sur le développement végétatif aussi marqué en ce qui concerne les plantules les plus jeunes des 3 espèces de caféiers. On constate que l'utilisation d'un niveau d'inoculum trop élevé peut masquer l'expression de tolérance de C. canephora et C. excelsa. Cependant la tolérance de ces espèces a pu être mise en évidence chez les plantules les plus âgées, même avec les doses les plus élevées.

Ces résultats soulignent l'importance de la mise au point méthodologique des tests pour évaluer correctement la tolérance et la résistance.

2.4.2.3 Utilisation de la résistance

Les rares données bibliographiques existantes ne mettant pas en évidence la possibilité de trouver une variabilité au sein de C. arabica pour la tolérance vis-à-vis de Pratylenchus spp. (Anon, 1971). Ce résultat peut correspondre soit à une variabilité réduite chez les variétés évaluées, soit à un manque de précision des tests mis en oeuvre.

Par contre la résistance et/ou tolérance au champ du cv. **Robusta** de C. canephora à P. coffeae a été soulignée au Guatemala (SCHIEBER et SOSA, 1960) et en Inde (PALANICHAMY, 1973). ESKES (1991) signale toutefois la grande sensibilité de C. canephora à Pratylenchus dans certaines régions de Java ; il note également que C. excelsa n'est pas affecté par ce nématode dans les mêmes conditions de culture.

En Inde, KUMAR (1979) recommande l'utilisation des porte-greffe de C. canephora pour diminuer les dégâts dues à P. coffeae. Un vaste programme de greffage a été lancé en utilisant cette espèce (Anon., 1972), sans connaître pourtant la variabilité intraspécifique pour la résistance ou la tolérance.

2.4.3 Conclusions

Les conclusions suivantes peuvent être tirées :

- i) il existe d'importants problèmes d'identification des espèces de Meloidogyne et Pratylenchus attaquant le caféier,
- ii) on a très peu d'information sur l'héritabilité et la durabilité de la résistance du caféier vis-à-vis des nématodes,

iii) les méthodes d'évaluation de résistance peuvent être améliorées pour Meloidogyne ; dans le cas de Pratylenchus, l'objectif doit être le développement d'une méthode de test précoce efficace et applicable au criblage variétal,

iv) seuls quelques pays ont envisagé une stratégie de lutte génétique contre les nématodes, impliquant l'utilisation de porte-greffes de C. canephora ; cependant les populations de C. canephora utilisées, avec l'exception du Brésil, n'ont pas été sélectionnées et très peu d'informations sont disponibles sur la variabilité existante à l'intérieur de cette espèce de caféier.

v) l'amélioration génétique du caféier pour la résistance aux nématodes doit donc prioritairement passer par les phases suivantes :

- a. amélioration des tests de résistance,
- b. meilleure connaissance de la variabilité intra et interspécifique des espèces de Coffea pour la résistance ou tolérance aux nématodes les plus importants, ainsi qu'une meilleure connaissance de l'héritabilité de la résistance,
- c. criblage variétal pour C. arabica et C. canephora,
- d. utilisation de géniteurs sélectionnés dans les programmes d'hybridation (C. arabica, C. canephora),
- e. meilleure connaissance de la relation hôte-parasite, notamment les aspects concernant la spécificité de la résistance du caféier à l'égard de Meloidogyne.

Le présent travail apporte une contribution à l'étude de quelques thèmes prioritaires.

En ce qui concerne la disponibilité d'éventuelles sources de résistance, il existe en Amérique Latine d'importantes collections de caféiers sur le Centre International de Turrialba, au Costa Rica, et à l'Institut "Agronomico de Campinas" au Brésil. D'autre part, la participation d'organismes de coopération internationale tels le CIRAD, facilite les contacts avec les pays africains où il existe également d'importantes collections de caféiers : origines sylvestres de C. arabica, et populations d'espèces diploïdes, par exemple C. canephora, C. excelsa, et C. dewevrei.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1 Introduction

Seront présentées dans ce chapitre des considérations générales sur l'origine du matériel végétal, ainsi que sur les méthodes communes à toute la série d'essais réalisés. La figure 1 présente les Centres de Recherche et/ou les pays qui ont fourni le matériel végétal et les différentes souches de nématodes utilisées lors de nos travaux. A l'intérieur de chacun des chapitres successifs, seront abordés de façon plus spécifique les aspects méthodologiques pouvant mériter des explications et des développements complémentaires.

3.2 Le matériel végétal

3.2.1 Type et origine du matériel utilisé

Le matériel végétal a été fourni sous la forme de semences par différents centres de recherche du caféier :

a. L'Institut de Recherches Agronomiques du Cameroun
(Station de l'IRA à Foumbot),

- Origines Ethiopiennes de C. arabica.

Les lignées expérimentales en évaluation pour la résistance aux nématodes sont issues de graines obtenues par fécondation libre, récoltées sur des plantes de C. arabica dans la collection de l'Institut de Recherches Agronomiques du Cameroun (IRA) à Foumbot. Selon la littérature (CARVALHO, 1988), on peut considérer que au moins 90 % des graines de plantes de C. arabica proviennent d'autofécondation. Il s'agit de lignées d'origine semi-spontanée d'Ethiopie collectées par une mission ORSTOM en 1966 (CHARRIER, 1978).

L'historique et l'étude des descendance de ces origines Ethiopiennes (GUILLAUMET et HALLE, 1978) sont présentés dans un ouvrage conjoint ORSTOM-IFCC publié sous la direction de CHARRIER (1978). Soixante-dix origines semi-spontanées ont été collectées dans les provinces de Kaffa et de l'Illubabor. Une partie des graines récoltées, pour la plupart, sur des pieds individuels, a été placée à la station de Gimma en Ethiopie et une autre partie a été répartie en Côte d'Ivoire, au Cameroun et à Madagascar. Dans chacun de ces pays les collections ont été répétées dans des zones écologiques différentes. Au Cameroun on trouve en basse altitude (± 200 m), la station de Nkoemvone et en moyenne altitude (1.000 m), la station de Foumbot.

Au départ, l'idée principale qui a prévalu pour la collecte de ce matériel était de savoir si le centre d'origine éthiopien pouvait fournir des types de C. arabica mieux adaptés aux zones écologiques de basse altitude des pays africains (CHARRIER, 1978). Par la suite, on a pu constater que ces origines possédaient des résistances partielles à la rouille orangée (Hemileia vastatrix, CHARRIER, 1985 ; LEGUIZAMON, 1985 ; MULLER,

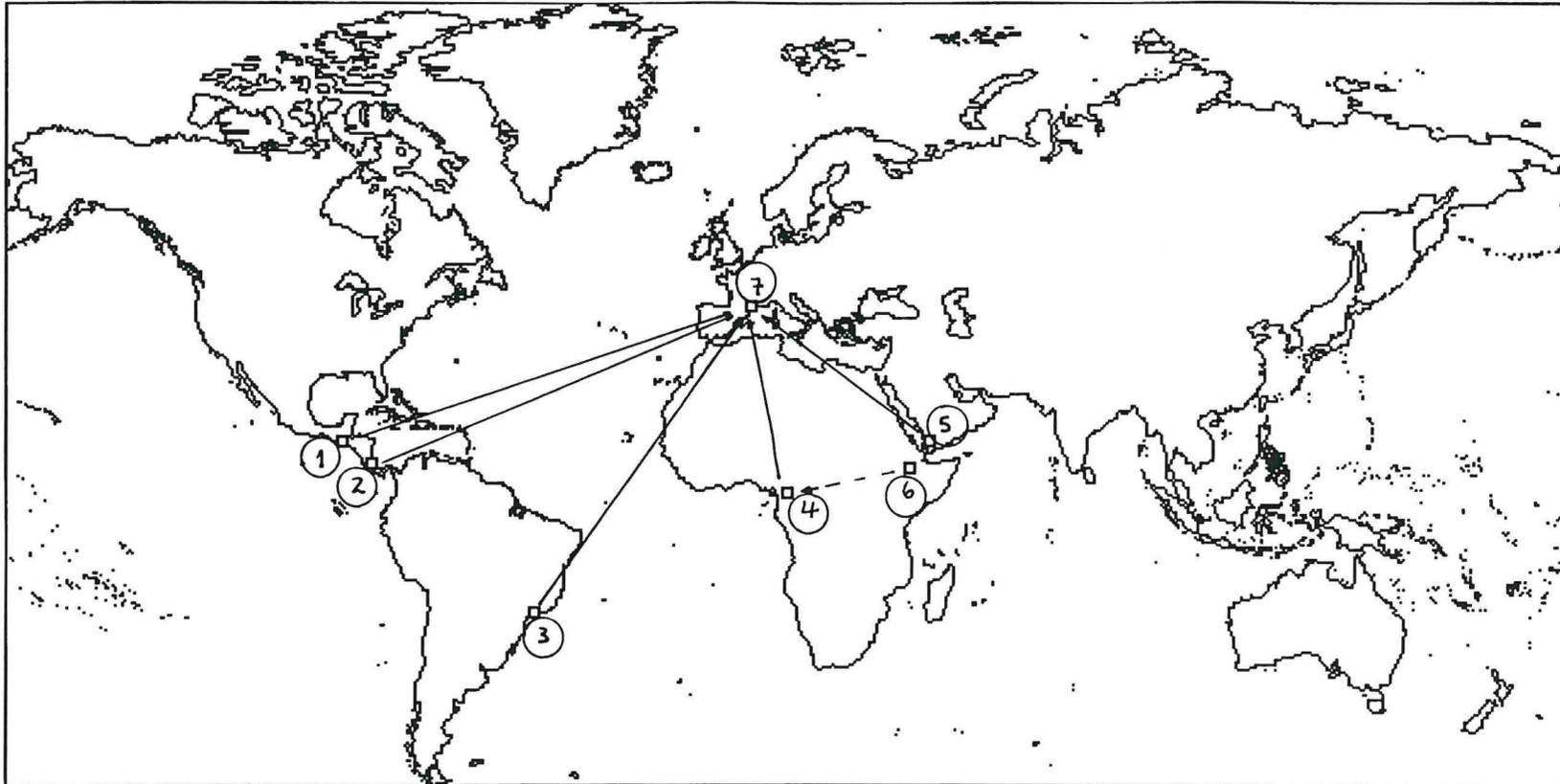


Figure 1 : ORIGINE DU MATERIEL VEGETAL ET DES POPULATIONS DE NEMATODES UTILISEES.

- 1) Guatemala (ANACAFE) : souche-1 de *Meloidogyne* sp., souche de *Pratylenchus* sp.
- 2) CATIE (Costa Rica) : matériel vegetal ; 3) Brésil (IAC) : souche-2 de *Meloidogyne* sp. et matériel vegetal.
- 4) Cameroun (IRA/IRCC) : matériel vegetal ; 5) Yémen (prospection IBPGR/CIRAD) : matériel vegetal
- 6) Ethiopie (prospection ORSTOM-IRCC 1966). [Laboratoire de Nematologie CIRAD-IRFA, France (7)].

1984), et des gènes de résistance à l'antracnose des baies (Colletotricum coffeanum, CHARRIER, 1985). Ce matériel n'avait pas cependant été évalué pour sa résistance vis-à-vis des nématodes. En 1991, en Amérique Centrale un programme d'amélioration génétique a été initié ; il se base sur l'utilisation des hybrides entre lignées Ethiopiennes et les variétés cultivées. Les objectifs sont la résistance aux nématodes, la résistance à la rouille orangée et la résistance au CBD (ESKES, 1992).

- Hybrides entre variétés cultivées de C. arabica et des origines éthiopiennes

Les descendances utilisées dans nos travaux sont issues, généralement, de graines obtenues par fécondation libre, récoltées sur des plantes hybrides de première génération (F1) entre des variétés cultivées de C. arabica et des origines éthiopiennes. Des travaux concernant ce type d'hybridation ont été menés par le CIRAD-IRCC au Cameroun (SALLEE, 1985) et par l'ORSTOM en Côte d'Ivoire (LE PIERRES et VAN DEN ASSEM, 1983). Les essais implantés en haute et basse altitude visaient l'étude de la transmission de la sensibilité à l'antracnose des baies, de la résistance incomplète à la rouille orangée, ainsi que la recherche des meilleures aptitudes à la combinaison (SALLE, 1985).

b. Le Centre Agronomique Tropical de Turrialba (CATIE) Costa Rica,

La collection de caféiers du CATIE rassemble une grande diversité de matériels végétaux. Depuis de nombreuses années, cette collection a fourni plusieurs génotypes de caféier à plusieurs pays, pour l'étude et la recherche de sources de résistance concernant différentes maladies et parasites du caféier. Ce fut le cas du génotype T 3561 du cv. Robusta (C. canephora), utilisé par les chercheurs brésiliens pour la sélection du porte-greffe Apoata (LC 2258), résistant à Meloidogyne spp (cf. 2.4.1.3). Des descendances de C. canephora originaires de Turrialba ont été utilisées lors des différents essais menés avec les deux populations de Meloidogyne (souche guatémaltèque et souche brésilienne) et la population de Pratylenchus sp.

De la même façon, le CATIE, a fourni certaines descendances de Catimors (Caturra x Hybride de Timor) . Dans le chapitre 2, on signale l'existence d'une résistance à l'égard de Meloidogyne spp chez quelques dérivés de l'Hybride de Timor. En Amérique Centrale, sous la coordination du programme régional, PROMECAFE, de très nombreuses descendances de Catimor sont évaluées au champ, dans le cadre d'études menées sur la résistance à la rouille orangée dans la région. Les premières évaluations agronomiques avec ces matériaux ont été réalisées par PROMECAFE au CATIE.

La variété Catuai de C. arabica, témoin privilège dans nos travaux, a été également fourni par le CATIE. Il s'agit d'une lignée fixée, issue d'une hybridation intraspécifique (CARVALHO & MONACO, 1972). Cette variété est largement cultivée au Brésil et dans d'autres pays d'Amérique Latine pour ses qualités agronomiques (nanisme, productivité), bien qu'elle soit très sensible aux nématodes, comme la plupart des variétés cultivées de C. arabica.

c. L'Institut Agronomique de Campinas (IAC) du Brésil

De la collection de l'IAC, nous avons reçu quatre sélections de pollinisation libre de C. canephora appartenant aux types : Robusta, Kouillou, Laurentii et Apoata, ainsi que deux descendances de C. arabica : Amphillo et Sarchimor, connues pour posséder un certain niveau de résistance au Meloidogyne spp au Brésil.

d. Prospection de l'IBPGR/CIRAD au Yémen

Quelques génotypes appartenant à la prospection réalisée par l'IBPGR et le CIRAD-IRCC en Yémen du Sud (ESKES & MUKRED, 1989), sont inclus dans travaux d'évaluations pour la résistance aux nématodes. Ces chercheurs signalent que l'objectif de la prospection était d'identifier, de décrire et de collecter des types locaux de caféier C. arabica. Six types ont été distingués sur la base des observations morphologiques et identifiés suivant les noms locaux ou les vallées d'origines. Vingt-deux échantillons de semences ont été récoltés pour établir des collections. KUKHANG (1991) a effectué une évaluation de ces origines yéménites vis-à-vis de la rouille orangée ; ses résultats montrent une réaction de sensibilité généralisé de ces génotypes à cette maladie.

3.2.2 CONDUITE DES PLANTS

Lorsque les plants de caféiers issus de semis ont atteint le stade "petit soldat", environ 50 jours après le semis, ils sont repiqués dans des pots en matière plastique, et remplis avec un mélange de terreau et de sable (proportion 2:1, pH : 5.5). Seulement pour les études de méthodologie (mise au point de tests), le substrat a été stérilisé au four Pasteur pendant 1 heure à 180 °C.

Les plantes restent alors environ un mois en serre, où la température varie entre 20 et 30 °C et où l'humidité relative oscille entre 50 et 90%. Enfin ces plantes, au stade cotylédons déployés ("papillon"), sont placées dans une cellule climatisée à température constante (25°C), la photopériode étant de 12h/12h et dont l'humidité oscille entre 75 et 85%. Dans ces conditions, les plantules sont ensuite inoculées avec l'espèce et la(es) dose(s) de nématodes spécifiques pour chaque essai.

Le jour précédant les inoculations, les plantes sont arrosées au point de saturation du sol. Après son dosage, l'inoculum est déposé au niveau du collet de chaque plantule à l'aide d'une micropipette, le volume de la suspension appliqué varie entre 2 et 3 ml selon l'ajustement des doses.

3.3 Les nématodes utilisés

3.3.1 Meloidogyne spp.

Deux populations de Meloidogyne ont été utilisées lors des criblages variétaux.

La population la plus utilisée (souche 1) provient de racines fortement attaquées de C. arabica cv. Catuai prélevées au champ au Guatemala. Dans un premier temps on a inoculé des plantules en serre avec des nématodes extraits de ces racines. L'inoculum a été par la suite maintenu sur des plants de tomate (variété "Nainemor"). Une culture pure développée à partir d'une seule masse d'oeufs a été multipliée et utilisée ensuite pour nos expériences.

Des tentatives d'identification de cette souche ont été réalisées, par des études morphologiques en Angleterre (C.A.B.International), et par l'analyse des isoenzymes à l'INRA d'Antibes. Les résultats identifient le phénotype enzymatique "F1", espèce "non décrite" (cf. 2.3.1.5). Le même phénotype "F1" a été obtenu soit avec des extraits de femelles issues des plantes de tomate inoculées avec la population brute, soit avec des extraits de femelles issues de plantes inoculées avec la culture pure. Cela suggère donc, que l'échantillon prélevé au champ au Guatemala correspondait à une population homogène.

La deuxième population de Meloidogyne (souche 2) provient du Brésil (Sao Paulo). Elle nous a été fournie sous le nom de "M. incognita". Cependant, l'identification morphologique faite par le C.A.B.International nous indique qu'il s'agit d'une espèce (ou sous-espèce) différente de M. incognita et de l'espèce du Guatemala (souche 1).

Trois autres populations prélevées sur caféiers de C. arabica (plants fortement attaqués) dans différentes régions du Guatemala, n'ont pas été utilisées lors du présent travail de recherche, mais celles-ci ont été envoyés au C.A.B.International pour identification (caractères morphologiques). Les résultats indiquent que ces populations sont identiques à la souche 1. Il semblerait par conséquent, que cette espèce a une large distribution dans ce pays.

3.3.2 Pratylenchus sp.

La population de Pratylenchus utilisée dans nos travaux a été prélevée au Guatemala dans la ferme expérimentale Buena Vista, dans la région de Retalhuleu. Elle a été collectée sur des racines de caféiers arabica de la variété Catuai. L'échantillon a été ensuite envoyé à Montpellier.

Au départ nous avons considéré qu'il s'agissait de Pratylenchus coffeae, nématode signalé comme un de principaux parasites du caféier au Guatemala (CHITWOOD et BERGER, 1960 ; SCHIEBER et SOSA, 1960). Cependant, l'étude taxonomique faite au C.A.B. International a identifié cet échantillon comme Pratylenchus loosi. Ceci est surprenant, car ce parasite est présent en Asie où il ravage surtout les plantations de thé. En fait il n'existe qu'une seule référence signalant P. loosi comme parasite du caféier à Ceylan (HUTCHINSON cité par WHITEHEAD, 1969).

Toutefois, des réserves ayant été émises sur cette identification, on considère qu'il est plus prudent, dans l'attente d'un diagnostic définitif, de conserver l'appellation Pratylenchus sp. pour cette population guatémaltèque.

On est confronté à la nécessité de produire en permanence des quantités très importantes de la souche de nématodes pour la réalisation des tests. Après extraction à partir des racines de caféier, la population de Pratylenchus sp. est entretenue et multipliée au moyen d'un élevage in vitro sur disques de carotte, selon la méthode décrite par O'BANNON et TAYLOR (1968) puis BONCATO et DAVIDE (1980). Cette méthode a été utilisée pour l'élevage de cette population de Pratylenchus sp. parasite du caféier (ANZUETO, 1989). Une fois les disques de carottes inoculés, les flacons sont placés dans une étuve à 29 °C ; les nématodes commencent à sortir des rondelles de carotte entre la 6ème et la 8ème semaine après l'inoculation. Ils migrent ensuite sur les parois du flacon, d'où ils sont récupérés par lavage des parois ; la densité de nématodes (tous stades confondus) contenus dans la suspension est évaluée par comptage sur une partie aliquote.

Plusieurs observations montrent qu'une proportion très importante de nématodes reste à l'intérieur des rondelles de carotte. Ceci a été également signalé pour les élevages in vitro sur rondelles de carotte de Pratylenchus brachyurus, parasite de l'ananas (MARGUERITTE, 1991). Pour disposer d'une quantité plus importante d'inoculum (pour de larges criblages variétaux, par exemple), il est possible de procéder à l'extraction des nématodes des carottes. MARGUERITTE (1991) recommande le broyage rapide des rondelles de carottes (2 fois 5 secondes) dans 100 ml d'eau ; le broyat est disposé sur un papier absorbant type kleenex, lui-même posé sur un tamis à maille large (1 mm). L'ensemble est immergé dans de l'eau, qui est oxygénée par des aérateurs pour permettre la survie des nématodes, qui vont alors migrer hors des rondelles, puis passer à travers le papier absorbant ; on récupère alors l'eau de trempage, renfermant les

nématodes. Dans le cadre de nos travaux la quantité prélevée sur les parois des flacons a été suffisante et nous n'avons pas eu besoin de recourir à l'extraction des nématodes à partir des rondelles de carotte.

3.4 Méthodes d'évaluation de la résistance

3.4.1 Meloidogyne spp.

3.4.1.1 Le type d'inoculum

L'étude de la variabilité génétique a été réalisée à partir de la culture pure de Meloidogyne sp. (souche 1).

Dans les premiers essais l'inoculum utilisé est constitué de formes juvéniles du 2ème stade (J2). Les racines de tomate infestées sont broyées au mixeur et passées sur une colonne de tamis (250, 80, 50 et 32 μ m). Ensuite les J2 de la suspension sont récupérées par une technique de macération aérobie. Au bout de 18 heures on récupère l'eau de trempage ; la suspension des J2 est placée dans un tube puis dénombrée au microscope pour ajuster la dose. Même si les J2 constituent un type d'inoculum efficace, son utilisation présente quelques inconvénients :

- la récupération de grandes quantités de J2 dans nos conditions de travail reste assez limitée et,

- l'option de travailler avec des J2 oblige à manipuler l'inoculum rapidement et avec soin, en considérant qu'il s'agit du seul stade infestant de Meloidogyne et que leur vieillissement physiologique amène une diminution du pouvoir de pénétration dans les racines (cf. 2.3.1.4).

En raison de ces inconvénients, l'utilisation de suspensions d'oeufs comme inoculum, a été privilégiée dans les essais suivants.

Pour la récupération des oeufs, les racines de tomate infestées sont coupées en morceaux de 2 cm environ, puis broyées au mixeur, pendant 40 secondes, dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 0,5% (TAYLOR et SASSER, 1978) ; le contenu est passé sur deux tamis (80 et 32 μ m). On récupère la solution dans ce dernier tamis (32 μ m), que l'on rince abondamment à l'eau du robinet. La suspension d'oeufs récupérée est dénombrée au microscope. Avec cette technique on récupère, de façon simple, de grandes quantités d'oeufs.

Plusieurs chercheurs ont souligné un effet négatif du NaOCl sur l'éclosion des oeufs et sur le pouvoir infestant des J2 de Meloidogyne spp. qui en sont issues (VRAIN, 1977 ; O'BANNON et al., 1985 ; DI VITO et al., 1986). Dans un travail devenu classique, HUSSEY et BARKER (1973) signalent que, malgré cette sensibilité des oeufs au NaOCl (variable selon l'espèce du nématode), la récupération de l'inoculum par cette méthode présente plusieurs avantages : elle est simple et rapide, la

surface de l'oeuf est stérilisée, l'inoculum est aisément standardisé et l'inoculum peut être distribué uniformément sur le système racinaire. Ces auteurs travaillant avec M. incognita sur des plantules de tomate sensibles, estiment que le pourcentage d'infection (mesuré par la pénétration des juvéniles) est de l'ordre de 54,1 % (à 26 - 30°C), à partir d'un inoculum extrait avec du NaOCl à 0,53 %. D'autre part, VRAIN (1977) reporte un pourcentage d'infection de 19,8 % (à 24 ± 2°C), l'inoculum étant également extrait avec du NaOCl à 0,53 %.

3.4.1.2 Variables observées.

a. Population de nématodes

Pour l'extraction des nématodes des racines, on a fait appel à deux variantes de la méthode d'extraction. Pour l'essai 1 (cf. 4.3.1) on a utilisé la méthode de centrifugation - flottaison (COOLEN & D'HERDE, 1972). Dans l'essai de descendance F2 (cf. 4.3.2) l'extraction des nématodes est réalisée en utilisant une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl), les racines du caféier sont coupées en petits morceaux, puis sont broyées au mixeur, pendant 40 secondes, dans une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % de concentration (TAYLOR et SASSER, 1978).

b. Nombre de masses d'oeufs

La notation des masses d'oeufs adhérant à la surface des racines, sous loupe binoculaire, est une technique fiable et très simple, qui permet en outre, d'observer d'autres aspects qualitatifs (taille des masses par exemple). En absence apparente de masses extérieures, on peut disséquer les racines pour observer l'éventuelle présence de femelles qui ne sont pas totalement développées. La coloration des racines à la phloxine B (HARTMAN, 1982) facilite le comptage des masses d'oeufs. Cependant, on a constaté que, avec un peu d'expérience, il est possible de repérer aisément les masses d'oeufs sans coloration des racines. En conséquence, la pratique de la coloration des racines a été exclue par la suite.

Le nombre de masses d'oeufs constitue le principal critère retenu, dans toute notre démarche expérimentale, pour le classement des plantes et/ou génotypes, d'après leur réactions (résistantes ou sensibles) à l'égard de Meloidogyne spp. Les notations portent sur les indices de masses d'oeufs par plante et correspondent à l'échelle proposée par TAYLOR et SASSER (1978). (cf. 2.4.12)

3.4.2 Pratylenchus sp.

Pour la mise au point méthodologique des tests de résistance et/ou tolérance, les observations sur les caféiers ont porté sur les variables végétatives suivantes : hauteur de tige, poids frais des parties aériennes et poids frais de racines. Ces variables sont mesurées aussi bien pour le témoin sans nématodes, que pour les plantes inoculées.

Les nématodes sont extraits par la méthode de centrifugation - flottaison (COOLEN & D'HERDE, 1972). Ensuite la densité de nématodes, soit le nombre d'individus par gramme de racine est calculée.

Pour les études de la variabilité génétique du caféier vis-à-vis du nématode, il a été introduit un autre critère de notation : l'estimation de la surface de racines nécrosées (ESRN) exprimée en pourcentage (%), selon l'échelle arbitraire suivante :

indice	surface de racines nécrosées
0	5% <
1	5-25%
2	26-50%
3	51-75%
4	> 75%

Cette variable permet des observations rapides et pourrait constituer le critère principal pour le classement des génotypes dans des criblages variétaux. Elle décrit les dégâts globaux observés sur les racines, qui traduisent une expression de tolérance ou de sensibilité des génotypes en évaluation.

3.5 Méthodes statistiques

Le traitement des données a été réalisé sur le logiciel STATITCF.

3.5.1 Etudes avec Meloidogyne spp.

Dans le premier essai, Ethiopie-1, les données des populations de nématodes ([oeufs + J2]/ g de racine) sont traitées par analyse de variance après transformation logarithmique ($\log(x)$). Le test de NEWMAN & KEULS ($P = 0.05$) est utilisé pour le classement des moyennes.

Pour les essais suivants (Ethiopie-2, 3 et 4), le seul critère considéré pour la résistance à Meloidogyne est la variable nombre de masses d'oeufs par racine. Les essais Ethiopie-2, 3 et 4, présentent une grande hétérogénéité des variances. Des transformations ont été essayées, mais les valeurs n'ont pas pu être normalisées. Le test non paramétrique de KRUSKAL & WALLIS est alors utilisé. Si le test s'avère significatif on compare ensuite, les rangs moyens des traitements à l'aide d'un calcul proposé par le logiciel STATITCF ; le test de Mann et Whitney est utilisé pour séparer deux traitements :

$$|S_u - S_v| > Z\alpha_{uv}$$

$$\alpha_{uv} = \left[\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{n_u} + \frac{1}{n_v} \right) \right]^{\frac{1}{2}}$$

S = rang moyen

Z = valeur lue sur une table de la loi normale au niveau de signification $\alpha/t(t-1)$

N = nombre totale d'observations

n = nombre de répétitions par traitement

Les données obtenues dans les essais suivants ont permis l'utilisation de l'analyse de variance. Cependant, le test de KRUSKAL & WALLIS est appliqué parallèlement ; et les tableaux des résultats des essais donnent le classement des moyennes effectués à partir des deux méthodes d'analyse.

3.5.2 Etudes avec Pratylenchus sp.

Pour l'étude de la tolérance du caféier à Pratylenchus, des analyses de variance ont été réalisées sur les variables végétatives : hauteur de tige, poids des parties aériennes et poids de racine. De façon générale, la distribution de ces données permet l'analyse sans transformation de variables. Pour les populations de nématodes extraits des racines, les variances se révèlent hétérogènes, les données sont analysées après transformation logarithmique, $\log(x)$, l'écart-type et les moyennes étant très corrélés.

Les données de l'estimation de surface de racines nécrosées, exprimées en pourcentage, sont transformées à $\text{ARCSIN } \sqrt{x}$.

Suite à l'analyse de variance, le test de NEWMAN & KEULS ($P = 0.05$) est également utilisé pour le classement des moyennes.

4. ETUDE DE LA RESISTANCE DES CAFEIERS A MELOIDOGYNE SPP.

4.1 Introduction

Meloidogyne spp. provoque d'importants dégâts sur toutes les variétés cultivées de C. arabica dans plusieurs pays, notamment en Amérique Centrale et au Brésil.

L'objectif de cette étude est la connaissance de la variabilité de la résistance du caféier vis-à-vis de Meloidogyne spp en vue de l'obtention de variétés résistantes à ces nématodes. Les génotypes de C. arabica étudiés correspondent à des introductions "sauvages" d'Ethiopie, non évaluées pour leur résistance aux nématodes. Certaines sources de résistance connues au sein de C. arabica, ont été également étudiées. En ce qui concerne C. canephora, plusieurs descendancees originaires du Brésil et d'Amérique Centrale ont été évaluées.

Une souche de Meloidogyne sp. originaire du Guatemala a été utilisée dans la plupart des essais ; la virulence de cette souche a été comparée dans un essai à celle d'une autre souche de Meloidogyne prélevée au Brésil, connue dans ce pays pour sa nocuité vis-à-vis du caféier. La transmission de résistance est étudiée dans des descendancees F2 de croisements entre certaines origines éthiopiennes et des variétés cultivées de C. arabica. De ces résultats se dégagent des informations sur la nature de la résistance. Des observations histologiques complètent cette étude.

Le critère privilégié pour l'étude de la résistance est le nombre absolu de masses d'oeufs par racine. Du fait du niveau de résistance qu'il est possible de trouver chez le caféier, la recherche de la tolérance vis-à-vis de Meloidogyne spp., n'a pas été envisagée dans cette étude.

Les aspects méthodologiques spécifiques n'ont pas été étudiés ; cependant à partir des résultats obtenus dans les différents essais, certaines retombées méthodologiques sont mises en évidence et sont discutées.

4.2 Conditions expérimentales appliquées

Le tableau 2 regroupe les protocoles suivis pour les différents essais.

Les plantes utilisées étaient âgées de 2 mois environ, (stade cotylédons déployés), sauf pour le troisième essai (Ethiopie-3), où pour un problème de limitation de la surface disponible, les plantes préparées pour cet essai, étaient âgées de 4 mois au moment de l'inoculation.

Le nombre de répétitions (plantes inoculées) a varié selon les caractéristiques de l'essai, et dans les limites imposées par l'espace disponible. Pour une optimisation de l'espace, dans la majorité des essais, 4 plantules ont été repiquées dans chaque pot. Aucun effet "pot", évalué à l'aide des données obtenues sur le nombre de masses d'oeufs avec les variétés témoin, n'a été constaté (tableau 3). Les résultats sont analysés plante par plante, sur la base de l'absence d'un effet pot. Le dispositif expérimental est en randomisation totale.

La dose d'inoculum pour les premiers essais a varié entre 100 et 180 J2 ; par la suite l'utilisation de suspensions d'oeufs a été privilégiée comme type d'inoculum (voir 3.4.1.1). Les doses ont varié entre 400 et 1500 oeufs par plante.

En observant les données des variétés témoin (tableau 3), on constate qu'aucune plante n'a échappé à l'inoculation avec les deux types d'inoculum. Cependant, le coefficient de variation était plus élevé dans l'essai éthiopie-2, inoculé avec une dose de 400 oeufs. Aussi avons-nous, par la suite, tout en maintenant le même nombre de répétitions augmenté la dose d'inoculum à 800 oeufs par plante, ce qui a donné des résultats plus homogènes.

La durée de l'essai (période d'incubation) se situe entre 4 et 6 mois. Si l'on estime d'une part, que le cycle de vie du nématode chez les jeunes caféiers se situe entre 5 et 6 semaines (LIMA, 1984), et d'autre part, que la femelle peut continuer sa production d'oeufs pendant deux ou trois mois (TAYLOR & SASSER, 1978), il est donc probable que les masses d'oeufs que l'on observe lors des comptages (masses bien développées) soient produites par les femelles issues de l'inoculum primaire.

Tableau 2 : Tableau résumé des protocoles suivis pour les tests avec Meloidogyne spp.

ESSAI	Nb T	Nb PLANTES	SOUCHE	DOSE	PERIODE d'incubation	EVALUATION de la résistance
1. Ethiopie-1	36	4 (1 pt/pot)	Gu	100 J2	3 mois	reprod. relative
2. Ethiopie-2	35	12 (4 pts/pot)	Gu	180 J2	4 "	nb. masses/racine
3. Ethiopie-3	14	12 (")	Gu	400 oeufs	4 "	" "
4. Ethiopie-4	42	12 (")	Gu	800 "	5 "	" "
5. Populations F2	8	32 (")	Gu	1500 "	4 "	" "
6. Souches M. spp	20	5 (1 pt/pot)	Gu - Br	1500 "	4 "	" "
7. Arabica Brésil	3	20 (4 pts/pot)	Gu	180 J2	5 "	" "
8. Catimors	9	12 (")	Gu	800 oeufs	5 "	" "
9. Canephora-1	8	20 (")	Gu	800 "	6 "	" "
10. Canephora-2	6	8 (")	Br	800 "	6 "	" "
11. Canephora-3	5	20 (")	Gu	180 J2	5 "	" "
12. Microboutures	3	4 (1 pt/pot)	Gu	800 oeufs	5 "	" "

Nb T = nombre de traitements (lignées ou descendance + témoin sensible)

Nb Plantes = nombre de plantes = nombre de répétitions

Gu = Meloidogyne sp. du Guatemala

Br = Meloidogyne sp. du Brésil (*M. incognita*?)

reprod. relative = reproduction relative des nématodes (comptage par extraction)

nb. masses/racine = nombre total de masses d'oeufs par racine (comptage)

Tableau 3 : Analyse de variance de l'effet "pot" basé sur le nombre de masses d'oeufs des variétés témoins sensibles. Essais avec Meloidogyne sp.

Essai	Nb. pots	Moyenne	Rang	e.t.	c.v.	F
inoc./plante	Nb. pts.					
Ethiopie-2	3					
180 J2	12	67.7	31-101	23.9	35.4	0.57 ns
Canephora-3	5					
180 J2	20	65.1	44-98	17.9	27.5	1.16 ns
Ethiopie-3	3					
400 oeufs	12	52.0	14-107	31.2	60.1	0.22 ns
Catimors	3					
800 oeufs	12	88.6	51-130	20.4	23.0	2.28 ns
Ethiopie-4	3					
800 oeufs	12	47.4	51-130	18.3	38.5	0.13 ns
Canephora-1	5					
800 oeufs	20	94.9	27-76	31.0	32.7	1.24 ns
F2 (Caturra)	8					
1500 oeufs	32	52.4	31-76	11.7	22.3	1.41 ns
F2 (Catuai)	7					
1500 oeufs	28	41.8	25-74	12.9	30.8	1.13 ns

inoc./plante = dose d'inoculum par plante

Nb. pots = nombre de pots par traitement

Nb. pts. = nombre de plantes par traitement (Nb. pots x 4)

e.t. = écart type

c.v. = coefficient de variation

F = valeur de F

4.3 COFFEA ARABICA

4.3.1 Variabilité des origines éthiopiennes

4.3.1.1 Introduction

Les introductions d'Ethiopie de la prospection ORSTOM/IRCC ont été utilisées pour cette étude. Au total, quatre tests de résistance ont été réalisés, ayant pour but l'étude de la variabilité à l'intérieur de ce matériel.

Les premiers résultats obtenus portent sur un essai conduit pendant le DEA (ANZUETO, 1989), le matériel utilisé a été reçu sous la forme d'un mélange de semence collectées sur deux ou trois plantes pour chaque origine. L'analyse de cet essai a porté sur les données de populations de nématodes extraites des racines, ayant permis le calcul des taux de reproduction relative (TAYLOR, 1967) (cf. 2.4.1.2). L'extraction étant une méthode très lourde, on a privilégié par la suite le comptage des masses d'oeufs (cf. 3.4.1.1). La notation des masses constitue par ailleurs, un critère largement utilisé dans les études de variabilité génétique vis-à-vis de M. incognita (GONCALVES & FERRAZ, 1987).

Les essais 2, 3 et 4 complètent l'étude de la résistance des descendances éthiopiennes ; la semence utilisé provient de plantes individuelles identifiées au champ. Ceci permet d'émettre certaines hypothèses sur la ségrégation des caractères de résistance lors de leur transmission, ceci avec une certaine réserve imposé par le nombre de plantes testées.

4.3.1.2 Résultats et discussion

D'abord seront discutés quelques aspects relatifs aux dégâts macroscopiques observés sur les plantes (parties aériennes et racines). Ensuite seront analysés certains aspects génétiques liés à la réaction des matériels étudiés vis-à-vis du nématode.

a. Dégâts et symptômes macroscopiques

En général, les plantes de la variété témoin (Catuai) et les plantes des lignées sensibles montrent des symptômes sur la partie aérienne tels que : réduction de croissance, chlorose, réduction de la taille des feuilles, carences nutritionnelles.

Sur les racines des matériels sensibles, on observe de façon très nette (sous loupe binoculaire) la présence de nombreuses masses d'oeufs extérieures, mais pas de formation des galles "typiques" du genre Meloidogyne (photos 1 et 2).

De façon générale, les racines des plantes sensibles ont été fortement endommagées. Chez les plantes résistantes les racines ne montrent aucun symptôme visible ; on observe éventuellement la présence de quelques masses d'oeufs chez certaines plantes.

c. Variabilité des introductions éthiopiennes

- Essai 1

Les résultats du premier essai exploratoire sont montrés dans le tableau 4.

Malgré la grande variation observée (3 à 1098 nématodes par gramme de racine), l'analyse de variance de la densité de nématodes (données transformées en log (x)) montre seulement une différence significative entre ET 40 et le témoin sensible. Le test de Kruskal & Wallis n'est pas significatif. L'absence de signification est due à la grande variabilité observée à l'intérieur des introductions et au faible nombre de répétitions (4). Cependant, la grande différence observée entre introductions justifie une discussion des résultats.

Ainsi on observe l'existence d'un haut niveau de résistance chez plusieurs introductions vis-à-vis de la souche de Meloidogyne sp. guatémaltèque. Vingt-quatre introductions ne présentent que des plantes avec un taux de reproduction relative du nématode (TRR) inférieur à 25% par rapport au témoin Catuai. On peut repérer des origines aussi sensibles que le Catuai, et des origines avec 1 ou 2 plantes "sensibles", ce qui suggère déjà une variation pour la résistance à l'intérieur des introductions.

Ce haut niveau de résistance de plusieurs introductions éthiopiennes était inattendu, car en général C. arabica est considéré comme sensible vis-à-vis des espèces nuisibles de Meloidogyne. On rappelle que le seul matériel connu comme résistant à M. incognita au Brésil est la variété Amphylo. Il est donc justifié de confirmer la résistance des Ethiopiens, aussi bien vis-à-vis de la souche guatémaltèque, que vis-à-vis de la souche brésilienne.

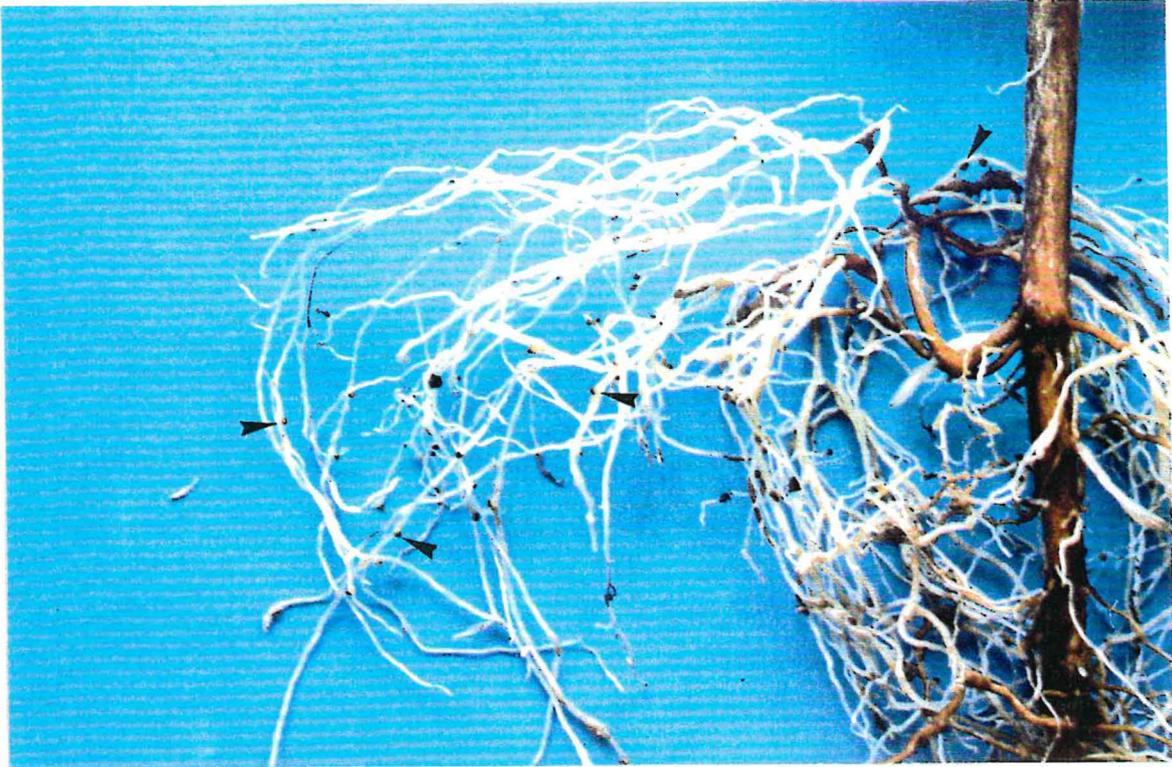


PHOTO 1 : Masses d'oeufs de Meloidogyne sp. sur le système racinaire du caféier sensible.

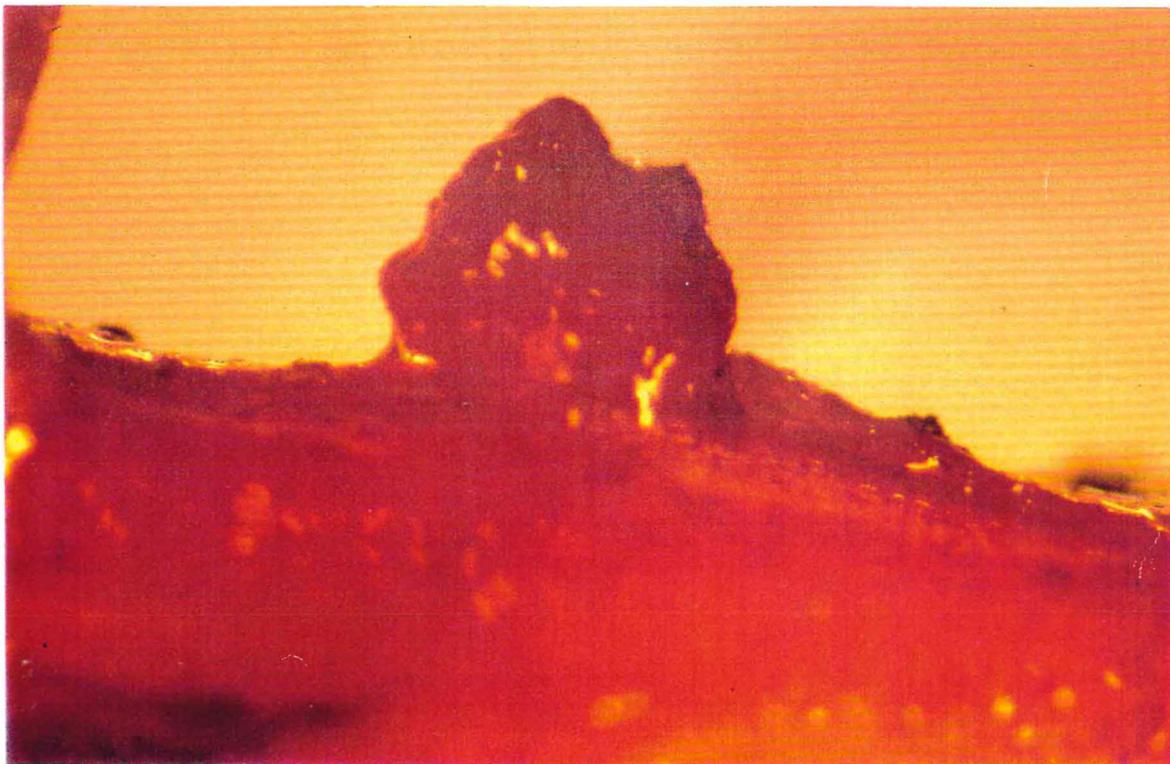


PHOTO 2 : Grossissement d'une masse d'oeufs de Meloidogyne sp. sur racine de caféier sensible (X 40).

Tableau 4 : Evaluation de 35 lignées de *C. arabica* d'origine Ethiopienne vis-à-vis de *Meloidogyne* sp. Densité de nématodes (n/g), indice moyen de reproduction relative (ind) et nombre de plantes par indice (échelle de 0 à 4, selon TAYLOR 1967)¹

Lignée	n/g	ind	Classement des plantes					t.r.		
			0-4	0	1	2	3	4	R	S
				0%	1-10	11-25	26-50	>50		
CATUAI	373.5 ^{bc}	4.0						4	-	4
ET 51	1098.9 ^c	3.5			1			3	1	3
ET 19	253.8 ^{bc}	3.5					2	2	-	4
ET 11b	936.7 ^{bc}	2.7		1	1			2	2	2
ET 21	243.8 ^{ab}	2.5		2				2	2	2
ET 53	158.7 ^{abc}	2.0		2			1	1	2	2
ET 45c7	114.3 ^{abc}	2.0		2	1			1	3	1
ET 60	79.1 ^{abc}	2.0		2	1			1	3	1
ET 45c1	45.3 ^{abc}	2.0			4				4	-
ET 36bc2	342.7 ^{abc}	1.7		3				1	3	1
ET 31	86.2 ^{abc}	1.7		3				1	3	1
ET 37c4	60.0 ^{abc}	1.7		3				1	3	1
ET 24	30.6 ^{abc}	1.5		2	2				4	-
ET 14	26.3 ^{abc}	1.5		2	2				4	-
ET 11c	34.4 ^{abc}	1.5		3			1		3	1
ET 43	29.5 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 2	26.9 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 35	25.7 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 34	25.4 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 8	31.5 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 35dc6	18.6 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 26	21.5 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 13	21.3 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 15	32.8 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 4	19.3 ^{abc}	1.2		3	1				4	-
ET 17	17.6 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 29bc1	14.1 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 33	13.5 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 28	25.1 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 18	11.2 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 27	10.6 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 44	9.2 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 50	7.4 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 47	6.8 ^{abc}	1.0		4					4	-
ET 16	6.4 ^{ab}	1.0		4					4	-
ET 40	3.8 ^a	1.0		4					4	-

F 2.81
cv 51.9%

¹ plante résistante = indice de reproduction relative égal ou inférieur à 25% (valeur 2 de l'échelle) par rapport au témoin Catuai : 373.52 [oeufs + J2]/g racine.

Quand à l'interprétation des résultats, l'utilisation du critère des taux de reproduction relative par rapport au témoin Catuai pour l'évaluation de la résistance semble convenir. En effet les pays producteurs de café en Amérique cultivent le même type de variétés-lignées (Catuai et Caturra) de C. arabica, génétiquement très proches. Par conséquent l'utilisation de la variété témoin sensible (Catuai) peut être facilement standardisée. Cependant, le critère TRR ne permet pas d'identifier des lignées plus sensibles que le témoin. Pour cela, par la suite, une préférence est donnée à l'analyse des données absolues.

- Essais 2, 3 et 4

Les résultats sont regroupés dans les tableaux 5, 6 et 7. L'analyse non-paramétrique montre des différences significatives pour le nombre de masses d'oeufs et pour l'indice de masses.

La présence d'un haut niveau de résistance chez la majorité des origines éthiopiennes est largement confirmée dans les trois essais. De nombreuses lignées étudiées ne présentent que des plantes sans masses d'oeufs extérieures.

Les résultats de l'essai-1 (tableau 4) avaient montré, pour les origines résistantes, la présence d'une faible population de nématodes. Cependant, dans les essais 2, 3, et 4, les lignées correspondant à ces origines ne présentent aucune masse d'oeufs visible. La dissection des racines des plantes résistantes a permis de déceler la présence de petites masses à leur intérieur. Cet aspect sera discuté dans l'étude histologique (voir 4.5).

On constate que les résultats de l'essai 1 sont globalement confirmés par les essais 2, 3 et 4. La plupart des introductions repérées comme probablement résistantes dans l'essai 1 s'avèrent très résistantes dans les autres essais. Cette constatation prend toute son importance même si l'origine des semences n'était pas la même (plusieurs arbres mères pour le premier essai, un seul arbre mère dans les essais suivants). Ceci montre qu'un criblage avec peu de répétitions (essai 1) peut être efficace pour identifier des sources de résistance dans ce matériel.

Tableau 5 : Evaluation de 34 lignées de *C. arabica* d'origine éthiopienne, vis-à-vis de *Meloidogyne* sp.

Lignée	nb. ms	Indice moyen	nombre de plantes par indice ou classe					
			0	1	2	3	4	5
ET 61	76.7 ^c	4,25 ^c				1	7	4
CATUAI	67.7 ^c	4,08 ^c					11	1
ET 49	85.5 ^{bc}	3,92 ^{bc}	1			1	6	4
ET 19	50.6 ^{bc}	3,67 ^{bc}			1	2	9	
ET 53	55.5 ^{abc}	3,17 ^{abc}	2		2	1	4	3
ET 1	15.4 ^{abc}	2,00 ^{abc}	3		5	2	2	
ET 10	18.8 ^{abc}	1,50 ^{abc}	7			2	3	
ET 21	12.4 ^{abc}	1,17 ^{abc}	8			2	2	
ET 5	13.8 ^{abc}	1,00 ^{abc}	8		2		2	
ET 24	16.8 ^{abc}	0,92 ^{abc}	9		1		1	1
ET 11b	7.7 ^{abc}	0,83 ^{abc}	9			2	1	
ET 30	9.0 ^{abc}	0,67 ^{abc}	10				2	
ET 6	2.1 ^{ab}	0,58 ^{ab}	8	2	1	1		
ET 55	4.6 ^{ab}	0,33 ^{ab}	11				1	
ET 31	0.7 ^{ab}	0,25 ^a	10	1	1			
ET 3	0.7 ^a	0,25 ^a	10	1	1			
ET 41	0.4 ^a	0,17 ^a	11		1			
ET 15	0.2 ^a	0,08 ^a	11	1				
ET 35	0.1 ^a	0,08 ^a	11	1				
ET 26	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 2	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 11c	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 9	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 20	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 28	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 4	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 16	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 14	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 27	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 8	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 54	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 52	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 17	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 18	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 34	0.0 ^a	0,00 ^a	12					

H 153.02^{***} 152.85^{***}

nb. ms = nombre de masses d'oeufs par racine
 indice moyen = indice moyen de masses

classement des plantes selon l'échelle de Taylor et Sasser :
 0 = 0, 1 = 1-2, 2 = 3-10, 3 = 11-30, 4 = 31-100, 5 >100 masses

H : test de Kruskal-Wallis = différence significative au seuil 0.001^{***}
 les valeurs affectées par les mêmes lettres ne diffèrent pas.

Tableau 6 : Evaluation de 13 lignées de C. arabica d'origine éthiopienne vis-à-vis de Meloidogyne sp.

Lignée	nb.ms	Indice moyen	nb plantes par indice ou classe					
			0	1	2	3	4	5
CATUAI	52.0 ^c	3,92 ^c				2	9	1
ET 58	26.4 ^{bc}	3,00 ^{bc}	1			8	3	
ET 60	6.0 ^{ab}	0,67 ^{ab}	9	1		1	1	
ET 33	0.5 ^{ab}	0,33 ^{ab}	10		2			
ET 36	0.5 ^{ab}	0,25 ^{ab}	10	1	1			
ET 25	0.3 ^{ab}	0,17 ^{ab}	10	2				
ET 59	0.1 ^a	0,08 ^a	11	1				
ET 57	0.1 ^a	0,08 ^a	11	1				
ET 56	0.1 ^a	0,08 ^a	11	1				
ET 51	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 50	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 43	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 40	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 12	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
H	52.47 ^{***}	57.59 ^{***}						

nb. ms, indice moyen, H, cf. tableau 5

Tableau 7 : Evaluation de 42 descendances de *C. arabica* d'origine éthiopienne vis-à-vis de *Meloidogyne* sp.

Lignée	nb. ms	indice moyen	nb. plantes par indice ou classe					
			0	1	2	3	4	5
CATUAI	47.4 ^d	3,83 ^d				2	10	
ET 38 c2	19.8 ^{bcd}	2,92 ^{bcd}			4	5	3	
ET 45 c2	14.0 ^{bcd}	2,58 ^{bcd}		1	5	4	2	
ET 38c10	14.1 ^{abcd}	2,17 ^{abcd}	2	1	3	5	1	
ET 37 c1	13.1 ^{abcd}	1,08 ^{abcd}	8		1	1	2	
ET 39 c6	2.1 ^{abc}	0,58 ^{abc}	9		2	1		
ET 32bc1	2.8 ^{ab}	0,42 ^{ab}	10	1			1	
ET 35cc5	1.3 ^{abc}	0,42 ^{abc}	9	1	2			
ET 25bc1	5.3 ^a	0,33 ^a	11				1	
ET 32bc5	5.3 ^a	0,33 ^a	11				1	
ET 35cc1	1.3 ^{ab}	0,33 ^{ab}	10		2			
ET 35cc7	2.9 ^a	0,33 ^a	11				1	
ET 37 c5	3.8 ^a	0,33 ^a	11				1	
ET 39 c7	2.5 ^a	0,25 ^a	11			1		
ET 35cd4	1.3 ^a	0,25 ^a	11			1		
ET 38 c6	2.0 ^a	0,25 ^a	11			1		
ET 35dc6	0.7 ^a	0,17 ^a	11		1			
ET 35cc3	0.8 ^a	0,17 ^a	11		1			
ET 37c10	0.3 ^{ab}	0,17 ^{ab}	10	2				
ET 32bc4	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 34bc1	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35bc9	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35cc6	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35dc5	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 29bc1	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 32bc2	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 32bc6	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 32bc8	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35bc1	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35bc2	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35bc5	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35cc8	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35dc8	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 35dc9	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 37 c2	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 37 c6	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 38 c4	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 39 c1	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 39 c5	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 39 c8	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 39 c9	0.0 ^a	0,00 ^a	12					
ET 46 c2	0.0 ^a	0,00 ^a	12					

H 128.5^{***} 126.5^{***}

nb. ms, indice moyen, H, cf. tab. 5

Le faible nombre de plantes par lignée testés (12) ne permet pas une analyse très précise du déterminisme génétique de la résistance des introductions Ethiopiennes. Cependant, la grande variabilité observée dans les essais 2, 3 et 4, entre et à l'intérieur des lignées, permet les considérations suivantes :

- cinquante-neuf lignées se présentent comme uniformément très résistantes (toutes les plantes avec zéro masses d'oeufs ou seulement une ou deux plantes des classes 1 ou 2 selon le critère de Taylor et Sasser) ; ces lignées sont probablement homozygotes pour un ou plusieurs gènes majeurs de résistance,

- les cinq lignées, ET 61, ET 49, ET 19, ET 53 et ET 58 se montrent uniformément très sensibles (présentant le même niveau que le témoin Catuai). Pratiquement toutes les plantes de ces lignées présentent plus de 10 masses d'oeufs, quelques lignées font exception avec 1 ou 2 plantes résistantes. Ceci est explicable par la pollinisation croisée, estimée à 10-15% environ (CHARRIER, 1978),

- plusieurs lignées tels les matériaux ET 1, ET 38c2, ET 45c2 et ET 38c10, présentent des plantes avec une résistance intermédiaire, occupant la classe 2 ou 3 ; ceci pourrait indiquer la présence de gènes mineurs,

- huit lignées, ET 21, ET 5, ET 24, ET 11b, ET 30, ET 60, ET 37c1 et ET 39c6 présentent une forte ségrégation proche du type [3 résistants : 1 sensible], explicable par un gène majeur dominant,

- onze lignées, ET 6, ET 55, ET 32bc1, ET 35cc5, ET 25bc1, ET 32bc5, ET 35cc7, ET 37c5, ET 39c7, ET 35cd4 et ET 38c6 montrent une forte résistance, pratiquement dans toutes les plantes, à l'exception de quelques rares plantes très sensibles ; ceci suggère la présence, en condition hétérozygote, de deux gènes dominants de résistance dans les plantes-mères (proportion attendue de 15 résistantes : 1 sensible).

On constate donc la prédominance de lignées uniformément résistantes (67%), mais aussi un pourcentage non négligeable de lignées en ségrégation (25% environ). A ce propos, KHUKHANG (1990) trouve dans ses études sur la rouille orangée, un taux de ségrégation d'environ 35% pour la résistance à la race II de H.

vastatrix (conférée par des gènes majeurs) dans les mêmes types d'introductions d'Ethiopie. Du point de vue de la génétique de populations, un taux de "hétérozygotie" entre 25 et 35% semble élevé, du fait que C. arabica est prédominant autogame (10 à 15% d'allofecondation). C'est ainsi que Allard et al., (1968) estiment pour des taux d'allofecondation de 10% et 20% des taux maximum d'hétérozygotie de 9 et 16% pour un seul gène. Dans le cas de plusieurs gènes, le taux d'hétérozygotie peut augmenter, mais en même temps plusieurs hétérozygotes ne sont plus détectables, car il sont cachés par la présence d'autres gènes homozygotes. Il ne semble donc pas impossible que le taux d'allogamie de C. arabica en Ethiopie soit plus élevé que celui attendu à partir des estimations faites en conditions de culture.

4.3.1.3 Conclusion

L'aspect le plus important à signaler est le haut niveau de résistance trouvé dans environ 70% des lignées étudiées. Ce fait est surprenant dans les évaluations de matériel sylvestre de C. arabica, et constitue une nouveauté. La présence de cette résistance pourrait indiquer que C. arabica en Ethiopie serait confronté à un problème de nématodes?.

Le déterminisme génétique de la résistance aux nématodes à l'intérieur de C. arabica semble, dans sa majorité, simple et lié à un ou plusieurs gènes majeurs et dominants.

La présence, moins fréquente, de résistance de type intermédiaire, liée à des gènes mineurs, semble aussi probable.

Les origines éthiopiennes pourront constituer un matériel de grande valeur pour l'amélioration génétique du caféier, jusqu'à maintenant très peu exploitée.

Les résultats du présent travail ont donné des indications qui sont déjà utilisées dans les activités d'amélioration génétique en Amérique Centrale, qui viennent de débiter.

4.3.2 Etude des populations F2

4.3.2.1 Introduction

Les résultats obtenus dans les études précédentes, ont soulevé l'intérêt de mieux comprendre l'héritabilité de la résistance. Cette étude a été limitée du fait que plusieurs croisements (hybrides F1, rétrocroisements) et autofécondations prévus au Cameroun et en Côte d'Ivoire ont échoué. Les quelques graines obtenues étaient insuffisantes pour une analyse correcte. L'alternative choisie a été de travailler avec des populations F2 issues de pollinisation libre de plantes F1 existant au champ au Cameroun.

Parallèlement à l'étude de l'héritabilité, cet essai a eu des objectifs secondaires : analyser la relation existant entre le nombre total de nématodes et le nombre de masses d'oeufs, relier la vigueur des plantes au niveau d'infestation.

4.3.2.2 Conditions expérimentales

a. Matériel végétal

Pour la création des hybrides F1, un des géniteurs choisis était la variété Caturra, mutant nain du cultivar bourbon de C. arabica. Cette variété est largement cultivée en Amérique Latine et est très sensible aux principales maladies et parasites qui s'attaquent au caféier, y compris les nématodes. La variété Java, sélection de C. arabica réalisée au Cameroun, a également été évaluée dans cet essai, aussi bien comme géniteur, que comme variété. Cette variété est signalée par BOUHARMONT (1992) comme possédant : - un niveau de résistance élevé à l'antracnose des baies, - un certain niveau de tolérance au champ vis-à-vis de la rouille orangée, - un bon niveau de résistance à la sécheresse et, - de bonnes caractéristiques agronomiques (productivité, vigueur). Dans cet essai, la variété Java est testée en même temps que l'on évalue la descendance hybride F2 de [ET 25 x JAVA].

Parmi les éthiopiens, cinq géniteurs notés comme résistants dans les essais précédents ont été choisis (ET 6, ET 20, ET 25, ET 50 et ET 54), pour permettre une étude de la ségrégation dans la F2.

b. Méthodes

Trente-deux plantules de chaque population F2 sont utilisées. Les plantules des variétés Java et Catuai ont manifesté un retard lors de la germination, en conséquence un nombre de plantes plus réduit de ces variétés a été repiquée. Pour la variété Java vingt plantules sont repiquées, et pour le Catuai vingt-huit plantules.

La dose d'inoculum standard (800 oeufs) a été pratiquement doublée dans cette étude : elle est fixée à 1500 oeufs par plante. On a considéré qu'il était intéressant d'étudier les populations F2 avec une dose saturante d'inoculum.

Dans cet essai, on a relevé le poids frais de racines et une estimation individuelle de la vigueur végétative des plantes à l'aide d'une échelle subjective comprise entre 10 et 1 ; l'indice 10 correspond à une plante vigoureuse, apparemment saine et de feuilles normales, les autres indices de vigueur se suivent en ordre décroissant jusqu'à l'indice 1 qui indique la mort de la plante.

Après le dénombrement des masses d'oeufs, on a procédé à l'extraction des oeufs des racines par la méthode de HUSSEY et BARKER, (1973) dans certaines populations F2 issues des croisements : [CAT x ET 6], [CAT x ET 54], [ET 25 x JAVA] et de la variété Caturra. Une analyse de corrélation est réalisée pour la comparaison des résultats obtenus pour la notation de masses avec les populations de nématodes extraits des racines.

Un test de KHI2 est réalisé sur les données des descendance hybrides pour l'étude de l'héritabilité de la résistance.

4.3.2.3 Résultats et discussion

Les résultats sont regroupés dans le tableau 8.

La sensibilité de la variété Java, variété évaluée par la première fois pour son comportement vis-à-vis des nématodes, a été constatée. La présence de quelques plantes résistantes peut être expliquée par des pollinisations croisées avec des matériels résistants.

La résistance des géniteurs éthiopiens ET 6, ET 54 et ET 25 est confirmée, car les descendances issues des croisements avec ces géniteurs présentent un nombre important de plantes résistantes. D'autre part, la sensibilité de la descendance ET 20 x Caturra, pourrait être expliquée par l'utilisation d'une plante sensible de l'origine ET 20 lors de la création de la F1.

Tableau 8 : Evaluation de six descendance hybrides F2 de croisements intraspécifique chez C. arabica (variétés cultivées x origines éthiopiennes) vis-à-vis de Meloidogyne sp.

Génotype	p.r. kw	vig. kw	nb.m. kw	ind. kw	nb. plantes par indice						Total
					0	1	2	3	4	5	
CAT x ET 20	0.90 ^b	4.31 ^{cd}	66.22 ^c	4.03 ^b	1			2	22	7	32
CATURRA	0.92 ^b	3.78 ^d	52.38 ^{bc}	4.00 ^b					32		32
JAVA	0.99 ^b	5.75 ^{bc}	61.25 ^{bc}	3.60 ^b	3			1	11	5	20
CATUAI	0.61 ^c	2.96 ^d	41.82 ^b	3.86 ^b				4	24		28
CAT x ET 6	1.16 ^{ab}	6.78 ^b	14.56 ^a	1.63 ^a	16	2		6	8		32
CAT x ET 54	1.22 ^{ab}	7.26 ^{ab}	12.22 ^a	1.28 ^a	17	3	4	2	6		32
ET 25 x JAVA	0.95 ^b	5.91 ^{bc}	11.19 ^a	1.16 ^a	22		1	1	8		32
ET 50 x ET 54	1.22 ^a	9.19 ^a	0.06 ^a	0.03 ^a	31	1					32

H 62.5^{***} 160.4^{***} 132.8^{***} 120.2^{***}

CAT = Caturra

p.r. = poids de racines

vig. = estimation de vigueur vegetative

nb.m. = nombre de masses par racine

ind. = indice pondere de masses

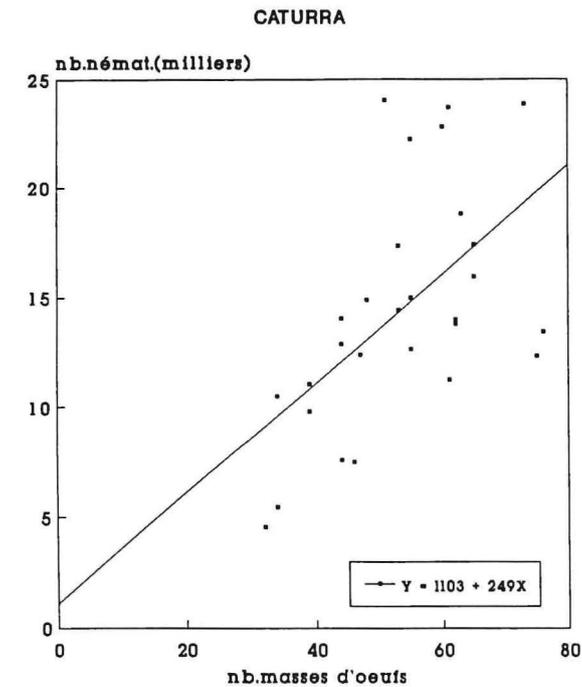
H : test de Kruskal-Wallis = KW

L'analyse génétique des descendance F2 en ségrégation est présentée dans le tableau 9. Les plantes présentant un indice de masses d'oeufs égal ou inférieur à 2 sont considérées comme résistantes. Ces plantes ont présenté au maximum 6 masses d'oeufs par racine.

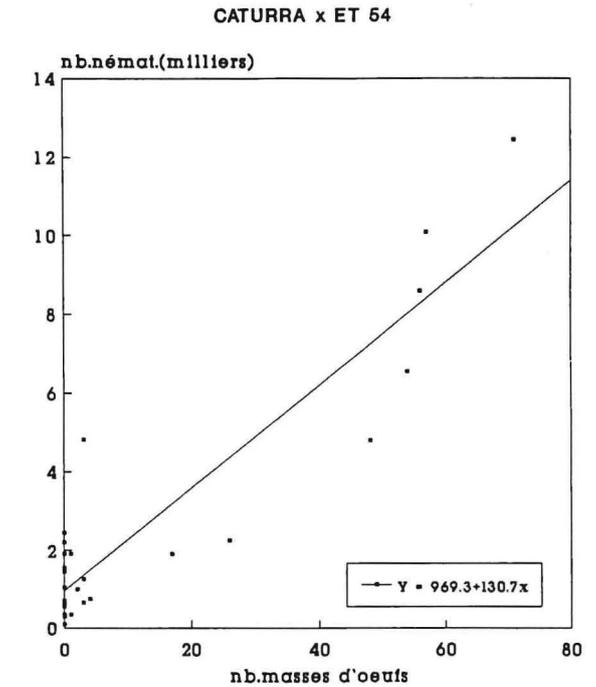
- les descendance [ET 25 x JAVA] et [CAT x ET 54] présentent une proportion de plantes résistantes (R) et de plantes sensibles (S) proche du modèle 3 R : 1 S ; ceci indique la présence d'un gène dominant. Dans la descendance de CAT x ET 54, on observe certaines plantes de résistance intermédiaire, ce qui indique peut-être la présence d'un gène modificateur. La présence de résistance intermédiaire est également confirmée par le comptage du nombre total de nématodes (figure 2).

- la descendance [CAT x ET 6] exprime une proportion non explicable par le modèle 3 R : 1 S, mais cette proportion observée rentre exactement dans le modèle 9 R : 7 S, ce qui suggère l'action de deux gènes dominants complémentaires,

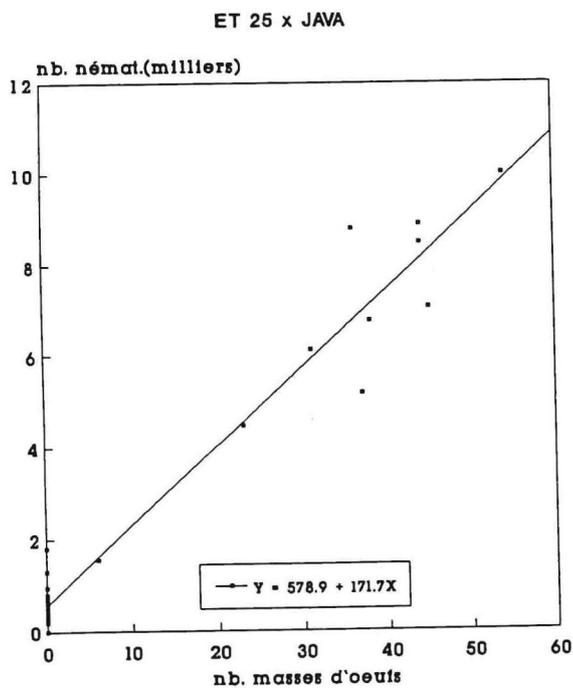
- les résultats de la descendance de ET 50 x ET 54 (absence de plantes sensibles) suggèrent l'action d'un même gène dominant chez les deux origines. Cependant, la possibilité de la présence de deux gènes différents ne peut pas être exclue, car l'hypothèse de 15 R : 1 S n'est pas rejetée.



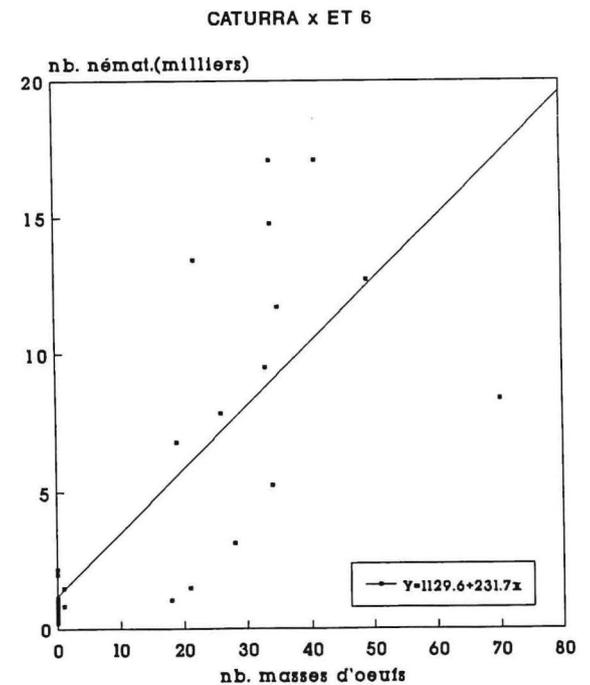
$r = 0.567$, $F = 12.34^{**}$



$r = 0.91$, $F = 146^{***}$



$r = 0.98$, $F = 664^{***}$



$r = 0.79$, $F = 49.98^{***}$

FIGURE 2 :

COMPARAISON DES RESULTATS ENTRE LA NOTATION DE MASSES D'OEUFES ET LES POPULATIONS DE NEMATODES EXTRAITS DE RACINES. Notations et extractions réalisées sur le même matériel végétal.

Tableau 9.

Etude des populations F2 (éthiopiennes x variétés cultivées)
pour leur réaction au développement de Meloidogyne sp.

Croisements		Plantes observées		Proportion attendue	X ²	P
♀	♂	R	S			
CAT	x ET 6	18	14	9 : 7	0.000	1
				3 : 1	6.000	0.014
CAT	x ET 54	24	8	3 : 1	0.000	1
ET 25	x JAVA	23	9	3 : 1	0.167	1>P>0.9
ET 50	x ET 54	32	0	1 : 0	0.000	1
				15 : 1	2.133	0.153

R = réaction de résistance : 6 (ou moins) masses d'oeufs/plante

S = réaction de sensibilité : plus de 6 masses d'oeufs/plante

Les observations portant sur l'aspect végétatif indiquent que, logiquement, l'utilisation d'une dose forte d'inoculum (1500 oeufs par plante), a eu un effet plus marqué sur le développement végétatif des plantules des variétés témoin sensibles que celui observé dans les autres essais à plus faible dose. Cependant le nombre de masses d'oeufs par racine reste assez stable chez les témoins, voire plus bas que celui observé à des doses d'inoculum plus faible. Si l'on considère la petite taille des racines du caféier au moment de l'inoculation (une masse de 0.10 à 0.12 g environ), on peut penser à des phénomènes de concurrence entre les nématodes pour leur installation dans les racines, et par conséquent un nombre relativement réduit de nématodes vont finalement "s'installer" et se reproduire.

Les variables végétatives observées dans cet essai montrent que les descendances les plus sensibles (témoins, CAT x ET 20) sont en général moins vigoureuses que les descendances plus résistantes. Cependant, une partie de la vigueur des descendances F2 pourrait être expliquée par un vigueur hybride des F1, observée au champ pour ce type de croisements. Notamment la vigueur du CAT x ET 6 et du ET 50 x ET 54 était très élevée.



PHOTO 3 : Comparaison d'une plante sensible et d'une plante résistante à Meloidogyne sp. dans la descendance F2 de [Caturra x ET 54].



PHOTO 4 : Effets de Meloidogyne sp. sur une plante sensible de la descendance [Caturra x ET 54] et une plante de la variété Caturra. Cette variété sensible à Meloidogyne spp. a été utilisée comme géniteur pour la obtention de la F1.



PHOTO 5 : Plantes de la descendance [Caturra x ET 6] montrant la ségrégation pour la résistance à *Meloidogyne* sp. La plante sensible présente des dégâts importants sur le système racinaire et une réduction du développement des parties aériennes.

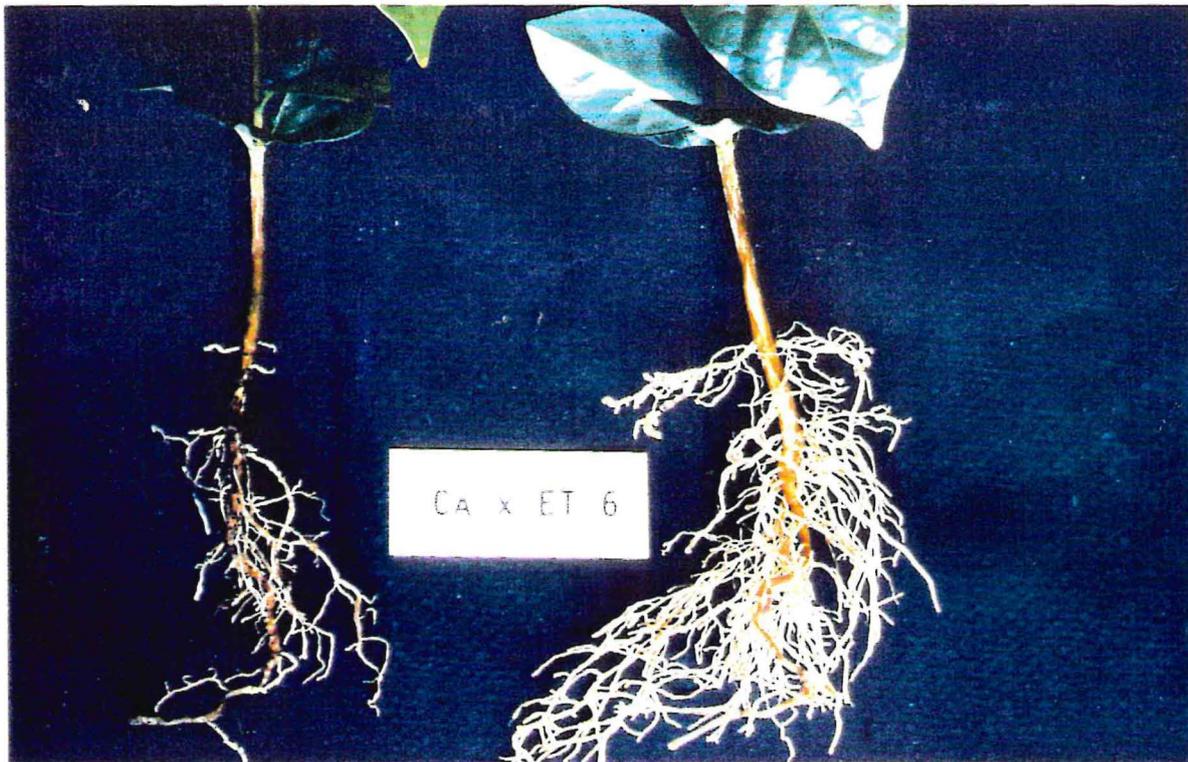


PHOTO 6 : Grossissement du système racinaire de deux plantes de la photo 5 (sensible et résistante).

L'effet du nématode sur la vigueur a été étudié à l'intérieur de trois descendance en ségrégation (CAT x ET 6, CAT x ET 54 et ET 25 x Java). Les coefficients de corrélation entre le nombre de masses d'oeufs et la vigueur sont significatifs, mais peu élevées ($r = 0.57, 0.62$ et 0.45 respectivement). Ceci confirme donc l'effet nuisible des nématodes dans cet essai à forte dose d'inoculum.

4.3.2.4 Conclusions

- La présence de gènes majeurs dominants pour la résistance à Meloidogyne sp. est confirmée

- On a relevé également un cas de présence de deux gènes dominants complémentaires,

- La variété Java, non testée antérieurement, est identifiée comme sensible vis-à-vis de Meloidogyne sp.

- La forte expression de vigueur végétative de certaines descendance F2 pourrait être un indicateur de la vigueur hybride de croisements entre géniteurs génétiquement éloignés. Ceci semble exploitable dans l'amélioration de C. arabica.

4.3.3 Résistance de lignées éthiopiennes vis-à-vis de deux souches de Meloidogyne spp.

4.3.3.1 Introduction

Il a été montré que les gènes de résistance à Meloidogyne peuvent être de type spécifique. Par conséquent les génotypes de caféier devront être évalués également vis-à-vis de plusieurs espèces et/ou souches du nématode, notamment vis-à-vis des espèces signalées comme les plus agressives.

Neuf origines éthiopiennes sont évaluées vis-à-vis de deux populations de Meloidogyne spp. D'une part, la souche-1 du Guatemala (GU), souche "témoin", et d'autre part la population d'origine brésilienne (Br), souche-2, identifiée comme M. incognita dans ce pays, où elle est très nuisible sur le caféier.

4.3.3.2 Résultats et discussion

Dans le tableau 10 sont regroupées les données des différents géotypes évalués.

La résistance des lignées à l'égard de la souche-1 confirment les résultats obtenus lors des essais éthiopie-2 et éthiopie-3.

Le test de Kruskal et Wallis portant sur la variable nombre de masses d'oeufs est significatif, cependant la comparaison des rangs moyens ne permet pas la discrimination des lignées.

La virulence de la souche-2 est donc très semblable à celle de la souche-1. Il convient de rappeler que, au Brésil, peu de résistance a été identifiée sur C. arabica vis-à-vis de M. incognita.

Dans le tableau 11 est présente par lignée de caféier et par souche de nématode, le classement des plantes selon l'échelle de TAYLOR & SASSER. Les lignées ET 31, ET 8, ET 18, ET 40, ET 59, et ET 16 ne présentent que des plantes classées entre le niveau 0 et le niveau 2 de l'échelle. Les lignées ET 5 et ET 6 montrent une ségrégation qui a été observée auparavant (Ethiopie-2). La lignée ET 61, identifiée comme sensible dans cet essai-là, montre une réaction de sensibilité complète dans les deux cas. On n'observe pas de différences importantes dans la réaction des lignées vis-à-vis des deux souches testées.

4.3.3.3 Conclusions

Les résultats confirment que la résistance des origines éthiopiennes peut être utilisable de façon plus générale, notamment au Brésil où les problèmes dus à Meloidogyne sont très importants.

Tableau 10 :

Evaluation de neuf origines éthiopiens vis-à-vis de deux différentes souches de *Meloidogyne* spp. Gu = *Meloidogyne* sp. du Guatemala, Br = *Meloidogyne* sp. (*M.incognita*?) du Brésil.

Génotype	souche de nématodes	nb. masses	indice masses
ET 61	Br	81.2	4.2
Catuai	Gu	59.6	4.2
Catuai	Br	57.2	4.0
ET 61	Gu	49.8	3.6
ET 5	Br	49.6	2.2
ET 5	Gu	6.0	0.6
ET 6	Br	3.8	0.6
ET 31	Br	3.2	0.8
ET 8	Br	0.8	0.4
ET 31	Gu	0.4	0.2
ET 8	Gu	0.2	0.2
ET 6	Gu	0.0	0.0
ET 18	Br	0.0	0.0
ET 18	Gu	0.0	0.0
ET 40	Br	0.0	0.0
ET 40	Gu	0.0	0.0
ET 59	Br	0.0	0.0
ET 59	Gu	0.0	0.0
ET 16	Br	0.0	0.0
ET 16	Gu	0.0	0.0
H		50.71 ^{***}	50.86 ^{***}

H : Test de kruskal-Wallis

Tableau 11 : Reaction de neuf lignées éthiopiennes vis-à-vis de deux espèces de *Meloidogyne*.
Classement des plantes d'après leur indice de masses (TAYLOR & SASSER 1978).

Lignée	<u>Meloidogyne</u> sp. Guatemala nb. plantes par indice						<u>Meloidogyne</u> sp. Brésil nb. plantes par indice					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
Catuai					5						4	1
ET 61				2	3						4	1
ET 5	4			1			2		1		1	1
ET 31	4	1					3		2			
ET 8	4	1					3	2				
ET 6	5						4			1		
ET 18	5						4		1			
ET 40	5						5					
ET 59	5						5					
ET 16	5						5					

4.3.4 Autres origines de C. arabica

4.3.4.1 Introduction

Au Brésil, la variété Amphylo (originale d'Ethiopie) est signalée comme résistante à M. exigua et M. incognita ; cependant cette variété se montre sensible vis-à-vis de certaines souches de Meloidogyne (FAZOULI, 1986). Dans ce pays, la variété Sarchimor (Villa Sarchi x Hybride de Timor) présente une résistance incomplète à M. incognita. Il a donc paru opportun dans un premier essai de tester ces sources de résistance de C. arabica vis-à-vis de la souche guatémaltèque de Meloidogyne.

Dans un deuxième essai, des dérivés de l'hybride de Timor sont testés. Chez ce matériel on reconnaît en général que les lignées sélectionnées en Colombie (MORENO, 1990) ont une plus grande variabilité génétique que celles sélectionnées ailleurs. Le deuxième essai porte sur huit descendances de Catimor d'origine colombienne de la collection du CATIE à Turrialba, et sur une origine du Portugal. MORERA (1986) et CALDERON-VEGA (1989) ont mis en évidence une certaine résistance à M. exigua dans les lignées de Colombie. La liste des lignées de Catimor est présente dans le tableau 12. La souche-1 de Meloidogyne sp., est utilisée pour les deux essais.

Tableau 12 : Descendances de Catimor utilisées pour les tests @ résistance vis-à-vis de Meloidogyne sp.

Lignée	Génération	Généalogie	Origine de la F1
T 16671 - 144	F4	UFV 2000-84	Caturra x HDT 1343
T --- - 637	"		(Colombie)
T --- - 240	"		
T --- - 150	"		
T --- - 241	"		
T --- - 245	"		
T --- - 152	"		
T 5269 - 353	F3	CIFC Hw26/13	Caturra x HDT 832/1
			(Portugal)

4.3.4.2 Résultats et discussion

a. Amphyлло et Sarchimor :

Les résultats sont regroupés dans le tableau 12. Le test de K & W est significatif. Le témoin Mundo Novo (variété brésilienne) présente un nombre de masses semblable à la lignée de Sarchimor. La descendance d'Amphyлло présente un nombre de masses significativement inférieur à celui du Sarchimor et Mundo Novo, ce qui confirme la résistance de ce matériel. Par contre, la sensibilité de la lignée de Sarchimor était inattendue. Ceci pourrait indiquer une certaine spécificité de la résistance de ce matériel ou une ségrégation dans la population de départ (lignée descendante d'une plante sensible au Brésil).

b. Catimors

Les résultats sont présentés dans le tableau 13. Il existe des différences significatives dans la reproduction du nématode entre le témoin Catuai et plusieurs lignées de Catimor. La distribution normale des données permet l'analyse de variance et la discussion des résultats. Le témoin Catuai présente un nombre de masses d'oeufs significativement supérieur à celui des autres traitements, qui, eux-mêmes, diffèrent peu entre eux. Tous les catimors présentent un type de résistance intermédiaire peu élevée. Ceci pourrait être due à la fixation de ce matériel à partir d'un ou plusieurs gènes mineurs.

La lignée T 16671-152 présente une seule plante d'indice 0 ; cela suggère un possible croisement avec une plante résistante dans la collection.

4.3.4.3 Conclusions

La résistance partielle de certaines lignées de Catimor est confirmée. Au Costa Rica ce type de résistance vis-à-vis de M. exigua, a été signalée auparavant (MORERA, 1986).

Il est donc possible d'envisager, chez le Catimor, la sélection pour la résistance partielle à Meloidogyne spp. La valeur de cette caractéristique dans les conditions de champ, doit être vérifiée.

Tableau 13 :

Evaluation de deux descendance de C. arabica, variétés Amphylo et Sarchimor, vis-à-vis de Meloidogyne sp.

Genotype	p.r.	nb. m. kw	ind. kw	nombre de plantes						
				0	1	2	3	4	5	
Mundo Novo	1.04	65.10 ^b	4.00 ^b					20		
Sarchimor C1669.33	1.19	47.15 ^b	3.75 ^b			2	3	13	2	
Amphylo C1167.19	1.01	0.10 ^a	0.10 ^a	18	2					

H NS 42.89^{***} 39.64^{***}

p.r. = poids de racines
 nb. m. = nombre de masses
 ind. = indice de masses

H : test kruskal-Wallis = kw

Tableau 14 : Evaluation de huit descendance de Catimor (Caturra x Hybride de Timor)
vis-à-vis de Meloidogyne sp.

Genotype	p.r.	nb. m.		ind.		nombre de plantes					
	av	av	kw	av	kw	0	1	2	3	4	5
CATUAI	0.91 ^a	88.58 ^c	^d	4.17 ^c	^b					10	2
T 16671-144	0.77 ^{ab}	49.50 ^b	^{cd}	3.75 ^{bc}	^{ab}				3	9	
T 16671-150	0.74 ^{ab}	47.17 ^b	^{bcd}	3.50 ^{bc}	^{ab}			1	4	7	
T 16671-637	0.79 ^{ab}	41.25 ^b	^{abcd}	3.58 ^{bc}	^{ab}			1	3	8	
T 16671-240	0.91 ^a	30.58 ^{ab}	^{abc}	3.50 ^{bc}	^{ab}			1	4	7	
T 5269-353	0.67 ^{ab}	25.92 ^{ab}	^{abc}	3.17 ^{ab}	^{ab}			2	6	4	
T 16671-241	0.60 ^b	24.08 ^{ab}	^{abc}	3.08 ^{ab}	^a			1	9	2	
T 16671-245	0.62 ^b	24.33 ^{ab}	^{abc}	3.00 ^{ab}	^a			5	2	5	
T 16671-152	0.58 ^b	13.75 ^a	^{ab}	2.50 ^a	^a	1		5	4	2	
F	3.94	14.50		5.52							
cv	29.6%	52.7%		21.2%							
H		47.17		27.43							

p.r. = poids de racine (g)

nb. m. = nombre de masses

ind. = indice masses

av = analyse de variance ; kw = test Kruskal-Wallis

4.4 COFFEA CANEPHORA

4.4.1 Introduction

A l'heure actuelle, le recours à la résistance aux nématodes chez le caféier se base notamment sur l'utilisation de porte-greffes de C. canephora. Cette stratégie est une pratique utilisée dans quelques pays, tels l'Inde, le Guatemala et le Brésil. Dans ce dernier pays, les travaux de recherche ont permis la sélection d'une variété porte-greffe pour la résistance à M. incognita, nommée Apoata. Les autres pays utilisent des populations de C. canephora non sélectionnées. On sait que C. canephora présente des niveaux de résistance variables, et par conséquent, un travail de sélection est nécessaire.

Notre objectif est l'étude de la variabilité génétique de plusieurs descendances (semences obtenues par pollinisation libre de plantes individuelles) de C. canephora du CATIE (Turrialba, Costa Rica) et du Brésil. Sept descendances de C. canephora sont évaluées vis-à-vis de la souche-1 du Guatemala dans l'essai "canephora-1". Dans l'essai 2, six descendances, dont cinq évaluées avec la souche-1, sont confrontées à la souche-2 du Brésil.

Un deuxième groupe de descendances de C. canephora a été étudié dans un troisième essai (canephora-3). Il s'agit de matériel de l'Institut Agronomique de Campinas du Brésil (canephora-3). A partir de cet essai, des microboutures ont été prélevées sur quelques plantes pour confirmation de la résistance sur matériel cloné. Les matériels de Campinas ont été évalués vis-à-vis la souche guatémaltèque de Meloidogyne sp. uniquement.

4.4.2 Résultats et discussion

a. Dégâts et symptômes macroscopiques

Dans l'étude conduite avec la souche-1, les plantes sensibles de C. canephora ne présentent pas de symptômes visibles dans les parties aériennes. Sur les racines on observe des masses d'oeufs bien développées, mais en général les racines ne présentent pas de régions nécrosées.

Dans l'étude conduite avec la souche-2, les plantes sensibles de C. canephora ont montré des symptômes de carences nutritionnelles sur les parties aériennes ; les racines présentent des régions nécrosées autour des masses d'oeufs. Ces observations macroscopiques suggèrent que la souche-2 est plus agressive sur les plantes sensibles de C. canephora que la souche-1.

Les racines du témoin Catuai ont été très fortement endommagées avec les souche 1 et 2 ; elles montrent de larges régions nécrosées, comme dans les essais précédents.

b. Variabilité pour la résistance

En général, on observe une grande ségrégation pour la résistance. La plupart des descendancee présentent une forte proportion de plantes partiellement résistantes et quelques plantes complètement résistantes. Cela suggère la présence de gènes mineurs et de gènes majeurs (moins fréquemment). La descendance T 3751(1-2) montre un haut niveau de résistance à la souche-1, quatorze plantes ne présentaient aucune masse d'oeufs à l'extérieur des racines (photo 7).

Comme dans l'étude des Catimors, la distribution des données est normale. Cependant, en raison de la forte variation à l'intérieur des descendancee, les résultats de l'analyse non-paramétrique sont présentés parallèlement et confirment que l'analyse de variance est valable pour l'interprétation statistique des résultats.

Dans tous les essais, les descendancee de C. canephora sont significativement moins infestées que les témoins de C. arabica (Catuai ou Mundo Novo). On observe des différences significatives entre descendancee de C. canephora.

Dans le premier essai (souche-1), la descendance T 3751(1-2) présente un nombre de masses significativement inférieur à celui des génotypes T 3752(1-3), T 3759(2-2), T 3753(1-1) (tableau 15). Les résultats du deuxième essai (tableau 16) montrent un classement semblable à celui de l'essai 1, mais il

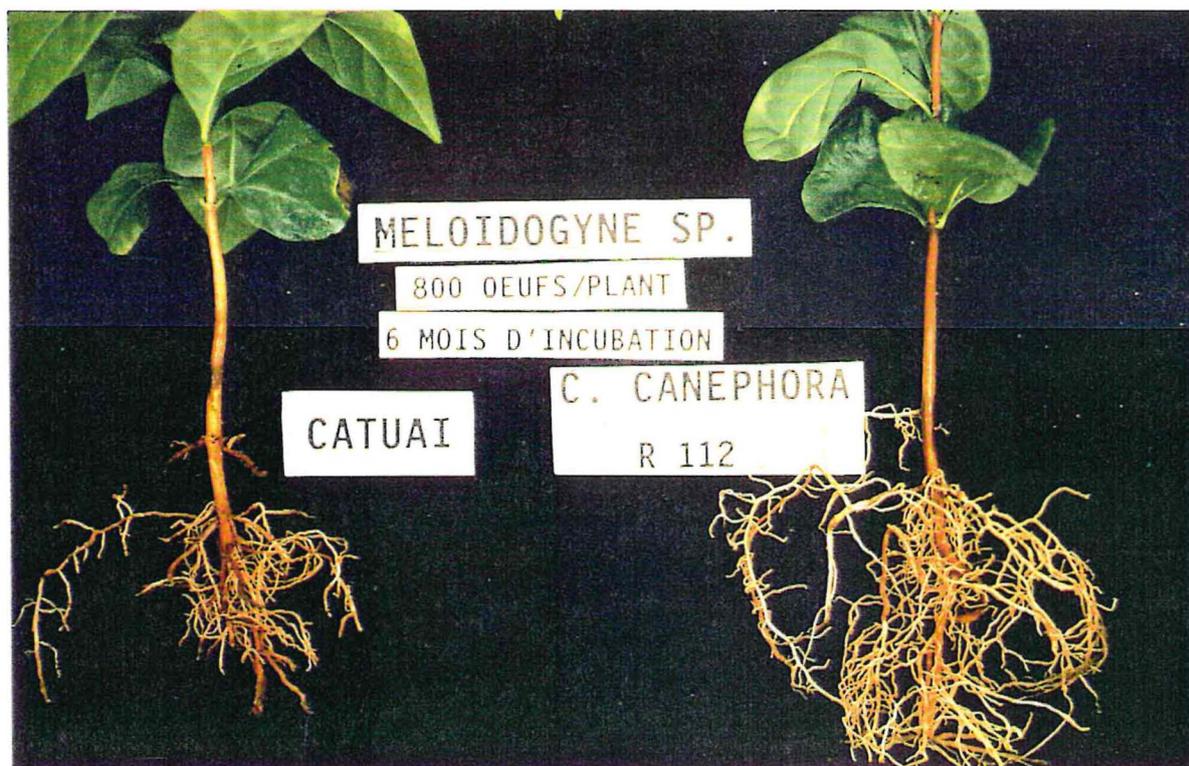


PHOTO 7 : Comparaison entre une plante de la variété Catuai (témoin) et une plante de la descendance T 3751 (1-2) (= R 112) de *C. canephora* résistante à Meloidogyne sp.

Tableau 15 : Evaluation de sept descendance de pollinisation libre de *C. canephora* vis-à-vis de *Meloidogyne* sp. (population de Guatemala).

Génotype	p.r.	nb. masses		indice		nombre de plantes					
		av	kw	av	kw	0	1	2	3	4	5
CATUAI	0.84 ^{ab}	94.9	d d	4.30	c d					14	6
T 3753 (1-1)	1.06 ^a	41.3	c c	3.05	b cd	2		5	4	6	3
T 3759 (2-2)	1.10 ^a	33.8	bc c	3.05	b cd	2		2	7	9	
T 3752 (1-3)	0.84 ^{ab}	33.9	bc bc	2.75	b bc	4	1	1	4	10	
T 3754 (1-1)	0.92 ^{ab}	26.0	abc abc	2.30	b abc	4	2	4	4	6	
T 3755 (1-1)	0.84 ^{ab}	17.3	abc abc	1.95	b abc	5	3	4	4	4	
T 3752 (2-2)	0.73 ^b	13.4	ab abc	2.15	b abc	4		8	5	3	
T 3751 (1-2)	1.09 ^a	3.9	a a	0.70	a a	14	2		4		

F 3.5 19.5 12.2
cv 35.6% 85.5% 52.8%

H 65.86 57.01

av = analyse de variance
kw = test de Kruskal-Wallis

Tableau 16 : Evaluation de six descendance de pollinisation libre de *C. canephora* vis-à-vis de *Meloidogyne* sp. (souche du Brésil)

Génotype	p.r.	nb. m.		indice		nombre de plantes					
		av	kw	av	kw	0	1	2	3	4	5
CATUAI	0.89	98.35	^b ^b	4.25	^b ^b					6	2
T 3753(1-1)	1.52	39.38	^a ^{ab}	3.00	^{ab} ^{ab}	1		2	1	3	1
T 3755(1-1)	0.79	31.00	^a ^{ab}	2.88	^{ab} ^{ab}	1		1	3	3	
T 3759(2-2)	0.97	21.38	^a ^a	2.00	^a ^{ab}	2	2	1	1	1	1
T 3752(2-2)	0.70	15.13	^a ^a	2.13	^a ^{ab}	2		3	1	2	
T 3754(2-2)	0.83	11.13	^a ^a	2.13	^a ^{ab}		3	1	4		
T 3751(1-2)	0.96	6.00	^a ^a	1.50	^a ^a	2	2	2	2		

F NS 10.64 3.60
cv 56.2% 84.4% 53.1%

H 22.35 18.1

av = analyse de variance

kw = test Kruskal-Wallis

Tableau 17 : Evaluation de quatre descendance de pollinisation libre de *C. canephora* vis-à-vis de *Meloidogyne* sp.

Génotype	p.r.	nb. m.		indice		nombre de plantes					
	av	av	kw	av	kw	0	1	2	3	4	5
M. Novo	1.04 ^{bc}	65.10 ^b	^b	4.00 ^c	^b					20	
Robusta C5	0.78 ^c	21.85 ^a	^a	2.95 ^b	^a	1		3	11	5	
Kouillou C69.14	1.55 ^a	14.25 ^a	^a	2.30 ^{ab}	^a	2	1	8	7	2	
Laurentii C5	1.28 ^b	14.80 ^a	^a	2.15 ^{ab}	^a	4		7	5	4	
Apoata C3597	0.50 ^d	9.30 ^a	^a	1.75 ^a	^a	5	3	6	4	2	

F 17.35 43.7 12.95
 cv 43.1% 61.6% 41.6%

H 51.35 40.22

av = analyse de variance
 kw = test de Kruskal-Wallis

n'y a pas de différences significatives entre descendance de C. canephora. On peut relever tout de même que la descendance T 3751(1-2) présente à nouveau, le plus faible nombre de masses. Un nombre de répétitions plus important aurait permis probablement d'établir des différences significatives entre descendance.

Les résultats du 3ème essai avec des descendance de C. canephora de Campinas, Brésil (tableau 17), présentent une similitude avec les résultats précédents. On peut repérer à nouveau la grande variation qui existe dans les descendance pour la résistance à Meloidogyne sp. Les analyses du nombre moyen de masses et de l'indice de masses est significatif. Toutes les descendance de C. canephora présentent un nombre de masses d'oeufs significativement inférieur à celui du témoin Mundo Novo, mais les différences entre descendance de C. canephora ne sont que faiblement significatives.

c. Essai de microboutures

L'objectif de cette étude était la confirmation des niveaux de résistance trouvés chez quelques plantes de l'essai des descendance de Campinas, pour savoir si la sélection à l'intérieur des descendance peut être efficace

Des boutures prélevées de plantes individuelles ont été multipliées en CIV. A la fin de la période de sevrage, seules quelques plantules ont été récupérées. Elles correspondent à trois génotypes résistants (2 canephora, 1 Amphylo) et au témoin sensible Mundo Novo. Les plantes-mères (Kouillou 69-14, Laurentii C-5 et Amphylo) présentaient respectivement lors des études précédentes, une, zéro et zéro masses d'oeufs.

Les résultats sont regroupés dans le tableau 18. Les racines du témoin Mundo Novo, peu développées, ont été très fortement endommagées par l'effet des nématodes (photo 8). Ceci a eu comme conséquence le détachement progressif de morceaux de racine et peut expliquer la relativement "faible" quantité de masses d'oeufs rencontrées lors des notations, par rapport au nombre de masses observées sur les plantules issues de semence (tableau 17).

Le niveau de résistance des plantes "mères" de C. canephora est confirmé par le comportement des microboutures (photo 8). Seulement une masse d'oeufs a été repérée dans les racines d'une plante de Kouillou 69-14. Chez Amphylo aucune masses d'oeufs n'a été repéré dans les racines. Celles-ci présentent un aspect sain, sans nécroses extérieures. Les racines présentent également un faible développement végétatif (photo 9).

Ces résultats sont donc conformes avec ceux obtenus sur les plantes mères lors de l'essai précédent. La sélection de plantes résistantes à l'intérieur des descendances de C. canephora semble donc possible.

D'autre part on peut conclure que les plantes issues de microbouturage sont utilisables pour les tests de résistance vis-à-vis de Meloidogyne spp.

4.4.3 Conclusions

- En général, le niveau de résistance de C. canephora n'est pas très élevée. On constate une plus grande variabilité à l'intérieur des descendances que entre les descendances.

- Les résultats observés pour l'ensemble des descendances de C. canephora suggèrent la présence de gènes majeurs et de gènes mineurs.

- La résistance intermédiaire observée fréquemment traduit une probable présence de gènes mineurs. Ce type de résistance se retrouve chez les Catimors (cf. 4.3.4) qui ont probablement acquis ces gènes de l'un de ces "ancêtres", le C. canephora. La présence de plantes totalement résistantes chez C. canephora laisse entrevoir la possibilité de trouver dans les dérivés de l'hybride de Timor des descendances ayant un haut niveau de résistance.

- La meilleure descendance de C. canephora identifiée dans nos travaux est T 3751(1-2), elle présente 80% environ de plantes très résistantes à la souche 1 de Meloidogyne.

Tableau 18 : Etude de la reaction de géotypes du caféier vis-à-vis de Meloidogyne sp. Evaluation sur des plantes issues de microbouturage - CIV

Géotype	p.r.	n/g	nb. m.	indice	nombre de plantes						
					0	1	2	3	4	5	
Mundo Novo	1.20 ^b	3294 ^b	29.75 ^b	3.50 ^b				2	2		
Kouillou	2.47 ^b	0 ^a	0.50 ^a	0.25 ^a	3	1					
Laurentii	4.72 ^a	0 ^a	0.00 ^a	0.00 ^a	4						
Amphylllo(*)	0.7±0.1	0 ⁻⁻	0.00 ⁻⁻	0.00 ⁻⁻	2						
F	19.02	208.4	10.7	78.73							
cv	29.01%	24%	103.5%	35.3%							

n/g = nématodes par gramme de racine. Données transformés à log (x+1).

(*) Le géotype Amphylllo n'a pas été incluse dans l'analyse de variance, on dispose seulement de deux microboutures.

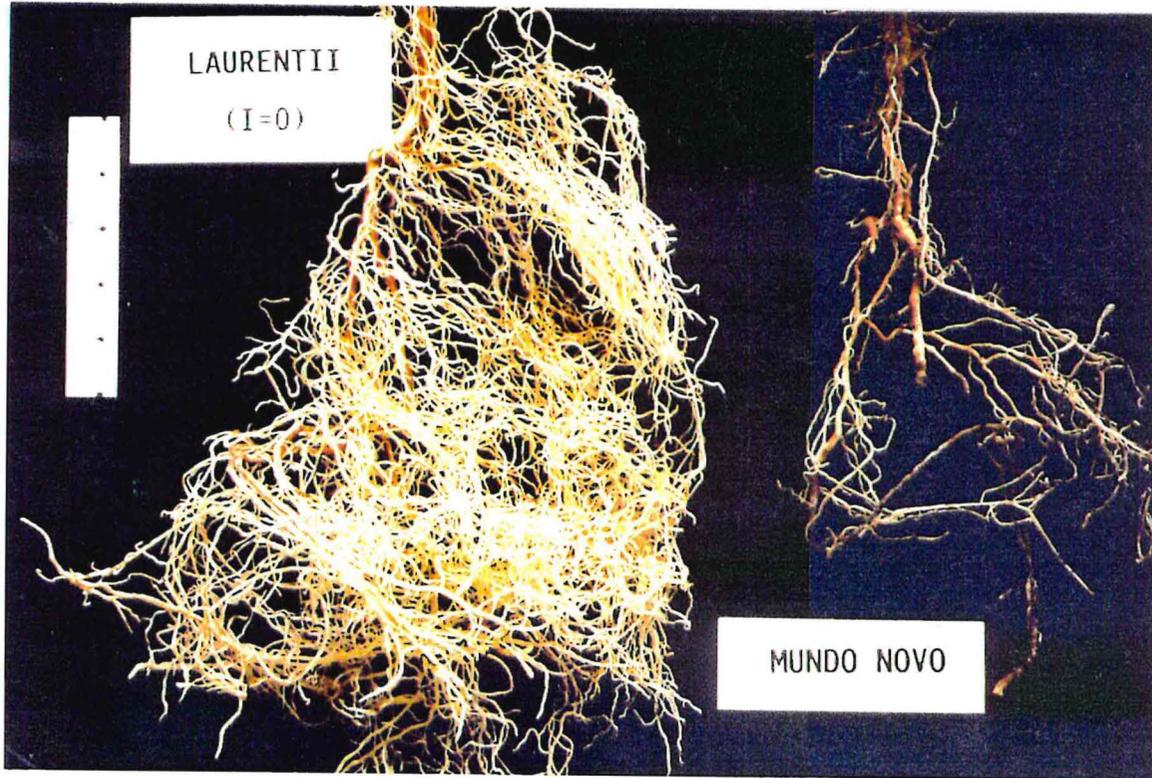


PHOTO 8 : Plantes issues de microbouturage. Comparaison entre une plante de la variété Laurentii de *C. canephora*, résistante à *Meloidogyne* sp., et une plante de la variété Mundo Novo de *C. arabica*, témoin sensible.



PHOTO 9 : Détail du système racinaire d'une plante de la variété Amphylo (*C. arabica*) résistante à *Meloidogyne* sp.

- De façon générale, les descendances présentent le même comportement pour la résistance vis-à-vis des deux souches de nématodes ; la virulence des deux souches vis-à-vis de C. canephora est semblable. Cependant, des observations macroscopiques indiquent que la souche 2 est plus nuisible sur les plantes sensibles de C. canephora que la souche 1.

- La descendance d'Apoata testée a montré un niveau moyen de résistance à la souche du Guatemala, relativement meilleur que celui des autres descendances de Campinas évaluées. Ceci indique que le niveau de résistance de cette variété peut encore être amélioré.

- L'évaluation des plantules issues de microboutures confirme la résistance des plantes clonées.

- Lors des évaluations sur l'étude de la résistance, on a observé chez les plantes sensibles de C. canephora une meilleure tolérance vis-à-vis de Meloidogyne que celle des variétés sensibles de C. arabica.

4.5 QUELQUES ASPECTS HISTOLOGIQUES DE LA RESISTANCE DE C. ARABICA A MELOIDOGYNE SP.

4.5.1 Introduction

La formation des cellules géantes syncytiales est un phénomène constant dans les relations hôte-pathogène chez les Meloidogyne et les Heterodera. Des nombreuses recherches ont été consacrés à l'étude histopathologique des racines parasitées par Meloidogyne spp (ENDO, 1971). On rappellera que, après la pénétration dans la racine et fixation des juvéniles du deuxième stade, les jeunes femelles qui en sont issues se développent et se nourrissent sur les cellules géantes situées à proximité de leur stylet ; ces femelles grossissent rapidement et commencent à pondre 3 à 4 semaines après la pénétration. D'autre part on sait que l'essentiel de la résistance aux Meloidogyne se traduit par des réactions de type hypersensibilité (REYNOLS et al., 1970). Les plantes résistantes peuvent montrer des degrés différents d'hypersensibilité, correspondant aux niveaux de compatibilité entre la plante et le nématode. On peut ainsi observer des cellules géants mal formées jusqu'à une forte hypersensibilité qui représenterait le degré de résistance le plus marqué.

4.5.2 Objectif

L'objectif de ce travail est d'étudier les réactions anatomiques de caféiers résistants et sensibles à Meloidogyne sp., notamment les réactions des plantes résistantes. Cet aspect a été peu étudié chez le caféier.

4.5.3 Conditions expérimentales

De jeunes caféiers appartenant aux lignées éthiopiennes ont été étudiés. Ces plantes ont été préalablement inoculés avec une dose de 800 oeufs par plante avec la souche-2 de Meloidogyne (Brésil). Les plantes ont été placées dans une cellule climatisée à température constante (26°C) pendant une durée de 5 mois. Une plante sensible de la lignée ET 60, et une plante de la lignée ET 18, uniformément résistante, sont comparées pour l'étude histologique.

Des morceaux de racine sont fixés avec du glutaraldehyde Paraformaldehyde cafeïne. Après déshydratation dans l'éthanol et inclusion dans le glycolméthacrylate ils sont coupés à 3 μ (ESCOUTE J. & SCHWENDIMAN J., 1989). Après montage, les coupes ont été colorés avec une solution de bleu de toluidine.

4.5.4 Résultats et discussion

4.5.4.1 Plante sensible

Des observations macroscopiques sur la racine fraîche montrent la présence nette de masses d'oeufs sur les tissus des racines (photo 10). Sur les coupes on observe un développement normal de la femelle et la présence des plusieurs cellules géantes polynuclées au niveau du xylème (photos 11 et 12). Le cytoplasme est très dense, granuleux, on observe également un épaississement de la paroi des cellules nourricières.

Différents explications sont donnés à la formation des cellules géantes. ENDO (1971) suggère que la formation de celles-ci se fait par dissolution des parois cellulaires avec la coalescence de leurs contenu, suivi de mitoses successives sans cytokinese. Les cellules géants continuent leur développement par

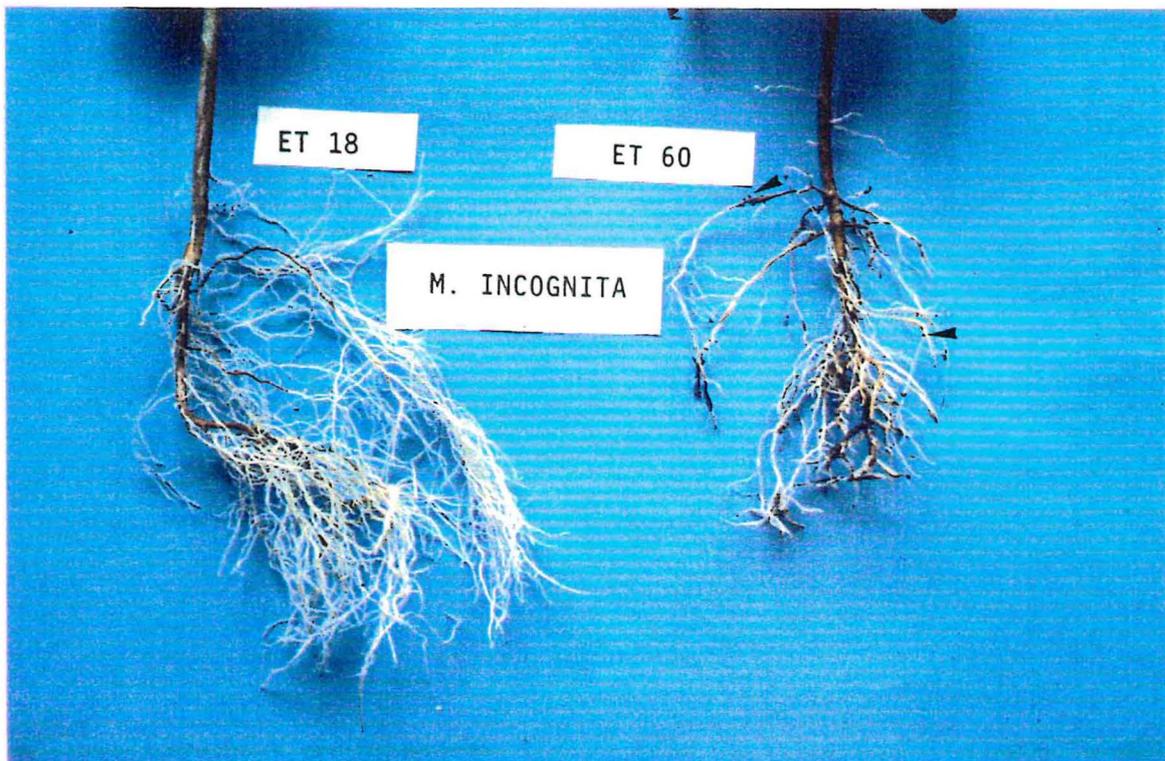


PHOTO 10 : Comparaison entre une plante de la lignée ET 18, descendance résistante à Meloidogyne spp. et une plante sensible de la lignée ET 60. mo = masses d'oeufs

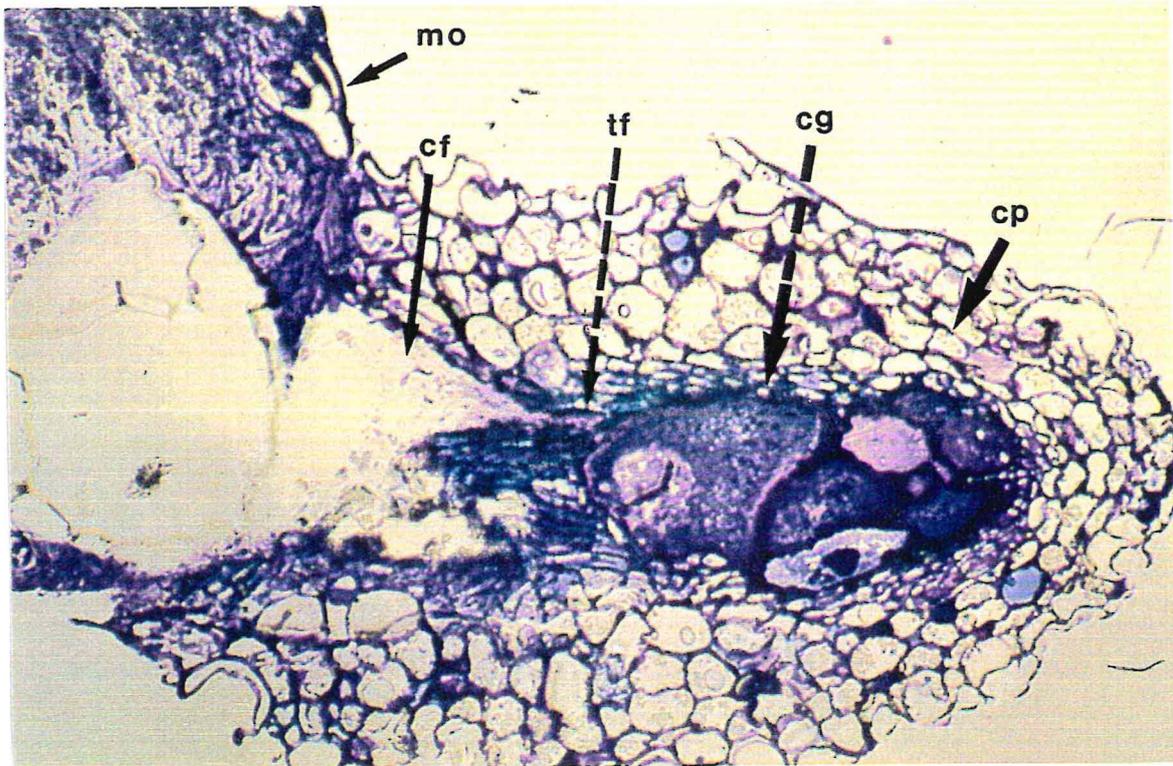


PHOTO 11 : Coupe transversale de racine de caféier sensible à *Meloidogyne* sp. On observe des cellules géantes bien développées à proximité de la femelle. mo = masse d'oeufs, cf = corps de la femelle, tf = tête de la femelle, cg = cellules géantes, cp = cellules du parenchyme. Coloration employée bleue de toluidine (X 100).

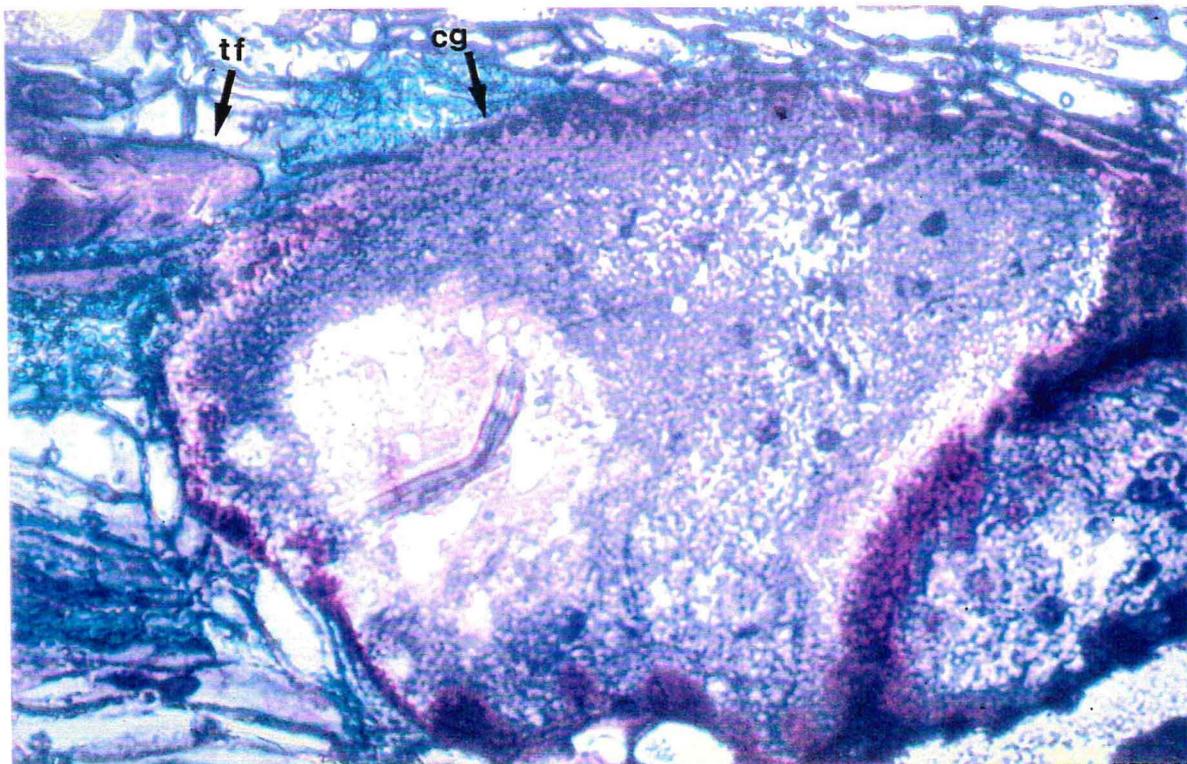


PHOTO 12 : Détail de la photo 11 montrant la tête du nématode à proximité d'une cellule géante (X 400).

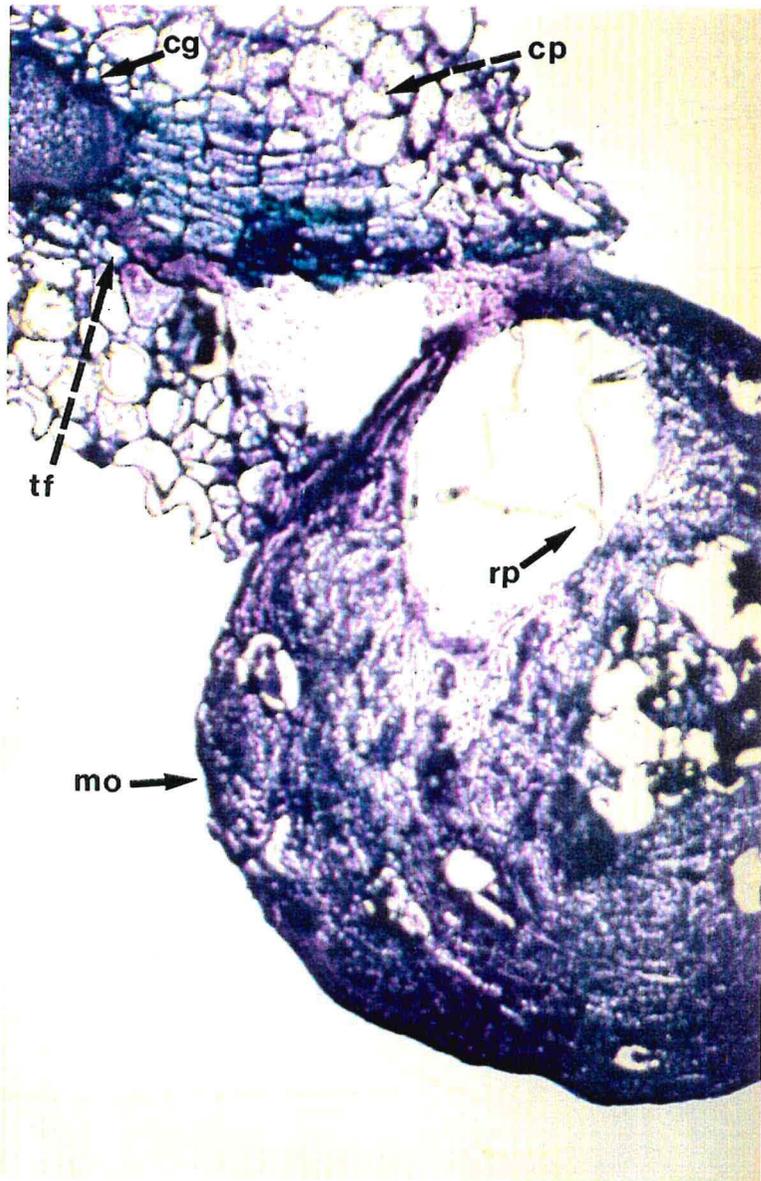


PHOTO 13 : Coupe transversale d'une racine de caféier sensible. On observe la présence d'une masse d'œufs bien développée ; mo = masse d'œufs, rp = région perinéale de la femelle, tf = tête de la femelle, cg = cellule géante, cp = cellules du parenchyme. Coloration employée : bleue de toluidine. (X 100).

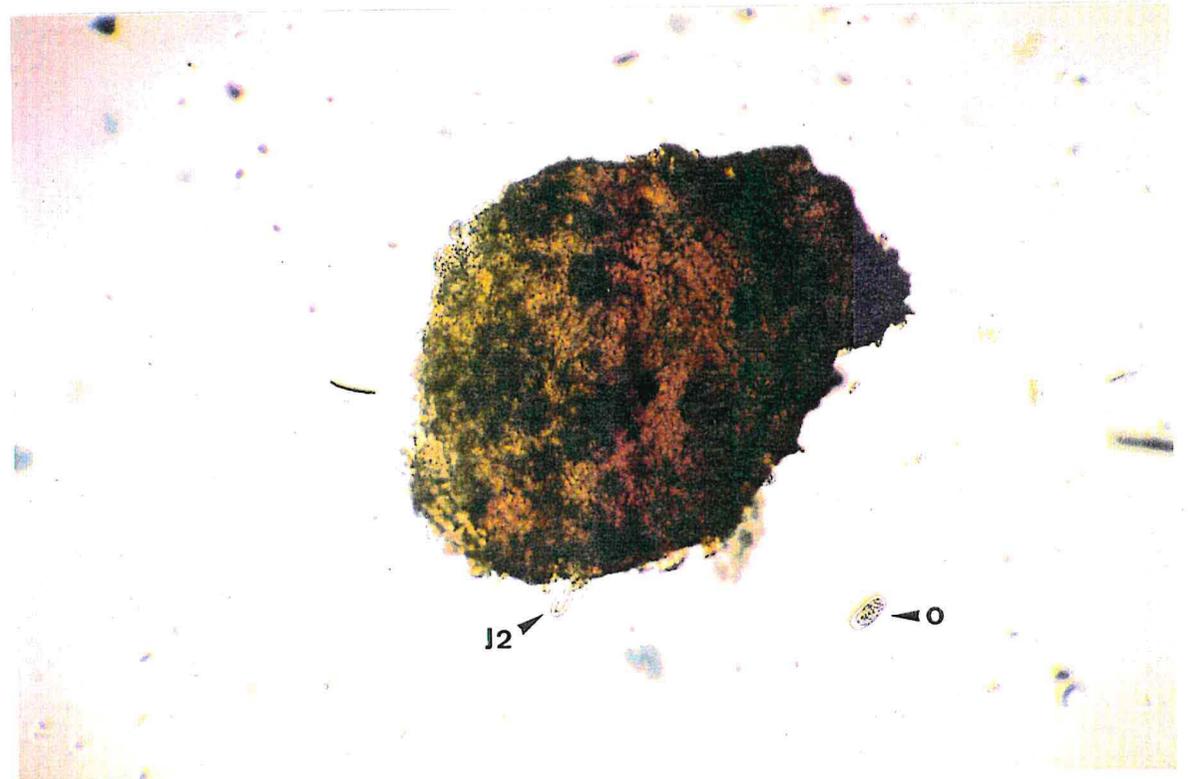


PHOTO 14 : Détail d'une masse d'œufs prélevée sur la plante sensible utilisée pour les coupes histologiques ; o = œufs, J2 = juvéniles. (X 40).

augmentation des tissus adjacents. D'autre part, HUANG et MAGGENTI (1969a, 1969b) n'ont pas pu mettre en évidence la dissolution des parois cellulaires. Selon ces auteurs, un seul noyau se trouve à l'origine des noyaux multiples de la cellule géante. Pour eux, un phénomène d'intumescence serait le responsable de l'énorme taille atteinte pour la cellule.

Des conditions favorables au développement de la femelle l'ont permis la formation d'une grande masse d'oeufs (photo 13). Une masse d'oeufs détachée du tissu frais permet d'observer des oeufs à divers stades de leur développement, embryons, J1, J2 non écloses, ainsi que des J2 écloses (photo 14).

4.5.4.2 Plante résistante

Les observations macroscopiques ne permettent pas de déceler la présence de masses d'oeufs (photo 10). Sous loupe binoculaire ; on arrive parfois à observer de petits points brunâtres pas toujours très nets.

Sur la coupe on observe que le syncytium se trouve réduit à quelques cellules syncytiales (photos 15 et 16). Ces cellules sont à peine un peu plus massives que les cellules normales. Ces cellules géantes mal formées n'ont pas permis un développement normal de la femelle (photo 16). La femelle n'a pas alors une fécondité normale, ce qui se traduit par la formation d'une masse d'oeufs de taille très petite.

Pour une observation plus précise de ces masses d'oeufs de petite taille, on en a prélevée quelques-unes dans le tissu frais de racine, on observe la présence de quelques oeufs et de J2 (photo 17). Dans le but d'une vérification de la viabilité de ces nématodes, cinq plantules de tomate ont été inoculés avec 2-3 petites masses d'oeufs, l'inoculum s'est montré viable.

4.5.5 Conclusion

- Les aspects histologiques de la résistance montrent une réaction de la plante qui s'oppose au développement normal du nématode, et qui affecte la fécondité de la femelle, par conséquent la reproduction du parasite,

- Les oeufs et J2 récupérés des petites masses chez la plante résistante constituent un inoculum viable.

- La réaction de la plante de caféier sensible est conforme avec les nombreuses études des relations hôte-pathogène des Meloidogyne ; on constate la formation de cellules géantes et une fécondité normale de la femelle.

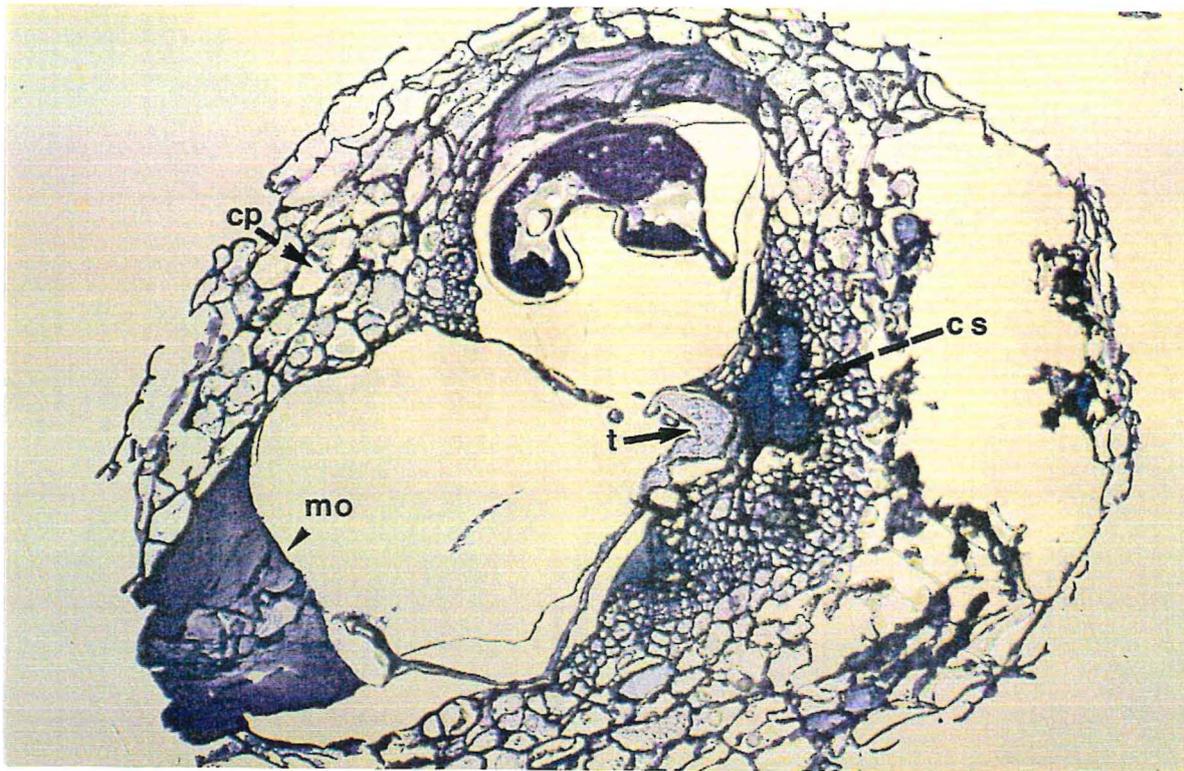


PHOTO 15 : Coupe transversal de racine de caféier résistante (lignée E'I 18) à *Meloidogyne* spp. On observe la tête de la femelle à proximité de cellules syncytiales peu développées ; mo = masse d'oeufs, t = tête, cs = cellules syncytiales, cp = cellules du parenchyme. Coloration employée : bleue de toluidine (X 100).

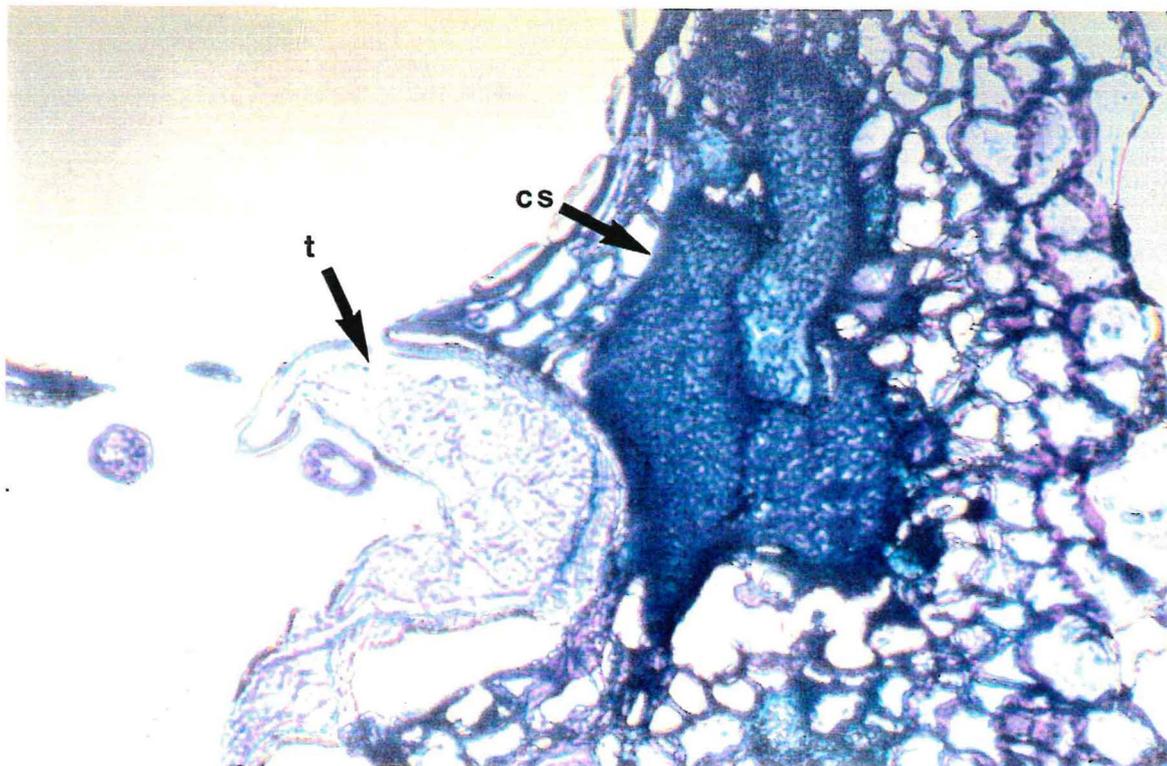


PHOTO 16 : Détail de la photo 15 montrant la tête de la femelle à proximité du groupe de trois cellules syncytiales ; t = tête, cs = cellules syncytiales. Coloration bleue de toluidine (X 400).

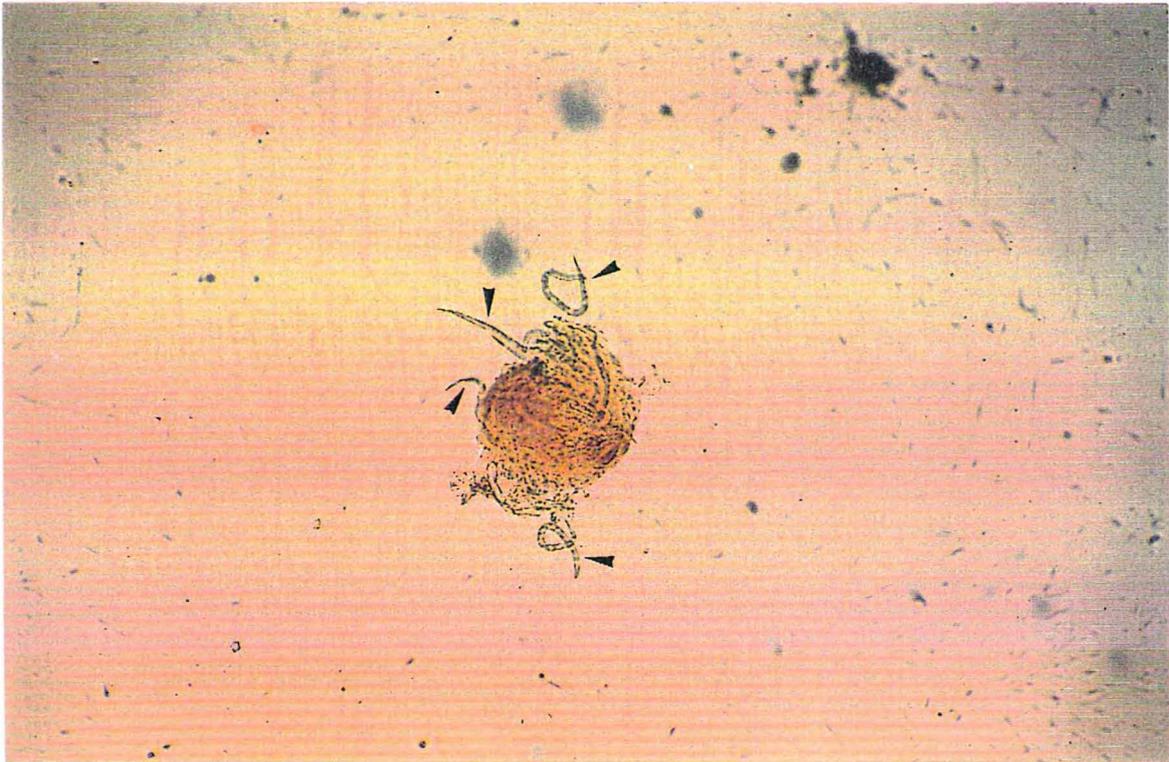


PHOTO 17 : Détail d'une masse d'oeufs prélevée sur la plante résistante utilisée pour les coupes histologiques ; J2 = juvéniles. (X 40).

5. ETUDE DE LA RESISTANCE OU TOLERANCE DES CAFEIERS A PRATYLENCHUS SP.

5.1 Etudes méthodologiques

5.1.1 Objectifs

La mise en route d'un programme de sélection variétale pour la résistance ou la tolérance aux nématodes doit faire appel à des méthodes de criblage précoces simples et fiables. Les tests utilisés sont basés sur l'inoculation artificielle de jeunes plantes en conditions contrôlées ou semi-contrôlées. Ils doivent permettre le tri de nombreuses lignées au cours d'une période relativement courte.

Les variables étudiées sont: le type de matériel végétal: C. arabica et C. canephora ; le niveau d'inoculum apporté ; la durée de l'intervalle entre l'inoculation et les observations ; le type d'observations.

5.1.2 Coffea arabica

5.1.2.1 Conditions expérimentales

Des jeunes plants de caféiers (variété Catuai) au stade cotylédons déployés ("papillon") sont repiqués individuellement dans des pots de 0,5 l remplis de sol stérilisé. Ils sont ensuite placés dans une enceinte climatisée à 25 °C avec photopériode 12h/12h. Les plantes ne reçoivent pas d'engrais pendant la durée de l'essai.

Les facteurs contrôlés sont la dose d'inoculum : 0, 100, 300 et 900 nématodes par plant ; la période d'incubation : 2, 4 et 6 mois. Neuf répétitions sont effectuées par traitement. Cet essai est disposé suivant un plan en randomisation totale. Les plantes sont inoculées un mois après le repiquage.

5.1.2.2 Résultats et discussion

Les résultats sont regroupés dans le tableau 19.

Deux mois après l'inoculation, seule la dose 900 nématodes a permis déceler un effet significatif sur les variables végétatives ; la hauteur de tige (-18%), et le poids de racines (-39%) sont significativement inférieurs à ceux des plantes témoins (dose 0). Le poids des parties aériennes n'a pas été mesuré. En ce qui concerne la densité de population de nématodes, il n'y a pas de différence significative entre les doses 300 et 900 nématodes respectivement. La dose 100 nématodes est significativement inférieure.

Après quatre mois d'incubation, les trois doses de nématodes ont un effet significatif sur toutes les variables végétatives mesurées : hauteur de tige, poids foliaire et poids de racines. L'analyse statistique distingue 3 groupes, la dose 900 nématodes, les doses 300 et 100 nématodes, et le témoin sans nématodes ; plus les doses de nématodes sont élevées, plus les valeurs des variables végétatives sont faibles. On constate également l'apparition de symptômes de carences nutritionnelles.

Six mois après l'inoculation, on retrouve des effets significatifs des doses sur toutes les variables végétatives. L'effet négatif sur la croissance est très fort quelle que soit la dose d'inoculum. Par contre, pour la variable densité de nématodes, aucune différence significative n'est décelable. La mortalité des plantes est importante, notamment avec la dose la plus élevée, ce qui montre le pouvoir destructif du nématode.

En observant la dynamique des populations de nématodes (figure 3), on constate que, au bout de la première période d'incubation (2 mois), il y a une relation positive entre le facteur dose et la densité de nématodes. Les populations observées à 2 mois sont d'autant plus importantes que la dose d'inoculum était plus élevée. A quatre mois on note que seule la dose 100, permet un accroissement de la densité de nématodes par rapport aux niveaux observés à 2 mois. A quatre mois les niveaux de populations atteints dans les trois traitements sont très rapprochés les uns des autres. Après 6 mois d'incubation on constate une diminution très accentuée des populations de nématodes pour les trois doses.

La multiplication des nématodes entraîne une destruction graduelle des racines, laquelle est représentée par la dynamique du développement racinaire (poids frais de racines) que l'on peut suivre sur la figure 4. Avec la dose la plus forte (900 individus) ces effets dépressifs se manifestent dès 2 mois. Au bout de quatre mois d'incubation, on observe que ces effets se manifestent aussi avec les autres doses (100 et 300 individus). Après six mois, toutes les doses étudiées montrent un sévère impact sur la croissance / développement des plants inoculés, notamment sur le poids de racines (photo 18).

La dégradation progressive des racines diminue l'espace et la source de nourriture des nématodes ; ceci explique la diminution du nombre de nématodes extraits des racines à la fin de l'essai.

Les résultats suggèrent que pour l'étude de l'effet des nématodes sur les variables végétatives de *C. arabica* on peut opter pour, soit l'utilisation de doses assez fortes (900 individus) sur une période d'incubation de courte durée (2 mois), soit l'utilisation de doses plus basses (100 ou 300 individus) sur une période d'incubation d'une durée intermédiaire (environ 4 mois). Pour les études orientées vers la recherche de géotypes tolérants, l'utilisation de faibles doses de nématodes semble être la meilleure option ; la dose la plus forte provoque un effet dépressif très important sur les plantes, et dans ces conditions

les manifestations de tolérance risquent de passer inaperçues. Cette étude, conduite sur une variété sensible, nous donne des indications préliminaires sur les relations caféier - Pratylenchus. Des explications complémentaires seront fournies par l'étude suivante menée sur C. canephora, espèce réputée comme tolérante.

Tableau 19 : Etude de la relation entre le nématode *Pratylenchus* sp. et *C. arabica*, variété Catuai

DOSES	2 MOIS			4 MOIS				6 MOIS			
	hauteur	p.r.	nem/g	hauteur	p.a.	p.r.	nem/g	hauteur	p.a.	p.r.	nem/g
0	7.06 a	1.74 a	---	10.00 a	8.24 a	2.82 a	----	13.11 a	10.61 a	3.09 a	----
100	7.00 a	1.48 a	472 a	7.72 b	4.49 b	1.55 b	1422	8.44 b	1.74 b	0.49 b	510
300	6.72 a	1.40 a	1413 b	7.61 b	4.44 b	1.50 b	1369	7.78 b	1.46 b	0.48 b	150
900	5.78 b	1.06 b	2214 b	5.94 c	1.85 c	0.59 c	1339	6.06 c	1.11 b	0.29 b	309
F	7.3	6.48	22.27	26.49	37.28	49.16	ns	135	525	134	ns
CV	9.9%	23.2%	8.0%	12.4%	27.2%	24.3%	10.5%	8.8%	16.1%	31.7%	

hauteur = hauteur de tige

p.a. = poids frais des parties aériennes (g)

p.r. = poids frais de racines (g)

nem/g = nématodes par gramme de racine

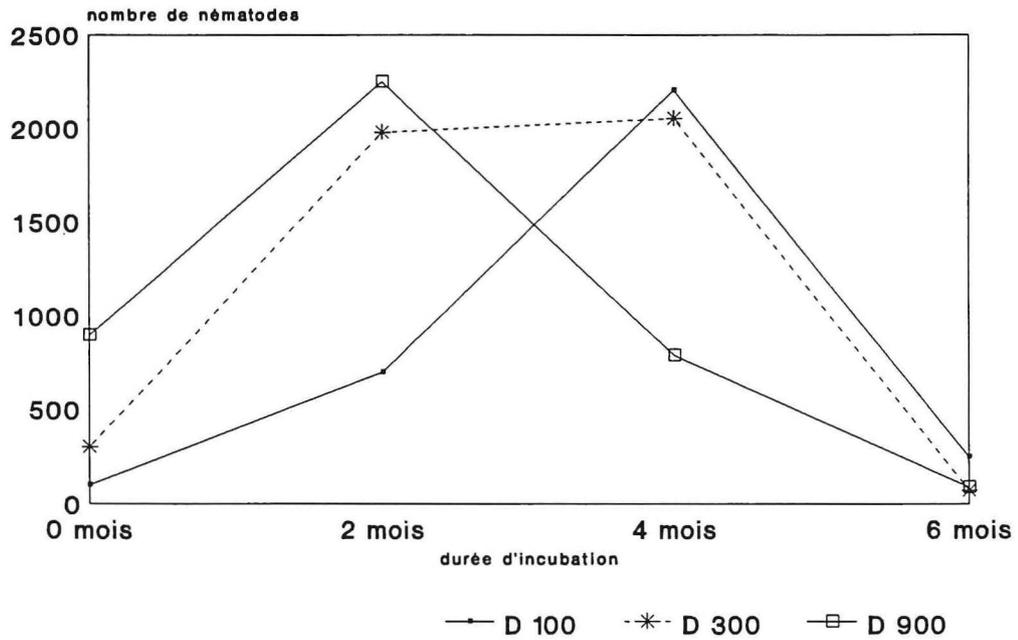


FIGURE 3 : Evolution dans le temps de la population de nématodes en fonction des doses d'inoculum

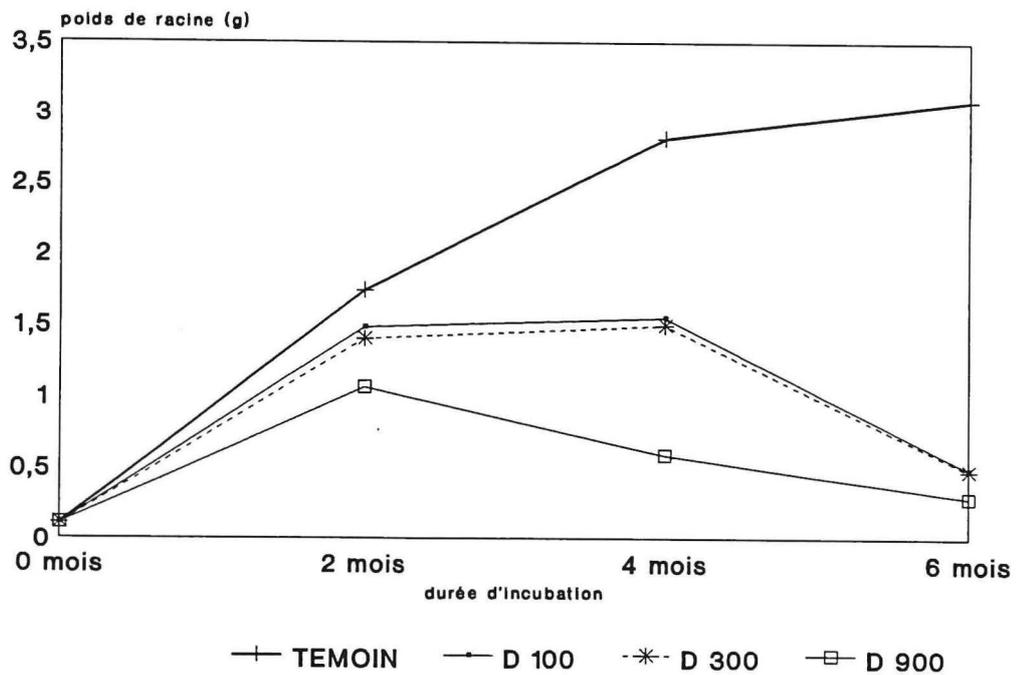


FIGURE 4 : Evolution dans le temps des poids de racine en fonction des doses d'inoculum

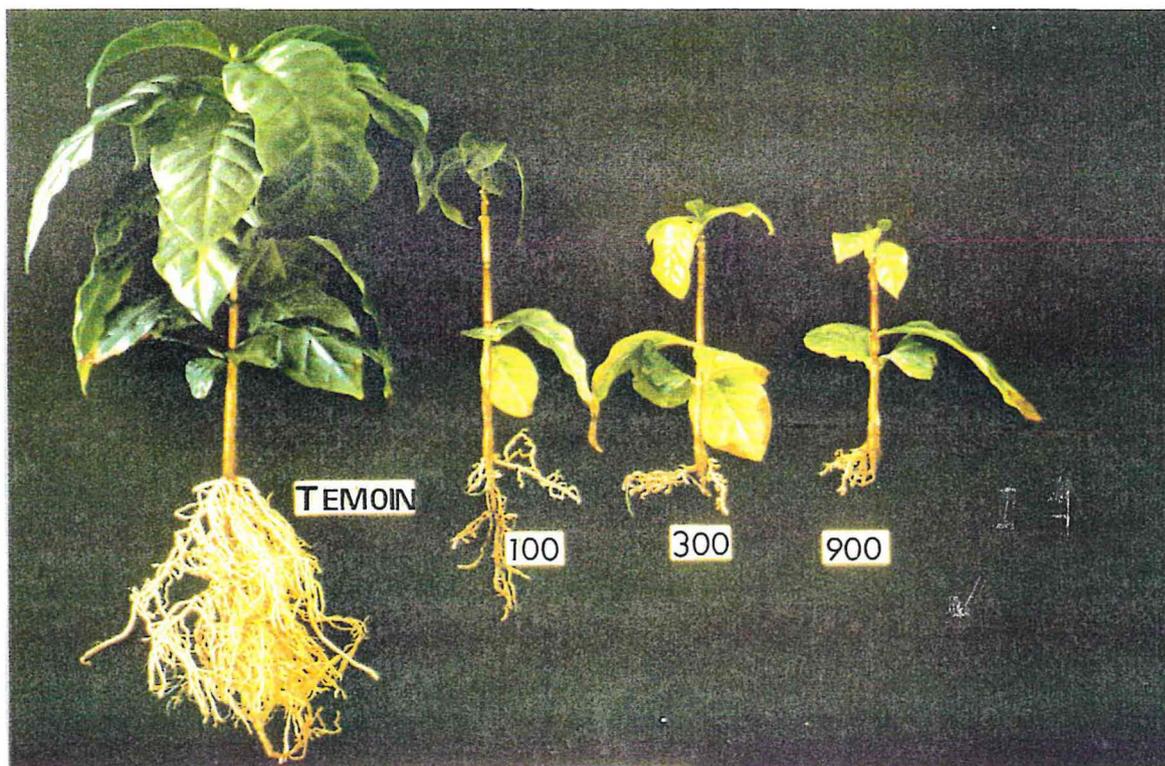


PHOTO 18 : Effet de différentes doses d'inoculum de *Pratylenchus* sp. sur le développement de jeunes caféiers de la variété Catuai (*C. arabica*) après six mois de l'inoculation.

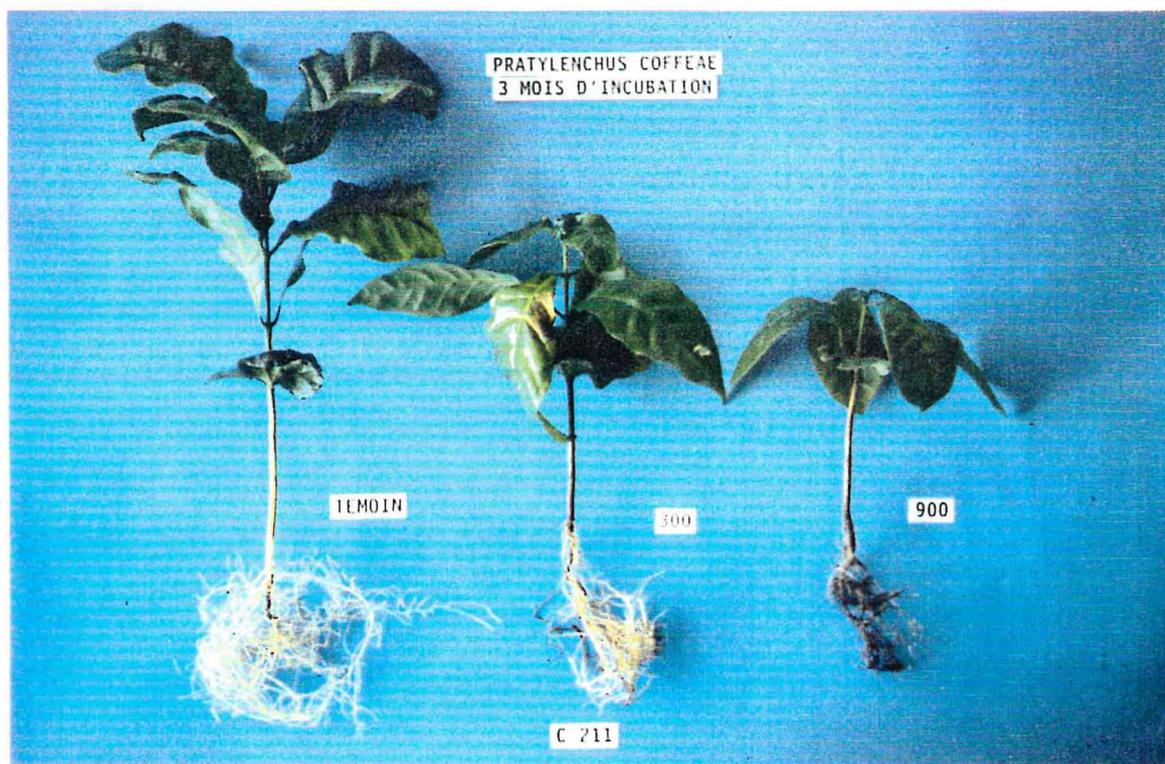


PHOTO 19 : Effet de différentes doses d'inoculum de *Pratylenchus* sp. sur le développement de jeunes caféiers de la descendance T 3752 (1-1) (= C 211) de *C. canephora* après six mois d'inoculation.

5.1.3 Coffea canephora

5.1.3.1 Conditions expérimentales

Les facteurs contrôlés sont, la dose d'inoculum : 0, 300 et 900 individus par plante ; la période d'incubation : 3, 5 et 7 mois. Il y a douze répétitions (plants) par traitement. Les plantes, une par pot, sont disposés suivant un dispositif en randomisation totale. Le matériel végétal utilisé est une descendance libre (T 3752(1-1)) de C. canephora, provenant du CATIE, Costa Rica.

Par rapport à l'étude précédente, des modifications ont été apportées : la dose 100 a été exclue, et le début des notations a été retardé d'un mois, considérant que C. canephora devrait être une espèce de caféier tolérante.

5.1.3.2 Résultats et discussion

Le tableau 20 regroupe les résultats de l'étude. Au bout de 3 mois les doses 300 et 900 nématodes ont un effet significatif sur la variable poids racinaire ; elles entraînent 47% et 62% respectivement de pertes de poids par rapport au témoin. La dose 900 nématodes entraîne une diminution de 50% du poids des parties aériennes. L'apparition de symptômes de carences nutritionnelles est observée (photo 19).

Les données concernant la deuxième période (5 mois), montrent pour les plantes inoculées des valeurs significativement inférieures au témoin. En ce qui concerne le poids des racines, les doses 300 et 900 nématodes entraînent respectivement une diminution de 60 et 81%. De façon semblable, les doses 300 et 900 nématodes entraînent respectivement une diminution de 54% et 75% du poids des parties aériennes respectivement. On note également un effet négatif de la dose la plus forte sur la hauteur de tige (- 29%). Le point de croissance de la tige devient parfois nécrotique, ce qui explique la diminution de la hauteur des plantes par rapport à 3 mois.

Les données de la troisième période (7 mois) montrent une généralisation de l'impact des différentes doses sur toutes les variables végétatives. La mortalité des plantes est également importante à ce moment-là.

On constate donc que toutes les variables végétatives sont fortement affectés par les nématodes. Les résultats ne mettent pas en évidence une tolérance de C. canephora par rapport à C. arabica cv. Catuai.

Il est observé également que la hauteur des plantes témoins de C. canephora a très peu augmenté entre 3 et 5 mois, pour rester stable ensuite. Ceci indique que les conditions de croissance de l'enceinte n'étaient pas favorables pour C. canephora. Cette faible croissance pourrait avoir été un facteur additionnel de la moindre tolérance de C. canephora montré dans ce test.

Tableau 20 : Etude de l'effet de trois doses de *Pratylenchus* sp. et de trois périodes d'incubation sur le développement des plantes d'une descendance de *Coffea canephora* (T 3752/1-1))

DOSES	3 MOIS				5 MOIS				7 MOIS			
	haut.	p.a.	p.r.	n/g	haut.	p.a.	p.r.	n/g	haut.	p.a.	p.r.	n/g
0	12.51	4.57 ^a	1.81 ^a	-----	13.54 ^a	6.13 ^a	2.60 ^a	-----	13.38 ^a	6.27 ^a	2.53 ^a	-----
300	10.94	3.52 ^b	0.96 ^b	2085	11.50 ^b	2.84 ^b	1.03 ^b	2135	10.41 ^b	2.10 ^b	0.54 ^b	1935 ^b
900	10.53	2.29 ^c	0.69 ^b	1543	9.42 ^c	1.55 ^c	0.50 ^c	1538	8.77 ^c	0.90 ^c	0.28 ^b	472 ^a
F	2.68ns	10.0	16.88	0.49ns	9.37	41.16	41.48	1.82ns	22.98	75.51	110.9	19.4
cv	19.5%	36.1%	43.1%	9.9%	20.3%	38.3%	42.6%	12.9%	15.6%	36.2%	36.2%	45.7%

haut. = hauteur de tige

p.a. = poids frais des parties aériennes (g)

p.r. = poids frais de racines (g)

n/g = nématodes par gramme de racine

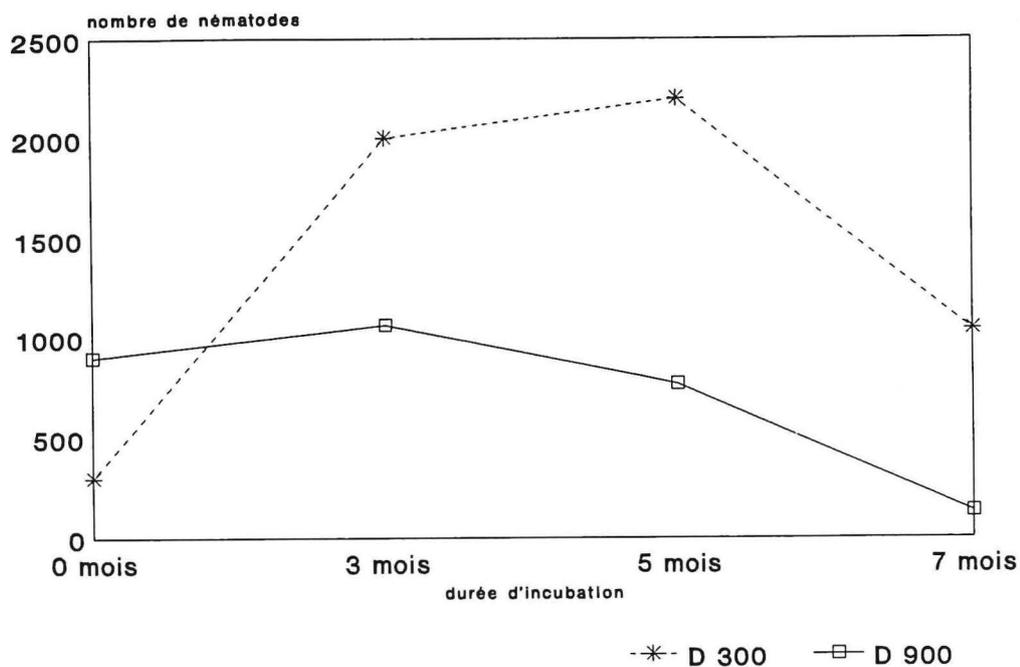


FIGURE 5 : Evolution dans le temps de la population de nématodes en fonction des doses d'inoculum

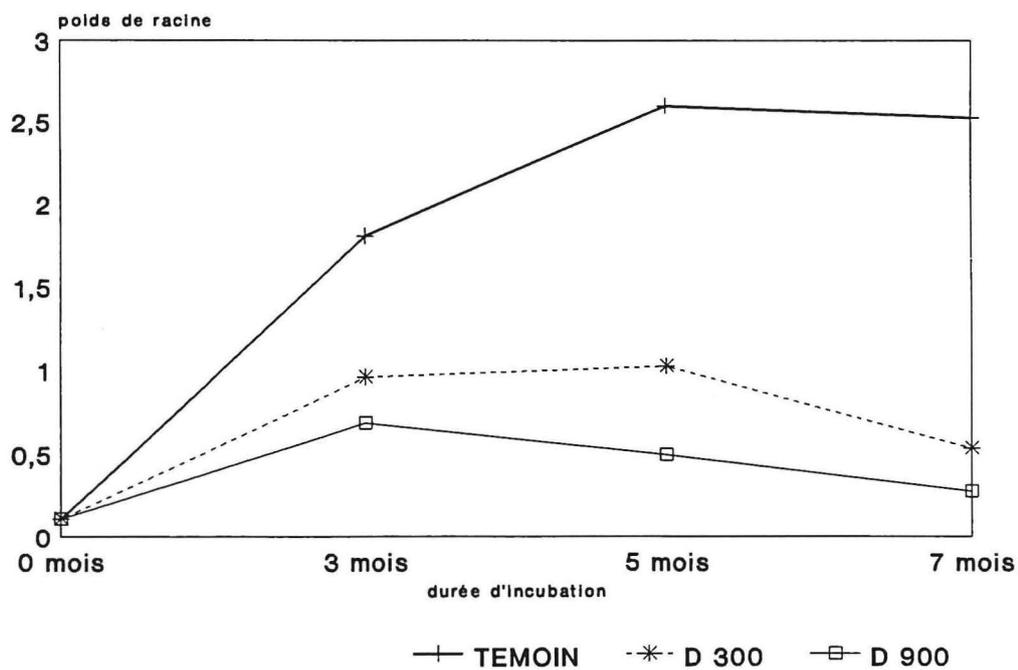


FIGURE 6 : Evolution dans le temps des poids de racine en fonction des doses d'inoculum.

Une autre constatation importante est la valeur de CV qui est toujours plus élevée pour les variables végétatives chez C. canephora que pour C. arabica cv Catuai. En ce qui concerne la hauteur, la différence est presque du double. Cet aspect est explicable par la variabilité génétique à l'intérieur de la descendance de C. canephora ; cette variabilité est pratiquement inexistante chez C. arabica cv Catuai.

On ne trouve pas de différence pour la variable population de nématodes au cours des deux premières périodes, mais, au bout de 7 mois la dose la plus faible (300) génère une population de nématodes significativement supérieure.

La dynamique du développement racinaire et celle des populations de nématodes sont présentées dans les figures 3 et 4. On assiste à une destruction graduelle des systèmes racinaires avec les deux doses de nématodes utilisés, ayant par conséquent un impact sur le développement de la masse foliaire. Au bout de 7 mois les effets des nématodes sur la croissance des plantes sont très fortement marqués.

5.1.4 Discussion et conclusion

L'objectif fixé avant l'étude était la mise au point de méthodes de tests permettant un criblage variétal pour la résistance ou la tolérance des génotypes au nématode Pratylenchus sp., sachant que la résistance doit se mesurer par l'évolution des différences de populations observées entre le génotype à évaluer et le génotype témoin sensible et que la tolérance doit se mesurer par les différences observées pour les paramètres de croissance végétative entre ces mêmes génotypes.

La méthode d'élevage in vitro de Pratylenchus a été appliquée pour la première fois pour les tests de résistance ou tolérance du caféier. Cette méthode semble convenir pour ce type d'étude, le pouvoir infestant des nématodes ainsi produits se montre très élevé.

En ce qui concerne la dose optimale de nématodes à utiliser pour les tests, très peu d'informations existent dans la littérature. En Inde (ANON., 1973 ; KUMAR, 1979) l'inoculum utilisé a été extrait directement de racines du caféier. Les chercheurs indiens ont évalué la tolérance des descendance de C. arabica, C. canephora et C. excelsa, en considérant des plantes de trois âges différents et trois doses d'inoculation différentes sur une période d'incubation fixe de 10 mois. Les doses 50 et 500 nématodes ont permis de déceler des différences (variables végétatives) entre C. arabica et les deux autres espèces. Des différences entre les espèces "tolérantes" C. canephora et C. excelsa, sont observées uniquement avec l'interaction : dose de 5000 nématodes et plantes âgées de 1 an ; dans ces conditions l'espèce C. canephora présente la plus faible réduction de croissance végétative.

Dans notre étude la dégradation des racines est très importante, même à des faibles doses (100 et 300 nématodes) et pour des périodes d'incubation courtes (2 ou 3 mois). Cette divergence de résultats avec l'information précédente semble être due à un pouvoir destructif plus élevé de la souche que nous avons utilisée en liaison soit avec la vigueur des nématodes issus d'élevage in vitro, soit avec des différences de pouvoir pathogène.

On peut en conclure que pour l'évaluation de la tolérance de jeunes plantules de caféier, la dose d'inoculum doit être diminuée. En conséquence, les doses de nématodes appliquées dans nos travaux par la suite, varient entre 75 et 100 individus par plante.

Quant à la résistance, les résultats obtenus ne montrent pas de différences. Il semble que le nématode se multiplie aussi bien sur les deux matériels testés. Les travaux qui sont abordés par la suite sur la variabilité intraspécifique de C. arabica et C. canephora, se dirigent de préférence vers l'identification de la tolérance, plutôt que la sélection pour la résistance.

5.2 Etude de la variabilité génétique

5.2.1 Objectif

L'objectif des essais présentés est d'étudier la tolérance et/ou résistance de lignées de C. arabica et de descendances de C. canephora par rapport à la variété Catuai de C. arabica.

5.2.2 C. arabica

Il n'existe pas d'information sur le comportement intraspécifique de C. arabica vis-à-vis de Pratylenchus spp. Aussi deux groupes de génotypes de C. arabica ont-ils été évalués vis-à-vis de Pratylenchus sp. Il s'agit d'une part, de génotypes prospectés par la mission IBPGR-CIRAD au Yémen (ESKES, 1989), et d'autre part, d'un petit nombre de génotypes d'origine éthiopienne, précédemment étudiés dans ce travail, pour leur résistance à Meloidogyne spp. Il convient de rappeler que la plupart des variétés cultivées de C. arabica, sont des descendances d'introductions du Yémen, elles-même originaires d'Ethiopie.

5.2.2.1 Origines du Yémen

5.2.2.1.1 Conditions expérimentales

Une partie des graines récoltées par la prospection IBPGR/IRCC (1989) a été semée dans la serre de quarantaine de caféiers au CIRAD, à Montpellier. Dix-huit origines ont été évaluées, en utilisant des plantules issues de ces graines.

Cet essai a été conduit selon le protocole suivant : huit plantules, au stade 3 paires de feuilles, de chaque génotype ont été repiquées dans des pots remplis de terreau (quatre caféiers par pot de 0.75 l). Les pots (deux par génotype) sont disposés suivant un dispositif en randomisation totale, chaque pot étant considéré comme une répétition.

Une dose de 100 nématodes a été versée directement au pied de chaque plantule. Cette dose a été définie en fonction de l'âge des caféiers (4 mois au moment de l'inoculation). Les plantes du témoin Catuai étaient un peu plus jeunes (3 mois). Sur la base des expériences antérieures, une période d'incubation de 4 mois a été retenue pour cet essai.

Les observations ont porté sur : poids de racines (l'addition des quatre plantes de chaque pot) ; la densité de nématodes ; et l'estimation de surface de racines nécrosées, la seule observation noté individuellement, par plante.

5.2.2.1.2 Résultats et discussion

Les résultats sont regroupés dans le tableau 21. Les données du poids de racine et la densité de nématodes, représentent la moyenne des deux répétition (pots). L'ESRN est la moyenne des huit plantes de chaque génotype.

Quatre mois après l'inoculation des nématodes, tous les génotypes évalués présentent des valeurs statistiquement similaires au témoin sensible, le Catuai. Ceci est valable pour toutes les variables analysées : poids frais de racines, population de nématodes (individus/gramme de racine), et l'estimation de surface de racines nécrosées (ESRN). On remarque la grande uniformité de la réaction de sensibilité de ces origines vis-à-vis de Pratylenchus sp.

5.2.2.2. Origines éthiopiennes

5.2.2.2.1 Introduction

L'objectif de cet essai était d'évaluer la tolérance de certaines lignées d'Ethiope. Dans le cadre de l'évaluation de génotypes de C. arabica vis-à-vis de Pratylenchus sp., cette expérience doit être considéré comme exploratoire.

5.2.2.2.2 Conditions expérimentales

Parmi plusieurs descendances d'origine éthiopienne que nous avons évaluées pour le comportement vis-à-vis de Meloidogyne sp. (chapitre 4), nous avons retenu quelques lignées résistantes et une lignée sensible pour leur évaluation vis-à-vis de Pratylenchus sp. Ces descendances sont: ET 2, ET 5, ET 6, ET 8, ET 9, ET 16, ET 25, ET 31, ET 40, ET 43 et ET 60.

Tableau 21 :

Evaluation de dix-huit descendance
de C. arabica originaires du Yémen
vis-à-vis de Pratylenchus sp.

Génotype	p. r.	Nem/g	ESRN (%)
Y 002	3,80	1851,48	71,25
Y 003	3,80	1026,32	83,75
Y 004	3,70	2258,00	81,25
Y 005	3,55	1357,77	83,75
Y 006	3,91	896,57	77,50
Y 007	3,85	1990,67	82,50
Y 008	2,50	1921,27	80,00
Y 009	4,53	1987,37	78,75
Y 010	3,65	1367,10	81,25
Y 011	3,60	1598,80	78,75
Y 012	3,75	1476,57	76,25
Y 013	2,80	1621,35	85,00
Y 014	3,44	1622,81	83,75
Y 15A	4,65	1820,58	81,25
Y 018	4,15	1349,13	77,25
Y 019	4,25	1553,21	76,25
Y 021	4,51	1206,00	80,00
Y 022	5,05	1370,03	81,25
CATUAI	3,03	895,90	92,50
F	NS	NS	NS
CV	22.9%	4.4%	21.2%

p.r. = poids de racines

nem/g = nématodes par gramme de racine

ESRN = estimation de la surface de racine nécrosée

De jeunes caféiers (stade cotylédons déployés) ont été repiqués individuellement dans des pots de 0,5 l remplis de sol. Etant donné le peu de matériel végétal disponible, seulement deux plantes par descendance sont inoculées, et deux autres plantes de la même descendance sont utilisées comme témoin sans nématodes. Les plantes sont disposées individuellement suivant un dispositif en randomisation totale.

Sur la base des résultats de la mise au point des tests, une dose de 75 nématodes a été versée directement au pied de chaque plantule. La période d'incubation a été de 4 mois, comme dans l'essai précédent. Les variables végétatives sont transformées en données relatives (d.r.) par rapport à celles des plantes non inoculées de la façon suivante :

$$\text{d.r.} = \frac{\text{moyenne des plantes Témoin} - \text{données plante Inoculée}}{\text{moyenne de plantes Témoins}}$$

L'estimation de surface de racines nécrosées (ESRN) est issue de l'observation directe faite sur les plantes inoculées.

5.2.2.3 Résultats et discussion

Les résultats sont regroupés dans le tableau 22. Pour les différences relatives (d.r.) concernant la hauteur de tige, le poids des parties aériennes et le poids de racines, on repère quelques différences significatives entre génotypes. Cependant, si l'on observe l'ESRN, il n'y a pas de différence significative entre génotypes. Ils présentent tous des racines très endommagées. Les photos 20 et 21 montrent pour quelques génotypes représentatifs, le niveau de destruction des racines des plantes inoculées, en comparaison avec les racines saines des plantes Témoins du même génotype.

Le faible nombre de répétitions ne permet pas de tirer de conclusions définitives. Toutefois il apparaît que les origines éthiopiennes évaluées sont aussi peu tolérants à l'égard de Pratylenchus sp., que le cv Catuai.

Etant donné le niveau de destruction des racines, l'extraction des nématodes n'a pas été effectuée. Les essais précédents avaient montré le manque de fiabilité de ce paramètre lorsque les racines sont fortement endommagées

Tableau 22 : Evaluation de 11 lignées éthiopiennes vis-à-vis de Pratylenchus sp.
Facteurs analysés : les différences relatives (d.r.) entre des plantes inoculées (inoc), et non inoculées (tem) par lignée.

lignée	hauteur		d.r.	p.a.		d.r.	p.racine		d.r.	ESRN %
	tem	inoc		tem	inoc		tem	inoc		
E 2	30.80	24.35	0.21 ^a	20.79	5.12	0.78 ^{ab}	5.36	1.06	0.80 ^c	87.5
E 5	34.50	30.15	0.13 ^a	21.29	12.12	0.40 ^a	4.54	1.78	0.60 ^{abc}	82.5
E 6	32.75	24.50	0.25 ^a	25.43	8.27	0.66 ^{ab}	7.97	2.59	0.68 ^{abc}	77.5
E 8	20.10	14.15	0.30 ^a	10.27	1.71	0.84 ^b	2.60	0.65	0.75 ^{bc}	100.
E 9	26.10	17.85	0.32 ^a	15.51	4.57	0.71 ^{ab}	3.72	0.91	0.76 ^c	87.5
E16	30.25	25.15	0.17 ^a	13.50	2.88	0.77 ^{ab}	3.18	0.88	0.72 ^{abc}	90.0
E25	34.60	24.65	0.28 ^a	13.91	2.41	0.82 ^{ab}	4.41	0.85	0.80 ^c	95.0
E31	29.69	23.26	0.22 ^a	11.21	2.72	0.76 ^{ab}	2.74	1.25	0.55 ^a	77.5
E40	29.95	26.96	0.10 ^a	19.37	6.88	0.64 ^{ab}	4.43	1.72	0.61 ^{abc}	77.5
E43	34.75	30.15	0.13 ^a	18.75	8.25	0.56 ^{ab}	3.95	1.55	0.61 ^{abc}	75.0
E60	27.60	13.95	0.50 ^b	13.55	4.62	0.66 ^{ab}	2.86	0.90	0.69 ^{abc}	75.0
CTI	17.75	12.75	0.28 ^a	10.96	5.36	0.51 ^{ab}	2.43	1.07	0.56 ^{ab}	75.0
CV			25.2%			16.2%			7.9%	14.7%
F			6.47			2.89			5.79	N.S.

hauteur = hauteur de tige

p. a. = poids des parties aériennes

p.racine = poids de racines

ESRN = estimation de la surface de racines nécrosées.



PHOTOS 20 ET 21 : Importance des dégâts provoqués par *Pratylenchus* sp. sur racines de caféiers d'origine éthiopienne (*C. arabica*) inoculées avec 75 nématodes. Observations faites 4 mois après d'inoculation. Plante non inoculée à droite.



5.2.3 Evaluation de descendances de C. canephora

5.2.3.1 Conditions expérimentales

Nous avons évalué la réaction à Pratylenchus sp. de cinq descendances de pollinisation libre du cv. Robusta de C. canephora, en provenance de la collection de Turrialba (Costa Rica) ; les codes d'origine sont : T 3755(1-1) ; T 3759(2-2) ; T 3751(1-2) ; T 3754(1-1) et T 3753(1-1). Vingt plantules (au stade cotylédons déployés) de chaque génotype ont été retenues. Quatre caféiers sont repiqués par pot contenant 0.75 l de terreau. Chaque plante est considéré comme une répétition à partir de la constatation d'absence de l'effet "pot" (voir 5.2.5.2).

Etant donné les limitations de surface pour les expériences et le faible nombre de plantes disponibles, des Témoins non inoculés n'ont pas été inclus dans cette étude. Nous avons considéré comme plus pertinent de disposer du plus grand nombre possible de plantes inoculées (répétitions), d'autant plus que l'on travaille avec des descendances de C. canephora, espèce strictement allogame, et n'ayant donc pas obligatoirement le même comportement d'une plantule à une autre pour la même descendance.

Pour l'inoculation, la dose de 75 nématodes est retenue, la période d'incubation est de 6 mois. Cette période tient compte des résultats de la mise au point des tests, et du caractère de tolérance signalé pour C. canephora.

5.2.3.2 Analyse de l'effet "pot"

Sur les données du poids de racines et sur l'estimation de surface de racines nécrosées (ESRN) du témoin Catuai (variété non tolérante), nous avons procédé à la décomposition de la variance totale en : variance inter-pots et variance résiduelle. On constate qu'il n'y a pas de différence significative inter-pots soit pour le poids de racine ($F = 2.17$ et $CV = 36\%$), soit pour l'ESRN ($F = 1.63$ et $CV = 26\%$). En conséquent, les résultats sont analysés plante par plante. Le dispositif expérimental est en randomisation totale.

5.2.3.3 Différences entre génotypes

Les résultats globaux de l'essai sont regroupés dans le tableau 23.

La variable hauteur de tige montre des différences statistiques : le Catuai est significativement moins haut, mais, cela exprime surtout un effet génétique, le Catuai étant une variété naine de C. arabica. Les descendances de C. canephora ne sont pas significativement différentes entre elles.

Pour les deux autres variables végétatives, poids frais des parties aériennes et poids frais de racines, l'analyse statistique ne met pas en évidence d'effets significatifs du facteur variétal.

L'analyse du nombre total de nématodes par plante ne permet pas non plus de déceler de différences entre génotypes. Cependant pour le paramètre nombre de nématodes par gramme de racine, le génotype T3751(1-2) présente une densité de nématodes significativement différente (plus basse) de celle des autres génotypes.

Si l'on observe les données concernant l'estimation de surface racinaire nécrosée (ESRN), on constate d'abord des différences significatives très nettes entre les descendance de Robusta d'une part et le témoin Catuai d'autre part, pour lequel les surfaces racinaires nécrosées sont beaucoup plus grandes. On observe également qu'il est possible de mettre en évidence des différences entre les descendance de Robusta. Le génotype T 3751(1-2) se présente comme le matériel le plus intéressant: la plupart des plantes présentent de faibles pourcentages de racines nécrosées. Par opposition, toutes les plantes de Catuai montrent, de façon très homogène, des systèmes racinaires très endommagés (photo 22).

Le classement des plantes en fonction de l'indice (échelle 0-4) de l'ESRN montre que la majorité des plantes de Catuai sont très endommagées. Les descendance de C. canephora présentent une réponse plus variable ; cela due probablement à la plus grande tolérance, et à la plus grande variabilité génétique existant au sein de cette espèce.

Les résultats de cet essai traduisent les aspects suivantes :

a. l'analyse des variables végétatives ne permet pas la mise en évidence de différences pour la tolérance entre C. canephora et C. arabica cv Catuai ; par contre, la variable ESRN montre des différences importantes (14% de racines détruites pour la descendance T3751(1-2) par rapport à 84% pour Catuai). Ce paramètre semble donc plus adapté et plus simple pour l'évaluation de la tolérance.

b. la plus faible densité de nématodes observée dans la descendance T 3751 (1-2), semble indiquer en plus, un phénomène de résistance partielle de cette descendance à l'égard de Pratylenchus sp.

Tableau 23 : Evaluation de cinq descendances de *C. canephora* vis-à-vis d'une souche de *Pratylenchus*

Descendance	hauteur	p.a.	p.r.	nb. n.	nb.n/g	ESRN %	nb.plants par indice				
							0 5%<	1 5-25%	2 25-50%	3 50-75%	4 >75%
CATUAI	7.83 ^b	1.68	0.64	690	1181 ^b	84 ^c			3	5	12
T 3755 (1-1)	10.60 ^a	2.26	0.65	708	1422 ^b	36 ^b		9	5	3	3
T 3753 (1-1)	10.34 ^a	2.27	0.72	878	1535 ^b	39 ^b		12	3	2	3
T 3754 (1-1)	10.18 ^a	2.43	0.91	853	1099 ^b	29 ^{ab}		10	8	1	1
T 3759 (2-2)	10.94 ^a	2.23	0.62	585	1053 ^b	26 ^{ab}		12	5	3	
T 3751 (1-2)	10.04 ^a	2.66	0.97	465	504 ^a	14 ^a		15	5		
F	8.0	NS	NS	NS	3.27	14.1					
cv	17.4%	44.4%	53.4%	11.4%	12.2%	47.1%					

p.a. = poids des parties aériennes

p.r. = poids des racines

nb.n. = nombre total de nématodes

nb.n/g = nombre de nématode par gramme de racine

ESRN = estimation de surface de racines necrosées

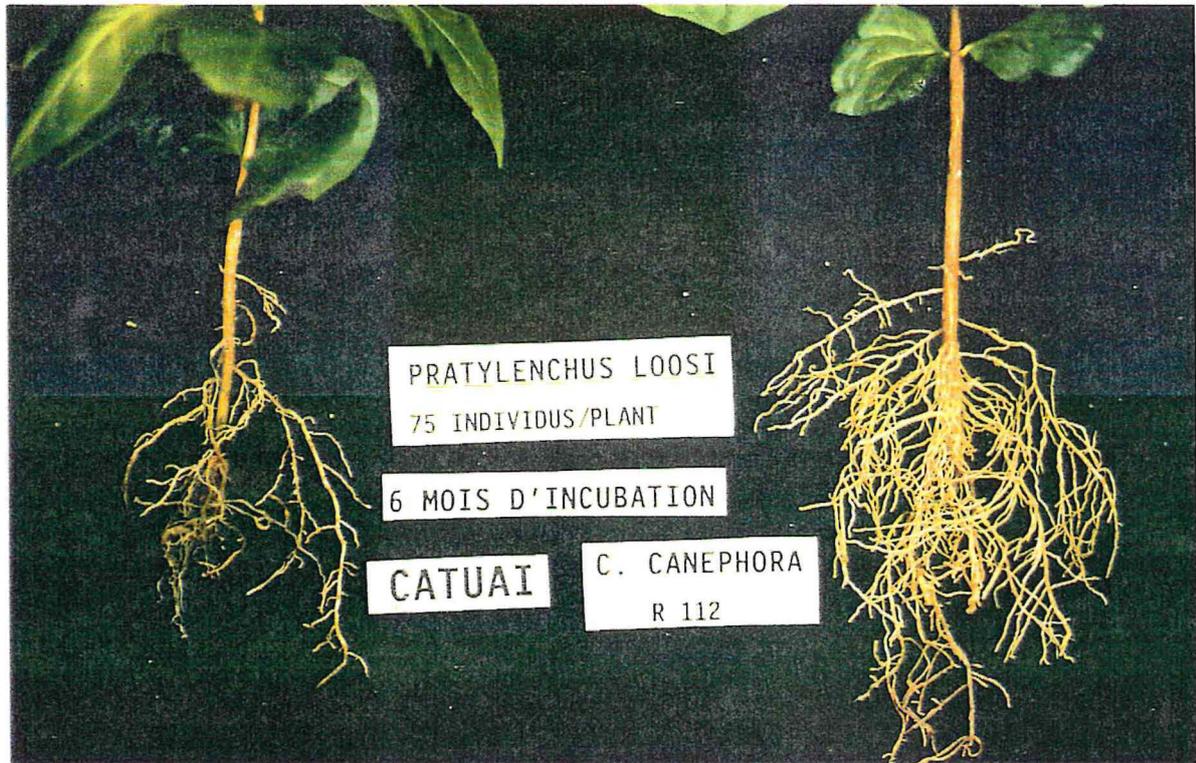


PHOTO 22 : Comparaison entre une plante de la variété Catuai, non-tolérante, et une plante de la descendance T3751 (1-2) (= R 112) tolérante à Pratylenchus sp.

5.2.4 Discussion et conclusion

Les différences observées dans le dernier essai confirment la plus grande tolérance de C. canephora par rapport à C. arabica observée au champ et signalée dans les travaux de KUMAR (1973, 1979). En plus, il semble exister des différences à l'intérieur de l'espèce C. canephora pour la tolérance ou la résistance, ce qui pourrait être exploitable en vue de la sélection d'une variété porte-greffe.

L'estimation de surface de racines nécrosées (p. cent), se présente comme un paramètre très intéressant pour la discrimination des génotypes et doit être en même temps considérée comme une variable ayant une signification biologique importante. Cette variable est facilement observable, et par conséquent utilisable dans les travaux de sélection.

Les essais exploratoires menés chez C. arabica, n'ont pas abouti à mettre en évidence des différences sur l'expression d'une tolérance ou d'une résistance, même avec la variable ESRN. Ceci est en accord avec les résultats des études menées en Inde sur différentes variétés cultivées de cette espèce (Anon., 1971). Cependant, il faut noter que plusieurs populations de C. arabica n'ont pas encore été étudiées. Par exemple, les dérivés d'hybrides interspécifiques (Catimor, Sarchimor, ...), les origines du Soudan, les descendances d'hybrides intraspécifiques de C. arabica (origines d'Ethiopie x variétés cultivées). Il est très important de signaler la possible relation entre la vigueur végétative et la tolérance à Pratylenchus, d'où l'intérêt d'évaluer tous ces génotypes.

6. CONCLUSIONS PERSPECTIVES

6.1 Conclusions générales

a. La nocuité et la virulence des nématodes

Les nématodes utilisés dans nos études occasionnent des dégâts importants au champ au Guatemala sur les variétés cultivées de C. arabica. Cette nocuité sur le caféier a été confirmée dans nos expériences en laboratoire ; et plus particulièrement la souche de Pratylenchus est capable de détruire totalement les racines des semenceaux de C. arabica et C. canephora, même si cette dernière espèce est considérée comme "tolérante" au champ.

La souche de Meloidogyne du Guatemala a montré une forte nocuité, particulièrement sur les variétés cultivées, (témoins sensibles), ainsi que sur d'autres lignées sensibles de C. arabica. La nocuité et la virulence de la souche de Meloidogyne sp. du Brésil, sont semblables à celles de la souche du Guatemala. Ceci suggère que le matériel sélectionné comme résistant à la souche du Guatemala soit utilisable au Brésil et, possiblement dans d'autres pays. Le rôle stratégique d'un centre tel que le CIRAD à Montpellier, est évident pour les études vis-à-vis de différentes souches de nématodes, provenant elles-mêmes de différents pays producteurs de café.

b. Problèmes d'identification

Les souches de nématodes utilisées n'ont pas pu être identifiées définitivement au niveau des espèces, par l'utilisation des méthodes traditionnelles (critères morphologiques et morphométriques) ou plus récents (isoenzymes). On constate la nécessité d'études plus approfondies pour une meilleure identification des nématodes chez le caféier.

De longue date M. incognita et M. exigua, ont été pratiquement les seules espèces importantes du genre reportées sur caféier. La constatation de la large distribution au Guatemala d'une probable espèce nouvelle de Meloidogyne est surprenante. Des résultats récents sur l'identification par isoesterases de souches du Brésil montrent aussi la possible présence dans ce pays, d'espèces non identifiées précédemment.

Pour Pratylenchus, le problème d'identification est plus complexe. L'identification porte exclusivement sur des caractères morphologiques, et beaucoup de systématiciens décrivent comme nouvelle espèce des groupes qui diffèrent de leurs voisins par un caractère morphologique constant. Le progrès constant des techniques d'analyse enzymatique pourrait à l'avenir apporter des critères plus solides pour cette identification.

c. Méthodes utilisées

La sélection du caféier, plante pérenne, pour la résistance et/ou tolérance aux nématodes, demande la disponibilité d'un test précoce fiable. L'utilisation de jeunes semenceaux permet d'obtenir des résultats rapides.

Les paramètres végétatifs semblent efficaces pour mesurer la tolérance du caféier à Pratylenchus, mais ceci impliquerait l'utilisation systématique de témoins non inoculés pour chaque lignée de caféier en évaluation, et donc de doubler la taille des essais, ce qui deviendrait rapidement ingérable pour de larges criblages variétaux. Nous avons montré qu'une autre alternative existe : l'estimation de surface de racines nécrosées ; il s'agit d'un critère fiable et d'application rapide, même si l'objectif est la recherche de tolérance, l'extraction complémentaire des nématodes des racines peut donner des indications d'une éventuelle résistance.

Pour mesurer la résistance à Meloidogyne sp., on a constaté que le comptage de masses d'oeufs extérieures (sur la racine), constitue un paramètre fiable et plus rapide que l'extraction totale de nématodes. Le comptage de masses d'oeufs est aussi utilisé avec succès, au Brésil, pour la sélection de résistance vis-à-vis de M. incognita. Cependant, la conformité de cette méthode doit être vérifiée pour les études avec M. exigua, car il a été signalé que les masses d'oeufs pondues par les individus de cette espèce, restent à l'intérieur des racines.

d. Variabilité observée pour la tolérance ou la résistance

>> Pratylenchus sp.

Les résultats montrent peu de variabilité chez C. arabica pour la tolérance à Pratylenchus sp. Cependant du fait que la tolérance peut être liée à la vigueur de la plante, on ne doit pas négliger la possibilité que des variétés plus vigoureuses montrent une certaine tolérance. Cet aspect reste à vérifier.

Chez C. canephora on observe en général une tolérance plus élevée que celle observée chez C. arabica. Des différences dans le niveau d'expression de tolérance, et probablement de résistance (ce qui est moins évident) suggèrent la possibilité de sélection inter et intra-descendances dans cette espèce. Il sera très intéressant de vérifier la variation pour la résistance au niveau clonal.

>> Meloidogyne spp

La nouveauté apportée par nos travaux est la richesse en résistance rencontrée dans les introductions éthiopiennes de C. arabica. Ceci est important car tous les variétés cultivés appartenant à cette espèce sont très sensibles et la seule source de résistance utilisée jusqu'à présent est C. canephora. Ceci ouvre donc des perspectives de sélection à l'intérieur de C. arabica (voir plus loin). D'autre part, la grande variabilité

pour la résistance qui existe chez C. canephora, a été confirmée. Ceci montre la nécessité de sélection à l'intérieur de l'espèce pour augmenter la résistance.

e. Déterminisme génétique et durabilité de la résistance

La tolérance et/ou résistance de C. canephora vis-à-vis de Pratylenchus sp. (du Guatemala), semble polygénique. Ceci pourrait être l'indice d'une tolérance durable. Cependant, la présence de souches très destructives de Pratylenchus sur C. canephora en Indonésie (ESKES, 1991) montre qu'il faut rester vigilant au problème de la spécificité du pouvoir pathogène de ce nématode.

Quant à Meloidogyne, on distingue différents types de Déterminisme génétique : i) des gènes à effets majeurs chez les origines éthiopiennes de C. arabica, ii) une probable résistance de type polygénique dans les descendances de Catimor, et iii) chez C. canephora une résistance qui suggère la présence de gènes mineurs associés probablement à un ou plusieurs gènes majeurs.

Les études des relations entre plantes et pathogènes, ont montré que la résistance monogénique est généralement du type spécifique, et pourrait donc être surmonté par les parasites (VANDERPLANK, 1968). Par opposition, la résistance polygénique est considérée comme plus durable. Cependant, on a observé une protection durable conférée par des gènes majeurs en relation avec les pathogènes du sol, dans la mesure où la distribution de nouvelles races est très lente et reste souvent limitée. Ceci a été le cas par exemple pour le gène Mi de résistance aux Meloidogyne chez la tomate (DALMASSO et al., 1985). MORENO (1989) souligne également que la durée de la résistance ne peut pas être associée à un type particulier de déterminisme génétique, et que la stabilité dépend fondamentalement de l'action de différents mécanismes de résistance.

6.2 Possibilités d'utilisation de la résistance et/ou tolérance

a. Meloidogyne spp

>> C. arabica

Les introductions d'Ethiopie de C. arabica sont en général peu productives et par conséquent pas utilisables comme variétés commerciales. Par contre, les introductions résistantes pourront être utilisées comme variétés porte-greffes dans les régions où Meloidogyne spp est le seul nématode d'importance, au Brésil par exemple. L'avantage par rapport à C. canephora, utilisé actuellement dans certains pays, est le haut niveau de résistance de ces introductions et l'homogénéité de leurs descendances pour ce caractère. La sélection peut être donc faite très rapidement.

De plus, les introductions d'Ethiopie sont utilisables pour l'amélioration génétique comme géniteurs de variétés F1. Ces variétés seront supposées résistantes, si la résistance est dominante. Ces F1 pourront être multipliées par bouturage classique, par multiplication in vitro ou produits par pollinisation manuelle. D'autre part la sélection généalogique dans des générations plus avancées est également possible.

Le niveau intermédiaire de résistance de plusieurs lignées de Catimor semble directement exploitable dans des régions à relativement faible incidence de souches nuisibles de Meloidogyne sp. ou dans des régions infestées par des Meloidogyne peu nuisibles (M. exigua par exemple). Il est intéressant de mieux étudier les Catimors pour savoir si l'on peut identifier des lignées ayant un niveau de résistance plus élevé, comme cela semble possible.

>> C. canephora

L'utilisation de C. canephora comme variété porte-greffe est une pratique courante au Guatemala. Nos résultats suggèrent que la sélection est nécessaire pour atteindre un haut niveau de résistance, qui pourrait être atteint par la sélection de géniteurs qui transmettent mieux leur résistance aux descendances. Ces géniteurs doivent être croisés entre eux et leurs descendances les plus résistantes sélectionnées. Les géniteurs de ces descendances doivent être multipliés par bouturage, afin de constituer des jardins semenciers biclonaux ou polyclonaux pour la production de semences de la variété porte-greffe.

>> Arabusta

L'hybridation interspécifique se présente comme une autre possibilité à l'avenir. C'est ainsi que, par exemple, un croisement de T 3751 tétraploïde (doublé par la colchicine) avec une introduction résistante d'Ethiopie (C. arabica) pourrait conférer 100% de résistance à sa descendance. La production de semences pourrait être réalisée dans des jardins semenciers biclonaux, en récoltant les semences uniquement sur le clone doublé de C. canephora. Parallèlement à la résistance à Meloidogyne, on pourrait s'attendre à trouver une bonne expression de vigueur dans ces matériels, et par conséquent un bon niveau de tolérance.

b. Pratylenchus sp.

>> C. arabica

On porte peu d'espoir sur C. arabica comme éventuelle source de tolérance et/ou résistance à l'égard de Pratylenchus sp. Les observations au champ des variétés cultivées de C. arabica, nos propres résultats et l'information des chercheurs indiens concordent sur le peu de tolérance de cette espèce de caféier vis-à-vis de ce nématode.

>> C. canephora

La sélection de matériel comme porte-greffe est possible, mais un haut niveau de résistance ne peut pas être espéré.

>> Arabusta

La forte vigueur végétative des Arabustas pourrait leur conférer un niveau de tolérance acceptable vis-à-vis de Pratylenchus. Ceci reste à vérifier.

>> Autre espèces de Coffea

Chez les autres espèces de Coffea diploïdes, il y a un grand potentiel génétique à étudier. Des variétés de C. liberica ont été repérés comme tolérantes ou résistantes à Pratylenchus spp au Guatemala et en Indonésie (Obs. Pers. ; ESKES, 1991). C. excelsa est reporté également comme tolérante aux cochenilles des racines (GARCIA, 1991), qui sont des ravageurs du caféier très importants d'Amérique Centrale. Ces matériels pourront donc être incorporés dans la recherche de nouvelles sources de résistance aux nématodes.

c. Résistance simultanée à Meloidogyne et à Pratylenchus

On observe fréquemment la présence simultanée de Meloidogyne et de Pratylenchus dans les caféières des pays d'Amérique Centrale. La sélection devra considérer l'étude de la variabilité du caféier vis-à-vis des deux genres de nématodes.

Les actions de sélection devront être dirigées vers le matériel génétique suivant :

>> C. arabica

On peut penser que les hybrides F1 de croisements utilisant les origines éthiopiennes résistants à Meloidogyne spp. ils pourront, par leur vigueur, manifester un certain niveau de tolérance à Pratylenchus.

>> C. canephora

On a signalé d'une part que la sélection pour la résistance à Meloidogyne est possible, et que d'autre part, il est possible d'identifier des descendances plus tolérantes à Pratylenchus, la descendance T 3751 (1-2) par exemple.

>> Hybrides interspécifiques (Arabusta ou autres)

Ils peuvent permettre la possibilité de lier un haut niveau de résistance avec une forte expression de tolérance, vis-à-vis de Pratylenchus, et Meloidogyne. Les autres espèces de Coffea devront être mieux évaluées pour connaître leur résistance et/ou tolérance vis-à-vis des deux genres de nématodes.

6.3 Recommandations pour la sélection en Amérique Centrale

A court terme (5 à 10 ans), la sélection de variétés porte-greffe plus résistantes chez C. canephora se présente comme la stratégie à développer. On a constaté qu'il est possible de repérer des descendances qui présentent un haut niveau de résistance à Meloidogyne et qui expriment également une bonne tolérance à Pratylenchus. L'identification de plusieurs descendances avec ces caractéristiques est fortement probable. Pour les régions où Meloidogyne constitue le principal nématode, on peut envisager l'utilisation de variétés porte-greffe de C. arabica. Il faut signaler que la technique de greffage du caféier est parfaitement maîtrisée à l'échelle commerciale dans plusieurs pays d'Amérique Centrale.

D'autre part, l'utilisation directe de la résistance incomplète (à Meloidogyne) identifiée dans quelques lignées de Catimor d'origine colombienne, est facilitée car elle s'observe dans les générations assez avancées (F4, F5) qui ont des caractéristiques agronomiques favorables. Dans une approche à moyen terme, le croisement de ces lignées avec les origines éthiopiennes permettrait la recombinaison des résistances monogénique et polygénique.

A long terme, on peut proposer l'étude d'autres espèces (spécialement C. liberica) et d'hybrides interspécifiques comme variétés porte-greffes résistantes au complexe de parasites racinaires trouvés en Amérique Centrale (nématodes-cochenilles).

Enfin, les différentes possibilités d'utilisation de porte-greffes et de variétés résistantes devront prendre en compte les aspects particuliers de chaque pays et/ou région, notamment les genres et espèces de nématodes prédominants, le pouvoir pathogène de certaines populations, les niveaux d'infestation des nématodes, les techniques culturales appliquées au caféier.

Dans une monoculture pérennisée utilisant des variétés très sensibles et peu tolérantes aux nématodes, on peut être certain de la place prépondérante qu'il faut conférer à la recherche de résistance génétique. Pour le court terme on commence à repérer les applications du potentiel offert par la variabilité génétique qui existe dans le genre Coffea pour la résistance aux nématodes, au travail ...

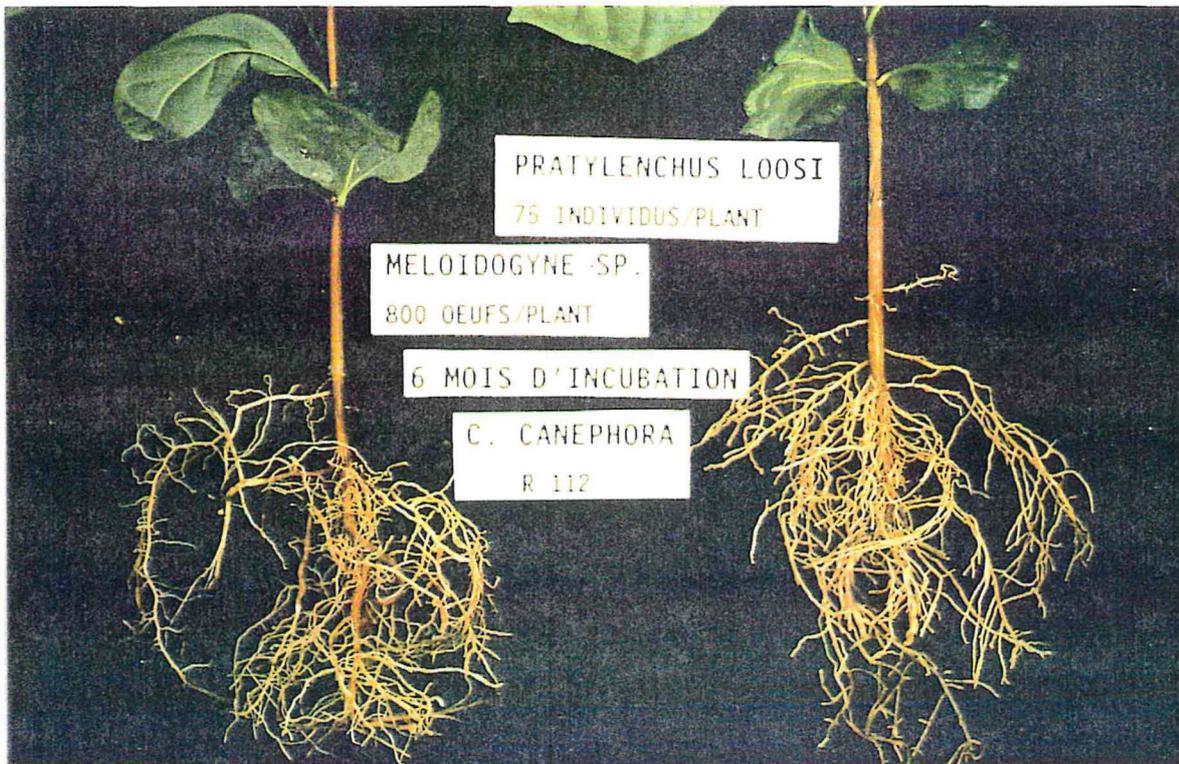


PHOTO 23 : Observation dans la descendance T 3751 (1-2), *C. canephora*, de sa résistance à *Meloidogyne* sp. et de sa tolérance à *Pratylenchus* sp.

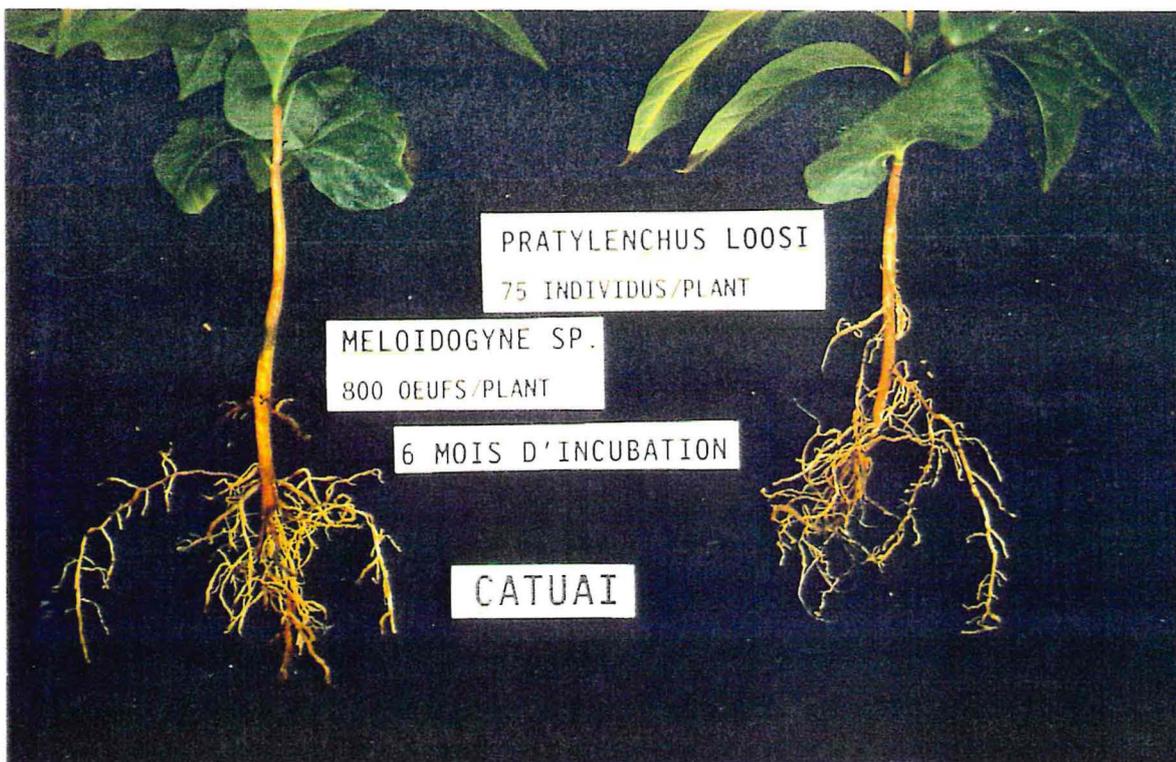


PHOTO 24 : Observation dans la variété cultivée Catuai (*C. arabica*) de sa grande sensibilité à *Meloidogyne* sp. et de sa non tolérance vis-à-vis de *Pratylenchus* sp. Ces aspects sont fréquemment observés au champ avec toutes les variétés cultivés de *C. arabica* en Amérique Centrale et du Sud.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME, 1971. India Coffee Board. 24rd, Annual Detailed Technical Report 1970-1971. Bangalore, India, 350p.
- ANONYME, 1972. India Coffee Board. 25rd, Annual Detailed Technical Report 1971-1972. Bangalore, India, 369p.
- ANONYME. 1973. India Coffee Board. 26rd, Annual Detailed Technical Report 1972-1973. Bangalore, India, 355p.
- ARAGON, B.C., GOMES, M.B. & CAICEDO, J.E.. 1978. Plantas de la zona cafetera colombiana hospedantes de especies de Meloidogyne Goeldi, 1887. Cenicafé, 29: 35-45.
- ARANGO, L.G.B., BAEZA, C.A.A. & LEGUIZAMON, J.E.C. 1982. Pruebas de resistencia a especies de Meloidogyne en plántulas de Coffea spp. ASIC, 10 : 563-568.
- ABREGO, L. & HOLDEMAN, Q.L. 1961. Nematodos del café en El Salvador Inst. Salvadoreño invest. café, Santa Tecla, El Salvador. Bol. inf. suplemento, 8 : 1-16.
- AREVALO R.C., ZARATE, L. & URRELLO, G.R. 1977. Comportamiento de nueve variedades de café al ataque del nemátodo del nudo de la raíz. Nematropica (E.E.U.U.), 7 : 3.
- ARRUDA H. Y., & REISS, A.J. 1960. Redução nas duas primeiras colheitas de café, devido ao parasitismo do nematoide. Biologico (Brasil) 28(12): 349.
- ANZUETO, F. 1989. Recherche de la résistance aux nématodes dans une collection de Coffea spp. D.E.A., Univ. de Rennes - ENSAR, 29 p.
- BAINES R.C., VAN GUNDY, S.D. & DU CHARME, E.P. 1978. Nematodes attacking citrus. In : The Citrus Industry, vol IV, Crop protection (W. Reuther, E.C. Calavan, and G.E. Carman, eds). University of California Division of Agricultural Science, pp. 321-345.
- BALLY, W. & REYDON, G.A. 1931. De tegenwoordige stand van het Vraagstkh van de Wortelaaltjes in de Koffiecultuur. Archf Voor de Koffiercultur, Indonesie, 2 : 23-216.
- BERNHARD, R., BOUQUET, A. & SCOTTO LA MASSESE, A. 1985. Diversité des problèmes nématologiques en Vergers et en Vignobles. Solutions chimiques et génétiques. C.R. Acad. Agric. France, 71: 705-718.
- BERTHAUD, J. 1986. Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Ed. de l'ORSTOM. Coll. Travaux et Documents n° 188, Paris, 379 p.
- BINGEFORS, S. 1982. - Nature of inherited nematode resistance in plants. Pp. 188-219 in : K.F. Harris and K. Maramorosch, eds. Pathogens, vectors and plant disease: Approaches to control. New York: Academic Press.

- BOLIVAR, G. 1984. Metodología para evaluar la reacción del cafeto al nemátodo Meloidogyne exigua Goeldi. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, UCR/CATIE. 71 p.
- BOUHARMONT, P. 1992. L'utilisation de la variété sélectionnée Java dans la rénovation de la caféière arabica au Cameroun, matériel végétal et techniques culturales, IRCC-CIRAD, 22 p.
- BONCATO, A.A., & DAVIDE, R.G. 1980. Radopholus similis on Cavendish banana in Deavao del Norte, II, Culture and Pathogenecity, Philippine Agriculturist 63 : 120-125.
- CALDERON-VEGA, M. 1989. Reacción de diferentes genotipos de café a Meloidogyne arabicida López y Salazar (1989), gama de hospedantes y hongos fitopatógenos asociados. Tesis Mag. Sc. Turrialba Costa Rica, UCR/CATIE. 62 p.
- CAMPOS, V.P., SIVAPALAN, P. & GNANAPRAGASAM, N.C. 1990. Nematode parasites of coffee, cocoa and tea. Pp. 387-430 in : M. Luc, R.A. Sikora, and J. Bridge, eds. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford, United Kingdom: C.A.B. International.
- CANTO-SAENZ, M. 1982. The nature of resistance to Meloidogyne incognita (Kofoid & White 1919) Chitwood 1949. In : IMP Research & Planing Conference on root-knot Nematodes, Meloidogyne spp. Proceedings. Ed C.C. Carter. Lima, International Meloidogyne Project p. 160-165.
- CARVALHO, A. 1988. Principles and practiques of coffee plant breeding for productivity and quality factors: Coffea arabica. In : Coffee Agronomy, Vol 4, Ed. Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London-New York, pp. 129-165.
- CARVALHO, A. & MONACO, L.C. 1972. Transferencia do factor Caturra par o cultivar Mundo Novo de C. arabica. Bragantia, 31: 379-399.
- CAUBEL, G., CHARPENTIER, F. & GUY, P. 1985. - Résistance variétale des légumineuses fourragères à Ditylenchus dipsaci (Kühn) Fil. C.R. Acad. Agri. France, 71: 719-728.
- McCLURE, M.A., ELLIS, M.C. & NIGH, E.L. 1974. Post-infection development and histopathology of M. incognita in resistant cotton. J. Nematol., 6 : 21-26.
- MORENO-RUIZ, G. 1989. Etude du polymorphisme de l'Hybride de Timor en vue de l'amélioration du caféier arabica : Variabilité enzymatique et agronomique dans les populations d'origine ; résistance incomplète à Hemileia vastatrix dans les croisements avec Coffea arabica. Thèse Docteur-ingénieur, Ecole National Supérieure Agronomique, Montpellier, 183 p.

- CHARRIER, A. 1978. Etude de la structure et de la variabilité génétique des caféiers : Résultats des études et des expérimentations réalisées au Cameroun, en Côte d'Ivoire et à Madagascar sur l'espece Coffea arabica L. collectée en Ethiopie par une mission ORSTOM en 1966. Paris, (France). ORSTOM-IFCC N° 14. 99 p.
- CHARRIER, A. 1985. Progrés et perspectives de l'amélioration génétique des caféiers. ASIC, 11 : 403-425.
- CHITWOOD, B.G. & BERGE, C.A. 1960. Preliminary report on nematode parasites of coffee in Guatemala with suggested and interim control measures. Pl. Dis. Rptr., 44 : 841-847.
- CLAMOT, G. 1985. - Amélioration de la résistance de l'avoine au nématode à kiste des céréales (Heterodera avenae Woll.) et au nématode des tiges (Ditylenchus dipsaci (Kühn) Fil.) en Belgique. C.R. Acad. Agri. France, 71 : 751-760.
- COOK, R. & EVANS, K. 1987. Resistance and tolerance. In : Brown, R.H. & Kerry, B.R., Principles and practice of nematode control in crops. Acad. Press London : 179-231.
- COOLEN, W.A. & D'HERDE, D.J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Publ. of the Government. Res. Stn for Nematol, and Entomol., Merelbeke, Belgium, 77 p.
- CULVER, D.J., RAMMING, D.W. & MCKENRY, M.V. 1989. Procedures for field and greenhouse screening of Prunus genotypes for resistance and tolerance to root lesion nematode. J. Amer. Sci., 114:30-35.
- CURI, S.M., CARVALHO, A., MORAES, F.P., MONACO, L.C. & ARRUDA, H.V. de. 1970. Novas fontes de resistencia genética de Coffea no controle de nematódes do cafeeiro, Meloidogyne exigua. O Biológico, 36:293-295.
- DALMASSO, A. & BERGE, J.B. 1975. Variabilité génétique chez Meloidogyne et plus particulièrement chez M. hapla. Cah. ORSTOM sér. Biol., 10 : 233-238
- DALMASSO, A. & BERGE, J.B. 1978. Molecular polymorphism and phylogenetic relationships in some Meloidogyne spp. Application to the taxonomy of Meloidogyne. J. Nematol., 10 : 323-332.
- DALMASSO, A. & BERGE, J.B. 1983. Enzyme polymorphism and the concept of parthenogenetic species exemplified by Meloidogyne. In STONE (A.R.) PLATT (H.M.) & KHALIL (L.F.) Concepts in nematode systematic. Acad. Press, London : 187-196.
- DALMASSO, A., CARDIN, M.C., POCHARD, E. & DAUNAY, M.C. 1985. Pouvoir pathogène des nématodes Meloidogyne et génétique de la résistance chez quelques Solanacées maraîchères. C.R. Acad. Agri. de France, 71, N° 7 : 771-779.

- D'ANTONIO, A. M., LIBECK, P.R., COELHO, A.J.E. & PAULA, V. de. 1980. Levantamento de nematóides parasitas do cafeeiro que ocorrem no sul de Minas Gerais. In: Congr. Bras. Pes. caf. Campos do Jordão, Rio de Janeiro, IBC/GERCA : 440.
- DAVIRON, B. & LERIN, F. 1990. Le café. Collection Cyclope, Les Grands Marchés Mondiaux (Chalmin Ph.) Ed. Economica, Paris. 106 p.
- DAVIDE, R.G. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1968. Influence of the environment on development and sex differentiation of root-knot nematodes. III. Effet of foliar application of maleic hydrazide. Nematologica, 14 : 37-46.
- DI VITO, M., GRECO, N. & CARELLA, A. 1986. Effect of Meloidogyne incognita and importance of the inoculum on the yield of eggplant. J. Nematol. 18 : 487-490.
- DROPKIN, V.H. & BONNE, W.R. 1966. Analysis of host-parasite relationships of root-knot nematodes by single-larve inoculations of exised tomato roots. Nematol., 12 : 225-236.
- DROPKIN, V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant Meloidogyne. Reversal by temperature. Phytopathol., 59 : 1632-1637.
- ENDO, B.Y. 1971. Nematode - induced synsytia (giant cells). Host-parasite relationships of Heteroderidae. In : Zuckerman, B.M., W.F. MAI & R.A. Rohde. ed. Plant Parasitic Nematodes. N. York, Academic Press 2 : 69-85.
- ESBENSHADE, P.R. & TRIANTHAPHYLLOU, A.C. 1985. Use of enzyme phenotype for identification of Meloidogyne species. J. Nematol., 17 : 6-20.
- ESCOUTE, J. & SCHWENDIMAN, J. 1989. Manuel pratique d'histologie Végétale. CIRAD-BIOTROP, Laboratoire de cytogénétique et d'histologie végétale, 61 p.
- ESKES, A.B. 1989. Identification, description and collection of coffee types in P.D.R. Yemen. Technical Report of Mission Undertaken, IBPGR, Ministry of Agriculture of P.D.R. Yemen, IRCC/CIRAD, France. 70 p.
- ESKES, A.B. 1991. Final consultancy report of two missions carried out in Indonesia. FAO project TCP/INS/8959, France, 46 p.
- ESKES, A.B. 1992. Informe de viaje realizado en Costa Rica, Honduras y Guatemala, CIRAD-IRCC, Montpellier. 17p.
- EUROPEAN PATENT OFFICE. 1989. Novel isolates of Bacillus thuringiensis having activity against nematodes. Bulletin 89/07, publication n° 0 303 426 A2. 6 p.
- FAZUOLI, L.C., MONACO, L.C. & CARVALHO, A. & SCALI, M.H. 1974. Estudo da resistencia de cafeeiros a nematoides. Soc. Bras. Nemat., 1 : 25-26.

- FAZUOLI, L.C., LIMA, M.M.A. de, GONCALVES, W. & COSTA, W.M. da. 1987. Melhoramento do cafeeiro visando resistência a nematóides. Utilização de porta-enxerto resistentes. In : Congresso Paulista de Agronomia, SP, Brasil, 6 : 171-180.
- FAZUOLI, L.C. 1986. Genética e melhoramento do cafeeiro. In : Rena, A.B. ; Malavolta, E. ; Rocha, M. & Yamada, T. (Eds). Cultura do cafeeiro, fatores que afetam a produtividade. Associação para Pesquisa da Potassa e do Fostato, Piracicaba, SP, Brasil : 87-113.
- FAZUOLI, L.C. & LORDELLO, R.R.A. 1978. Resistência de cafeeiro Híbrido do Timor a Meloidogyne exigua. Ciencia e Cultura, SP, Bresil, 30 : 3
- FERREIRA, A.J. & ARAUJO NETTO, K. 1977. Estudo de resistencia de Coffea spp. ao nematoide Meloidogyne exigua. In : Cong. Bras. Pes. Caf. Guaraparai, Brasil, 5 : 209-211.
- FIGUEROA, A. & PERLAZA, F. 1982. Investigacion sobre Meloidogyne en Costa Rica. In : Proceeding of the third Research & Planning Conference on Root-Knot Nematodes, Meloidogyne spp. January 11-15, Region I : 12-25.
- GARCIA, Armando. 1991. Les pseudococcidae depredatrices des racines de caféier (Coffea arabica L.) au Guatemala cas particulier de Dysmicoccus cryptus (Hempel, 1918). Thèse doct. Univ. Paul-Sabatier Toulouse III. 122 p.
- GOELDI, E.A. 1887. Relatorio sobre a molestia do cafeeiro na provincia do Rio de Janeiro. Apparently advance separate of: Archos. Mus. Nac., Rio de Janeiro. 8 : 7-21.
- GOLDEN, M., LOPEZ, R. & VILCHEZ, H. 1992. Description of Pratylenchus gutierrezii n.sp. (Nematoda: Pratylenchidae) from Coffe in Costa Rica. J. Nematol., 2., 298-304.
- GONCALVES, M.M. & RODRIGUES, M.L. 1976. Estudos sobre o café de Timor. II. Nota sobre as possibilidades de produção do Híbrido de Timor no seu habitat natural. Lisboa (Portugal). Missao de Estudos Agronomicos do Ultramar (Portugal). Comunicações N° 86 : 31-72.
- GONCALVES, W., THOMAZIELLO, R.A., MORAES, M.V., FERNANDES, J.A., COSTA, A.M., CORSI, T., JUNGUEIRA, C.A. & LACERDA, L.A. 1978. Estimativas de danos ocasionados pelos nematoides do cafeeiro. In : 6° Cong. Bras. Pes. Caf. IBC/GERCA: 182-186.
- GONCALVES, W. 1992. Melhoramento do cafeeiro visando resistência a nematóides. In : Informe Agropecuario. EPAMIG, Minas Gerais (Brésil). V. 16, n 172 : 66-72.
- GONCALVES, W. & FERRAZ, L.C.C.B. 1987. Resistência do cafeeiro a nematóides. II. Testes de progênies e híbridos para Meloidogyne incognita raça 3. Nematol. Bras., 11 : 125-142.
- GUIRAN, G. & NETSCHER, C. 1970. Les nématodes du genre Meloidogyne parasites de cultures tropicales. Cah. ORSTOM, ser. Biol., 11 : 151-184.

- GUIRAN, G. de 1983. - Nématodes : Les ennemis invisibles. Les nématodes parasites des cultures en pays tempérés. La Littorale. Béziers. 42p.
- HADISOEGANDA, W.W. & SASSER, J.N. 1982. Resistance of tomato, bean, southern pea, and garden pea cultivars to root-knot nematodes based on host suitability. Plant. Dis. Rep., 66: 145-150.
- HANDOO, Z.A. & GOLDEN, A.M. 1989. A key and diagnostic compendium to the species of the genus Pratylenchus Filipjev, 1936 (lesion nematodes). J. Nematol., 21: 202-218.
- HARRIS, A.R. 1990. - Evaluating resistance to ectoparasitic nematodes. Pp. 67-89. In : J.L. Starr, ed. Methods for evaluating plant species for resistance to plant-parasitic nematodes. Society of Nematologist.
- HARTMAN, K. 1982. Enhancement technique for eggs masses of the root-knot nematode with Phloxine B. In IMP Research & Planning Conference on Root knot Nematodes, Meloidogyne spp., (3, 1982, Lima, Perú). Proceedings. ED. by C.C. Carter. Lima, International Meloidogyne Project, p. 129-130.
- HENDY, H., DALMASSO, A. & CARDIN, M.C. 1985. Differences in resistant Capsicum annuum L. attacked by different Meloidogyne spp. Nematologica, 31 : 71-72.
- HUANG, C.S. & MAGGENTI, A.R. 1969. Mitotic aberrations and changes of developing giant cells in Vicia faba caused by root knot nematode, Meloidogyne javanica. Phytopatol. 59 : 447-455.
- HUANG, C.S. & MAGGENTI, A.R. 1969. Wall modifications in developing giant cells of Vicia faba and Cucumis sativus induced by root knot nematode, Meloidogyne javanica. Phytopatol. 59 : 931-937.
- HUSSEY, R.S. & BARKER, K.R. 1973. A comparison of methods for collecting inocula of Meloidogyne spp., including a new technique. Plant Dis. Reprtr. 57 : 1025-1028.
- HUSSEY, R.S., SASSER, J.N. & HUISING, D. 1972. Disc electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of Meloidogyne incognita and M. arenaria. J. Nematol., 4:183-189.
- JAEHN, A. 1990. Informe de asesoria sobre nématodos de café en el area de Centroamérica. PROMECAFE, Turrialba, Costa Rica: 17 p.
- JAEHN, A. & REBEL, E.K. 1984. Sobrevivência do nematóide de galhas Meloidogyne incognita em substrato infestado, para produção de mudas de cafeeiro sadias. Nematol. Bras., 8 : 319-324.
- JANATI, A. 1979. Contribution à l'étude des estérases chez le Meloidogyne (Nematoda, Tylenchida. Thèse Doct. Ing. Univ. Sci. Tech. Montpellier, 84 p.

- JANATI, A., BERGE, J.B., TRIANTHAPHYLLOU, A.C. & DALMASSO, A. 1982. Nouvelles données sur l'utilisation des isoestérases pour l'identification des Meloidogyne. Rev. Nématol., 5 : 147-154.
- JARQUIN-BARBERENA, H. 1989. Aspects de la résistance chez Lycopersicon esculentum Mill. et Capsicum annum L. vis-à-vis du genre Meloidogyne spp. (Nematoda : Tylenchida). Thèse Doct. Sci., Université de Paris-sud Centre Orsay, 121 p.
- JOBERT, C. 1878. Sur une maladie du caféier observée au Brésil. Comptes-Rendus de la Société de Biologie. Paris, 87:941-943.
- JONES, F.G.W. 1985. Modelling multigenic resistance to potato cyst nematodes. OEPP/EPPO Bulletin 15 : 155-166.
- KEEN, N.T. 1981. Specific recognition in gene-for-gene host-parasite system. In : INGRAND (D.) & WILLIAMS (P.H.), Advances in plant pathology. Acad. Press, London pp. 35-81.
- KUMAR, A.C. & VISWANATHAN, P.R.K. 1972. Studies on physiological races of Pratylenchus coffeae. Journal of Coffee Research, 2 : 10-15.
- KUMAR, A.C. 1979. Relative tolerance or susceptibility of arabica, robusta and excelsa coffees to Pratylenchus coffeae. In : PLACROSYM II (Venkata C.S.), Cinchona, Inde: 20-26.
- KHUKHANG, T. 1990. Evaluation de la résistance à l'Hemileia vastatrix (Berk et Br.) dans des collections de Coffea arabica (L.) du Cameroun et du Yémen, D.A.A., Ecole National Supérieur d'Agronomie de Montpellier, 53 p.
- LEGUIZAMON, C.J. 1983. Contribution à la connaissance de la résistance incomplète du caféier arabica (Coffea arabica L.) à la rouille orangée (Hemileia vastatrix Berk et Br.). Thèse Docteur Ingénieur, Ecole National Supérieure Agronomique, Montpellier, 183 p.
- LE PIERRES, D. & VAN DEN ASSEM, B. 1983. Amélioration des hybrides C. arabica x C. spp. Operation conjointe ORSTOM - IRCC, Protocoles d'étude du matériel au champ, ORSTOM, Centre d'Adiopodoume, Côte d'Ivoire, 41 p.
- LIMA, R.D. 1984. Embriogenese, desenvolvimento pósembriogênico e caracterização morfológica de Meloidogyne exigua, Goeldi, 1887. Tesis. Brasil, Viçosa, M.G., UFV. 269 p.
- LOPEZ, R. & SALAZAR, L. 1989. Meloidogyne arabicida sp.n (Nemata: Heteroderidae) nativo de Costa Rica : un nuevo y severo patógeno del café. Turrialba (C.R.), 39(3) : 313-323.
- LORDELLO, L.G.E. & LORDELLO, R.R.A. 1972. Duas plantas hospedeiras novas do nematoide Meloidogyne coffeicola. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 29:61-62.
- LORDELLO, L.G.E. & MELLO FILHO, A.T. 1970. Mais um nematóide ataca o cafeeiro. Revista de Agricultura, 45:102.

- LORDELLO, L.G.E. 1984. Nematóides das plantas cultivadas. 8° Edição. Livraria Nobel S.A. 314 p.
- LORDELLO, L.G.E. & ZAMITH, A.P.L. 1960. Meloidogyne coffeicola sp.n., a pest of coffee trees in the state of Paraná, Brazil, (Nematoda, Heteroderidae). Revista Brasileira de Biologia, 20:375-379.
- LORDELLO, R.R.A. & LORDELLO, A.I.L. 1987. Avaliação da resistência de cafeeiros à raças de Meloidogyne incognita. Bragantia, 46(1): 59-64.
- LUC, M. & REVERSAT, G. 1985. - Possibilités et limites des solutions génétiques aux affections provoquées par les nématodes sur les cultures tropicales. C.R. Acad. Agri. France, 71: 781-791.
- LUC, M. 1987. A reappraisal of Tylenchida (nemata). 7. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. Revue Nematol., 10 : 203-218.
- MARGUERITTE, E. 1991. Contribution a la mise au point d'un test de criblage varietal precoce de l'ananas a l'égard de Pratylenchus brachyurus (Godfrey), memoire ingenieur E.N.S.H. Versailles, 42 p.
- MEDINA FILHO, H.P., FAZUOLI, L.C. & COSTA, W.M. da. 1981. Identificação das raças 2, 3 e 4 de Meloidogyne incognita parasitando cafeeiros. In : 8° Cong. Bras. Pes. Caf., São Lourenço, M.G. : 161-168.
- MENDES, B.V., FERRAZ, S. & SHYMOYA, C. 1977. Observações histopatológicas de raízes de cafeeiro parasitadas por Meloidogyne exigua Goeldi. Soc. Bras. Nemat., 2 : 207-229.
- MORAES, M.V. de & LORDELLO, L.G.E. 1977. Estudo de tres populações de nematóides nocivos ao cafeeiro. Nematol. Bras., 2:249-255.
- MORENO-VAQUERANO, G. 1980. Estudio del ciclo biológico del Pratylenchus coffeae (Zimm.). In : Resúmenes de investigaciones en café 1979 - 1980. Nueva San Salvador. C.A., Instituto Salvadoreño de Investigacione del Café: 36-37.
- MORERA, G.N. 1986. Evaluación de la interacción entre genotipos de Meloidogyne exigua Goeldi. 1887 y Coffea spp. Tesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, UCR/CATIE. 59 p.
- MORERA, G.N. ; LOPEZ, CH. R. 1987. Respuesta de seis lineas experimentales de Coffea spp. a la inoculación con Meloidogyne exigua. Nematropica (E.E.U.U.) 17 : 103-109.
- MONTEIRO, A.R. & LORDELLO, L.G.E. 1974. Encontro do nematóide Pratylenchus coffeae atacando cafeeiro em São Paulo. Revista de Agricultura, Piracicaba, 49 : 164.

- MIGUEL, A.E., OLIVEIRA, J.A., MATIELLO, J.B., FIORAVANTE, N. & FREIRE, A.C.F.. 1984. Efeitos dos diferentes tipos de podas na morte de raízes do cafeeiro. In : 11° Cong. Bras. Pes. Caf., Londrina, PR, Brasil-IBC: 240-241.
- MULLER, R.A. 1978. Contribution à la connaissance de la phytomycoecenose Coffea arabica L. Colletotrichum coffeanum Noack. Sensus hindorf, Hemileia vastatrix Berk et Br., Hemileia coffeicola, Maublanc et Roger. Thèse (Doctorat d'Etat), Université Pierre et Marie Curie (Paris), 174 p.
- MULLER, K.O. & BORGER, H. 1940. Experimentelle untersuchungen über die Phytophthora. Resistant der kartoffel. Arb. Biol. Reichsanst. Land-Forst-wirtsch, 23 : 189-231.
- MURRAY, P.R. 1991. Advanced Methods in Plant Breeding and Biotechnology, CABI, Angleterre, 365 p.
- NETSCHER, C. 1978. Morphological and physiological variability of species of Meloidogyne in West Africa and implications for their control. Meded. Landbouwhoges. Wageningen, 47: 78-83.
- O'BANNON, J.H., BOGE, W.L. & PEADEN, R.N. 1985. A comparison of NaOCl or water extraction on developpement and survival of Meloidogyne chitowoodi and M. hapla eggs at four temperatures. J. Nematol. 17 : 508 [Abstr.].
- O'BANNON, J.H. & TAYLOR, A.L. 1968. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot discs. Phytopathol., 58 : 385.
- PALANICHAMY, L. 1973. Nematode problems of coffee in India. Indian Coffee, 37 : 99-100.
- PAYAN, L.A. & DICKSON, D.W. 1990. Comparison of Populations of Pratylenchus brachyurus Based on Isozyme Phenotypes. J. Nematol., 22 : 538-545.
- REBEL, E.K. & FAZUOLI, L.C. 1978. Fontes de resistênciã de cafeeiros au nematóide de Meloidogyne incognita. In : Cong. Bras. Pes. Caf. IBC/GERCA, 6 : 187-191.
- REYNA, E.H. 1966. Un nuevo método de injertación en café. Boletín técnico No. 21. Dirección General de Investigación y Control Agropecuario, Ministerio de Agricultura, Guatemala. 21 p.
- REYNOLS, H.W., CARTER, W.W. & O'BANNON, J.H. 1970. Symptomless resistance of alfalfa to Meloidogyne incognita acrita. J. Nematol. 2 : 131-135.
- RITTER, M. 1985. Connaissances nouvelles sur la biologie des nématodes ; conséquences pratiques. C.R. Acad. Agri. France, 71: 691-704.
- ROBERTS, P. A. 1992. - Current status of the availability, development, and use of host plant resistance to nematodes. J. Nematol., 2 : 213-227.

- SALLE, B. 1985. Rapport d'activité - Agronomie et Génétique du caféier arabica, IRA Foubot, Cameroun, CIRAC-IRCC, 142 p.
- SANTOS, J.M. dos & FERRAZ, S. 1977. Efeito de exudatos radiculares e temperatura sobre a eclosao de larvas de Meloidogyne exigua Goeldi, 1887. In : 5° Cong. Bras. Pes. Caf., Guarapari, : 137-138.
- SANTOS, J.M. dos & HIRSCHMANN TRIANTAPHYLLOU, H. 1992. Determinação dos fenotipos isoenzimaticos e estudos comparativos da morfologia de 88 populações de Meloidogyne spp., parasitas do cafeeiro. In : Resumos do XVI Congresso Brasileiro de Nematologia, Lavras, Minas Gerais, Brésil. : 42.
- SARAH, J.L. 1990. Rapport de mission en Amérique Centrale, appui au programme de lutte contre les nématodes du café, IRCC-IRFA/CIRAD, Montpellier, France (dactylographie), 17 p.
- SASSER, J.N. 1979. - Economic importance of Meloidogyne in tropical countries. In : Lamberti F., & Taylor C.E., eds. Root-knot nematodes. London, Academic Press, 360-374.
- SASSER, J.N. 1979. Economic importance of Meloidogyne in tropical countries. In : LAMBERTI (F.) & TAYLOR (C.E.). Root-knot nematodes (Meloidogyne species). Systematics, Biology and Control. Acad. Press, London, 359-374.
- SASSER, J.N., HARTMAN, K.M. & CARTER, C.C. 1984. Standardization of host suitability study and reporting of resistance to root-knot nematodes. Raleigh, N.C. Crop Nematode Research & Control Projet. 7 p.
- SCHIEBER, E. & ZENTMYER, G.A. 1983. Spread of coffee rust in the Americas Simposio sobre ferrugens do cafeeiro, Oeiras, Portugal. 17-20 Outubro. 165-179.
- SCHIEBER, E. & SOSA, O. 1960. Nematodes on coffee in Guatemala. Pl. Dis. Reprt. 44 : 722-723.
- SCHIEBER, E. & GRULLON, L. 1969. El problema de nematodos que atacan el café (Coffea arabica L.) en la República Dominicana. Turrialba, 19 : 513-517.
- SCHIEBER, E. 1968. Nematode problems of coffee. In : Tropical Nematology. University of Florida Press, 81-92.
- SHERMAN, W.B., LYRENE, P.M. & HANSCH, P.E. 1981. Breeding peach rootstocks resistant to root-knot nematode. HorstScience 16: 523-524.
- SHIDU, G.S., & WEBSTER, J.M. 1981. The genetics of plant - nematode parasitic systems. Bot. Rev., 47: 387-419.
- SIDDIQI, M.R., DABUR, K.R. & BAJAJ, H.K. 1991. Descriptions of three new species of Pratylenchus Filipjev, 1936 (Nematoda: Pratylenchidae). Nematol. Medit., 19 : 1-7.

- SIDDIQI, M.R. 1986. Tylenchida. Parasites of plants and insects. Published by Commonwealth Institute of Parasitology of the Commonwealth Agricultural Bureau, London United Kingdom.
- SIVAPALAM, P. 1972. Nematode Pests of Tea. In : Webster, J.M. [Ed.]: Economic Nematology. New York & London Academic Press/ 285-310.
- SOUZA, P. 1977. A disease complex of coffee involving Meloidogyne exigua and Rhizoctonia solani. Thesis North Carolina State University Graphics, 144p.
- TAYLOR, A.L. 1967. Introduction to Research on Plant Nematology. No. PL:CP/5. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 135p.
- TAYLOR, A.L. & SASSER, J.N. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne Species). Raleigh, N.C. International Meloidogyne Project. 111 p.
- TRIANANTAPHYLLOU, A.C. & HIRSCHMANN, H. 1973. Environmentally controlled sex expression in Meloidodera floridensis. J. Nematol., 13 : 95-104.
- VAN DER PLANK, J.E. 1968. Disease resistance in plants. New York, (EE.UU.), Academic Press, 206 p.
- VRAIN T.C., 1977. A technique for the collection of larvae of Meloidogyne spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. J. Nematol., 9 : 249-251.
- WATTS, V.M. 1947. - The use of Lycopersicon peruvianum as a source of nematode resistance in tomatoes. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci., 49 : 233-234.
- WHITEHEAD, A.G. 1969. Nematodes Attacking Coffee, Tea and Cocoa and their control. In : Peachey, J.E. [Ed]. Nematodes of Tropical Crops. Technical communication n°40. Commonwealth Bureaux of Helminthology. St Albans, Herts. England: 238-250.

ABSTRACT

With the objective of utilization of genetic resistance for the control of damaging coffee nematodes, the diversity of different populations was evaluated. The materials studied for Coffea arabica were semi-spontaneous Ethiopian introductions of C. arabica, F2 populations derived from crosses between these introduction and cultivated varieties, introductions from Yemen, and some other introductions or breeding lines. Several families of Coffea canephora from Brazil and Central America were also tested. Two damaging isolates of Meloidogyne spp, one from Guatemala and one from Brazil, were used as well as one isolate of Pratylenchus from Guatemala.

Most ethiopian introductions of Coffea arabica were uniformly high resistant to the M.sp isolate from Guatemala. Some introductions show intermediate levels of resistance and many show strong segregation, suggestive of the action of dominant major genes. The F2 populations analyzed confirm the presence of dominant genes and, in one case, the presence of two complementary genes. A certain level of partial resistance was identified in columbian Catimor lines. Among the families of Coffea canephora tested, T3751 (1-2) showed highest resistance level to M.sp, 80 % of the plants being resistant. The segregation observed is indicates the action of minor and major genes. The comparative studies with the two Meloidogyne isolates show similar resistance of most coffee genotypes, suggesting that this resistance can be more generally applicable.

Coffea canephora shows also a good level of tolerance to Pratylenchus sp. and T 3751 (1-2) seem to passers also some degree resistance. Coffea canephora shows uniformly low level of tolerance to this nematode.

The results on methodology show that the number of egg masses can be a reliable parameter for resistance to M.sp. For the assessment of tolerance (resistance to Pratylenchus a simple and efficient parameter has been evidenced the percentage of necrotic root tissue).

The results show new possibilities for quicker selection of resistant root-stock or seed varieties of coffee. The applications are discussed.

Key words Coffea, breeding, resistance to nematodes, Meloidogyne sp, Pratylenchus sp., genetic diversity, inheritance.

RESUME

Dans la perspective de l'utilisation agronomique de la résistance vis-à-vis des principales espèces de nématodes nuisibles du caféier, la diversité de différentes populations de Coffea spp. est évaluée. Des origines semi-spontanées de C. arabica d'Ethiopie, des populations F2 de croisements entre origines éthiopiennes et variétés cultivées, des introductions de C. arabica du Yémen, des lignées de Catimor et quelques autres origines de C. arabica, et plusieurs descendance de pollinisation libre de C. canephora sont étudiées. Deux souches provenant du Guatemala, Meloidogyne sp. et Pratylenchus sp., ont été principalement étudiés. Quelques études comparatives ont été également faites avec une souche de Meloidogyne sp. originaire du Brésil.

Chez les origines éthiopiennes, environ 70% des lignées évaluées sont uniformément très résistantes à Meloidogyne sp. Quelques autres lignées montrent une résistance intermédiaire et plusieurs présentent une forte ségrégation, suggèrent la présence de gènes majeurs. L'étude des populations F2 confirme la présence de gènes majeurs dominants, et suggère dans un cas l'action de deux gènes complémentaires. Une résistance partielle à Meloidogyne sp. est mise en évidence dans les descendance de Catimor. La descendance T 3751(1-2) de C. canephora a montré le plus haut niveau de résistance à Meloidogyne sp., 80 % de plantes étant très résistantes. La ségrégation observée suggère l'action conjointe de gènes majeurs et de gènes mineurs. Le comportement similaire des plants lors des études comparatives entre les deux souches de Meloidogyne spp. provenant du Guatemala et du Brésil montrent que les sources de résistance peuvent être utilisés dans différents pays.

Les descendance de C. canephora montrent également une expression de tolérance vis-à-vis de Pratylenchus sp., la descendance T 3751(1-2) suggère en plus une certaine résistance. Chez C. arabica le niveau de tolérance semble être uniformément faible.

Le comptage de masses d'oeufs s'est révélé être un paramètre fiable pour l'évaluation de la résistance à Meloidogyne sp. En ce qui concerne Pratylenchus, l'estimation visuelle de la surface de racines nécrosées se présente comme un critère simple et fiable.

Les résultats obtenus soulignent les possibilités d'application de la résistance comme moyen de maîtrise des populations de nématodes nuisibles au caféier. Ces aspects sont discutés.

MOTS-CLES Coffea, amélioration des plantes, nématodes phytoparasites, Meloidogyne, Pratylenchus, résistance, tolérance, diversité génétique.