

Deux grands groupes de cocotiers se distinguent clairement par leur profil RFLP. L'un correspond aux populations d'Asie du Sud-Est et du Pacifique et a donné naissance aux Nains. L'autre s'est individualisé dans le sous-continent indien et a été disséminé par l'Homme vers l'Afrique de l'Ouest et la région Caraïbe.

Dissémination et domestication du cocotier à la lumière des marqueurs RFLP

Lebrun P., Grivet L., Baudouin L.

CIRAD, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

L'extension géographique et la diversité du cocotier pour le port de l'arbre, la forme et la couleur du fruit (planche photos) ont conduit à identifier un grand nombre de variétés. Dans une liste internationale, établie pour le compte de l'Ipgr¹, nous avons recensé plus de 300 noms de cultivars correspondant à des populations traditionnelles cultivées ou améliorées par sélection massive. Si certains d'entre eux représentent, sans doute, des populations mal définies ou même éteintes, il n'en reste pas moins que près de 60 ont fait l'objet d'échanges internationaux entre stations de recherche dans les 50 dernières années. Ceci traduit l'intérêt des sélectionneurs pour la collecte et l'utilisation des ressources génétiques du cocotier. Dix-sept pays du réseau Cogent² ont contribué à la base de donnée Cgrd³, ils maintiennent plus de 900 accessions, et se sont engagés à fournir une liste prioritaire de descripteurs.

Dans les programmes d'amélioration, les ressources génétiques jouent un rôle clé, dans la mesure où elles constituent une source de variation utilisable par sélection. Dans certains cas, la réalisation d'hybrides entre populations a mis en évidence une forte hétérosis (Nucé de Lamothe et Bénard, 1985). Enfin, elles constituent un réservoir de variabilité pour la recherche de caractères d'adaptation tant aux conditions édaphoclimatiques qu'aux maladies et ravageurs (Whitehead, 1968).

Si la richesse des collections de cocotiers est un atout considérable pour l'amélioration, son importance même rend indispensable l'établissement d'une stratégie raisonnée d'exploitation. Le nombre de combinaisons possibles entre cultivars dépasse largement les possibilités du dispositif d'amélioration mondial. La conservation de l'ensemble des cultivars occupe un espace très important et sa description représente un travail considérable. L'identification d'un sous-ensemble de populations représentatif de la diversité de la plante s'avère nécessaire. L'utilisation de caractères morpholo-

Le contenu de cet article a fait l'objet d'un exposé présenté à l'*International symposium on coconut biotechnology*, à Mérida, Yucatán (Mexique), du 1^{er} au 5 décembre 1997.

¹ Ipgr : International Plant Genetic Resources Institute.

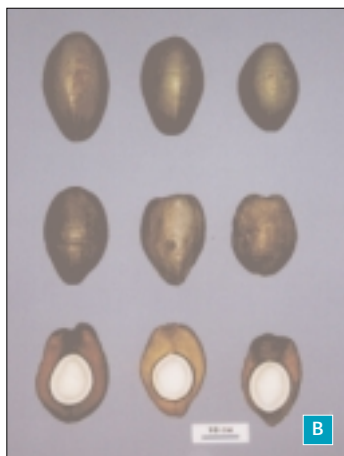
² Cogent : *Coconut Genetic Resources Network*.

³ Cgrd : *Coconut Genetic Resources Database*.

Aspect général (A) et forme du fruit (B) de quatre cultivars de cocotier
General appearance (A) and fruit shape (B) of four coconut cultivars

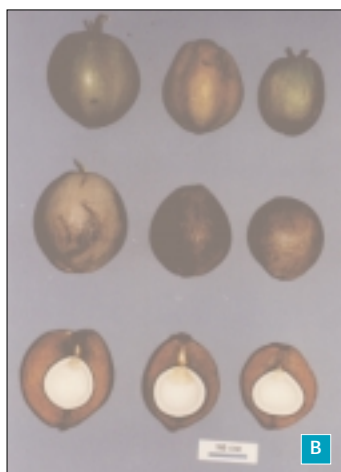
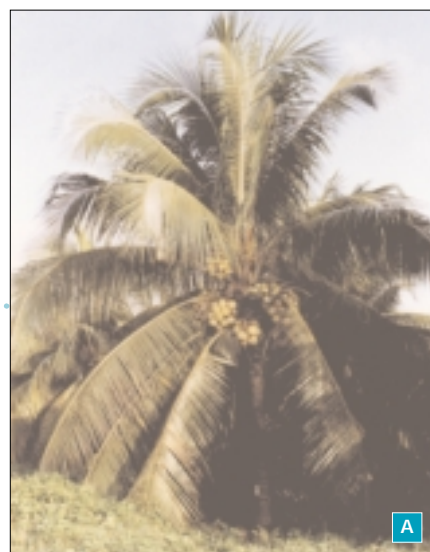


2. Grand d'Asie du Sud-Est
 (Grand Tagnanan)
Tall from South East Asia (Tagnanan Tall)

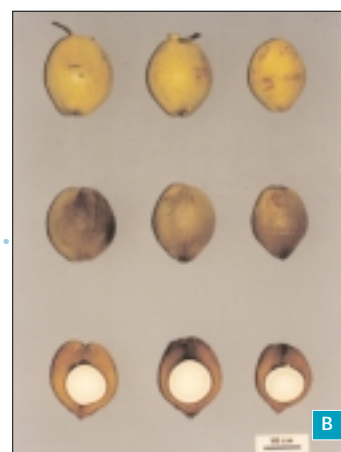


1. Grand du groupe Indo-atlantique
 (Grand Sri Lanka)
*Tall from Indo-Atlantic group
 (Sri Lanka Tall)*

4. Nain (Nain Jaune Malais)
Dwarf (Malayan Yellow Dwarf)



3. Grand du Pacifique Sud
 (Grand Karkar)
Tall from South Pacific (Karkar Tall)



giques et agronomiques est bien entendu essentielle, mais ces caractères sont soumis aux variations de l'environnement.

Les marqueurs moléculaires fournissent donc un moyen d'explorer les relations génétiques entre populations, indépendamment de ces variations. L'efficacité des marqueurs RFLP⁴, pour décrire la diversité génétique du cocotier, a été démontrée dans une première étude (Lebrun *et al.*, 1998) et nous présentons, ici, les résultats d'un travail couvrant un échantillon plus large. Les résultats des analyses moléculaires ont été confrontés à la répartition géographique, la dispersion du cocotier, aux caractéristiques

morphologiques des populations étudiées et aux classifications existantes.

Plusieurs auteurs ont proposé des classifications du cocotier. Une première distinction évidente est celle qui sépare les Grands allogames des Nains qui, outre leur autogamie, sont plus précoces, portent de petites noix, souvent vivement colorées, et ont une croissance lente (Fremond *et al.*, 1966). De son côté, Harries (1978) a distingué les cocotiers « Niu Kafa » qui ont, par exemple, un fort taux de bourre sur le fruit entier et un fort taux d'albumen sur la noix débourrée, et les cocotiers « Niu Vai », qui présentent les caractéristiques inverses. Les premiers seraient ancestraux (ou sauvages), alors que les seconds seraient le produit d'une domes-

tication. Un grand nombre de populations résulteraient du mélange, en proportions variables, des types extrêmes.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Des échantillons foliaires ont été prélevés sur 289 arbres représentant 26 cultivars Grands et 16 cultivars Nains (tableau). Leur identification se réfère à la liste internationale élaborée dans le cadre du réseau Cogent. Le code d'un cultivar est composé de trois ou quatre lettres. Il est éventuellement suivi d'un nombre identifiant une sous-population.

⁴ RFLP : *Restriction Fragment Length Polymorphism*.

Effectif et répartition géographique des cultivars prélevés

Origine	Grands	Code	Effectif	Nains	Code	Effectif
Afrique de l'Ouest Côte d'Ivoire	2 cultivars			2 cultivars		
	Grand Ouest Africain	GOA	5			
	Grand Ouest Africain Mensah	GOA04	10			
	Grand Ouest Africain Ouidah	GOA06	10			
Bénin	Grand Ouest Africain Ouidah	GOA06	10			
	Grand Cameroun Kribi	GCA		Nain Rouge Cameroun	NRC	5
Ghana				Nain Jaune Ghana	NJG	7
Afrique de l'Est Comores	2 cultivars					
	Grand des Comores Moheli	GCO	5			
Mozambique	Grand du Mozambique	GMZ	5			
Asie du Sud Inde	4 cultivars			1 cultivar		
	Grand Laccadives Micro	GND07	5			
	Grand Kappadam	GND05	5			
	Grand Andaman Ordinaire	GND02	4			
Sri Lanka	Grand Sri Lanka	GSL	5	Nain Vert Sri Lanka	NVS	5
Asie du Sud-Est Thaïlande	8 cultivars			7 cultivars		
	Grand de Thaïlande	GTH	5			
	Grand Baybay	GPH04	5	Nain Vert Catigan	NVP02	5
	Grand Tagnanan	GTN	5	Nain Vert Pilipog	NVP05	5
Cambodge Indonésie	Grand du Cambodge	GCB	10	Nain Vert Tacunan	NVP03	5
	Grand Tenga	GDO02	5	Nain Brun Ternate	NBO	5
	Grand Palu	GDO03	5			
	Grand Takome	GDO04	5			
Malaisie	Grand de Malaisie	GML	11	Nain Jaune Malais	NJM	15
				Nain Vert Malais	NVM	5
				Nain Rouge Malais	NRM	5 + 5 ¹
Pacifique Sud PNG*	9 cultivars			5 cultivars		
	Grand Karkar	GNG01	5	Nain Brun de Madang	NBN	
	Grand Markham Valley	GNG03	5			5
	Grand Gazelle	GNG04	5 + 5 ¹			
Iles Salomon	Grand Rennell	GRL	7 + 5 ¹			
	Grand Salomon	GSL	6			
Polynésie française	Grand de Polynésie Rangiroa	GPY02	5	Nain Rouge Polynésie	NRY	5
	Grand Rotuma	GRT	5	Nain Niu Leka	NNL	7
Fidji	Grand Tonga	GTG	5			
Tonga	Grand du Vanuatu	GVT	5	Nain Rouge du Vanuatu	NRV	5 ¹
Vanuatu				Nain Vert Kiribati	NVK	5 ¹
Kiribati						
Amérique latine Panama	1 cultivar			1 cultivar		
	Grand du Panama	GPA	10 ²			
	Grand du Panama Aguadulce	GPA01	6			
Brésil	Grand du Panama Monagre	GPA02	6			
				Nain Vert Brésil	NVB	5

Note : Tous les échantillons proviennent de Côte d'Ivoire, sauf mention contraire.

¹ prélevé au Vanuatu.

² prélevé en Jamaïque.

* PNG : Papouasie-Nouvelle-Guinée

Analyses RFLP

Pour chaque arbre, l'ADN⁵ a été extrait de folioles lyophilisées, prélevées sur la feuille numéro 1, par la méthode dite « Ctab » adaptée par Hoisington (1992) sur le maïs. Pour chaque échantillon, 10 µg d'ADN ont été digérés par les quatre enzymes de restriction suivantes : Eco RI, Eco RV, Pst I et Bgl II. Chaque digestion a, ensuite, été déposée sur un gel d'agarose à 0,8 % dans du tampon TAE. Après migration, l'ADN est transféré sur une membrane de Nylon. Les sondes sont marquées au P³² grâce à l'utilisation du kit Amersham « Megaprime ». La préhybridation ainsi que l'hybridation ont été réalisées selon le protocole de Hoisington (1992).

Sondes utilisées

Cette étude a été réalisée à l'aide de 20 sondes ADNc présentant un profil simple d'hybridation sur le cocotier, parmi lesquels on ne trouve qu'une sonde de cocotier, le reste étant des sondes hétérologues de riz, de palmier à huile et de maïs. Trois sondes de riz proviennent du laboratoire japonais du Rice Genome Program, Niar/Staff, Japan (Kurata *et al.*, 1994), une autre de l'université de Cornell, Etats-Unis (Causse *et al.*, 1994). La sonde de maïs vient de l'université du Missouri à Colombia, Etats-Unis (Gardiner *et al.*, 1993). J. Traeger et A. Rival, Cirad/Orstom⁶, Montpellier, France nous ont procuré les 15 sondes de palmiers à huile. Enfin, nous avons aussi utilisé la sonde cytoplasmique Cox 1 de blé (Lejeune *et al.*, 1988).

Analyse des données

Chaque bande révélée par une combinaison enzyme-sonde particulière a été codée comme un marqueur dominant : 10 pour sa présence et 01 pour son absence, ceci afin de donner le même poids à tous les individus. Nous avons, ainsi, obtenu une matrice binaire bande x individu, point de départ des Afc (analyse factorielle des correspondances) (Benzecri, 1973) qui nous ont permis de décrire la structuration génétique du germoplasme. Les analyses multivariées ont été réalisées grâce au logiciel Addad (Addad, 1983).

L'examen des analyses factorielles des correspondances et les informations géographiques permettent de constituer des

groupes de cultivars relativement homogènes. Ainsi, il a été possible d'identifier des marqueurs spécifiques de chaque groupe.

Résultats

Sur les 289 arbres analysés, 60 bandes polymorphes ont été révélées par les 25 couples enzyme-sonde et 2 profils cytoplasmiques par la sonde Cox 1.

Les deux zones majeures de diversité des cocotiers Grands

On distingue (figure 1) sur la droite du graphique un premier groupe, correspondant à l'ensemble des Grands de l'Asie du Sud-Est au Pacifique Sud (groupe I), auquel se rattachent tous les cultivars Nains, et les cocotiers du Panama. Un autre ensemble, situé à gauche, correspond aux cocotiers d'Inde, du Sri Lanka et d'Afrique de l'Ouest (groupe II). Ils sont séparés par un ensemble de trois cultivars, riverains de l'Océan Indien (groupe III).

En termes de marqueurs, le groupe II se distingue par la présence prédominante de quatre marqueurs qui sont pratiquement absents du groupe I, et de trois autres, qui

sont partagés avec les seules populations d'Asie du Sud-Est. Vingt-et-un marqueurs sont absents ou à faible fréquence dans le groupe II, alors qu'ils sont bien représentés dans la plupart des cultivars du groupe I. Enfin, le groupe II possède un allèle spécifique pour le marqueur cytoplasmique Cox 1. Tous ses membres présentent en effet l'allèle « rapide » à quelques exceptions près. Trois individus sur 10 du GOA06, deux sur cinq du GSL et tous les individus du GND05 portent en effet l'allèle « lent », caractéristique du groupe I.

Ces deux groupes se distinguent également par leur degré de polymorphisme : le groupe I présente un plus grand nombre de marqueurs communs aux différents cultivars (42 contre 33) et un plus grand nombre de marqueurs à fréquence intermédiaire (20 à 38 dont la fréquence est comprise entre 10 % et 90 % selon le cultivar, contre 11 à 20 dans le groupe II).

Le groupe III présente presque tous les marqueurs nucléaires des groupes I et II, c'est donc celui qui regroupe la plus large diversité moléculaire. L'allèle cytoplasmique est celui du groupe I (sauf pour deux individus GMZ).

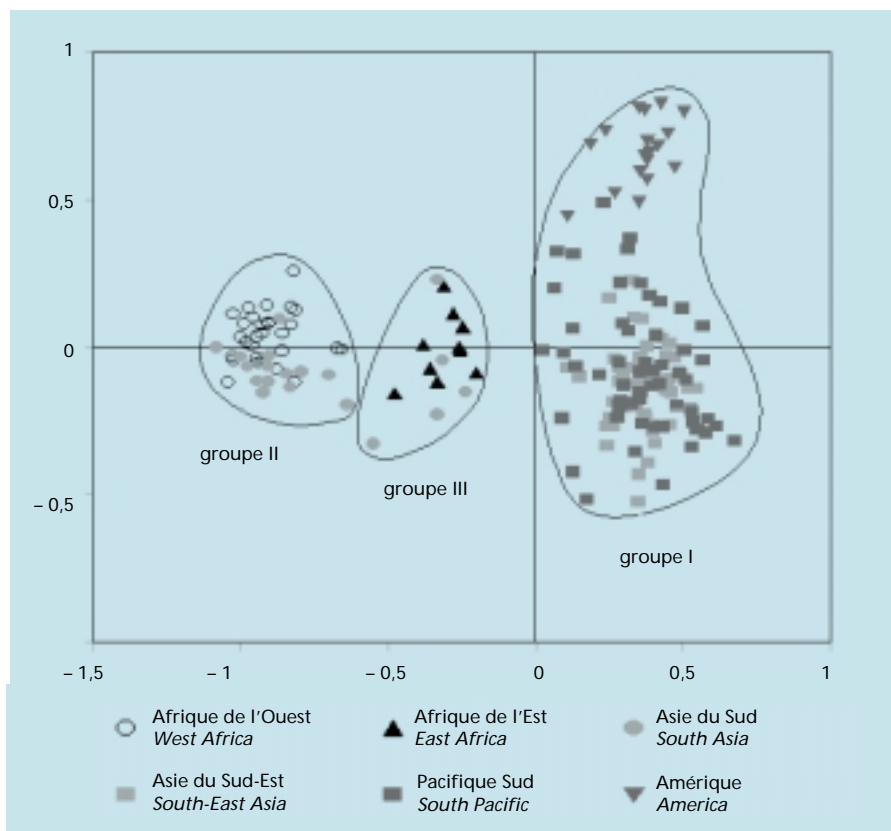


Figure 1. Premier plan de l'analyse factorielle des correspondances (Afc) réalisée sur les cultivars Grands. / First plane of the Factorial Analysis of Correspondances (FAC) performed on the Tall cultivars.

⁵ ADN : acide désoxyribonucléique.

⁶ Cirad/Orstom : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement / Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération.

La diversité au sein du groupe I et le Panama

Afin de mieux distinguer la diversité au sein du groupe I, et de préciser ses relations avec l'origine Panama, une seconde Afc (figure 2), sans les individus des groupes II et III, a été réalisée. En premier lieu, on note au sein du groupe I une gradation géographique selon le second axe : les cocotiers de Polynésie apparaissent en bas de la figure, tandis que ceux de Mélanésie sont en haut ; ceux de Mélanésie sont en position intermédiaire. Contrairement à ce qui s'observe entre les groupes, ces différences portent moins sur l'existence d'allèles spécifiques que sur des variations de fréquence allélique. De plus, on note un certain degré de chevauchement entre populations géographiquement voisines.

On constate en second lieu que les Panama s'individualisent très nettement sur le premier axe. Les cocotiers du Panama forment le groupe IV, et se rattachent au groupe I quant à leur profil RFLP. En effet, tous les marqueurs fréquents dans ce groupe sont communs avec le groupe I. Cependant, 19 bandes de ce groupe sont absentes ou rares chez le Panama. Certains marqueurs fixés sont plus fréquents en Polynésie que dans le reste du groupe I, pour d'autres, c'est

le contraire qui est observé. Les marqueurs en fréquence intermédiaire sont peu nombreux (de 12 à 17).

La population du Panama Aguadulce (GPA01) se distingue légèrement des deux autres populations de Grand Panama. Ceci est dû notamment à la présence de quelques bandes spécifiques du groupe II, avec une faible fréquence. En revanche, la superposition des deux autres populations de Grand Panama Monagre et Bowden (origine Jamaïque) est excellente.

Les cocotiers Nains

Les cocotiers Nains (groupe V) sont autogames. Cette condition se traduit par une quasi-absence de bandes à fréquence intermédiaire et un taux d'hétérozygotie très faible (figure 3). Les deux exceptions sont le Niu Leka (seul cultivar Nain franchement allogame) et le Nain Vert Malais (connu pour être partiellement allogame). Toutes les bandes communes aux Nains se retrouvent dans le groupe I, mais 13 bandes présentes dans ce groupe sont absentes de la grande majorité des Nains. Parmi celles-ci, trois correspondent à des allèles minoritaires chez les Grands.

Quatre cultivars Nains d'origines et de couleurs distinctes ont un profil quasiment

identique NVS, NVK, NBN et NBO. D'un autre côté, les Nains Malais forment un groupe homogène, bien distinct par la fixation de cinq allèles différents de ceux qui se trouvent chez les autres Nains. Les sept NJG et les 15 NJM ont exactement le même profil. Les cultivars des Philippines NVP02, NVP03 et NVP05, ainsi que le NVB présentent également des traits communs, tandis que le profil de deux Nains Rouges du Pacifique, NRY et NRV, ainsi que celui du NRC (un cultivar prélevé au Cameroun mais probablement exotique), présentent à la fois des traits qui les rapprochent de l'ensemble des Nains, et des particularités qui les en distinguent nettement.

Enfin, le Niu Leka présente un profil qui rappelle celui des Grands Polynésiens, plus particulièrement celui du GTG et du GRT et porte l'allèle « rapide » de Cox 1. Il se distingue donc des autres Nains, qui semblent se rapprocher plus des cocotiers d'Asie du Sud-Est ou de Mélanésie. Il forme à lui seul le groupe VI.

Discussion : le périple du cocotier

L'analyse de la diversité moléculaire du cocotier a permis d'identifier six groupes de populations, d'importance variable, et présentant une cohérence géographique certaine. Si l'on rapproche cette classification des données morphologiques et des informations historiques, il devient possible d'esquisser une histoire de l'évolution et de la dissémination du cocotier. On commencera par les Grands, chez lesquels un gradient Est-Ouest apparaît clairement.

A travers le Pacifique

Le groupe I, situé entre l'Asie du Sud-Est et le Pacifique Sud, inclut la zone la plus souvent désignée comme l'aire d'origine du cocotier (Harlan, 1975 ; Harries, 1978). Il est caractérisé par une très grande variabilité tant au point de vue morphologique qu'au point de vue moléculaire. C'est également de ce groupe que sont dérivés les Nains, le Niu Leka et les populations du Panama.

La plupart des populations de ce groupe se rapprochent du type « Niu Vai ». Il existe, cependant, une variation importante entre ces populations pour les caractères du fruit : il y a peu de points communs entre, d'une part, les petites noix à fort taux d'albumen et faible teneur en bourre du Grand Vanuatu et des cultivars Polynésiens et, d'autre part, les noix volumineuses, rondes et riches en eau libre du Grand Karkar ou du Markham Valley. D'un autre côté, les caractéristiques

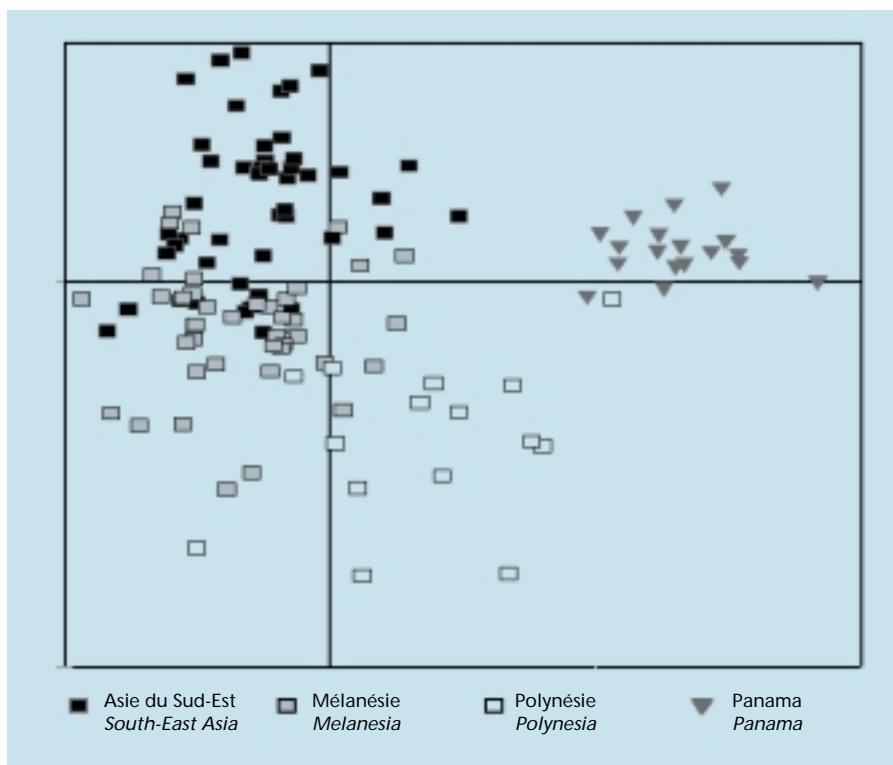


Figure 2. Premier plan de l'Afc réalisée sur les cultivars Grands du groupe I (voir texte et figure 1).
First plane of the FAC performed on the Tall cultivars of group I (see text and figure 1).

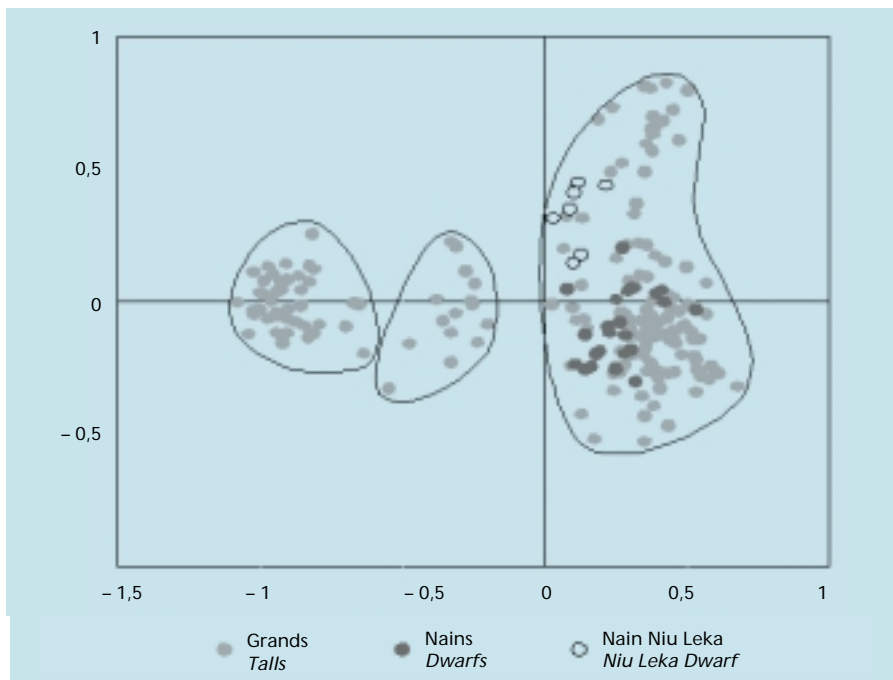


Figure 3. Projection des Nains sur l'Afc réalisée sur les Grands.
Projection of the Dwarf cultivars on a FAC performed on the Talls.

du Grand Gazelle le situent comme intermédiaire entre « Niu Vai » et « Niu Kafa ». Cependant, on n'observe pas de relation évidente entre ces caractères et la diversité moléculaire, qui, on l'a vu, suit plutôt une gradation géographique.

De l'Inde aux Caraïbes

On peut formuler l'hypothèse que le groupe II s'est constitué à une période reculée dans le sous-continent indien. Cette conclusion est basée sur les différences importantes constatées au niveau moléculaire entre les groupes I et II. Les traits spécifiques du groupe II (présence ou absence de certaines bandes) ne se retrouvent ni chez les Nains, ni chez les Panama. On peut donc penser qu'un isolement reproductif prolongé est à l'origine de la divergence entre les deux grands groupes génétiques. Une autre explication possible serait que le groupe II ait subi une sélection intense dans un environnement très différent de celui du groupe I, ce qui aurait entraîné une modification profonde de la structure allélique. Cette explication semble cependant insuffisante, car le groupe I existe sur une très large gamme d'environnements, et comporte une grande variabilité morphologique, sans qu'une telle différenciation soit apparue. Ni le Panama, ni les Nains n'ont développé des bandes spécifiques. En dernier lieu, l'existence d'un marqueur cytoplas-

mique spécifique renforce la probabilité d'une séparation ancienne.

La plupart des populations du groupe II sont du type « Niu Kafa », et pourvues d'un fort taux de bourre du fruit et d'un fort taux d'albumen de la noix. Il y a, cependant, une exception, constituée par le Kappadam, sur lequel nous reviendrons.

Contrairement au groupe I, le groupe II aurait eu une zone de répartition initiale relativement restreinte, correspondant à l'Inde et au Sri Lanka. Puis, des populations de cette origine ont été transportées en Afrique de l'Ouest, puis dans la zone Caraïbe et sur la côte Atlantique de l'Amérique latine. Des enregistrements historiques permettent de dater ces mouvements à la période des « grandes découvertes », plus précisément entre 1497 (voyage de Vasco de Gama vers l'Inde) et 1525 (importation à Puerto Rico depuis le Cap Vert). Si aucun cocotier de la région Caraïbe n'est inclus dans cette étude, leur origine ne fait aucun doute, lorsque l'on considère les traces historiques ou la morphologie de l'arbre et du fruit.

Sur les rives de l'Océan Indien

Si l'on peut supposer un isolement génétique prolongé entre les groupes précédents, ils ont cependant été mis en contact à plusieurs occasions. Le caractère intermédiaire du groupe III en est un premier exemple. Il

n'est guère étonnant de trouver un tel type dans les îles Andaman (îles indiennes proches d'Indonésie), mais le cas du Mozambique et des Comores peut surprendre à première vue.

En réalité, la coexistence des groupes I et II en Afrique de l'Est n'a pas lieu d'étonner : des populations venant du Sud-Est asiatique ont migré vers Madagascar à une période située, selon les auteurs, entre le VI^e siècle avant et le VII^e siècle après J.C. Les traces de ces migrations se retrouvent autant dans l'apparence physique des habitants que dans la langue. Nul doute que des noix de coco aient fait partie du voyage, au moins à titre de provision. D'ailleurs, le nom du cocotier à Madagascar, *voania*, se présente comme un décalque de deux mots indonésiens : *buah* (fruit) et *niyur* (cocotier).

De plus, nous disposons des récits de voyage des commerçants arabes qui ont fréquenté à la fois l'Afrique de l'Est et l'Inde. Les magnifiques descriptions qu'ils donnent du cocotier (Ibn Battuta, 1351) témoignent de l'intérêt qu'ils lui portaient. S'ils ont effectivement transporté des noix entre les deux régions, la structure génétique originale des populations d'Afrique de l'Est s'explique fort bien.

On peut sans doute repérer la trace d'échanges plus limités dans le fait que les populations du Sud-Est asiatique partagent trois marqueurs avec les seuls groupes I et III. C'est, d'ailleurs, la principale différence moléculaire entre cette région et la Mélanésie. On peut donc soupçonner un flux de gènes peu intense, depuis l'Ouest, probablement réalisé par l'intermédiaire de populations tampons.

Enfin, la présence de l'allèle « lent » du marqueur Cox 1 dans le groupe II pourrait signer l'existence d'un apport de gènes en provenance de l'Est. Le cas du Kappadam est particulièrement intéressant. Outre ce marqueur cytoplasmique, on y retrouve, sur un fond génétique typique du groupe II, un certain nombre de marqueurs nucléaires du groupe I, qui en sont généralement absents. Il se distingue aussi par des caractères du fruit, typiques du « Niu Vai ». La manière la plus simple de rendre compte de cette originalité est, probablement, de supposer l'importation en Inde d'une population du groupe I, suivie d'une sélection de la part des agriculteurs en faveur des caractéristiques originales de son fruit. Les noix étant collectées à partir des descendants de cette population, le maintien de cet allèle « lent », à hérédité maternelle, s'explique fort bien. D'autre part, la pollinisation se faisant principalement à partir des popula-

tions locales, les gènes du groupe II ont presque totalement supplanté ceux du groupe I. En résumé, si cette interprétation est correcte, le Kappadam résulte de l'introduction dans le groupe I du phénotype « Niu Vai » par rétrocroisements successifs.

L'isthme de Panama

L'origine de la population Panama se trouve dans le groupe I, Pacifique-Asie du Sud-Est. Il est difficile de dire exactement à partir de quel matériel de base elle est issue, car elle présente des traits qui la rapprochent tantôt des populations polynésiennes, tantôt de celles d'Asie du Sud-Est et de Mélanésie. La faible variabilité de cette population est un argument fort à l'encontre de l'origine américaine du cocotier : cette population a dû traverser un goulot d'étranglement qui a considérablement réduit la taille efficace de la population.

On peut alors formuler deux hypothèses entre lesquelles il est difficile de trancher. Dans la première, le cultivar Panama serait assez représentatif des populations précolombiennes reconnues par Oviedo en 1530. Dans ce cas, les importations ultérieures du Pacifique, en particulier Salomon et Philippines (Zizumbo-Villareal, 1996), auraient peu modifié leur structure génétique. Dans la seconde, ces populations post-colombiennes joueraient un rôle prépondérant, expliquant l'aspect composite du profil RFLP des populations du Panama. Pour rendre compte de la pauvreté allélique observée, il faudrait alors faire intervenir un goulot d'étranglement, qui pourrait être dû à une pression de sélection intense des maladies, des ravageurs, des cyclones ou à un effet fondateur.

C'est en Amérique que se referme le périple du cocotier autour de la ceinture tropicale. Au bout d'un long voyage, les représentants des deux branches majeures de son évolution sont parvenus sur chacune de ses rives, et c'est là qu'elles se réunissent à nouveau. La population de Grand Panama Aguadulce (GPA01) en est une illustration : son profil RFLP est très proche de celui qu'on peut attendre de l'introgresion d'environ 10 % de gènes du groupe II (représenté dans la région par les populations dites « Atlantico » ou « Tres Picos ») dans des populations « Redondo » similaires à celles de Monagre ou de Bowden.

La domestication du cocotier Nain

Toute hypothèse sur l'origine et la diversification des cocotiers Nains doit tenir compte des ressemblances frappantes qui existent

entre leurs profils RFLP. Il est très probable, en effet, qu'ils soient apparus en une seule fois, ou du moins à l'intérieur d'une seule population. La présence de 13 marqueurs communs à presque tous les Nains, alors même que trois d'entre eux sont mineurs chez les Grands semble plaider pour une apparition unique.

Les cocotiers Nains se trouvent rarement en larges peuplements homogènes (si l'on excepte la réalisation, au cours de ce siècle, de quelques plantations industrielles), mais on en retrouve souvent à proximité immédiate des habitations. Il est donc permis de décrire le nanisme comme l'étape ultime de la domestication du cocotier, dont l'élément déterminant aurait été l'apparition de l'autogamie et, par suite, la possibilité de reproduction conforme d'un type attrayant.

Les caractères recherchés comprendraient la croissance lente, la précocité ou, chez certains d'entre eux, l'excellente qualité gustative de l'eau des noix immatures. En outre, la couleur souvent vive des fruits, sa forme caractéristique et le port de l'arbre constituent des moyens efficaces d'identification variétale.

La première conséquence de l'autogamie a été la fixation aléatoire d'un allèle à chaque locus (généralement — mais pas toujours — le plus fréquent), et la conservation, par la suite, de l'essentiel de sa structure génétique. On peut penser que l'histoire ultérieure des Nains est constituée de longues périodes de fixité relative, entrecoupées d'échanges de gènes sporadiques avec les populations de Grands locaux ou d'autres Nains, qui ont contribué à différencier les cultivars. En réalité, le croisement d'un Nain et d'un Grand donne un hybride F1 dont les caractéristiques diffèrent nettement du Nain. La plupart des descendants de tels croisements ont toutes les chances de se fondre dans la masse des populations Grand environnantes. Seul le croisement d'un Nain par un hybride Nain x Grand ou par un autre Nain a des chances de fournir un cocotier de type Nain, et de contribuer, ainsi, à la diversification des populations de Nains. Ceci implique, d'une part que de tels événements sont relativement rares, d'autre part, que chacun d'entre eux se traduit par un nombre limité de substitutions alléliques.

Dans ces conditions, il semble possible de proposer un schéma d'évolution des Nains à partir de la population originelle hypothétique :

- la branche correspondant aux Nains Philippines et Malais se serait individualisée assez tôt, avec deux allèles communs. Les

Malais forment un groupe homogène, ayant trois autres allèles en commun et ne se sont sans doute individualisés que tardivement ;

- une structure proche de celle de la population initiale se serait maintenue, dans un ensemble de cultivars prélevés dans des régions très diverses : NVS, NVK, NBO, NBN (tableau) ;
- au contraire, une divergence plus marquée s'observe chez les Nains Rouges du Pacifique : NRY, NRV, auxquels s'ajoute le NRC qui, bien que prélevé au Cameroun, pourrait bien avoir une origine Pacifique.

Bien que les cas malais et philippins témoignent d'une structure géographique de la variation des Nains, celle-ci est beaucoup moins évidente que chez les Grands. Contrairement à ce qui se passe chez les Grands, un cultivar Nain importé dans une nouvelle région tend à rester génétiquement isolé des populations locales. Ceci explique que des génotypes semblables se retrouvent dans des zones éloignées, ainsi le NVB présente un profil voisin de celui des cultivars philippins, et les cultivars apparentés au NVS sont dispersés dans des régions éloignées. En ce sens, les Nains témoignent de l'intensité des échanges qui ont eu lieu à l'intérieur de la zone de culture du cocotier.

Il reste à situer la région d'origine des cocotiers Nains. Il n'est pas possible de le faire très précisément, car la fixation aléatoire des allèles due à l'homozygotie a pu entraîner dès le début une modification profonde de la structure génétique de la population initiale. Les cultivars Grands qui s'en rapprochent le plus se trouvent dans une région qui va du Sud-Est asiatique à la Papouasie-Nouvelle-Guinée.

Un type original : le Niu Leka

Bien qu'il ait une croissance lente comme les Nains, le Niu Leka constitue une variété très particulière, par son allogamie, son aspect et le fait qu'un hybride Niu Leka x Grand ressemble à un Niu Leka. Son profil RFLP confirme sa singularité. Clairement distinct de celui des Nains, il est, au contraire, extrêmement similaire à celui des Grands du Pacifique, le plus proche étant le GTG, suivi du GRT, ce qui correspond précisément à la région d'origine du Niu Leka. En revanche, aucun élément disponible ne permet de rendre compte de la présence de l'allèle « rapide » de Cox 1, qui ne se retrouve chez aucun autre cultivar de la région.

Conclusion-perspectives

L'exploitation des données RFLP n'est pas achevée, et il conviendrait de compléter l'échantillonnage par un petit nombre de cultivars, pour combler certains vides, ou pour vérifier quelques hypothèses. Ces cultivars, au nombre d'une douzaine, seraient des Grands à collecter en Amérique latine, en Micronésie, en Polynésie (Niu Kafa), en Afrique de l'Est, ainsi que quelques cultivars Nains ou semi-Nains tels que King Coconut. Pareillement, la recherche d'un certain nombre de marqueurs supplémentaires pourrait être utile, notamment pour distinguer certains Nains. Cependant, les résultats disponibles à ce jour fournissent une image relativement précise de la diversité des cocotiers, des voies suivies lors de leur dissémination et de leur évolution.

Dans une certaine mesure, le schéma proposé s'accorde avec celui d'Harries (1978), notamment en ce qui concerne la situation observée en Amérique latine et dans les Caraïbes. En revanche, le rôle joué par la domestication et par les isolements géographiques y est nettement différent. Ainsi, malgré un certain degré de ressemblance, une origine unique n'est pas démontrée pour

les « Niu Kafa » du groupe I et le groupe II. Les données suggèrent fortement une origine unique des Nains, et ils apparaissent comme l'étape ultime de la domestication du cocotier.

Dans certaines situations, le polymorphisme RFLP permet d'effectuer un diagnostic extrêmement précis d'identification variétale. Il a même été possible de détecter, dans certaines populations, la présence de gènes exogènes, et d'en expliquer la cause probable. Compte tenu des effectifs très restreints utilisés, cette technique s'est révélée très puissante.

Elle doit apporter une contribution importante dans la gestion des ressources génétiques, notamment pour identifier les redondances, ou le degré de représentativité de certains échantillons. Lors du rajeunissement des collections, on peut, par exemple, se demander s'il vaut mieux reproduire la population originale ou un sous-échantillon issu d'une sélection massale. L'étude de l'évolution des fréquences alléliques permettra d'y répondre. En sélection, on dispose maintenant d'un moyen de limiter le nombre de combinaisons à tester, en se fondant à la fois sur les similarités relevées aux niveaux phénotypique et moléculaire.

Une étude de l'hétérosis observée chez les hybrides interpopulations en fonction de la distance génétique reste à faire.

L'étude des populations de la côte Pacifique d'Amérique latine, en relation avec la tolérance au jaunissement mortel, nous semble une des applications importantes possibles. Les trois populations de Grand Panama étudiées paraissent issues d'une population initiale de petite taille. Ainsi, l'étude, sur de plus larges échantillonnages, de la diversité et de la dynamique des populations chez le Grand Pacifique permettrait de caractériser plus précisément la nature des apports initiaux, et d'identifier avec plus de certitude les populations susceptibles de transmettre une tolérance à la maladie. ■

Remerciements

Cette étude n'aurait pas été possible sans la collaboration des stations de recherche qui collectent et entretiennent le matériel génétique étudié ici. Nous remercions les directeurs ainsi que les équipes de l'Idefor-Dpo (Côte d'Ivoire), du Carfv (Vanuatu) et du Cib (Jamaïque) qui nous ont approvisionné en matériel végétal.

Bibliographie / References

- ADDAD, 1983. Manuel de référence. Paris, France. Association pour le développement et la diffusion de l'analyse des données, 250 p.
- BENZECRI J.P., 1973. L'analyse des données. Tome II. Paris, France, Dunod, 619 p.
- CAUSSE M.A., FULTON T.M., CHO Y.G., AHN S.N., CHUNWONGSE J., WU K., XIAO J., YU Z., RONALD P.C., HARRINGTON S.E., SECOND G., MCCOUCH S.R., TANKSLEY S., 1994. Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics* 138 : 1251-1274.
- FREMOND Y., ZILLER R., NUCÉ DE LAMOTHE M. de, 1966. Le cocotier. Paris, France, Maisonneuve et Larose, coll. Techniques agricoles et productions tropicales, 267 p.
- GARDINER J.M., COE E.H., MELIA-HANCOCK S., HOISINGTON D.A., CHAO S., 1993. Development of a core RFLP map in maize using an immortalized F2 population. *Genetics* 134 : 917-930.
- HARLAN J.R., 1975. Crops and Man. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.
- HARRIES H.C., 1978. The evolution, dissemination and classification of *Cocos nucifera* L. *Bot. Rev.* 44 : 265-320.
- HOISINGTON D., 1992. Laboratory protocols. CIMMYT applied molecular genetics laboratory. Mexico, Mexique, CIMMYT, 44 p.
- IBN BATTUTA, 1351. Voyages et périples. In : Les voyageurs arabes. Collection "La Pléiade", Gallimard, France. 1408 p.
- KURATA N., NAGAMURA Y., YAMAMOTO K., HARUSHIMA Y., SUE N., WU J., ANTONIO B.A., SHOMURA A., SHIMIZU T., LIN S.Y., INOUE T., FUKUDA A., KIRIHARA T., KUBOKI Y., TOYAMA T., MIYAMOTO Y., KIRIHARA T., HAYASAKA K., MIYAO A., MONNA L., ZHONG H.S., TAMURA Y., WANG Z.X., MOMMA T., UMEHARA Y., YANO M., SASAKI T., MINOBE Y., 1994. A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nat. Genet.* 8 : 365-372.
- LEBRUN P., N'CHO Y.P., SEGUIN M., GRIVET L., BAUDOIN L., 1998. Genetic diversity in coconut (*Cocos nucifera* L.) Revealed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) markers. *Euphytica* 101 : 103-108.
- LEJEUNE B., QUETIER F., JUBIER M.F., FALCONET D., RODE A., HARTMANN C., 1988. Le génome mitochondrial des plantes supérieures : organisation moléculaire et expression. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 135 : 49-55.
- NUCÉ DE LAMOTHE M. de, BÉNARD G., 1985. L'hybride de cocotier PB-121 (ou Mawa) (NJM x GOA). *Oléagineux* 40 (5) : 261-266.
- WHITEHEAD R.A., 1968. Selecting and breeding coconuts palms (*Cocos nucifera* L.) resistant to lethal yellowing disease. A review of recent work in Jamaica. *Euphytica* 17 : 81-101.
- ZIZUMBO-VILLAREAL D., 1996. History of coconut (*Cocos nucifera* L.) in Mexico: 1539-1810. *Genet. Resour. Crop Evol.* 43: 505-515.

The spread and domestication of the coconut palm in the light of RFLP markers

Lebrun P., Grivet L., Baudouin L.

CIRAD, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

Two main groups of coconut palms can be distinguished clearly from their RFLP profile. One corresponds to populations from Southeast Asia and the Pacific and gave rise to Dwarfs. The other developed on the Indian subcontinent and was disseminated by man to West Africa and the Caribbean.

The geographical spread and diversity of the coconut palm in terms of growth habit and fruit shape and colour (photos) have led to the identification of a large number of varieties. For instance, the international list drawn up for IPGRI¹ contains over 300 names of cultivars corresponding to traditionally grown populations or those improved by mass selection. Although some of them undoubtedly represent poorly defined or even extinct populations, almost 60 have been exchanged internationally by research stations over the past 50 years. This reflects breeders' interest in collecting and using coconut germplasm. As a result, 17 countries in the COGENT² network that have contributed to the CGRD³ database now have over 900 accessions, and have undertaken to provide a priority list of descriptors.

Germplasm in fact plays a key role in breeding programmes, since it is a source of variation that can be used by selection. Moreover, creating between-population hybrids has in some cases revealed substantial heterosis (Nucé de Lamothe and Bénard, 1985). Lastly, germplasm is a source of variability enabling a search for characters of adaptation to soil and climatic conditions as well as pests and diseases (Whitehead, 1968).

Although the wealth of these coconut collections is a considerable asset for breeding, their very size makes it essential to draw up a sound strategy for their use. The number of possible combinations between cultivars far exceeds the possibilities of the worldwide breeding structure. Conserving and describing all the cultivars is highly labour and land-intensive, and it is necessary to identify a sub-set of populations representative of the diversity of the plant. It is obviously essential to use morphological and agronomic characters, but these characters are subject to environmental variations.

The content of this article was covered in a paper presented at the International symposium on coconut biotechnology, held in Mérida, Yucatán, Mexico, from 1st to 5th December 1997.

¹ IPGRI: International Plant Genetic Resources Institute.

² COGENT: Coconut Genetic Resources Network.

³ CGRD: Coconut Genetic Resources Database.

Molecular markers are a way of exploring the genetic relations between populations, irrespective of these disturbances. The efficacy of RFLP⁴ was demonstrated in an initial study (Lebrun *et al.*, 1998), and we shall discuss here the results of a study covering a wider range of coconut diversity. We compared the results of molecular analyses with what is known of the geographical distribution and spread of coconut, the morphological characteristics of the populations studied and existing classifications.

Several authors have attempted to propose coconut classifications. An initial clear distinction can be drawn between the allogamous Talls and Dwarfs, which besides being allogamous are also more precocious, bear small, often brightly coloured nuts and grow slowly (Fremont *et al.*, 1966). For his part, Harries (1978) proposed distinguishing between "Niu Kafa" palms, which amongst other things have a high husk: whole nut ratio and meat:husked nut ratio, and "Niu Vai" palms, which have the opposite characteristics. The former are apparently ancestral (or wild), whilst the latter were apparently produced by domestication. Many populations are in fact a mixture, in varying proportions, of extreme types.

Material and methods

Planting material

Leaf samples were taken from 289 palms representing 26 Tall and 16 Dwarf cultivars or sub populations. These cultivars and their geographical origins are listed in table. Their identification refers to the international list drawn up within the COGENT network. The cultivar code comprises three or four letters, sometimes followed by a figure identifying the sub-population.

RFLP analysis

For each palm, the DNA⁵ was extracted from fresh leaflets of frond number one following the CTAB method developed by Hoisington (1992) on maize. Blots were prepared using 10 µg of DNA for

each plant after digestion with a restriction enzyme. The restriction fragments were separated by electrophoresis on 0.8% agarose gels in TAE buffer and transferred onto Nylon membranes. Probes were labelled with P32 using the Amersham Megaprime commercial kit. Pre-hybridization and hybridization were performed according to Hoisington's protocol (1992). The blots were washed four times in 0.1 SSC, 0.1 SDS at 65°C.

Sources of RFLP probes

Twenty nuclear cDNA probes selected for their simple hybridization pattern on coconut were used in this study. One was an anonymous cDNA from coconut and the others were heterologous probes from rice, maize and oil palm. Three rice probes were provided by the Rice Genome Research Program, NIAR/STAFF, Japan (Kurata *et al.*, 1994) and one by Cornell University, USA (Causse *et al.*, 1994). One maize probe was provided by the University of Missouri, Colombia, USA (Gardiner *et al.*, 1993) and the 15 oil palm probes were provided by I. Traeger and A. Rival, CIRAD/ORSTOM⁶, Montpellier, France.

One cytoplasmic DNA clone from wheat, Cox 1, was also used as a probe (Lejeune *et al.*, 1988).

The polymorphism of each probe was revealed on one to four restriction enzymes among EcoRI, EcoRV, BglII and SstI.

Data analysis

Each polymorphic band revealed by a given probe/enzyme combination was scored as 10 for presence and 01 for absence among individuals to give each individual the same importance. This produced a band x individual binary matrix. Factorial analyses of correspondence (Benzecri, 1973) were performed on several samples of individuals to describe the genetic structuring of the germplasm. Computation was performed using the Addad software (Addad, 1983).

⁶ CIRAD/ORSTOM: Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement. / Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération.

An examination of the factorial analyses of correspondence and the geographical information revealed relatively uniform cultivar groups. It was subsequently possible to identify distinctive markers for each group.

Results

The 25 enzyme/probe pairs used revealed 60 polymorphic bands among the 289 palms analysed. The Cox 1 probe revealed two different cytoplasmic profiles.

The two main diversity zones of Tall coconut palms

On the right of the graph (figure 1), an first group can be seen, corresponding to all the Talls from

Southeast Asia to the South Pacific (group I) and Panama varieties. Another group, on the left, corresponds to palms from India, Sri Lanka and West Africa (group II). Groups I and II are separated by a group of three cultivars from the shores of the Indian Ocean (group III).

In terms of markers, group II is distinguished by the predominant presence of four markers that are almost totally absent from group I, and three others that are shared with the Southeast Asian populations alone. Twenty-one markers are absent from or infrequent in group II, whereas they are well represented in most of the group I cultivars. Lastly, the group has a characteristic allele for the Cox 1 cytoplasmic marker. All its members in effect have the "rapid" allele, with

a few exceptions: three out of 10 WAT06 individuals, two out of five SLT and all the KPDT individuals have the "slow" allele characteristic of group I.

These groups also differ in their degree of polymorphism: group I has more markers common to the different cultivars (42 compared to 33) and more markers at intermediate frequency (20 to 38 bands with a frequency of between 10 and 90% depending on the cultivar, compared to 11 to 20 in group II).

Group III has almost all the nuclear markers of groups I and II, and is therefore the one that covers the broadest molecular diversity. The cytoplasmic allele is that of group I (except for two MZT individuals).

The cultivars sampled: numbers and geographical distribution

Origin	Talls	Code	Number	Dwarfs	Code	Number
West Africa	2 cultivars			2 cultivars		
Côte d'Ivoire	West African Tall	WAT	5			
	" " " (Mensah)	WAT04	10			
Benin	" " " (Ouidah)	WAT06	10			
Cameroon	Cameroon Kribi Tall	CKT	5	Cameroon Red Dwarf	CRD	5
Ghana				Ghana Yellow Dwarf	GYD	7
East Africa	2 cultivars					
Comoro	Comoro Moheli Tall	CMT	5			
Mozambique	Mozambique Tall	MZT	5			
South Asia	4 cultivars			1 cultivar		
India	Laccadives Micro Tall	LMT	5			
	Kappadam Tall	KPDT	5			
	Andaman Tall	ADOT	4			
Sri Lanka	Sri Lanka Tall	SLT	5	Sri Lanka Green Dwarf	PGD	5
South East Asia	8 cultivars			7 cultivars		
Thailand	Thailand Tall	THT	5			
Philippines	Baybay Tall	BAYT	5	Catigan Green Dwarf	CATD	5
	Tagnanan Tall	TAGT	5	Pilipog Green Dwarf	PILD	5
				Tacunan Green Dwarf	TACD	5
Cambodia	Cambodia Tall	KAT	10			
Indonesia	Tenga Tall	TGT	5	Ternate Brown Dwarf	TBD	5
	Palu Tall	PUT	5			
	Takome Tall	TKT	5			
Malaysia	Malayan Tall	MLT	11	Malayan Yellow Dwarf	MYD	15
				Malayan Green Dwarf	MGD	5
				Malayan Red Dwarf	MRD	5+5 ¹
South Pacific	9 cultivars			5 cultivars		
PNG*	Karkar Tall	KKT	5	Madang Brown Dwarf	MBD	5
	Markham Valley Tall	MVT	5			
	Gazelle Peninsula Tall	GPT	5+5 ¹			
Solomon Isl.	Rennell Island Tall	RIT	7+5 ¹			
	Solomon Island Tall	SIT	6			
French Polynesia	Rangiroa Tall	TAT	5	Tahiti Red Dwarf	TRD	5
Fiji	Rotuma Tall	RTMT	5	Niu Leka Dwarf	NLAD	7
Tonga	Tonga Tall	TONT	5			
Vanuatu	Vanuatu Tall	VTT	5	Vanuatu Red Dwarf	VRD	5 ¹
Kiribati				Kiribati Green Dwarf	KIGD	5 ¹
Latin America	1 cultivar			1 cultivar		
Panama	Panama Tall	PNT	10 ²			
	" " (Aguadulce)	PNT01	6			
	" " (Monagre)	PNT02	6			
Brazil				Brazilian Green Dwarf	BGD	5

NB: All the samples were from the Côte d'Ivoire, unless specified otherwise.

¹ sampled in Vanuatu.

² sampled in Jamaica.

* PNG: Papua New Guinea

Diversity within group I and Panama

In order to gain a clearer picture of the diversity within group I and its relations with the Panama origin, a second FAC (figure 2) was carried out. Firstly, there is a geographical gradation along the y axis: Polynesian cultivars are at the bottom of the figure and Southeast Asian cultivars at the top. Unlike the differences seen between groups, these differences relate less to the existence of specific alleles than to variations in frequency. Moreover, there is a degree of overlap between geographically neighbouring populations.

Secondly, the Panama cultivars are clearly marked out along the x axis. The Panama populations make up group IV, linked to group I by their RFLP profile. In fact, all the frequent markers in this group are shared with group I. However, 19 group I bands are not found in Panama cultivars. Some fixed markers are more frequent in Polynesia than in the rest of group I, but for others, the opposite is the case. There are few intermediate frequency markers (from 12 to 17).

Population PNT01 (Aguadulce) differs slightly from the other two. In particular, this is due to the existence of some group II-specific bands, with a low frequency. On the other hand, the superimposition of the Monagre and Bowden populations (Jamaica) is excellent.

Dwarf cultivars

Dwarfs cultivars (group V) are clearly related to group I (figure 3). Their autogamy results in the almost total absence of intermediate frequency bands and a very low heterozygosity rate. The two exceptions are the Niu Leka (the only truly allogamous Dwarf cultivar) and the Malayan Green Dwarf (known to be partly allogamous). All the common Dwarf bands are found in group I, but 13 of the bands in this group are not found in the vast majority of Dwarfs. Of these, three correspond to minority alleles in Talls.

Four Dwarf cultivars of different origins and colours have an almost identical banding pattern: PGD, KID, MBD and TBD. On the other hand, the Malayan Dwarfs form a uniform group, clearly distinguished by the fixation of five alleles different from those found in other Dwarfs. The seven GYD and 15 MYD have exactly the same banding pattern. The Philippine cultivars CATD, TACD and PILD, and the BGD also have shared traits, whilst the banding patterns of two Pacific red Dwarfs, TRD and VRD, and that of CRD (a cultivar collected in Cameroon but probably exotic), have both traits making them similar to Dwarfs as a whole and specificities that mark them out clearly.

Lastly, the NLAD has a banding pattern similar to that of the Polynesian Talls, particularly TONT and RTMT, and bears the "rapid" Cox 1 allele. It

therefore differs from the other Dwarfs, which seem to be more similar to Southeast Asian or Melanesian populations. On its own, it makes up group VI.

Discussion: the route taken by the coconut palm

An analysis of the genetic diversity of the coconut palm reveals six population groups of varying sizes, with a degree of geographical coherence. If this classification is compared with morphological data and historical information, it is possible to trace the history of the evolution and spread of the coconut palm. We shall start with Talls, for which there is a clear East-West gradient.

Throughout the Pacific

Group I, between Southeast Asia and the South Pacific, includes the zone most often reputed to be the origin of the coconut palm (Harlan, 1975; Harries, 1978). It is characterized by substantial variability, both morphological and molecular. It is also from this group that the Dwarfs, Niu Leka and Panama populations are derived.

Most of the populations in this group are similar to the "Niu Vai" type. However, there is substantial variation between these populations with regard to fruit characters: the small nuts with a high meat percentage and low husk percentage produced by the VTT and Polynesian cultivars represented in this study have little in common with the large, round nuts with a high free water content produced by the KKT and MVT. The characteristics of the GPT place it somewhere between "Niu Vai" and "Niu Kafa". However, there is no clear link between these characters and molecular diversity which, as already seen, follows a geographical gradation.

From India to the Caribbean

It can be suggested that group II developed in the distant past in the Indian sub-continent. This conclusion is based on the extent of the molecular differences observed between groups I and II. The group II-specific traits (existence or absence of certain bands) are not found in either Dwarfs or Panama populations. We can therefore assume that extended reproductive isolation is behind the divergence between the two groups. Another possible reason is that group II may have undergone intense selection in an environment very different from that of group I, which caused a significant modification of its allelic structure. However, this explanation seems to be insufficient, as group I exists in a wide range of environments and includes substantial morphological variability, with no such differentiation. Neither the Panama nor the Dwarfs have developed specific bands. Lastly, the existence of a specific cytoplasmic marker backs up the

probability of separation some considerable time ago.

Most of the group II populations are "Niu Kafa" type, with a high husk to fruit and meat to nut ratio. However, there is one exception, the Kappadam, which we shall come back to.

Unlike group I, group II apparently had a relatively limited initial distribution, corresponding to India and Sri Lanka. Populations of this origin were subsequently transported to West Africa and then the Caribbean and the Atlantic coast of Latin America. Historical records put these movements at the time of the "great discoveries", more precisely between 1497 (Vasco de Gama's voyage to India) and 1525 (imports into Puerto Rico from Cape Verde). Although this study did not include any Caribbean cultivars, their origin is beyond doubt, considering the history of the species or the morphology of the palm and its fruit.

On the shores of the Indian Ocean

Although we can assume that there was extended genetic isolation of the previous groups, they did come into contact on several occasions. The intermediate character group III is the first example of this. It is hardly surprising to find such a type in the Andaman Islands (Indian islands near Indonesia), but the case of the Mozambique and Comoro is initially more unexpected.

In reality, the co-existence of groups I and II in East Africa is not surprising: South-East Asian populations migrated to Madagascar some time between the sixth century BC and seventh century AD, depending on which author one reads. The traces of these migrations are found as much in the physical appearance of the inhabitants as in their language. There is no doubt that they took coconuts with them, at least as food on the trip. In any event, it is a fact that the name of the coconut palm in Madagascar — *voanio* — is a combination of two Indonesian words: *buah* (fruit) and *niyur* (coconut palm). Moreover, there are accounts written by Arab traders working in both East Africa and India. Their magnificent descriptions of the coconut palm (Ibn Battuta, 1351) reveal their interest in it. If they did transport nuts between the two regions, the original genetic structure of the East African populations is easily explained.

Signs of more limited exchanges could be seen in the fact that the Southeast Asian populations share three markers with groups I and III alone. Moreover, this is the main molecular difference between this region and Melanesia. We can therefore suspect a very slight influx of genes, from the West, probably via buffer populations.

Lastly, the existence of the "slow" allele of the Cox 1 marker in group II could be the sign

of an influx from the East. The case of the Kappadam is particularly interesting. Besides this cytoplasmic marker, on a genetic base typical of group II, there are also some nuclear markers, which are not generally found in group II. It is also distinguished by fruit characters typical of "Niu Vai". The easiest way of explaining this originality is probably to assume that a group I population was imported to India, followed by breeding on the part of growers in favour of the original characteristics of its fruit. As the nuts were collected from progenies of this population, the maintenance of the "slow" allele is easily explained. Moreover, as pollination is primarily from local populations, the genes of group II have almost entirely supplanted those of group I. In short, if this interpretation is correct, the Kappadam results from the introduction into group I of the "Niu Vai" phenotype by successive backcrossing.

The Isthmus of Panama

The origin of the Panama population lies in group I. It is difficult to say exactly from which basic material, as the population has traits making it similar to both Polynesian and Southeast Asian or Melanesian populations. The low variability of this population is a strong argument in favour of the American origin of the coconut palm: this population must have been through a period of isolation, with a limited number of effective individuals.

There are two possible explanations, and it is hard to choose between them: in the first, the Panama cultivar would seem to be quite representative of the pre-Colombian populations recognized by Oviedo in 1530. In this case, subsequent imports from the Pacific (particularly the Solomon Islands and the Philippines, (Zizumbo-Villareal, 1996) would only slightly have modified their genetic structure. In the second, these post-Colombian populations could have played a predominant role, which would explain the composite appearance of the RFLP banding pattern of Panama populations. To explain the allelic poverty observed, there would have to have been a bottleneck, which could be put down to intense breeding for disease, pest or cyclone resistance.

It is in the Americas that the coconut palm's spread around the Tropics came to an end. After a long voyage, the representatives of the two major branches of its evolution arrived on each of the continent's shores and met up again. The Aguadulce population (PNT01) is proof of this: its RFLP banding pattern is very similar to that which could be expected from introgressing around 10% of the genes of group II (represented in the region by so-called "Atlantico" or "Tres Picos" populations) into "Redondo" populations similar to Monagre or Bowden.

Domestication of the Dwarf coconut palm

Any hypotheses as to the origin and spread of Dwarfs has to take account of the striking resemblances between the RFLP banding patterns. In fact, it is highly likely that they all appeared at the same time, or at least within a single population. The existence of 13 markers shared by almost all Dwarfs, whereas three of them are in the minority in Talls, seems to favour an appearance at the same time.

Dwarf coconut palms are rarely found in large, uniform stands (except for some commercial plantations set up this century), but they are often found in the immediate vicinity of houses. Dwarfism can therefore be seen as the last stage of coconut palm domestication, in which the determining factor was the appearance of autogamy, and the subsequent possibility of reproducing true-to-type worthwhile palms. The characters sought would have included slow growth, precocity or, in some varieties, the excellent taste of the water in unripe nuts. Moreover, the often bright colour of the fruits, their characteristic shape and the palm growth habit are effective varietal identification factors.

The first consequence of autogamy was the random fixation of one allele to each locus (generally —but not always— the most frequent), and the subsequent conservation of the major part of its genetic structure. We could assume that the subsequent history of Dwarfs comprised long periods of relative stability, interspersed with sporadic gene exchanges with local Tall populations or other Dwarfs, which helped to differentiate between cultivars. In reality, crossing a Dwarf and a Tall produces an F1 hybrid whose characteristics differ markedly from those of the Dwarf. Most of the progenies of such crosses have every chance of blending into the mass of surrounding Tall populations. Only crossing a Dwarf with a Dwarf x Tall hybrid or with another Dwarf has any chance of producing a Dwarf type coconut palm, hence helping to diversify the Dwarf populations. This implies on the one hand that such events are relatively rare, and on the other hand that each of them results in a limited number of allelic substitutions.

Under these conditions, it seems possible to propose a hypothetical diagram of Dwarf evolution from the hypothetical original population:

- the branch corresponding to Philippine and Malayan Dwarfs apparently individualized quite early, with two shared alleles. The Malayan cultivars form a uniform group with three other alleles in common, and no doubt did not individualize until later;
- a structure similar to that of the initial population apparently subsisted, in a set of cultivars collected from very diverse regions: PGD, KIGD, TBD, MBD;

- on the other hand, there is more marked diversity amongst Pacific Red Dwarfs: TRD, VRD, plus the CRD, which could have a Pacific origin although it was sampled in Cameroon.

Although the Malayan and Philippine cases are proof of a geographical structure to Dwarf variability, it is much less clear-cut than for Talls: contrary to Talls, Dwarf cultivars imported into new regions tend to remain genetically isolated from local populations. This explains why similar genotypes are found in distant zones; for instance, the BGD has a banding pattern similar to that of the Philippine cultivars, and the cultivars similar to the PGD are spread throughout widely scattered regions. In this respect, Dwarfs are proof of the intense exchanges that have taken place within the zone in which coconut is grown.

What remains is to determine the region of origin of Dwarf coconut varieties. This cannot necessarily be done very accurately, since the random fixation of alleles due to homozygosity may have profoundly modified the genetic structure of the initial population right from the start. The Tall cultivars that are most similar to it are found in a region stretching from Southeast Asia to Papua New Guinea.

An original type: the Niu Leka

Although it grows slowly like Dwarfs, the Niu Leka is a very specific variety by virtue of its allogamy, appearance and the fact that a Niu Leka x Tall hybrid resembles a Niu Leka. Its RFLP banding pattern confirms its originality: it is clearly different from that of Dwarfs, but extremely similar to Pacific Talls, particularly the TONT, followed by the RTMT, which corresponds precisely to the zone of origin of the Niu Leka. The presence of the "rapid" Cox 1 allele in the Niu Leka and in one TONT individual is also in favour of a Tongan origin of the Niu Leka. However, there is no explanation for the existence in this country of this allele, which is not found in any other cultivars from the region.

Conclusion-prospects

RFLP data analysis is not finished, and it would be wise to complete sampling with a small number of cultivars to fill in a few gaps or check certain hypotheses. Around twelve cultivars should be used: Talls to be collected in Latin America, Micronesia, Polynesia (Niu Kafa) and East Africa, plus a few Dwarf or semi-Dwarf cultivars such as the King Coconut. It may also be worth seeking additional markers, notably to distinguish between certain Dwarfs. However, the results available to date give a relatively precise picture of the diversity of the species and of the ways in which it has spread and evolved.

To some extent, the proposed scheme tallies with that of Harries (1978), particularly as regards the situation observed in Latin America

and the Caribbean. However, the role played by domestication and by geographical isolation is markedly different. Despite a degree of resemblance, the "Niu Kafa" of group I, and group II do not necessarily have the same origin. The data available clearly suggest a single origin for Dwarfs, which would seem to be the ultimate stage in domesticating the coconut palm.

In certain situations, RFLP can provide extremely accurate varietal identification. It has even been possible to detect exogenous genes in certain populations, and to explain the likely reason. Given the very limited numbers of individuals used, this technique has proved extremely powerful.

It should make a significant contribution to germplasm management, particularly in identifying redundancies or the degree of

representativeness of certain samples. When rejuvenating, for instance, it is not always clear whether it is better to reproduce the original population or a sub-sample produced by mass selection. A study of allelic frequency trends should provide an answer. In breeding, there is now a way of limiting the number of combinations to be tested, by working on both phenotypic and molecular similarities. A study of the heterosis observed in between-population hybrids depending on genetic distance has yet to be conducted.

One possible application which we feel to be important is a study of populations from the Pacific coast of Latin America, in relation to Lethal yellowing tolerance. The three populations studied seem to stem from a small initial population. A study of Pacific Tall population

diversity and dynamics, using larger samples, would provide a clearer picture of the type of initial inputs and ensure a more accurate identification of the populations likely to transmit disease tolerance. ■

Acknowledgements

This study would not have been possible without the collaboration of the research station which collected and maintained the genetic material studied here. We are very grateful to the Directors and the staff members of IDEFOR-DPO (Côte d'Ivoire), CARFV (Vanuatu) and CIB (Jamaica) who provided us with the necessary experimental material.

Résumé

La diversité génétique du cocotier a été étudiée à l'aide de marqueurs Rflp. Deux-cent-quatre-vingt-neuf cocotiers répartis entre 26 écotypes Grands et 16 écotypes Nains ont ainsi été analysés. Ces cultivars proviennent des principales zones de culture du cocotier. Vingt sondes ADNc de palmier à huile, de riz, de maïs et de cocotier ainsi qu'une sonde cytoplasmique de blé ont été hybridées sur l'ADN digéré à l'aide de quatre enzymes de restriction. A partir du polymorphisme moléculaire, une Afc (analyse factorielle des correspondances) nous a permis de donner une représentation de la structure génétique des populations. Ces résultats, ainsi que des considérations géographiques et historiques, nous ont conduit à individualiser deux groupes majeurs pour les cocotiers Grands, le premier contenant les écotypes originaires du Sud-Est Asiatique et de l'Océan Pacifique tandis que le second regroupe les écotypes du sous-continent Indien et de l'Afrique de l'Ouest. Les cultivars de l'Afrique de l'Est ainsi que celui des îles Andamans possèdent des marqueurs des deux groupes alors que le Grand Panama dérive vraisemblablement du premier groupe. Tous les Nains (excepté le Niu Leka) forment un ensemble très homogène relié au premier groupe des Grands. Ces résultats, qui nous permettent d'esquisser une histoire de la dissémination et de la domestication du cocotier, illustrent l'intérêt des marqueurs moléculaires pour la gestion et l'utilisation des ressources génétiques.

Abstract

A study of the genetic diversity in coconut was performed using RFLP markers. A total of 289 palms, representative of 26 Tall and 16 Dwarf ecotypes, were analysed. The cultivars originated from the major coconut cultivation areas. Twenty cDNA probes from oil palm, rice, maize and coconut, and one cytoplasmic probe from wheat were hybridized on digested DNA using four restriction enzymes. Based on the molecular polymorphism, FCA (Factorial Correspondence Analysis) was used to represent the structure of the populations. These results, along with geographical and historical considerations, led us to define two main groups of Tall coconut palms, originating from South-East Asia and the Pacific Ocean, and from the Indian sub-continent and West Africa. The cultivars from East Africa and from the Andamans shared markers from both groups, whereas the Panama Tall appeared to be derived from the first one. All the Dwarfs (except Niu Leka) formed a highly homogeneous group related to the first group of Talls. These results give some idea of the history of the dissemination and domestication of the coconut palm and illustrate the merits of molecular markers for the management and utilization of genetic resources.

Resumen

Se estudió la diversidad genética del cocotero mediante marcadores RFLP. De este modo, se analizaron 289 cocoteros distribuidos entre 26 ecotipos Grandes y 16 ecotipos Enanos. Estos cultivares proceden de las principales zonas de cultivo del cocotero. Se hibridaron 20 sondas cDNA de palma de aceite, de arroz, de maíz y de cocotero así como una sonda citoplasmica de trigo sobre el ADN digerido mediante cuatro enzimas de restricción. A partir del polimorfismo molecular, una AFC (Análisis Factorial de Correspondencias) nos ha permitido dar una representación de la estructura de la diversidad de las poblaciones. Estos resultados, así como consideraciones geográficas e históricas, nos llevaron a individualizar dos grupos mayores para los cocoteros Grandes, el primero que contiene los ecotipos procedentes del Sureste Asiático y del Océano Pacífico mientras que el segundo reúne los ecotipos del subcontinente Indio y de África del Oeste. Los cultivares de África del Este así como aquel de las islas Andamans poseen marcadores de ambos grupos mientras que el Grande Panamá deriva probablemente del primer grupo. Todos los Enanos (salvo el Niu Leka) forman un conjunto muy homogéneo relacionado con el primer grupo de los Grandes. Estos resultados, que nos permiten esbozar una reseña histórica de la diseminación y de la domesticación del cocotero, ilustran el interés de los marcadores moleculares para la gestión y el uso de los recursos genéticos.