

UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

DOMAINE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

MENTION BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALES

MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCE DE LA VIE

Parcours : SYSTEMATIQUE ET GESTION DURABLE DE LA DIVERSITE VEGETALE (SYGEDUR)

MORPHOLOGIE POLLINIQUE

DES MASCAROCOFFEA, CAFEIERS SAUVAGES

ENDEMIQUES DE MADAGASCAR



Présenté par VOAHARINANTENAINA Rakotomalala Andriamanisa Soutenu publiquement le 15 Mars 2017 devant les membres de jury :









UNIVERSITE D'ANTANANARIVO ------DOMAINE SCIENCES ET TECHNOLOGIES ------MENTION BIOLOGIE ET ECOLOGIE VEGETALES



MEMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN SCIENCE DE LA VIE

Parcours : SYSTEMATIQUE ET GESTION DURABLE DE LA DIVERSITE VEGETALE (SYGEDUR)

MORPHOLOGIE POLLINIQUE

DES MASCAROCOFFEA, CAFEIERS SAUVAGES

ENDEMIQUES DE MADAGASCAR

Présenté par VOAHARINANTENAINA Rakotomalala Andriamanisa Soutenu publiquement le 15 Mars 2017 devant les membres de jury :

PRESIDENT	: Professeur FARAMALALA Miadana Harisoa
RAPPORTEURS	: Professeur RAMAVOVOLOLONA
	Professeur RAKOTOMALALA Jean Jacques
EXAMINATEUR	: Docteur RAMAMONJISOA RALALAHARISOA





PHOTOS DE LA PAGE DE COUVERTURE

De gauche à droite,

Pollens vus au microscope photonique (x1000) de quelques espèces de Mascarocoffea

Accession A954, C. ambodirianensis, C. moratii, C. vianneyi, accession A950, C. lancifolia var. auriculata

«Ary ny tany naniry ahitra sy anana mamoa samy araka ny karazany avy, ary hazo mamoa izay manamboa ao aminy, samy araka ny karazany avy. Ary hitan 'Andriamanitra fa tsara izany»

Genesisy 1:12

Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce à la collaboration entre différentes institutions, le laboratoire de Palynologie de la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, le Département de Recherches Agronomiques (DRA) du FOFIFA Ambatobe et l'association Biodiversité Ecovalorisation et Caféiers (BEC).

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements à tous ceux qui ont contribué à sa réalisation :

Madame FARAMALALA Miadana Harisoa, Professeur titulaire à la Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, qui m'a fait un grand honneur de présider le jury de ce mémoire, et aussi d'avoir consacré du temps pour le lire et d'apporter ses conseils pour les corrections de ce travail. Je lui adresse ma profonde gratitude et attachement respectueux.

Madame RAMAVOVOLOLONA, Professeur titulaire à la Faculté des Science de l'Université d'Antananarivo, Responsable de l'Equipe d'Accueil Doctorale en Sciences du Végétal de l'Université d'Antananarivo. Je la remercie vivement de m'avoir encadrée, notamment pour la rigueur scientifique et la pertinence des conseils prodigués à mon égard. Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Professeur RAKOTOMALALA Jean Jacques, Responsable du programme Café au sein du Département de Recherches Agronomiques (DRA) du FOFIFA Ambatobe, d'avoir consacré beaucoup de temps pour l'encadrement technique et particulièrement d'avoir mis à ma disposition sa compétence en analyses statistiques. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Docteur RAMAMONJISOA RALALAHARISOA, Maître de conférences à la Faculté des Sciences d'Antananarivo, Responsable du laboratoire de Palynologie, qui malgré ses nombreuses occupations, a bien voulu apporter son aide durant l'accomplissement de ce travail et accepter d'examiner ce mémoire. Je lui adresse ma profonde gratitude.

Professeur PERLA HAMON, chercheur à l'IRD Montpellier, qui a proposé ce projet de recherche et a fourni les photos de pollen d'espèces de *Mascarocoffea* en Microscopie électronique à balayage mises en annexe de ce document. Qu'elle veuille accepter mes remerciements.

Mes vifs remerciements vont également aux étudiants en Palynologie, et ceux de la promotion « Rianala », particulièrement à :

- Dr. RASOAMANANA Elysée et MANDA ANDRIANAHOATRA Rolland, pour leur soutien dès le début de ce travail;
- RABAKOMANANTSOA Landry Richard Gabriel et RAKOTONIAINA Andrisoa Patrice, étudiants en « Physiologie et technologie des plantes » travaillant sur les Caféiers « Ratelo », pour le partage de connaissances à Kianjavato et lors des traitements des données;
- RANDRIANAIVO Fihova Hanisy, étudiant en Master II « SYGEDUR » pour son assistance et soutien durant les travaux de laboratoire.

Je suis vivement reconnaissante à l'équipe du terrain de Kianjavato, pour leur partage concernant les *Mascarocoffea* et les caféiers cultivés. Ces connaissances m'ont aidée à la compréhension des caféiers Malgaches.

Et finalement et non les moindres, un grand merci à tous les membres de ma famille, spécialement mes parents, mon mari et mon fils *TOAINA*, auxquels je dédie ce mémoire pour leur amour, encouragement et soutien permanent.

TABLE DES	MATIERES
-----------	----------

Remerciementsi	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUXvi	
LISTE DES ANNEXESvii	
GLOSSAIREviii	
INTRODUCTION1	
I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1. Le genre <i>Coffea</i> L	
I.1.1. Histoire de la classification botanique du genre	
I.1.2. Caractères botaniques du genre Coffea L. (Schatz, G.)	
I.2. Les Mascarocoffea4	
I.2.1. Caractères généraux et les différentes séries de Mascarocoffea	
II. MATERIELS ET METHODES	
II.1. Matériels végétaux6	
II.2. Méthodes d'étude7	
II.2.1. Méthode d'étude des anthères7	
II.2.2. Méthode d'étude des pollens7	
II.3. Traitement des données11	
II.3.1. Test de corrélation de Pearson11	
II.3.2. Histogramme de fréquence de la dimension des pollens	
II.3.3. Analyses multivariées	
II.3.4. Analyse des variances (ANOVA)12	
II.3.5. Courbes de fréquence de CHAUVAT & REAU (1995)13	
III. RESULTATS ET INTERPRETATIONS	
III.1. Description pollinique des Caféiers africains14	
III.2. Description pollinique des Mascarocoffea16	
III.3. Relation entre la dimension staminale et la dimension pollinique des Mascarocoffea et	
des caféiers africains	
III.4. Variation de la taille des grains de pollen	
III.4.1. Les caféiers africains	
III.4.2. Les Mascarocoffea	
III.5. Essai de regroupement des caféiers étudiés	
III.5.1. Analyse en Composantes Principales (ACP)	

III.5.2.	Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)	33
III.5.3.	Analyse Factorielle Discriminante (AFD)	34
III.6. Variat	ion des caractéristiques morpho-métriques des pollens de Mascarocoffea et	des
caféier	rs africains	36
III.6.1.	Comparaison entre Mascarocoffea et les caféiers africains	36
III.6.2.	Comparaison entre les différentes séries de Mascarocoffea	36
III.6.3.	Comparaison entre les différentes espèces de caféiers africains	37
III.6.4.	Synthèse des résultats pour l'ensemble des caféiers étudiés	38
III.7. Divers	ité intraflorale de la taille du pollen des caféiers étudiés	38
III.7.1.	Cas de l'ensemble des caféiers africains et malgaches	38
III.7.2.	Cas d'une espèce hybride C. congensis X C. canephora (Congusta)	39
III.7.3.	Cas des espèces de Mascarocoffea présumées hybrides	39
IV. DISCUSS	SIONS	42
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte de localisation de la station de Recherche de FOFIFA à Kianjavato7
Figure 2: Stratification des différentes couches de l'exine
Figure 3 a-b-c-d : Représentation graphique de la corrélation de la dimension pollinique (P) et la
dimension staminale (LgA) des Mascarocoffea et les espèces africaines 27
Figure 4 : Distribution des dimensions polliniques de caféiers africains suivant l'axe P (Cofafr:
Caféiers africains)
Figure 5 : Distribution des dimensions polliniques des espèces du Complexe Millotii (CM) suivant
l'axe polaire P
Figure 6 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de Subterminales (SBT) suivant
l'axe P
Figure 7 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de Multiflorae (MTF) suivant
l'axe P
Figure 8 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de la série Verae (VER) suivant
l'axe P
Figure 9 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de Garcinioides suivant l'axe P30
Figure 10 a et b: Cercle de corrélation des différentes variables polliniques sur le plan factoriel
(a: F1*F2, b: F1*F3)
Figure 11: Représentation graphique des accessions de différentes séries de Mascarocoffea après
Analyse en Composante Principale dans l'espace [F1, F2, F3]
Figure 12: Classification des différents groupes botaniques de caféiers par CAH
Figure 13 : Représentation des individus analysés dans l'espace [F1, F2, F3]
Figure 14 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de
<i>C. arabica</i> (B2)
Figure 15 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de l'espèce hybride
(C. congensis X C. canephora)
Figure 16 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de l'espèce présumée
hybride (C. dolichophylla, A206) et non hybride (C. dolichophylla, A828)
Figure 17 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de C. sambavensis
(A955), espèce présumée hybride
Figure 18 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de deux espèces des
Mascarocoffea présumées hybrides (C. mangoroensis, A402; C. sahafaryensis, A978)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques des huit (08) séries botaniques de Mascarocoffea selon Chevalier (1947) 4
Tableau 2 : Caractéristiques des six (06) séries botaniques de Mascarocoffea selon Charrier (1978) 5
Tableau 3 : Nombre d'espèces et accessions de Mascarocoffea étudiées selon leur série
Tableau 4 : Espèces africaines étudiées 6
Tableau 5 : Caractéristiques polliniques des accessions de C. arabica 14
Tableau 6 : Caractéristiques polliniques des accessions de C. canephora 16
Tableau 7 : Caractéristiques polliniques des accessions de Complexe Millotii
Tableau 8 : Caractéristiques polliniques des accessions de Garcinioides
Tableau 9 : Caractéristiques polliniques des accessions de Multiflorae
Tableau 10 : Caractéristiques polliniques des accessions de Subterminales
Tableau 11 : Caractéristiques polliniques des accessions de Verae
Tableau 12 : Répartition des différentes séries de Mascarocoffea dans deux groupes de CAH . 33
Tableau 13 : Répartition des différentes séries de Mascarocoffea dans deux sous-groupes de CAH.
Tableau 14: Répartition des accessions dans les 3 classes après AFD 35
Tableau 15 : Classification des Mascarocoffea et des caféiers africains après ANOVA
Tableau 16 : Classification des différentes series de Mascarocoffea après ANOVA 37
Tableau 17 : Classification des différentes espèces de caféiers africains après ANOVA
Tableau 18 : Classement de différents groupes des caféiers après synthèse sur les Rangs

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Planches Photographiquesix
Annexe II : Liste et codage des espèces de Mascarocoffea selon leur sériexviii
Annexe III : Liste des espèces de Mascarocoffea étudiéesxx
Annexe IV : Liste et codage des espèces de caféiers africains étudiés xxi
Annexe V : Protocole d'Acétolyse xxii
Annexe VI : Tableau résumant les caractères morpho-métriques (en μ) des accessions de
Mascarocoffeaxxiii
Annexe VII : Variation de la taille des grains de pollen des espèces de <i>caféiers africains</i> xxv
Annexe VIII : Variation de la taille des grains de pollen des espèces de Mascarocoffea xxvi
Annexe IX : Matrice de corrélations (ACP) entre les variables et les facteurs xxviii
Annexe X : Distribution géographique des accessions de Mascarocoffea étudiées xxix
Annexe XI : Planches photographiques de quelques espèces de Mascarocoffea au microscope
électronique à balayagexxx

GLOSSAIRE

Accession : Groupe d'individus issus d'une même provenance, rassemblés en collection.

Apocolpium : La région du pôle du grain de pollen zonocolpé où les apertures se situent à l'équateur du grain. Cette région est délimitée par des lignes imaginaires joignants les extremités des sillons. (Erdtman, 1952)

Aperture: L'aperture est une zone de moindre résistance, due à l'amincissement ou à la disparition de l'exine, qui permet la sortie du tube pollinique (Erdtman, 1952).

Type apertural : Caractère défini par la forme, le nombre et la disposition des apertures du grain de pollen.

Hybridation interspécifique : Croisement entre deux espèces différentes donnant naissance à des individus présentant les caractéristiques des deux parents.

Pollen : Le grain de pollen, ou microgamétophyte mâle des plantes à fleurs, est un petit organisme haploïde, produit par le sporophyte lors de la reproduction. Le grain de pollen est donc une structure de dispersion et de reproduction

Polymorphisme staminal : Variabilité de la taille et de la forme des étamines d'une fleur d'un individu d'une espèce.

Polymorphisme pollinique : Variabilité de la taille et de la forme des grains de pollen d'une fleur d'un individu d'une espèce.

Polyploïdie : Cellule vivante possédant des chromosomes formés d'un nombre multiple d'unité génétique.

Section botanique : Regroupement botanique, par Chevalier (1947) sur les caféiers connus à son époque en fonction de leur répartition géographique ; ne faisant pas partie du système de classification internationale.

Série botanique : Regroupement botanique, par Chevalier (1947) sur les caféiers spontanés des îles Mascareignes et de Madagascar, en fonction de leurs caractères morphologiques et phénologiques; ne faisant pas partie du système de classification internationale.

INTRODUCTION

La famille des Rubiaceae à laquelle appartient le genre *Coffea* constitue une large famille avec 630 genres et 13000 espèces avec une large distribution géographique dans les régions tropicales et subtropicales (Struwe, 2002) dont 91% sont endémiques de Madagascar. Le genre *Coffea* L. comporte de nombreuses espèces dont Davis et *al.*, (2011) ont décrit 124 espèces originaires d'Afrique, de Madagascar, de l'archipel des Comores, des îles Mascareignes, d'Asie du Sud-Est, de l'Inde et d'Australie. Ce genre est bien représenté dans les Iles de l'Océan Indien avec 61 espèces dont 59 se trouve dans la région Malgache. Cette richesse spécifique fait de Madagascar un des centres de diversification le plus important des Caféiers.

Du point de vue systématique, le genre *Coffea* a été auparavant divisé par Chevalier (1947) en quatre sections botaniques selon la morphologie de la plante, à savoir : *Argocoffea*, *Paracoffea*, *Eucoffea* et *Mascarocoffea*. Des approches palynologiques ont été déjà entreprises pour obtenir des informations scientifiques indispensables à la révision taxonomique des trois premières sections botaniques. Par contre, elles demeurent embryonnaires pour la section *Mascarocoffea* (Chinnappa et Warner, 1981).

Les études palynologiques effectuées sur le genre *Coffea* ont montré un polymorphisme pollinique intrafloral et ont apporté des significations phylogénétiques sur ces différentes subdivisions taxonomiques (Chinnappa et Warner, 1982). Par ailleurs, selon Dessein et *al.*, 2005, les études morpho-palynologiques permettent d'apprécier les relations évolutives entre les différentes espèces au sein de la famille des Rubiaceae. Elles peuvent être utilisées pour rejeter ou corroborer la taxonomie déjà établie.

Plusieurs auteurs ont mis en évidence la variation pollinique à l'intérieur du genre, d'une espèce ou même d'une plante (Wodehouse, 1935 ; Till et *al.*, 1989). L'étude de cette variation dite polymorphisme pollinique pourrait aider à la compréhension de l'évolution du pollen et des mécanismes d'interaction entre pollen et stigmate. De plus, les causes de cette variation ont été déjà évoquées par Van Campo (1966) et Layka (1975) et pourraient être d'origine staminale ou à l'hybridation interspécifique ou à la polyploïdie.

Le groupe des *Mascarocoffea*, connu sous le nom de « caféiers spontanés sans caféine de la région Malgache » (Chevalier, 1938), constitue l'une des grandes sections botaniques du genre *Coffea*. Il est formé de 61 espèces. Or, du point de vue palynologique, seules quatre espèces ont été étudiées (Straka et Simon, 1969; Chinnappa et Warner, 1981), notamment *C. augagneuri, C. pervilleana, C. humblotiana et C. mauritiana*.

L'objectif principal du présent travail est de collecter et d'analyser les informations relatives aux différents caractères morphologiques des pollens de plusieurs espèces de *Mascarocoffea* en comparaison avec des espèces africaines, afin de connaitre leur diversité et d'en tirer une signification taxonomique.

Dans cette optique, les hypothèses suivantes sont soumises à vérifications :

- 1. Les Mascarocoffea sont palynologiquement différents des espèces africaines ;
- 2. Il existe une diversité inter et/ou intra-séries botaniques au sein des *Mascarocoffea* concernant la dimension pollinique ;
- 3. Il existe une diversité inter et/ou intra-séries botaniques au sein des *Mascarocoffea* pour les autres caractères morphologiques des pollens ;
- 4. Il existe une relation entre la dimension staminale et la dimension pollinique dans le genre *Coffea*.

Pour y arriver, les grandes lignes suivantes seront développées :

- Un bref rappel bibliographique sur la systématique et les études concernant la diversité de *Mascarocoffea*, dans la première partie ;
- Une deuxième partie comporte les matériels et les méthodes adoptées ;
- Une troisième partie est réservée aux résultats et interprétations ;
- Une quatrième partie est consacrée à la discussion des résultats obtenus suivi de la conclusion et des perspectives.

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. Le genre *Coffea* L.

I.1.1. Histoire de la classification botanique du genre

Le genre *Coffea* appartient à l'ordre de Gentianales, famille des Rubiaceae, sous famille des Ixoroideae, tribu de *Coffeeae* D. C. Plusieurs classifications du genre ont été proposées par les auteurs :

- La première description botanique du Caféier sous le nom de *Jasminum arabicanum* a été faite par A. de Jussieu en 1713, à partir d'une seule plante dans le jardin botanique d'Amsterdam. Linné (1737) a séparé du genre *Jasminum* cette plante qu'il a nommé *Coffea arabica* (Wellman, 1961).
- Chevalier (1938) a repris les œuvres de Linné en compilant divers travaux de la littérature et différentes collections en vue de la révision taxonomique du genre. Le travail de Chevalier (1942) a réduit à 87 les espèces déjà décrites. Sa classification distingue 4 sections botaniques du genre *Coffea* : *Paracoffea, Argocoffea, Mascarocoffea et Eucoffea* (Chevalier, 1947).
- Coste (1968), Wellman (1961), Leroy (1967, 1980a, 1981) et Bridson (1982) ont revisé également la taxonomie du genre *Coffea*.
- Robbrecht (1988a, 1994) et Puff (1986) ont subdivisé la tribu de *Coffee*ae en 2 genres distincts : *Coffea* et *Psilanthus* Hook.

Plus récemment, Davis et *al.*, (2006, 2011) ont regroupé le genre *Psilanthus* dans le genre *Coffea* en se basant sur des études morphologiques et moléculaires.

I.1.2. Caractères botaniques du genre Coffea L. (Schatz, G.)

Arbuste hermaphrodites pouvant atteindre 10 m de haut. Feuilles opposées, présentant souvent des domaties aux aisselles des nervures secondaires, stipules soudées en une gaine courte, interpétiolaire, à apex obtus ou apiculé, parois couverte d'une couche résineuse tout comme les axes des inflorescences. Inflorescences axillaires, paraissant parfois terminales par le développement tardif des bourgeons terminaux, parfois ramiflores aux aisselles des cicatrices foliaires ou cauliflores, rarement terminales mais dans ce cas avec une fleur solitaire. Inflorescences en cymes condensées munies de bractéoles ; les bractéoles ressemblant à une coupe ou à des stipules, 4-dentées ou 4-lobées, les lobes parfois bien développés et sub-foliacés, fleurs petites ou grandes, pédicellées, 3(8) mères, calice brièvement tubulaire,

tronqué à denticulé ; corolle infundibuliforme, blanche ou légèrement colorée, le tube plus ou moins égal aux lobes, lobes tordus dans le bouton et se recouvrant vers l'extérieur; étamines insérées au niveau des sinus entre les lobes adjacents de la corolle, filets courts, anthères exsertes, disque annulaire, épais, ovaire 1- (2-) loculaire. Style cylindrique, glabre, divisé à

l'apex en 2 branches divergentes portant les stigmates, longuement exsert ; ovule 1 par loge. Le fruit est une drupe de petite à grande taille, charnue, indéhiscente et composée de 2 pyrènes ; graine creusée d'un sillon longitudinal le long de la face ventrale dans lequel le testa se replie ; testa brillant, ornementé de zones très finement striées, albumen abondant, lisse-entier.

Coffea est distribué dans les forêts sempervirentes humides, sub-humides et de montagne depuis le niveau de la mer jusqu'à 2000m d'altitude, ainsi que dans les forêts décidues sèches. On peut le reconnaitre à ses stipules soudées en une gaine courte, parfois couvertes de résine, ses inflorescences axillaires portant des fleurs au calice présentant une marge réduite à tronquée, à la corolle infundibuliforme et tordue dans le bouton et à son fruit contenant deux graines creusées d'un sillon longitudinal le long de la face ventrale plate (Annexe I, Pl. IX).

Les Mascarocoffea I.2.

I.2.1. Caractères généraux et les différentes séries de Mascarocoffea

La classification des Mascarocoffea a été établie par Chevalier (1938) et Leroy (1967). Ils ont décrit plus d'une cinquantaine d'espèces de caféiers regroupés dans 8 séries botaniques en se basant sur les caractères morphologiques et les variations morphologiques au sein de la population naturelle. Les séries définies sont les suivantes : Verae, Multiflorae, Sclerophyllae, Brachysiphon, Terminales, Mauritianae, Macrocarpae et Garcinioides.

Série botanique	Caractéristiques
Verae	Feuilles à nervures secondaires plus saillantes en dessous que les
	tertiaires
	Fruit ovoïde, moyen ou petit sans disque conique
	Fleurs axillaires, moyennes (corolle de 8 à 20 mm de long)
	Feuilles sub-coriaces, grandes (12 à 22 cm de long), lancéolées, ne
	noircissant pas
	Fleurs sessiles
Mauritianae	Feuilles papyracées moyennes (6 à 10 cm de long) lancéolées,
	noircissant en séchant
	Fleurs sub-sessiles
Multiflorae	Feuilles sub-coriaces, moyennes (12 à 15 cm de long) obovales-
	elliptiques, noircissant ou non,
	Fleurs en cymes pédonculées assez grandes
Sclérophyllae	Feuilles très coriaces, petites (3 à 6 cm de long)
	Fleurs axillaires assez grandes
Brachysiphon	Fleurs axillaires et très petites (tube de la corolle de 2 mm à peine)
Terminales	Fleurs terminales et assez petites pour la plupart
Macrocarpæ	Fruits ovoïdes gros, avec un disque conique très saillant
Garcinioides	Feuilles subcoriaces à nervures secondaires et tertiaires semblables, très fines et parallèles

Tableau 1 : Caractéristiques des huit (08) séries botaniques de Mascarocoffea selon Chevalier (1947)

En 1978, une révision de cette classification a été proposée par Charrier. Cette révision, basée sur des études de taxinomie numérique réduit la section *Mascarocoffea* en 6 séries botaniques (Verae, Multiflorae, Subterminales, Garcinioides, Humblotianae-Mauritianae, Complexe Millotii) [**Tableau 2**].

Série botanique	Caractéristiques	
Verae	Inflorescences du type uniflore, ou exceptionnellement	
	pauciflore.	
Multiflorae	Inflorescence du type cyme pluriflore en position axillaire	
	et sur le bois agé.	
Subterminales		
	Inflorescences uniflores et pluriflores	
Garcinioides	Inflorescences axillaires et pluriflores portées par les axes	
	feuillées de l'année.	
Complexe Millotii	Inflorescences pluriflores	
Humblotianae-Mauritianae	Inflorescences portées principalement par le vieux bois et	
	les axes feuillés aoûtés	

 Tableau 2 : Caractéristiques des six (06) séries botaniques de Mascarocoffea selon Charrier (1978)

Les *Mascarocoffea* sont caractérisés par une très grande diversité, morphologique, phénologique, biochimique et par leur potentiel adaptif. Ils peuvent être des grands arbres (*C. perrieri*, 12-15 m de haut) ou des arbustes buissonnants (*C. sakarahae*) (**Annexe I, Pl. X**). La taille des feuilles varient de très grande (*C. farafanganensis*) à très petite (*C. sakarahae*).

Les fleurs sont aussi variables suivant la taille, le nombre de pétale et sépale, le nombre d'étamine, etc. (Annexe I, Pl. X).

Le nombre d'étamines varie du type 4 à 7 suivant les différentes séries botaniques de *Mascarocoffea*.

La couleur des fruits matures varie du vert au bleu-noir en passant par le jaune et le rouge. La taille du fruit varie aussi suivant les espèces. (**Annexe I, Pl. XI**).

Du point de vue biochimique, les graines de toutes les espèces de *Mascarocoffea* sont dépourvues de caféine (Rakotomalala, 1992) exceptées celles de *C. mauritiana*, *C. lancifolia* et *C. kianjavatensis*. Certaines espèces contiennent des dérivés de molécules spécifiques rarissimes, comme les acides *p*- et *o*- coumarique, sinapique, 4-méthoxy, 3,4-diméthoxy et 3,4,5-triméthoxycinnamique.

II. MATERIELS ET METHODES

II.1. Matériels végétaux

Dans le présent travail, 56 accessions représentatives des 5 séries botaniques de *Mascarocoffea* de Charrier (Complexe Millotii, Multiflorae, Garcinioides, Subterminales et la série Verae) ont été choisies pour l'étude des anthères et des pollens (**Tableau 3**). L'organe végétal utilisé lors de l'étude est le bouton floral dit « en chandelle » c'est-à-dire un bouton floral en veille d'éclosion. Il est conservé dans des tubes eppendorfs ouverts rassemblés dans des boîtes contenant du silicagel. La collecte de ce matériel végétal a été réalisée dans la collection vivante du FOFIFA à Kianjavato dont la localisation est montrée sur la carte de la **figure 1**.

 Tableau 3 : Nombre d'espèces et accessions de Mascarocoffea étudiées selon leur série (Liste détaillée en Annexes II et III)

Série des Mascarocoffea	Nombre d'espèces	Nombre des accessions
Complexe Millotii	8	11
Garcinioides	1	3
Multiflorae	13	25
Subterminales	10	12
Verae	3	5
Total	35	56

Aux fins de comparaison, des espèces africaines avec une espèce hybride (Congusta) ont été collectées dans la collection des Arabicas à Sahambavy (Fianarantsoa) et de Kianjavato (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Espèces africaines étudiées (Liste détaillée en Annexe IV)

Especes	Accessions
Coffea arabica L.	B14, B2, ET 191 157, ET2
Coffea canephora Pierre ex	K26, K39, K48, K77
A.Froehner	
<i>Coffea liberica</i> Bull. ex Hiern	CL
Coffea eugenioides S.Moore	CE

La dénomination des accessions chez *Mascarocoffea* et des caféiers africains a été donnée lors de la prospection des caféiers soit par leurs aires d'origine (A20, A954, etc), soit par leur nom de collection (ex : « B » signifie collection de Bealanana, « K » collection de Kianjavato), et/ou selon leur lieu de provenance (ex : « Et » caféier d' origine Ethiopien).





II.2. Méthodes d'étude

Toutes les études concernant les anthères et les pollens ont été effectuées au laboratoire de Palynologie de la Mention Biologie et Ecologie Végétales (M.B.E.V) de la Faculté des Sciences, Antananarivo.

II.2.1. Méthode d'étude des anthères

Les boutons floraux conservés dans des eppendorfs ouverts ont été utilisés pour l'étude de l'anthère. Les anthères ont été détachées de la fleur au niveau du filet puis la longueur de l'anthère (LgA) a été mesurée à raison de 10 étamines par accessions. La mesure de chaque étamine a été effectuée sous microscope ZEISS à micromètre oculaire, au grossissement x 25 avant l'extraction des pollens.

II.2.2. Méthode d'étude des pollens

a - Acétolyse

La méthode d'acétolyse d'Erdtman (1952) a été adoptée avant les études microscopiques. Il s'agit d'un traitement chimique qui consiste à vider le pollen de son cytoplasme et de l'intine permettant une meilleure observation de la structure de l'exine (paroi externe) de l'échantillon à étudier.

Après mensuration, les étamines sont triturées dans de l'eau distillée puis filtrées. Les pollens sont centrifugés, déshydratés à l'acide acétique 100% et acétolysés dans un mélange d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentrés (9vol/1vol) porté au bain marie bouillant pendant 2 à 3 minutes. Le protocole d'acétolyse est détaillé en **Annexe V**.

b - Montage de la préparation pollinique

Les grains de pollen acétolysés sont montés entre lame et lamelle 24 heures après leur traitement. Le montage est fait soit avec de la gélatine glycérinée (montage fixe), soit avec de la glycérine phénolée (montage mobile). Trois à quatre lames ont été confectionnées pour chaque accession. Des informations concernant les pollens montés sont mentionnées sur le bord de chaque lame à savoir le numéro, le nom d'espèce, la date de collecte et la provenance de chaque accession.

c - **Observation et mesure des pollens**

Les grains de pollen ont été observés au microscope ZEISS (x16, x40, x60, x100) et BRESSER (x1000). Les photographies des pollens ont été prises selon les deux vues (vue équatoriale et vue polaire) tels que la longueur de l'axe polaire P, le diamètre équatorial E, la longueur de l'ectoaperture (lgE), le diamètre du pore (diP) et l'apocolpium d (d), avec le microscope BRESSER au grossissement x 1000 à l'huile à immersion (**Annexe I, Pl. XII**). Les mesures ont été effectuées sur 30 grains de pollen pour chaque accession avec le logiciel MICROCAMLAB.

La méthode de la LO (Lux- Obscurité) analyse a été utilisée lors des observations. Elle consiste à examiner les grains de pollen à différents niveaux de mise au point microscopique, d'une part de la position équatoriale à laquelle correspondent deux (2) vues :

- Vue de surface du grain ;
- Coupe optique (en profondeur).

Et d'autre part, de la position polaire à laquelle correspondent deux (2) vues :

- Vue de surface du grain ;
- Coupe optique.

d - Description morphologique et terminologie selon Punt et *al.*, (1994, 2007)

i - Forme, taille et symétrie

La division post-méiotique définit la forme du grain du pollen. Elle peut être des monades, des diades, des tetrades ou des polyades (massula ou pollinie). La forme du grain résulte du ratio entre la longueur de l'axe polaire P et le diamètre équatorial E (**Annexe I, Pl. XIII**). Elle peut

être sphéroidale ou équiaxe (longueur de l'axe polaire P plus ou moins égale à celle du diamètre équatorial E du grain), breviaxe ou oblée (longueur de l'axe polaire P plus courte que celle du diamètre équatorial du grain) et longiaxe ou prolée (longueur de l'axe polaire P plus longue que celle du diamètre équatorial E).

En vue polaire pour le pollen zonoaperturé, la forme du grain varie de circulaire à triangulaire. Selon l'échelle de Kremp (1965), la taille du pollen varie de 10μ à 100μ . Elle est défini selon le diamètre équatorial du pollen : très petit (<10 μ), petit (10 μ -25 μ), moyen (26 μ - 50 μ), large (51 μ -100 μ), très large (>100 μ).

La symétrie du grain résulte de la position de l'aperture et de la forme du grain (**Annexe I**, **Pl. XIII**). Les grains de pollen peuvent être isopolaires (pôles distal et proximal identiques), ou hétéropolaires si les deux (2) pôles ne sont pas identiques.

ii - Apertures

Les apertures des grains de pollen, servent principalement comme zone de germination des tubes polliniques. Elles permettent l'entrée d'eau et d'autres substances dans le pollen. Elles jouent également un rôle important dans l'harmomégathie, c'est-à-dire, la résistance du pollen à une variation de volume au cours de la déshydratation et de l'hydratation. (Wodehouse, 1935; Payne, 1972).

On distingue différents types d'aperture d'une couche à l'autre de l'exine :

- l'ectoaperture affecte la couche la plus externe de l'exine, l'ectexine ;
- l'endoaperture affecte la couche la plus interne de l'exine, l'endéxine ;
- la mésoaperture affecte la partie profonde de l'ectexine.

Les apertures peuvent être également simples ou composées (Erdtman, 1952) : Une aperture est simple si elle se présente soit:

- sous une forme allongée (sillon ou colpus), le grain est dit colpé ;
- sous une forme isodiamétrique (pore), le grain est dit poré.

Ainsi, les pollens ne présentant qu'une seule aperture sont dits mono-porés ou mono-colpés. Ils peuvent être aussi dicolpés, ou tri-, tetra-, penta- hexacolpé, s'ils possèdent plus de 2 apertures. Les grains peuvent être également syncolpé si les sillons se rejoignent au pôle du grain. Les apertures simples affectent l'ectexine (**Annexe I, Pl. XIV**).

Une aperture est composée s'il y a superpositions de sillon et de pore sur un même grain. Il s'agit d'un colporus. Les grains de pollen peuvent être mono-, di-, tri- colporés. (Annexe I, Pl. XIV)

9

Dans les grains hétérocolpés, des apertures simples (sillons) et des apertures composées (colporus) sont altérnées. (Annexe I, Pl. XIV)

Chez la plupart des Dicotylédones, les apertures sont entourées d'une marge ; c'est une région de l'exine où l'ornementation exinique est plus ou moins modifiée.

Différents types aperturaux (**Annexe I, Pl. XV**) aussi sont rencontrés suivant la forme (colpus, porus, sulcus, ulcus), la position (ana-, cata-, zona-, zono-), le nombre (mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-, etc) ou le mode de fusionnement (syn-) des apertures.

iii - Structure et sculpture de l'exine

L'exine forme la couche la plus externe de la paroi du gamétophyte mâle. Elle est constituée de sporopollénine. Elle est imperméable et peu flexible. La constitution de la membrane interne de l'exine définit sa structure et l'élément de la surface appelé « ornementation » définit sa sculpture.

• Structure de l'exine

- Au microscopie photonique (Mph) et/ou en microscopie à balayage, l'exine comprend deux couches bien distinctes: la sexine et la nexine.

La structure de la couche infratectale au sein de la sexine est différente selon les groupes taxonomiques :

Structure alvéolaire : particulièrement pour les Gymnospermes et ne se rencontre jamais chez les Angiospermes ;

Structure grenue : dans laquelle la sporopollénine forme des grains sphériques plus ou moins densément réparties, elle est commune à de nombreuses gymnospermes et Angiospermes ;

Structure collumelaire : où la sporopollénine forme des columelles.

La nexine est constituée de deux (2) couches très exceptionnellement distinctes au microscope photonique et au microscope à balayage.

- Au microscopie électronique à transmission (MET), l'exine se différencie en deux couches chimiquement différentes (Figure 2) : l'ectexine (couche externe) et l'endexine (couche interne).



Figure 2: Stratification des différentes couches de l'exine (Faegri et Inversen, 1964)

• Sculpture de l'exine

L'aspect exterieur de l'exine se présente sous différentes formes (**Annexe I, Pl. XVI**) en microscopie photonique (L.O analyse) ou en microscopie à balayage. Elle peut être lisse, scabre, verruqueuse, clavée, échinulée, striée, rugulée, réticulée, fovéolée, etc.

II.3. Traitement des données

Le logiciel XLSTAT 2015 a été utilisé pour toutes les analyses statistiques

II.3.1. Test de corrélation de Pearson

Afin d'étudier les relations entre la dimension du pollen et la dimension des anthères de caféiers africains et *Mascarocoffea*, les données ont été traitées par le test de corrélation de Pearson. Les paramètres considérés sont la longueur de l'axe polaire P du pollen et la longueur des anthères. La représentation graphique et la valeur du coefficient de corrélation *r* permettent de visualiser les relations entre ces deux variables et d'en déduire l'interdépendance entre elles au sein du groupe de caféiers étudiés.

Le coefficient de corrélation (r) varie entre + 1 et -1 :

- Si r= 0, il n'y a pas de relation entre les variables
- Si r=-1, la relation est négative et parfaite
- Si r=+1, la relation est positive et parfaite

La relation n'est pas significative si la probabilité P est supérieure à 0,05; la relation est significative si P est inférieure 0,05; la relation est hautement significative si P est inférieure 0,001.

II.3.2. Histogramme de fréquence de la dimension des grains de pollens

Les histogrammes de fréquence de la dimension des pollens des espèces en fonction de l'axe polaire $P(\mu)$ ont été établis pour chaque espèce. Cinq (5) classes de la longueur de P ont été choisies: $[15\mu-20\mu]$, $[20\mu-25\mu]$, $[25\mu-30\mu]$, $[30\mu-35\mu]$, $[35\mu-40\mu]$. Ces histogrammes permettent de visualiser la variation de la taille des pollens selon les espèces.

II.3.3. Analyses multivariées

Compte tenu de la multiplicité des variables étudiées et afin de mettre en évidence les regroupements des différentes accessions, diverses méthodes d'analyses multivariées ont été appliquées. Ces méthodes consistent à réduire l'essentiel des informations apportées par un nombre élevé de variables interdépendantes, en un nombre restreint de variables fondamentales indépendantes. Trois méthodes ont été appliquées : l'analyse en composantes principales (ACP), la classification ascendante hiérarchique (CAH), et l'analyse factorielle discriminante (AFD).

a - Analyse en Composantes Principales(ACP)

L'ACP permet de visualiser la variabilité des individus dans un plan formé par des axes synthétiques à maximum d'inertie dérivant des caractères observés. L'ACP recherche les facteurs indépendants les plus importants de l'espace multidimensionnel afin de condenser les informations contenues dans les variables étudiées en un lot réduit de variables synthétiques appelées « composantes principales » (Hottelling, 1933).

Il permet ainsi de détecter les similarités ou les divergences entre groupes d'individus en relation avec les variables étudiées.

b - Classification ascendante hiérarchique (CAH)

L'utilisation de la CAH permet de classer les individus partageant les mêmes caractères en se basant sur leur degré de proximité. Cette classification est illustrée par un dendrogramme obtenue à partir du calcul de degré de similitude des caractéristiques polliniques. De ce fait les pollens d'un même groupe (classe) sont fortement similaires entre eux et fortement dissimilaires avec les pollens des autres classes. La distance euclidienne et le critère d'agrégation selon la méthode de Ward ont été utilisés (Ward, 1963).

c - Analyse factorielle discriminante (AFD)

L'AFD a été utilisée afin de résoudre le problème d'affectation de chaque accession selon leur caractère pollinique. Les groupes à expliquer sont ceux qui sont définis par la CAH. Pour statuer la différence entre les groupes, le test du Lambda de Wilks a été appliqué. Il vérifie l'hypothèse d'égalité des vecteurs moyens des différentes classes. Plus la valeur du Lambda de Wilks est faible, plus les classes sont suffisamment différentes.

II.3.4. Analyse des variances (ANOVA)

Pour étudier la variabilité interspécifique des *Mascarocoffea* en fonction de la dimension pollinique, les données brutes pour chaque variable ont été traitées par l'analyse de variance (ANOVA).

La valeur de la probabilité obtenue permet d'estimer la significativité du test pour chaque facteur :

- P > 0.05 = le test est non significatif;
- 0,01 < P < 0,05 = le test est significatif;
- P < 0,01 = le test est hautement significatif.

L'analyse de variance a été suivie par le test de LSD (Least Significant Difference) de Fisher ou le test de la "différence significative minimale" afin de distinguer les groupements homogènes au seuil de probabilité P < 0,05 (Legendre et Legendre, 1984a, 1984b). Afin d'avoir une vue synthétique de la diversité interspécifique pour l'ensemble des variables, les distributions des moyennes ont été traduites en rang puis rendues normales suivant la transformation logarithmique (D'Hainnaut, 1975 ; Jayaraman, 1999).

Les données transformées ont été par la suite traitées par l'ANOVA.

II.3.5. Courbes de fréquence de CHAUVAT & REAU (1995)

La courbe de fréquence de CHAUVAT & REAU (1995) a été appliquée pour étudier les variations polliniques intraspécifiques et de faire sortir la diversité intraflorale des caféiers étudiés. Le but est de voir l'homogénéité ou l'hétérogénéité des groupes étudiés à partir de la variation de la taille du grain de pollen. Cette variation se traduit par l'allure générale de la courbe de fréquence absolue des pollens en fonction de l'axe polaire P (μ). Une courbe unimodale signifie l'homogénéité des caractères polliniques mesurés, par contre si la courbe est bimodale ou plurimodale, les caractères polliniques à l'intérieur des espèces étudiées sont hétérogènes.

III. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

La description pollinique de la section *Eucoffea* (Caféiers africains) et les *Mascarocoffea* porte principalement sur la symétrie, la forme, les apertures et l'exine des grains de pollen de chaque accession étudiée. Les chiffres mentionnés représentent les valeurs moyennes et les valeurs maximales et minimales obtenues lors des mesures effectuées. Les détails sont donnés en **Annexe VI**.

III.1. Description pollinique des Caféiers africains

Au total, les pollens des espèces de *C. arabica, C. canephora* représentées chacune par quatre (4) accessions et *C. liberica* et *C. eugenioides* ont été décrits. Les caractéristiques polliniques de chaque accession sont données dans les **tableaux 5 et 6**.

Coffea arabica (Pl. I, photos 1 à 20)

<u>Symétrie et forme</u>: pollen isopolaire de taille moyenne $(27,41\mu - 35,25\mu)$, breviaxe à longiaxe, circulaire, triangulaire ou quadrangulaire en vue polaire, circulaire à elliptique en vue équatoriale.

<u>Apertures</u>: pollen tricolporé à tétracolporé, parfois syncolpé

Exine : réticulée à petites mailles avec perforations.

Tableau 5 : Caractéristiques polliniques des accessions de C. arabica

Espèces	Caractéristiques	N° planche photos
C. arabica (B 14)	tricolporé à tétracolporé, syncolpé. Sillon large à étroit.	Pl. I, photos 1 à 6
C. arabica (Et191/157)	Tricolporé (anguloaperturé) à tétracolporé, la majorité des grains sont syncolpés.	Pl. I, photos 7 à 10
C. arabica (B2)	Tricolporé à tétracolporé, rarement spiraperturé	Pl. I, photos 11 à 19
C. arabica (Et2)	Tricolporé à tétracolporé, pore circulaire et elliptique à bord épais.	Pl. I, photo 20

Coffea canephora (Pl. II, photos 1 à 9)

<u>Symétrie et forme</u>: pollen isopolaire, petite à moyenne taille $(22,72\mu - 32,32\mu)$, breviaxe à longiaxe, subtriangulaire à quadrangulaire en vue polaire, circulaire à elliptique en vue équatoriale.

<u>Apertures</u>: 3 à 4 colporus, à sillon long et large, pore circulaire à elliptique.

Exine : réticulée à petites mailles.

Légende de la planche I :

Grains de pollens de Coffea arabica au Mph x 1000

1 à 6 Coffea arabica (B 14)

1, vue polaire, en surface; 2, vue polaire, coupe optique; 3, vue équatoriale en surface ; 4, vue équatoriale, coupe optique ; 5, vue polaire, coupe optique, 6 : vue équatoriale, en surface.

7 à 10 Coffea arabica (Et 191/157)

7, vue polaire, coupe optique ; 8, vue polaire en surface ; 9, vue équatoriale en surface ; 10, vue équatoriale en surface ;

11 à 19 Coffea arabica (B2)

11, vue polaire, coupe optique ; 12, pollen spiraperturé, vue en surface ; 13, vue polaire, coupe optique ; 14, vue polaire en surface ; 15, vue polaire en surface; 16, pollen syncolpé vue polaire en surface ; 17, vue polaire en surface ; 18, vue équatoriale en surface ; 19, vue équatoriale, coupe optique

20, *C. arabica* (Et 2)

20, vue polaire en surface



Espèces	Caractéristiques	N° planche photos
<i>C. canephora (K39, K 48)</i>	tricolporé à tétracolporé	Pl. II, photos 1 à 6
C. canephora (K 77, K26)	tricolporé	Pl. II, photos 7 à 9

Tableau 6 : Caractéristiques polliniques des accessions de C. canephora

Coffea eugenioides (A16) (Pl. III, photos 1 à 4)

<u>Symétrie et forme</u> : pollen isopolaire, moyenne taille, quelque fois petite $(21,43\mu - 28,98\mu)$, équiaxe à longiaxe, subcirculaire en vue polaire, circulaire à elliptique en vue équatoriale, triangle polaire petite.

<u>Apertures</u> : 3- 4 colporus, long et large sillon parfois syncolpé à bord épais, présence d'un sillon proximal pour le pollen tétracolporé, pore circulaire, présence d'un amincissement transversal autour du pore.

Exine : réticulée à petites mailles.

Coffea liberica (Pl. III, photos 5 à 8)

<u>Symétrie et forme</u> : pollen isopolaire, petite à moyenne taille $(18,66\mu - 25,25\mu)$, breviaxe à longiaxe, subtriangulaire en vue polaire, elliptique à subcirculaire en vue équatoriale, triangle polaire assez large.

<u>Apertures</u> : 3 colporus, long et large sillon (quelque fois étroite), avec un épaississement sur le bord, pore circulaire.

Exine : réticulée à petites mailles

III.2. Description pollinique des Mascarocoffea

La description pollinique des *Mascarocoffea* étudiés est donnée par accession selon leur espèce et leur série respective. Les caractéristiques polliniques de chaque accession étudiée pour les cinq (5) séries sont présentées dans le **tableau 7 à 11**.

Complexe Millotii (Pl. III, photos 9 à 24; Pl. IV, photos 1 à 16)

<u>Symétrie et forme</u> : pollen de petite taille, rarement de moyenne taille $(14,14\mu-33,53\mu)$, isopolaire, subtriangulaire à circulaire en vue polaire, elliptique à circulaire en vue équatoriale, petite à large triangle polaire.

<u>Apertures</u> : 3 colporus, quelques fois 2 colporus syncolpé, à long et large sillon, quelquefois étroit à bord épais, pore circulaire à elliptique à bord épais généralement entouré par un amincissement transversal.

Exine : réticulée à petites mailles, quelquefois fovéolée.

Légende de la planche II :

Grains de pollens de Coffea canephora au Mph x 1000

1 à 2 C. canephora (K39)

1 et 2, vue polaire en surface

3 à 6, C. canephora (K48)

3, vue équatoriale en surface ; 4, vue polaire en surface ; 5, vue polaire en surface ; 6, vue polaire, coupe optique

7 à 9 *C. canephora* (K77)

7, vue polaire en surface ; 8, vue équatoriale, coupe optique ; 9, vue polaire, coupe optique



Espèces	Caractéristiques	N° planche photos
C. ambodirianensis (A572)	Pore circulaire à contour épais.	Pl III, photos 9 à 12
C. millotii (A1010)	Exine réticulée à foveolée.	Pl III, photo 13
C. millotii (A903)	pore circulaire avec un amincissement	Pl III, photos 14 à 18
	transversal	
C. sambavensis (A955)	Exine réticulée à fovéolée	Pl III, photos 19 à 20
C. dolichophylla (A206)	Ectoaperture et endoaperture à bord épais.	Pl III, photos 21 à 24
C. dolichophylla (A828)	Pore circulaire et elliptique	
C. sp (A950)	Pore circulaire à elliptique et triangle	Pl IV, photos 1 à 4
	polaire petite à absente	
C. farafanganensis (A208)	Pore circulaire avec un amincissement	Pl IV, photos 5 à 8
	transversal.	
C. richardii (A575)	Exine réticulée à petites mailles et avec des	Pl IV, photos 9 à 11
	perforations	
C. richardii (A817)	Exine réticulée à petites mailles et avec des	Pl IV, photos 12
	perforations	
C. abbayesii (A601)	Pollen tricolporé à dicolporé syncolpé avec	Pl IV, photos 13 à 16
	ectoaperture long et large ou étroite.	

Tableau 7 : Caractéristiques polliniques des accessions de Complexe Millotii

Garcinioides (Pl. IV, photos 17 à 24)

<u>Symétrie et forme</u> : pollen isopolaire, petite à moyenne taille $(20,34\mu - 31,89\mu)$, breviaxe à longiaxe, subtriangulaire à subcirculaire en vue polaire, elliptique à subcirculaire en vue équatoriale, triangle polaire petite.

<u>Apertures</u> : 2 à 3 colporus, long et large sillon, pore circulaire et quelque fois elliptique.

Exine : réticulée à petites mailles.

 Tableau 8: Caractéristiques polliniques des accessions de Garcinioides

Espèces	Caracteristiques	N° planche photos
C. dubardii (A36)	tri à dicolporé syncolpé, Exine réticulée avec des perforations moins denses.	Pl. IV, photos 17 à 20
C. dubardii (A520)	Di à tricolporé	Pl. IV, photo 21
C. dubardii (A807)	Tricolporé	Pl. IV, photos 22 à 24

Multiflorae (Pl. V, photos 1 à 20; Pl. VI, photos 1 à 20; Pl. VII, photos 1 à 8)

<u>Symétrie et forme</u>: pollen isopolaire, petite à moyenne taille $(14,52\mu-31,83\mu)$, breviaxe à longiaxe, subcirculaire, subtriangulaire ou quadrangulaire en vue polaire, elliptique à subcirculaire en vue équatoriale.

<u>Apertures</u> : 2 ou 3 ou 4 colporus, long et large sillon, quelque fois étroit, pore circulaire et elliptique.

Exine : réticulée à petites mailles rarement avec des perforations, quelquefois fovéolée.

Légende de la planche III

Grains de pollens de Coffea eugenioides au Mph x 1000

1 à 4 Coffea eugenioides

1, vue équatoriale en surface ; 2, vue équatoriale en coupe optique ; 3, vue polaire, coupe optique ; 4, vue polaire en surface

Grains de pollens de Coffea liberica au Mph x 1000

5 à 8 Coffea liberica

5, vue polaire, coupe optique ; 6, vue polaire en surface ; 7, vue équatoriale, coupe optique ; 8, vue équatoriale en surface

Grains de pollens de la série Complexe Millotii au Mph x 1000

9 à 12 *Coffea ambodirianensis* (A572)

9, vue polaire, coupe optique ; 10, vue équatoriale, coupe optique ; 11, vue équatoriale en surface ; 12, vue polaire en surface

13 Coffea millotii (A1010)

13, vue polaire en surface

14 à 18 Coffea millotii (A903)

14, vue polaire en surface ; 15 et 16, vue polaire, coupe optique ; 17, vue équatoriale en surface ; 18, vue polaire en surface

19 à 20 Coffea sambavensis (A955)

19, vue équatoriale en surface ; 20, vue polaire en surface

21 à 24 Coffea dolichophylla (A206)

21 et 22, vue polaire en surface ; 23 et 24, vue équatoriale en surface



Légende de la planche IV :

Grains de pollens de Complexe Millotii au Mph x 1000 (suite)

1 à 4 Coffea sp (A950)

1, vue polaire en surface ; 2, pollen syncolpé vue polaire en surface ; 3 et 4, vue équatoriale en surface

5 à 8 Coffea farafanganensis (A208)

5 et 6, vue équatoriale en surface ; 7, vue polaire en surface ; 8, vue polaire, coupe optique

9 à 11 Coffea richardii (A575)

9, vue polaire en surface ; 10, vue polaire en surface ; 11, vue polaire, coupe optique

12 Coffea richardii (A817)

12, vue équatoriale en surface

13 à 16:Coffea abbayesii (A601)

13, vue polaire coupe optique ; 14, vue équatoriale en surface ; 15, vue polaire, coupe optique ; 16, vue polaire en surface

Grains de pollens de la série Garcinioides au Mph x 1000

17 à 20 C. dubardii (A36)

17, vue polaire, coupe optique ; 18, vue polaire en surface ; 19 et 20, vue équatoriale, coupe optique

21 C. dubardii (A807)

21, vue polaire en surface

22 à 24 C. dubardii (A520)

22, vue polaire, coupe optique ; 23, vue équatoriale, coupe optique ; 24, vue équatoriale en surface


Espèces	Caractéristiques	N° planche photos
C. vianneyi (A20, A600)	tricolporé	Pl. V, photo 1
<i>C. vianneyi</i> (A829)	tricolporé, angulo-aperturé	Pl. V, photo 2
C. vianneyi (A946, A1011)	Exine à ornementation fovéolée,	Pl. V, photos 3 à 5
C. ankaranensis (A808)	Di à tricolporé (dicolporé syncolpé)	Pl. V, photos 6 à 7
C. ankaranensis (A525)	tri à tétracolporé, pore circulaire	Pl. V, photos 8 à 11
C. ankaranensis (A529)	tricolporé, tétracolporé syncolpé	Pl. V, photos 12 à 14
	Exine réticulée avec des perforations	
C. tsaratananensis (A730)	tri à tétracolporé, rarement tricolporé	Pl. V, photos 15 à 18
	dont deux sillons soudés au le pôle	
	proximal.	
C. perrieri (A12, A305, A421)	Exine réticulée à petites mailles avec des	Pl. V, photos 19 à 20
	perforations	
C. andrambovatensis (A310)	présence d'un amincissement transversal	Pl. VI, photos 1 à 3
	autour du pore.	
C. andrambovatensis (A227)	tricolporé, rarement dicolporé	Pl. VI, photos 4 à 7
	réticulée à petites mailles avec des	
	perforations	
C. bertrandii (A299, A303)	tricolporé, quelquefois dicolporé	Pl. VI, photos 8 à 11
	syncolpé.	
	Présence d'un amincissement transversal	
	autour du pore.	
	Exine réticulée à petites mailles.	
C. monti à sacris (A321)	di à tricolporus, pore elliptique et grande	Pl. VI, photo 12
	Exine réticulée à petites mailles	
C. mangoroensis (A402)	présence d'un amincissement transversal	Pl. VI, photo 13
	autour du pore.	
C. coursiana (A570)	tri à tétracolporé, pore circulaire à	Pl. VI, photos 14 à 15
	elliptique	
C. resinosa (A/1)	tricolpore, rarement dicolpore syncolpe	Pl. VI, photos 16 a 17
C. resinosa (A735)	tricolpore, pore circulaire épaissi au bord	Pl. VI photos 18 a 19
C. resinosa (A915)	tri a tetracolpore, sillon et pore avec bord	Pl. VI, photo 20
	epaissi.	PI. VII, photos I a 2
C. sanajaryensis (AY/8)	tricolpore, presence d'un épaissisement	Pl. VII, photo 3
<u> </u>	au bord du sillon et autour du pore	
$C. sp (A \delta I \delta)$	tricolpore, sillon avec epaississement au	PI. VII, photos 4 a 5
C. sp (A820)	tricolpore, sillon a bord epaissi.	PI. VII, photos 6 a 8

Tableau 9: Caractéristiques polliniques des accessions de Multiflorae

Légende de la planche V :

Grains de pollens de la série Multiflorae au Mph x 1000

1 Coffea vianneyi (A20, A600)

1, vue polaire en surface

2 Coffea vianneyi (A829)

2, vue polaire en surface

3 à 5 Coffea vianneyi (A946)

3, vue polaire en surface ; 4, vue équatoriale en surface ;

5 Coffea vianneyi (A1011)

5, vue polaire en surface

6 à 7 Coffea ankaranensis (A808)

6, vue équatoriale, coupe optique ; 7, vue polaire, coupe optique

8 à 11 Coffea ankaranensis (A525)

8, vue polaire, coupe optique ; 9, vue polaire en surface

12 à 14 Coffea ankaranensis (A529)

12, vue équatoriale en surface ; 13, vue polaire, coupe optique ; 14, vue polaire, coupe optique

15 à 18 Coffea tsaratananensis (A730)

15, vue polaire en surface ; 16, vue polaire, coupe optique ; 17, vue équatoriale, coupe optique ; 18, vue polaire en surface

19 à 20 Coffea perrieri (A12, A305, A421)

19, vue polaire, coupe optique ; 20, vue polaire en surface



Légende de la planche VI :

Grains de pollens de la série Multiflorae au Mph x 1000 (suite)

1 à 3 Coffea andrambovatensis (A310)

1, vue polaire en surface ; 2, vue équatoriale en surface ; 3, vue équatoriale, coupe optique.

4 à 7 Coffea andrambovatensis (A227)

4, vue polaire en surface ; 6, vue équatoriale, coupe optique ; 7, vue polaire en surface

8 à 11 Coffea bertrandii (A299, A303)

8, vue polaire, coupe optique ; 9 et 10, vue polaire en surface ; vue équatoriale, coupe optique

12 Coffea montis- sacri (A321)

12, vue équatoriale en surface

13 Coffea mangoroensis (A402)

13, vue équatoriale en surface

14 à 15 Coffea coursiana (A570)

14, vue polaire en surface ; 15, vue polaire, coupe optique

16 à 17: Coffea resinosa (A71)

16, vue polaire en surface ; 17, vue polaire en surface

18 à 19: Coffea resinosa (A735)

18, vue polaire en surface ; 19, vue polaire, coupe optique

20 Coffea resinosa (A915)

20, vue polaire, coupe optique



Subterminales (Pl. VII, photos 9 à 24 ; Pl. VIII, photos 1 à 8)

Symétrie et forme : pollen isopolaire, petite à moyenne taille (16, 38µ-31,76µ), breviaxe à

longiaxe, subcirculaire à subtriangulaire en vue polaire, quelque fois quadrangulaire.

<u>Apertures</u> : 3 à 4 colporus, rarement 2 colporus pour certaines espèces, sillon long et large à bord epais, pore circulaire.

Exine : réticulée à petites mailles.

Fenders	Caractoristiques	Nº plancha photos
Lspeces	Caracteristiques	iv planelle photos
C. vatovavyensis (A308)	pore avec un contour épais	Pl. VII, photos 9 à 10
C. vatovavyensis (A830)	Sillon étroit, quelquefois large	Pl. VII, photo 11
<i>C. moratii</i> (A734)	dicolporé rarement tricolporé	Pl. VII, photo 12
	exine réticulée à petites mailles à fovéolée.	
C. bonnieri (A535)	tricolporé et dicolporé	Pl. VII, photos 13 à 14
C. sp (A533)	tricolporé et dicolporé (très rarement	Pl. VII, photos 15 à 16
	tétracolporé)	
<i>C. sp</i> (A954)	Pore circulaire à elliptique	Pl. VII, photo 17
C. augagneuri (A519)	tricolporé, tétracolporé syncolpé	Pl. VII, photos 18 à 21
	large et long sillon avec du bord épais.	
C. boiviniana (A980)	Pore circulaire, rarement de taille petite.	Pl. VII, photos 22 à 24
		Pl. VIII, photo 1
C. pervilleana (A958)	di à tricolporé (rarement tétracolporé)	Pl. VIII, photos 2 à 5
	étroit à long sillon, à bord épais, pore de petite	
	taille.	
<i>C. tsirananae</i> (A513, A515)	Exine réticulée à petites mailles.	Pl. VIII, photos 6 à 8

Tableau 10.	Caractéristiques	nolliniques d	es accessions	de Subte	rminal

Verae (Pl. VIII, photos 9 à 16)

<u>Symétrie et forme</u> : pollen isopolaire, petite à moyenne taille $(15,84\mu-26,84\mu)$, breviaxe à longiaxe. subtriangulaire à subcirculaire et quadrangulaire en vue polaire, elliptique, rarement circulaire en vue équatoriale.

<u>Apertures</u> : 3 à 4 colporus, long et large sillon, pore circulaire.

Exine : réticulée à petites mailles.

Tableau 11: Caractéristiques polliniques des accessions de Verae

Espèces	Caractéristiques	\mathbf{N}° planche photos
C. kianjavatensis (A213)	tri à tétracolporé,	Pl. VIII, photos 9 à 10
	Exine réticulée à petites mailles	
C. kianjavatensis (A602)	tricolporé, angulo-aperturé.	Pl. VIII, photos 11 à 12
C. lancifolia var. auriculatsa	Tricolporé (rarement	Pl. VIII, photo 13
(A405, A320)	tétracolporé, syncolpé)	
C. homollei (A945)	tricolporé, large sillon	Pl. VIII, photos 14 à 16

Légende de la planche VII :

Grains de pollens de la série Multiflorae au Mph x 1000 (suite)

1 à 2 Coffea resinosa (A915),

1, vue polaire en surface ; 2, vue polaire, coupe optique

3 Coffea sahafaryensis (A978)

3, vue équatoriale en surface

4 à 5 Coffea sp (A818)

4, vue polaire, coupe optique ; 5, vue équatoriale en surface

6 à 8 Coffea sp (A820)

6, vue polaire, coupe optique ; 7 et 8, vue polaire en surface

Grains de pollens de Subterminales au Mph x 1000

9 à 10:Coffea vatovavyensis (A308)

9, vue polaire en surface ; 10, vue polaire en surface

11 Coffea vatovavyensis (A830)

11, vue équatoriale en surface

12 Coffea moratii (A734)

12, vue polaire en surface

13 à 14 Coffea bonnieri (A535)

13, vue polaire en surface ; 14, vue polaire en surface

15 à 16 Coffea sp (A533)

15, vue équatoriale en surface ; vue équatoriale, coupe optique

17 Coffea sp (A954)

17, vue polaire en surface

18 à 21 Coffea augagneuri (A519)

18, vue équatoriale en surface ; 19, vue polaire, coupe optique ; 20, vue polaire en surface ; 21, vue polaire en surface

22 à 24 Coffea boiviniana (A980)

22, vue équatoriale en surface ; 23, vue polaire, coupe optique ; 24, vue polaire en surface



Légende de la planche VIII :

Grains de pollens de la série Subterminales au Mph x 1000

1 Coffea boiviniana (A980)

1, vue polaire, coupe optique

2 à 5 Coffea pervilleana (A958)

2, vue équatoriale, coupe optique; 3, vue polaire en surface ; 4, vue polaire en surface ;

5, vue polaire, coupe optique

6 à 8 Coffea tsirananae (A513, A515)

6, vue équatoriale, coupe optique ; 7, vue polaire en surface ; 8, vue polaire, coupe optique

Grains de pollens de la série Verae au Mph x 1000

9 à 10 Coffea kianjavatensis (A213)

9, vue polaire en surface ; 10, vue polaire en surface

11 à 12 Coffea kianjavatensis (A602)

11, vue polaire en surface ; 12, vue polaire, coupe optique

13 Coffea lancifolia var. auriculata (A405, A320)

13, vue équatoriale en surface

14 à 16 Coffea homollei (A945)

14, vue polaire en surface ; 15, vue polaire, coupe optique ; 16, vue équatoriale en surface



III.3. Relation entre la dimension staminale et la dimension pollinique des *Mascarocoffea* et des caféiers africains.

La relation entre la dimension staminale et la dimension pollinique est obtenue lors du test de corrélation de *Pearson* (**Figure 3 a-b-c-d**). Les nuages de points obtenus dans l'ensemble des graphiques montrent qu'il n'existe pas de corrélation entre la longueur de l'anthère (LgA) et la longueur de l'axe polaire (P) des grains de pollen des différents groupes des caféiers étudiés, sauf éventuellement pour la série Verae (**Figure 3d**) pour laquelle le coefficient de corrélation est faible (r=0,47 pour 54 paires d'observations). On peut en conclure qu'il n'existe pas de lien entre la dimension staminale et la dimension pollinique.



Figure 3 a-b-c-d : Représentation graphique de la corrélation de la dimension pollinique (P) et la dimension staminale (LgA) des *Mascarocoffea* et les espèces africaines (**a** : Caféiers africains et *Mascarocoffea*, **b** : Caféiers africains, **c** : *Mascarocoffea*, **d** : série Verae).

III.4. Variation de la taille des grains de pollen

La variabilité de la taille des pollens a été définie pour les cinq (5) classes de fréquences choisies. Les figures représentent les histogrammes correspondants.

III.4.1. Les caféiers africains

La répartition des classes de dimension de pollens chez les caféiers africains effectuée sur quatre espèces (*C. arabica, C. canephora, C. liberica et C. eugenioides*) est représentée par la **figure 4**. La totalité des caféiers africains ont des grains de pollen de taille moyenne comprise entre 25μ à 35μ , sauf pour *C. liberica*, avec des grains de pollens de petite taille à 83,33% (taille comprise entre 20μ à 25μ) [**Figure 4**].

III.4.2. Les Mascarocoffea

La répartition des classes de dimension pollinique chez les *Mascarocoffea* effectuée sur 32 espèces représentatives de 5 séries est représentée sous forme d'histogramme (**Figure 5 à 9**).

- Pour le Complexe Millotii (Figure 5), les grains de pollens sont généralement de taille moyenne comprise entre 25µ et 35µ pour 78,27% des grains.
- Pour la série Subterminales, le pollen est de petite et moyenne taille, sauf pour *C*. sp 5,
 C. moratii et *C. augagneuri* dont plus de 70% sont de petite taille comprise entre 15µ à 20µ (Figure 6).
- Chez les Multiflorae, la majorité des espèces possèdent des grains de pollen de petite taille, sauf, *C. ankaranensis, C. andrambovatensis, C. bertrandii*, dont la proportion petite/moyenne est d'environ 50/50 (**Figure 7**).
- Pour les 3 espèces de la série Verae, les grains de pollens sont tous de petite taille comprise entre 15μ à 25μ (Figure 8).
- La série Garcinioides est représentée par une seule espèce, *C. dubardii* avec les accessions A807, A36 et A520. Plus de 70% des grains ont une taille moyenne allant de 25μ à 30μ. (Figure 9).



Figure 4 : Distribution des dimensions polliniques de caféiers africains suivant l'axe P (Cofafr: Caféiers africains) : Cofara (*C. arabica*), Cofcan (*C. canephora*), Coflib (*C. liberica*), Cofeug (*C. eugenioides*)



Figure 5 : Distribution des dimensions polliniques des espèces du Complexe Millotii (CM) suivant l'axe polaire P : Cofamb (*C. ambodirianensis*), Cofmil (*C. millotii*), Cofdol (*C. dolichophylla*), Cofsp1 (*C. sp*), Coffar (*C. farafanganensis*), Cofric (*C. richardii*), Cofabb (*C. abbayesi*).



Figure 6 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de Subterminales (SBT) suivant l'axe P : Cofvat (*C. vatovavyensis*), Cofsak (*C. sakarae*), Cofbon (*C. bonnieri*), Cofsp4 (*C. sp*), Cofsp5 (*C. sp*), Cofaug (*C. augagneuri*), Cofboi (*C. boiviniana*), Cofper (*C. pervilleana*), Cofmor (*C. moratii*), Coftsi (*C. tsirananae*).



Figure 7 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de Multiflorae (MTF) suivant l'axe P : Cofvia (*C. vianneyi*), Cofank (*C. ankaranenesis*), Coftsa (*C. tsaratananensis*), Cofper (*C. perrieri*), Cofand (*C. andrambatovatensis*), Cofber (*C. bertrandii*), Cofmon (*C. montis- sacri*), Cofcou (*C. coursiana*), Cofres (*C. resinosa*), Cofsp2 (*C. sp*), Cofsp3 (*C. sp*).



Figure 8 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de la série Verae (VER) suivant l'axe P : Cofkia (*C. kianjavatensis*), Coflan.aur (*C. lancifolia* var. auriculata), Cofhom (*C. homolei*).



Figure 9 : Distribution des dimensions polliniques des espèces de Garcinioides suivant l'axe P

III.5. Essai de regroupement des caféiers étudiés

Les outils statistiques multivariés (ACP, CAH, AFD) permettent d'accéder à une vision globale des données d'observation sur l'ensemble des caractéristiques polliniques mesurées. Les variables originelles suivantes ont été prises en compte :

- longueur de l'axe polaire (P);
- longueur de l'ectoaperture (lgE) ;
- diamètre du pore (diP) ;
- épaisseur de l'exine (epe) ;
- distance entre 2 apertures ou l'apocolpium d (d).

Les variables calculées suivantes ont été ajoutées:

- le rapport P/E, laquelle donne une indication sur la forme du grain de pollen ;
- le rapport d/E, donnant une idée sur la dimension du triangle polaire.

Au cours de ces analyses, les caféiers africains (8 parmi les 60 individus observés) ont été considérés comme individus supplémentaires. Les individus présumés hybrides ne sont pas pris en compte lors de cette analyse multivariée.

III.5.1. Analyse en Composantes Principales (ACP)

L'analyse en composantes principales a été faite pour regrouper les différentes accessions des *Mascarocoffea* ayant des caractères polliniques communs. Les accessions des différentes séries de *Mascarocoffea* se répartissent de façon inégale suivant les 3 axes factoriels de l'ACP. Les 3 premiers axes factoriels (F1, F2, F3) ont été choisis lors de cette analyse donnant 81,82% des informations sur le groupement de chaque accession.

Le facteur F1 (42,5% d'inertie expliquée) oppose les individus à gros grains de pollen (longueur de l'axe polaire P et diamètre équatorial E élevés) à ceux des grains de petite taille où ils ont des faibles valeurs pour ces variables. L'axe factoriel F2 (23,8% d'inertie) oppose essentiellement les individus selon la taille de leur triangle polaire (d/E); tandis que l'axe factoriel F3 (15% d'inertie) les distribue en fonction de la forme de leurs grains de pollen (**Figure 10**).

La répartition des individus dans l'espace formée par ces 3 premiers facteurs (81,8% de variance expliquée) est illustrée par la (**Figure 11**). Cette représentation graphique ne permet pas de conclure à une quelconque séparation nette entre les groupes botaniques de caféiers étudiés. Il s'avère même que des accessions de *Mascarocoffea* se rapprochent des caféiers africains et vice-versa.



Figure 10 a et b: Cercle de corrélation des différentes variables polliniques sur le plan factoriel (**a**: F1*F2, **b**: F1*F3)



Figure 11: Représentation graphique des accessions de différentes séries de *Mascarocoffea* après Analyse en Composante Principale dans l'espace [F1, F2, F3] ; rouge : Verae, orange : Subterminales, jaune : Multiflorae, verte : Garcinioides, vert foncé : Caféiers Africains, bleue : Complexe Millotii

III.5.2. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)

L'analyse multivariée utilisant la classification par dendogramme de dissimilarité a été faite pour une étude complémentaire à celle de la précédente. Elle a permis de rassembler les individus de *Mascarocoffea* dans différents groupes suivant leur dégré de dissimilarité. Ainsi, les coordonnées de chaque individu sur les 4 premiers facteurs de l'ACP (90,0 % d'inertie) ont servi pour effectuer la CAH dont la classification est représentée par la **figure 12**. Une première troncature avec un indice de dissimilarité de 100% conduit à deux groupes A1 et A2 (**Tableau 12**).

	Groupes de CAH			
Groupe de caféiers étudiés	A1	A2		
Complexe Millotii	1	8		
Garcinioides	1	2		
Multiflorae	7	16		
Subterminales	9	4		
Verae	2	2		
Caféiers Africains	0	8		
Total	20	40		

Tableau 12 : Répartition des différentes séries de *Mascarocoffea* dans deux groupes de CAH selon le nombre d'accessions

- Le groupe A1 est caractérisé par des grains de pollen de petite taille à l'inverse du groupe
 A2 de grande taille. Ce groupe A1 est composé par 20 accessions de *Mascarocoffea* réparties sur les 5 séries botaniques. Aucun caféier africain n'en fait partie.
- Le groupe A2 est formé par tous les caféiers africains et les autres *Mascarocoffea* à gros grains de pollen.
- Il est à signaler que presque tous les Millotii et la plupart des Multiflorae appartiennent au groupe A2, alors que les espèces de la série Subterminales sont plus représentées dans le groupe A1.

Une deuxième troncature avec un indice de dissimilarité de plus de 95% autorise la séparation du groupe A2 en deux sous-groupes : le sous-groupe A21 caractérisé par de grands triangles polaires et A22 à petits triangles polaires. (Tableau 13)

Les Millotii sont classés essentiellement avec les deux caféiers cultivés africains (*C. canephora* et *C. arabica*) dans le sous-groupe **A21** ; les caféiers sauvages africains (*C. liberica, C. eugenioides*, l'Arabica sauvage éthiopien Et2) sont classés dans le sous-groupe **A22** ; tandis que les autres séries botaniques de *Mascarocoffea* sont reparties équitablement entre les deux sous-groupes.



Figure 12: Classification des différents groupes botaniques de caféiers par CAH (en rouge les caféiers africains et en noir les *Mascarocoffea*)

Tableau 13 :	Répartition	des	différentes	séries	de	Mascarocoffea	dans	deux	sous-
groupes de CAH selon le nombre d'accessions.									

	Sous groupes de CAH			
Groupe de caféiers étudiés	A21	A22		
Complexe Millotii	7	1		
Garcinioides	1	1		
Multiflorae	7	9		
Subterminales	2	2		
Verae	0	2		
Caféiers Africains	4	4		
Total	21	19		

III.5.3. Analyse Factorielle Discriminante (AFD)

Le résultat de l'AFD présenté par la **figure 13** est obtenu par le classement des différentes accessions de *Mascarocoffea* et de caféiers africains. Cette analyse a permis de reclasser les individus groupés par la CAH.

Vu les résultats du test utilisé (test de Lambda de Wilks), l'hypothèse nulle d'absence de groupements avec une probabilité inférieure à 0,0001 a été rejetée. Par ailleurs, l'AFD confirme la distribution en trois classes de la CAH avec un pourcentage total de répartition correcte de 83,3%. La pertinence des groupements obtenus à partir de la CAH est ainsi vérifiée par l'AFD.



Figure 13 : Représentation des individus analysés dans l'espace [F1, F2, F3] de l'AFD (100% d'inertie) ; vert : groupe A1, bleue : groupeA21, rouge : groupe A22.

	Classes de l'AFD				
Groupe de caféiers	Classe A1	Classe A21	Classe A22		
Complexe Millotii	1	7	1		
Garcinioides	2	1	0		
Multiflorae	8	6	10		
Subterminales	6	2	4		
Verae	1	0	3		
Caféiers Africains	0	5	3		
Total	18	21	21		

Le tableau 14 résume la répartition des caféiers de chaque groupe d'après l'AFD.

Tableau 14: Répartition des accessions dans les 3 classes après AFD

Le transfert de certains individus dans d'autres groupes provient surtout de quelques individus difficilement classifiables entre les groupes A1, A21 et A22, c'est-à-dire des individus possédant des caractères intermédiaires particulières de type gros grains à petits sillon ou vice versa.

En guise de conclusion, les variables étudiées (P, epe, lgE, diP, d, d/E, P/E) ne permettent pas de séparer nettement les différents groupes botaniques aussi bien entre caféiers africains et *Mascarocoffea* qu'entre les différentes séries botaniques des *Mascarocoffea*. Par contre, ces diverses analyses montrent qu'il existe une diversification à l'intérieur de chaque groupe. Les

caractères les plus discriminants sont la taille du pollen, la dimension du triangle polaire et la forme du grain de pollen.

III.6. Variation des caractéristiques morpho-métriques des pollens de *Mascarocoffea* et des caféiers africains.

L'analyse de variance a été faite au niveau des caféiers africains et l'ensemble de la série des *Mascarocoffea*. Différentes variables ont été étudiées pour voir la variation de chaque groupe ou chaque série de caféiers étudiés. Ce sont la longueur de l'axe polaire P, l'epaisseur de l'exine (epE), la largeur de l'ectoaperture (lgE), le diamètre du pore (diP) et l'apocolpium d (d). La variation de chaque série lors de l'analyse de variance est exprimée à l'aide de lettres différentes c'est à dire la différence entre les groupes de caféiers est significative si les lettres ne sont pas les mêmes.

III.6.1. Comparaison entre Mascarocoffea et les caféiers africains

Les analyses de variance à un seul critère effectuées ont été faites pour voir si les deux groupes de caféiers (*Mascarocoffea* et caféiers africains) sont différents l'un de l'autre. Ainsi, les résultats de ces analyses montrent que les *Mascarocoffea* diffèrent significativement des caféiers africains pour toutes les variables étudiées la longueur de l'axe polaire (P), épaisseur de l'exine (epe), largeur de l'ectoaperture (lgE), diamètre du pore (diP), excepté pour la variable apocolpium d (d) [**Tableau 15**].

	Variables					
Groupe de caféiers	Р	epe	lgE	diP	d	
Caféiers africains	А	А	А	А	А	
Mascarocoffea	В	В	В	В	А	

Tableau 15 : Classification des Mascarocoffea et des caféiers africains après ANOVA

III.6.2. Comparaison entre les différentes séries de Mascarocoffea

L'analyse de variance faite au niveau des différentes séries de *Mascarocoffea* a montré que les variables apocolpium d, longueur de l'ectoaperture (lgE), le diamètre du pore (diP) et l'épaisseur de l'exine (epE) n'ont pas permis à la distinction des séries entre elles, exceptée la longueur de l'axe polaire P (**Tableau 16**).

Le classement des différentes séries de Mascarocoffea étudiées varie selon les variables :

- Par rapport à la variable P (longueur de l'axe polaire), les 5 séries (Subterminales, Multiflorae, Verae, Complexe Millotii et la série Garcinioides) sont significativement différentes.
- La variation de la largeur de l'ectoaperture au sein des cinq (5) séries a pu montrer que cette variable fait apparaître des différences significatives entre le Complexe Millotii,

les Multiflorae et les Subterminales. Pourtant, la différence n'est pas significative entre Garcinioides et Verae pour la variable largeur de l'ectoaperture.

- En outre, le diamètre du pore n'explique pas une nette variation au sein des cinq séries de *Mascarocoffea*. Les mesures effectuées au niveau du diamètre du pore ne sont pas significativement différentes entre les 4 séries étudiées (Complexe Millotii, Multiflorae, Subterminales et Verae). Quant à la série Garcinioides, elle a une valeur élevée pour cette variable, avec une différence significative par rapport aux autres séries.
- Par ailleurs, le tableau 16 montre que la série Multiflorae est différente des autres séries par sa faible valeur d'épaisseur de l'exine (Epe =1,49µ). La différence est significative par rapport aux autres séries.
- Pour le Complexe Millotii et la série Verae, elles ont des valeurs extrêmes pour l'apocolpium d et sont significativement différentes par rapport à celle des autres séries.

Par conséquent, les deux séries (Garcinioides et Multiflorae) diffèrent significativement entre elles par deux (2) variables qui sont respectivement le diamètre du pore et l'épaisseur de l'exine. Pour les trois (3) autres séries, Verae, Subterminales et Complexe Millotii, elles sont reconnues par les valeurs de la longueur de l'axe polaire P qui sont respectivement $21,42\mu$, $24,41\mu$ et $26,45\mu$.

	Variables						
Series de Mascarocoffea	Р	d	lgE	diP	epE		
Complexe Millotii	В	А	А	В	А		
Garcinioides	А	В	BC	А	AB		
Multiflorae	D	В	В	В	С		
Subterminales	С	В	С	В	В		
Verae	Е	С	BC	В	В		

Tableau 16 : Classification des différentes series de Mascarocoffea après ANOVA

Les résultats synthétisés à partir de l'analyse de variance sur les rangs ne présentent pas de différence significative entre les séries pour l'ensemble des caractères polliniques (p=. 0,0975)

III.6.3. Comparaison entre les différentes espèces de caféiers africains

La variation de la dimension polliniique (axe polaire P) au sein des 4 espèces des caféiers africains a pu montrer que cette variable fait apparaître des différences significatives entre elles (**Tableau 17**). Pour la variable épaisseur de l'exine (epE), les 3 espèces (*C. arabica, C. canephora, C. liberica*) sont différentes entre elles, sauf pour *C. eugenioides*. En plus, la largeur de l'ectoaperture n'explique pas la variation entre ces 4 espèces. Enfin, pour les deux

variables diamètre du pore (diP) et l'apocolpium d (d), ce sont *C. canephora* et *C. arabica* font apparaître une différence significative.

	Variables					
Caféiers africains	Р	epe	lgE	diP	apd	
C. arabica	А	А	А	В	В	
C. canephora	В	С	А	А	А	
C. eugenioides	С	BC	В	С	AB	
C. liberica	D	В	В	С	AB	

Tableau	17:	: Classification	des <i>diffé</i> rentes	espèces d	de caféiers	africains a	près A	NOVA

Les résultats sur la synthèse des classements post-anova sur les rangs montre que sur l'ensemble des caractères polliniques, les caféiers cultivés (C. *arabica* et C. *canephora*) ne différent pas des deux autres caféiers africains C. *liberica* et C. *eugenioides* (p=0,1038).

III.6.4. Synthèse des résultats pour l'ensemble des caféiers étudiés

Le classement post-anova sur les rangs (**Tableau 18**) de l'ensemble des caféiers étudiés (*Mascarocoffea* et caféiers africains) montre que les deux caféiers cultivés diffèrent clairement des séries Subterminales, Multiflorae et Verae. Par contre, malgré la diversité existante, on ne peut pas séparer nettement les autres groupes en position intermédiaire.

 Tableau 18 : Classement de différents groupes des caféiers après synthèse sur les Rangs

Caféiers étudiés	Groupes
C. arabica	А
C. canephora	AB
C. eugenioides	ABC
C. liberica	ABC
Complexe Millotii	ABC
Garcinioides	BCD
Subterminales	CD
Multiflorae	CD
Verae	D

III.7. Diversité intraflorale de la taille du pollen des caféiers étudiés

La variation pollinique intraflorale au niveau des deux (2) groupes de caféiers étudiés (caféiers africains et *Mascarocoffea*) est présentée sous forme de courbe de fréquence. Les courbes peuvent être unimodales ou bimodales ou trimodales suivant les accessions étudiées.

III.7.1. Cas de l'ensemble des caféiers africains et malgaches

Les courbes de fréquences de P sont unimodales pour la plupart des caféiers africains étudiés (cf. annexe VII). Seul *C. arabica* B2 présente une courbe bimodale (Figure 14).



Figure 14 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de C. arabica (B2)

Pour les *Mascarocoffea*, 52 accessions réparties dans 32 espèces sont des pieds originaux, provenant de leurs aires d'origine. Les graphes en **Annexe VIII** montrent la variabilité de la dimension des grains de pollen pour chaque espèce. Les courbes obtenues sont unimodales (65,4%) ou bimodales selon les accessions.

III.7.2. Cas d'une espèce hybride *C. congensis* X *C. canephora* (Congusta) Cette espèce hybride est utilisée comme référence lors de cette étude. La courbe de fréquence bimodale signifie un dimorphisme pollinique intrafloral de la dimension des grains de pollen (Figure 15).



Figure 15 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de l'espèce hybride (*C. congensis X C. canephora*)

III.7.3. Cas des espèces de Mascarocoffea soupconnées hybrides

Quatres espèces collectées dans la collection de Kianjavato sont soupconnées hybrides. C'est le cas par exemple de *C. dolichophylla* (A206) appartenant au Complexe Millotii,



Figure 16 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de l'espèce résumée hybride (*C. dolichophylla*, A206) et non hybride (*C. dolichophylla*, A828)

L'analyse graphique (**Figure 16**) des deux (2) accessions de *C. dolichophylla* A206 (pied issu de remplacement) et A828 (pied original pris comme réference) montre que pour A206 la courbe de fréquence de P est bimodale tandis que chez A828 elle est unimodale. Cela signifie queA206 est probablement un hybride naturel. Il en est de même pour *C. sambavensis* (A955) [**Figure 17**].





Dans la série Multiflorae, les échantillons *C. sahafaryensis* (A978) et *C. mangoroensis* (A402), tous deux issus de remplacement présentent respectivement une courbe bimodale et une unimodale (**Figure 18**). Ces faits suggèrent que les remplacements issus de graines ne sont pas forcément source d'hybrides.



Figure 18 : Courbe de fréquence montrant la variation pollinique intraflorale de deux espèces des Mascarocoffea présumées hybrides (C. mangoroensis, A402 ; C. sahafaryensis, A978)

IV. DISCUSSIONS

L'objectif général de cette étude était de connaître la diversité des *Mascarocoffea* par le biais de la morphologie des grains de pollens. L'étude de ce caractère a permis de donner une réponse aux objectifs spécifiques de ce mémoire avec les significations taxonomiques des caractères polliniques étudiés. Les résultats obtenus ont permis de faire ressortir quelques points de discussions.

Les particularités morphologiques des pollens de Mascarocoffea.

Comme chez tous les caféiers, les caractères polliniques de *Mascarocoffea* observés dans ce travail ont montré des pollens en monade, isopolaire, breviaxe à longiaxe, di à tetracolporés. Les particularités de pollens de *Mascarocoffea* identifiées dans le présent travail resident sur :

L'ornéméntation de l'exine qui est finement réticulée à fovéolée.

Les différentes séries se distinguent entre elles par certains caractères, en premier lieu, par la taille des grains de pollens qui est petite $(15\mu à 24\mu)$ pour les Multiflorae et les Verae, moyenne pour le Complexe Millotii et les Garcinioides et petite à moyenne pour les Subterminales, En second lieu, les caractères tels que la longueur de l'axe polaire P, le diamètre du pore, l'épaisseur de l'exine et la base du triangle polaire (apocolpium d) ont des valeurs significatives différents d'une série à l'autre par l'analyse des variances (ANOVA) à savoir : le diamètre du pore est élevé pour le Complexe Millotii, les Multiflorae et les Subterminales ; l'apocolpium d est élevé pour le Complexe Millotii et faible pour les Verae ; l'axe polaire P varie dans l'ordre décroissant dans les séries dans l'ordre ci-après :

Garcinioides > Complexe Millotii> Subterminales> Multiflorae> Verae

Notons que les analyses multivariées n'ont pas permis de séparer les différentes séries de façon évidente.

Par rapport aux caractères polliniques des caféiers africains étudiés dans ce travail, seuls les *Mascarocoffea* ont de pollens dicolporés. Par ailleurs, les valeurs de l'axe polaire P, l'épaisseur de l'exine, la largeur de l'ectoaperture et le diamètre du pore sont significativement faibles pour les *Mascarocoffea* par l'analyse de variance (ANOVA). Ce résultats rejoignent ceux observés par Moens, (1962), Chinnapa et Adams (1974), Chinnappa et Warner, (1981, 1982), Stoffelen et *al.*, (1997).

Par rapport aux Rubiaceae, les *Mascarocoffea* diffèrent par l'ornémentation réticulée à petites mailles à fovéolée. (Bonnefille et Riollet, 1980, Malplanche, 1971, Van Campo, et *al.*, 1976).

Variation pollinique intraflorale des caféiers étudiés

Parmi les 56 accessions étudiées, 19 accessions dont 3 accessions présumées hybrides dont les courbes de fréquence des dimensions polliniques ont été bimodales correspondant à des grains de pollen hétérogènes. Il en est de même pour une accession d'Arabicas B₂ et d'une accession africaine hybride (Congusta).

L'hétérogénéité des grains de pollens de ces différents accessions pourraient être due à plusieurs facteurs tels que l'hybridation interspécifique, la polyploïdie, le polymorphisme staminal (Wodehouse, 1935, Van Campo, 1966, Layka, 1975, Kuprianova 1969; Kubitzki 1970, Vuilleumier, 1965, Baker, 1953) chez les différents taxons des plantes.

Les 37 accessions restantes ont des grains de pollens homogènes. Elles pourraient être considérées n'ayant pas subi des variations génétiques importantes.

Implication des études palynologiques dans la gestion des collections

Les accessions de *Mascarocoffea* étudiées dans le présent travail ont été récoltées dans la collection ex-situ de Kianjavato. Leur répartition dans l'espace est restreinte. Il est donc possible qu'il y ait eu hybridation entre les accessions au sein de la collection. L'utilisation des grains issus des pieds poussant dans la collection pour remplacer certains individus va modifier les caractères génétiques de l'accession ou de la population. De tels croisements pourraient améliorer les ressources phytogénétiques.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette recherche a été entreprise dans le but de connaître les particularités palynologiques des caféiers sauvages endémiques de Madagascar. Le présent travail travail, focalisé sur l'étude palynologique de 35 espèces de *Mascarocoffea*, a montré la diversité des caractères polliniques des *Mascarocoffea* avec une grande variabilité des caractères observés Elle a permis de compléter les données palynologiques des 4 espèces de *Mascarocoffea* antérieurement décrites Les *Mascarocoffea*, se distinguent des autres sections botaniques de Caféiers par la présence de pollens dicolporés dans différentes séries, d'une part et par l' ornementation de l'exine variant de finement réticulée à fovéolée, d'autre part. Chaque particularité au niveau inter-série ou intra-série ont une valeur taxonomique.

La taille des pollens est variable selon les différentes séries. Elle est moyenne chez les Complexe Millotii et les Garcinioides, petite pour les Multiflorae et petite à moyenne chez les Verae. En outre, la variabilité observée à travers les différentes séries s'exprime par la variabilité des caractères tels que la longueur de l'axe polaire P, l'épaisseur de l'exine, le diamètre du pore, la largeur de l'ectoaperture et la longueur de l'apocolpium d.

Les caractères polliniques rencontrés chez les *Mascarocoffea* sont différents de ceux des caféiers africains. La taille des grains est moyenne pour les caféiers africains. Les autres caractères polliniques (longueur de l'axe polaire P, l'épaisseur de l'exine, le diamètre du pore, la largeur de l'ectoaperture) sont également de faible valeur par rapport à ceux des pollens des caféiers africains.

La variation de la dimension pollinique a été identifiée chez certaines espèces des *Mascarocoffea* et les caféiers africains. Cette variation apparait comme une hétérogénéité des grains de pollens.

Les données palynologiques obtenues dans la présente recherche n'ont pas abouti à une quelconque correspondance avec la classification établie par Chevalier.

Vus les résultats obtenus, de nombreuses études palynologiques restent encore à faire sur les *Mascarocoffea* et aussi sur l'ensemble du genre *Coffea*. Des études complémentaires sur des espèces de *Mascarocoffea in-situ* sont également nécessaires. L'étude de la morphologie pollinique des *Mascarocoffea* devrait être approfondie par des observations au microscope électronique à balayage notamment pour les ornementations et la structure de la couche infratectale de l'exine, cette dernière n'a pas pu être étudiée dans ce travail.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Baker, H. G. 1953. Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae.11. Pollen and stigmata in the genus Limonium. *Ann. Bot.* (London), 17: 433 – 445.

Bonnefille, R. & Riollet, G. 1980. Pollens des savanes d'Afrique orientale. CNRS, Paris, 253p.

- Bridson, D. 1982. Studies in *Coffea* and *Psilanthus* (Rubiaceae sub fam. Cinchonoideae\ for part 2 of the Flora of Tropika1 East Africa: Rubiaceae, *Kew Bulletin*. 36: 817–860.
- Brown, A. H. D. 1989. Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome* 31:818–824
- **Charrier, A.** 1978. La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (Mascarocoffea) et leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (Eucoffea). Thèse Doct. Sciences Naturelles. Univ. Paris Sud. Centre Sud. 289 p.
- Chauvat, G. & Reau, J. 1995. *Statistiques descriptives- exercices et corrigés*. Masson & Armand Colin. Paris. 204p
- Chevalier, A. 1938. Essai d'un groupement systématique des caféiers sauvages de Madagascar et des Iles Mascareignes. *Rev. Bot. Appl. et Agr. Trop.*, 11: 825-843
- Chevalier, A. 1947. *Les caféiers du globe* III: Systématique des caféiers et faux caféiers. Maladies et insectes nuisibles. Encycl. Biol., P. Le chevalier, Paris. 356p
- Chevalier, A. 1942. Les caféiers du globe II: Iconograhie des caféiers sauvages et cultivés. Encycl. Biol.158p.
- Chinappa, C. et Warner, G. 1982. Pollen morphology in the genus *Coffea* (rubiaceae): ii. pollen polymorphism . *Grana*. 21:1. pp 29-37.
- **Chinnappa, C. et Warner, G.** 1981. Pollen morphology in the genus *Coffea* (Rubiaceae) and its taxonomic significance. *Botanical Journal of the linnean Society* (1981). 83: 221 236.
- Chinnappa, C. C. & Adams, R. J. 1974. Pollen morphology in the genus *Coffea*. I. Scanning electron microscopy. *Journal of Coffee Research*. 4: 24-39.
- Coste, R. 1968. Le Caféier, G.P. Maisonneuve & Larose, Paris. 310p.
- **Couturon, E.** 2016. *Caféiers sauvages. Un trésor en peril au coeur des forêts tropicales. Wild Coffee-trees. A threatened treasure in the heart of tropical forests!* 118p.
- Davis, A.P., Govaerts R, Bridson, D.M., Stoffelen, P. 2006. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 142: 465–512.

- Davis, A. P., Tosh, J., Ruch, N., Fay, M. 2011. Growing *Coffee: Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea. Botanical Journal of the Linnean Society*. 167: 357–377.
- Dessein, S., Ochoterena, H., De Block, P., Lens, F., Robbrecht, E., Schols, P., Smets, E., Vinckier, S., Huysmans, S. 2005a. Palynological characters and their phylogenetic signal in Rubiaceae. *The Botanical Review*. 71: 354–414.
- **Dessein, S., Harwood, R., Robbrecht, E., Smets, E**. 2005b. Pollen of the Spermacoce (Rubiaceae) species from the Northern Territory of Australia: morphology and taxonomic significance. *Australian Systematic Botany*. 18: 367–382
- D'Hainaut, L. 1975. Concepts et méthodes de la statistique, Tome 1. Nathan. Paris. 368p.
- Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms, Almqvist et Wicksell, Stockholm. 539p.
- Jayaraman, K. 1999. Manuel statistique pour la recherche forestière. FAO. 239p.
- Kremp, G.O.W. 1965. Morphology encyclopedia of palynology, Press. Tucson. Univ. Of Arizona. p. 262 – 263
- Kubitzki. 1970. Die Gattung Tetracera (Dilleniaceae). Mitt. Bot. Staatssamml. Muench. 8:1-98
- **Kuprianova, A. A**. 1969. On the evolutionary levels in the morphology of pollen grains and spores. *Pollen Spores*. 11 : 333-351
- Layka, S. 1975. *Polymorphisme dans le genre Glaucium (Papaveraceae)*. Dans La flore du bassin méditerranéen : essai de systématique synthétique. Colloq. Int. CNRS no 235. pp.289-301
- Legendre, P. et Legendre, L. 2006. Numerical ecology. Elsevier, Amsterdam, 380 p.
- **Leroy J-F.** 1967. Diagnose différentielle du genre *Paracoffea* Leroy. *Journal d'Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée*. 14: 276.
- Leroy, J-F. 1980. Les grandes lignées de Caféiers. Association Séances de l'Académie des Sciences Série D, Sciences Naturelles 29: 593–596
- Leroy, J-F. 1981. Les caféiers du genre *Psilanthus* (Rubiacées) en Afrique orientale et en Asie et îles du Pacifique. Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle. 4e Serie Section B. *Adansonia Botanique Phytochimie.* 3: 251–258.
- Leroy, J.F. 1961. Coffea novae madagascariensis. Journal d'Agriculture Tropicale et de Botanique Appliquée. 18, (1, 2, 3), 1-20
- Linnaeus, C. 1737. Hortus Cliffortianus plantas exhibens quas In hortis tam vivis quam siccis, Hartecampi in Hollandia, coluit vir nobilissimus & generosissimus Georgius Clifford . . .

reductis varietatibus ad species, speciebus ad genera, generibus ad classes, adjectis locis plantarum natalibus differentiisque specierum. Amsterdam: [s. n.].

- Lobreau-Callen, D. and Leroy, J.F. 1980. Quelques données palynologiques sur le genre Coffea et autres genres du cercle des caféiers, in 9th International Colloqium on the chemistry of Coffee, ASIC, Paris, pp. 479-506
- Malplanche, M., 1971. Etude palynologique de trois genres de Rubiacées Gardéniées d'Afrique. *Adansonia* 2 (11), 343–355.
- Moens, P. 1962. Observations sur le pollen de quelques espèces du genre *Coffea* et de certains genres voisins (Rubiaceae). *Pollen el Spores*. 4: 47 64
- Payne, W. W. 1972. Observations of harmomegathy in pollen of Anthophyta. Grana. 12: 93-98.
- Puff, C. 1986. A survey of the Gardenieae and related tribes (Rubiaceae). *Bot. Jahrb. Syst.* 108(1): 63–137.
- Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S., Le Thomas, A. 1994. Glossary of pollen and spore terminology. Utrecht: LPP Foundation. 69p.
- Punt, W., Hoen P.P., Blackmore, S., Nilsson, S. & Le Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*. 143:1-81.
- **Rakotomalala, J. J.** 1992. Diversité biochimique des caféiers: *Analyse des acides hydroxycinnamiques, bases puriques et diterpènes glycosides. Particularités des caféiers sauvages de la région malgache (Mascarocoffea* Chev.). Thèse, Collection TDM, ORSTOM, Paris. 216p.
- Robbrecht, E. 1988a. Tropical woody Rubiaceae. Opera Botanica Belgica 1: 1–271.
- **Robbrecht, E. 1994.** Supplement to the 1988 outline of the classification of the Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica.* 6:173–196.
- Schatz, G. E., 2001. *Flore générique des arbres de Madagascar*. Royal botanical Garden & Missouri Botanical Garden. 503p.
- Stoffelen, P., Robbrecht, E. & Smets, E. 1997. Pollen morphology of *Coffea* and *Psilanthus*. *Grana* 36:6. pp. 313-327.
- Straka, H. & Simon, A. 1969. Palynologia Madagassica et Mascarenica. Fam 184. Pollen et Spores. Vol, XI (2): 300-310.
- Struwe, L., 2002. Gentianales (*Coffees, Dogbanes, Gentians and Milkweeds*). In: Macmillan Publishers Ltd, Nature Plubishing Group/ www.els.net Encyclopedia of life.
- Till, I., Valdeyron, G., et Gouyon, P. H. 1989. Polymorphisme pollinique et polymorphisme génétique. *Can. J. Bot.* 67: 538-543.
- Van Campo, M. 1966. Variations polliniques intraflorales. Adansonia. 6:55-65.

- Van Campo, M.1976. The evolutionnary significance of the exine. *In*: Fergusson, I. K. et Muller, J. (Eds).. Patterns of pollen morphological variation within taxa.. *Academic Press*, Inc., New York. pp. 163-183.
- Vuilleumier, R. S. 1965. The origin and evolutionnary development of heterostyly in the Angiosperms. *Evolution* (Lawrence, Kans.). 21: 210-266.
- Ward, J. H., 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. J. Am. Stat. Assoc. 58: 236-244.
- Wellman, F. L. 1961. *Coffee*: Botany, Cultivation and Utilization. *Leonard Hill Books*. pp. 297-301.
- Wodehouse, R. P. 1935. Pollen Grains their structure, identification and significance in Science and Medecine. Hafner Publishing Co., New York, 574p.

Annexe I : PLANCHES PHOTOGRAPHIQUES



<u>Planche IX</u> : Caractères de quelques espèces du genre *Coffea*.

<u>Légende</u> : A et B : fleur de *C. ratsimamangae*; C : rameaux florifères de *C. minutiflora*, D: infrutescences de *C. homolleii* ; dessiné par: L. T. Smith. *Echelle* : A: 2mm; B et D: 5mm ; C : 2cm

<u>Planche X</u> : Port et variation du nombre de pétale chez quelques espèces de

Mascarocoffea



Légende : 1 à 4 : Port de quelques espèces de *Mascarocoffea*. 1: Port en fuseau (*C. vianneyi*), 2 : port pyramidal (*C. vatovavyensis*), port buissonant (3 :*C. dubardii*, 4: *C. farafanganensis*). 5 à 13 : Variation du nombre de pétale de quelques espèces des *Mascarocoffea*. 4: C. farafanganensis 5: *C. ankaranensis*, 6: *C. pervilleana*, 7: *C.* sp., 8: *C. arenesiana*, 8: *C. vatovavyensis*, 10: *C. heimii*, 11: *C. ratsimamangae*, 12: *C. moratii*, 13: *C. kianjavatensis* (Cliché Couturon et *al*)



Planche XI : Variation de la couleur, la forme et la taille des fruits de Mascarocoffea

Légende : 1: *C. perrieri*, 2 : *C. ankaranensis*, 3 : *C. richardii*, 4 : *C. dolichophylla*, 5 : *C. kianjavatoensis*, 6 : *C. coursiana*, 7 : *C. montis-sacri*, 8 : *C. resinosa*, 9 : *C. vatovavyensis*, 10 : *C. vianneyi*, 11 : *C. bertrandii*, 12 : *C. homollei*, 13 : *C. bonnieri*, 14 : *C. abbayesi*, 15 : *C. ankaranensis*, 16 : *C. sakarahae*) (Cliché Couturon et *al*)
Planche XII: Différents caractères polliniques mesurés









Planche XIV: Les apertures simples et composés des grains de pollens

<u>Légende</u> : Apertures simples (1 à 4), Apertures composés (5 à 6)



Planche XV : Les différents types aperturaux d'après Tschudy et Scott, 1969

Légende : Monade vue polaire (1-20); Monade vue équatoriale (21-25); Pollens groupés (26-28)





Légende : 1(a,b). Exine lisse de *Hippocrepis emerus* (Fabaceae, Fagales) ; 2(a,b).Exine clavee de *Geranium phaeum* (Geraniaceae, Geraniales) ; 3(a,b). Exine reticulée de *Coryolopsis glabresceris* (Hamamelidaceae, Saxifragales) ; 4(a,b). Exine scabre de *Symphytum orientale* (Boraginaceae) ; 5(a,b). Exine échinulée de *Zomicarpa riedeliana* (Araceae, Alismatales) ; 6(a,b). Exine baculée de *Viscum laxum* (Loranthaceae, Santalales) ; 7(a,b). Exine verruqueuse de *Plantago major* (Plantaginaceae, Lamiales) ; 8(a,b). Exine rugulée de *Nymphoides peltata* (Menyanthaceae, Asterales) ; 9(a,b). Exine foveolée de *Lavandula angustifolia* (Lamiaceae, Lamiales) ; 10(a,b). Exine gemmulée *d'Asarum europaeum* (Aristolochiaceae, Piperales) ; 11(a,b). Exine striée de *Potentilla inclinata* (Rosaceae, Rosales) ; 12(a,b). Exine fossulée *d'Erica herbacea* (Ericaceae, Ericales)

SERIE	ESPECES	ABREVIATIONS	ACCESSIONS
Complexe Millotii	Coffea ambodirianensis	Cofamb	A572
Complexe Millotii	Coffea millotii	Cofmil1	A1010
Complexe Millotii	Coffea millotii	Cofmil2	A903
Complexe Millotii	Coffea sambavensis	Cofsam	A955
Complexe Millotii	Coffea dolichophylla	Cofdol1	A206
Complexe Millotii	Coffea dolichophylla	Cofdol2	A828
Complexe Millotii	<i>Coffea</i> sp.1	Cofsp1	A950
Complexe Millotii	Coffea farafanganensis	Coffar	A208
Complexe Millotii	Coffea richardii	Cofric1	A575
Complexe Millotii	Coffea richardii	Cofric2	A817
Complexe Millotii	Coffea abbayesii	Cofabb	A601
Garcinioides	Coffea dubardii	Cofdub1	A807
Garcinioides	Coffea dubardii	Cofdub2	A36
Garcinioides	Coffea dubardii	Cofdub3	A520
Multiflorae	Coffea vianneyi	Cofvia1	A20
Multiflorae	Coffea vianneyi	Cofvia2	A600
Multiflorae	Coffea vianneyi	Cofvia3	A829
Multiflorae	Coffea vianneyi	Cofvia4	A946
Multiflorae	Coffea vianneyi	Cofvia5	A1011
Multiflorae	Coffea ankaranensis	Cofank1	A808
Multiflorae	Coffea ankaranensis	Cofank2	A525
Multiflorae	Coffea ankaranensis	Cofank3	A529
Multiflorae	Coffea tsaratananensis	Coftsa	A730
Multiflorae	Coffea perrieri	Cofper1	A12
Multiflorae	Coffea perrieri	Cofper2	A305
Multiflorae	Coffea perrieri	Cofper3	A421
Multiflorae	Coffea andrambovatensis	Cofand1	A310
Multiflorae	Coffea andrambovatensis	Cofand2	A227
Multiflorae	Coffea bertrandii	Cofber1	A299
Multiflorae	Coffea bertrandii	Cofber2	A303
Multiflorae	Coffea montis-sacri	Cofmon	A321
Multiflorae	Coffea mangoroensis	Cofman	A402
Multiflorae	Coffea coursiana	Cofcou	A570
Multiflorae	Coffea resinosa	Cofres1	A71
Multiflorae	Coffea resinosa	Cofres2	A734
Multiflorae	Coffea resinosa	Cofres3	A915
Multiflorae	Coffea sahafaryensis	Cofsaf	A978
Multiflorae	<i>Coffea</i> sp.2	Cofsp2	A818
Multiflorae	<i>Coffea</i> sp.3	Cofsp3	A820
Subterminales	Coffea moratii	Cofmor	A734
Subterminales	Coffea vatovavyensis	Cofvat1	A308

Annexe II : Liste et codage des espèces de Mascarocoffea selon leur série.

SERIE	ESPECES	ABREVIATIONS	ACCESSIONS
Subterminales	Coffea vatovavyensis	Cofvat2	A830
Subterminales	Coffea sakarahae	Cofsak	A311
Subterminales	Coffea bonnieri	Cofbon	A535
Subterminales	<i>Coffea</i> sp.4	Cofsp4	A533
Subterminales	<i>Coffea</i> sp.5	Cofsp5	A954
Subterminales	Coffea augagneurii	Cofaug	A519
Subterminales	Coffea boiviniana	Cofboi	A980
Subterminales	Coffea pervilleana	Cofperv	A958
Subterminales	Coffea tsirananae	Coftsi1	A513
Subterminales	Coffea tsirananae	Coftsi2	A515
Verae	Coffea kianjavatensis	Cofkia1	A213
Verae	Coffea kianjavatensis	Cofkia2	A602
Verae	Coffea lancifolia auriculata	Coflan.aur1	A320
Verae	Coffea lancifolia auriculata	Coflan.aur2	A405
Verae	Coffea homollei	Cofhom	A945

Annexe II: Liste et codage des espèces de Mascarocoffea selon leur série (suite)

SERIE	ESPECES	ACCESSIONS
COMPLEXE	Coffea ambodirianensis	A572
MILLOTII	Coffea millotii JF.Leroy	A1010, A903
	Coffea sambavensis JF.Leroy ex A.P.Davis &	A955
	Rakotonas.	
	Coffea dolichophylla	A206, A828
	<i>Coffea</i> sp.	A950
	Coffea farafanganensis JF.Leroy	A208
	Coffea richardii JF.Leroy	A575, A817
	Coffea abbayesii JF.Leroy	A601
GARCINOIDES	Coffea dubardii Jum.	A807, A36, A520
MULTILFORAE	Coffea vianneyi JF.Leroy	A20, A600, A829,
		A946, A1011
	Coffea ankaranensis JF.Leroy ex A.P.Davis &	A808, A525, A529
	Rakotonas.	
	Coffea tsaratananensis	A730
	<i>Coffea perrieri</i> Drake ex Jum. & H.Perrier	A12, A305, A421
	Coffea andrambovatensis JF.Leroy	A310, A227
	Coffea bertrandii A.Chev.	A299, A303
	Coffea montis-sacri A.P.Davis	A321
	Coffea mangoroensis Portères	A402
	Coffea coursiana JF.Leroy	A570
	Coffea resinosa (Hook.f.) Radlk.	A71, A735, A915
	Coffea sahafaryensis JF.Leroy	A978
	<i>Coffea</i> sp.	A818
	<i>Coffea</i> sp.	A820
SUBTERMINALES	Coffea moratii JF.Leroy ex A.P.Davis & Rakot	A734
	Coffea vatovavvensis I -F Lerov	A308, A830
	Coffea sakarahae J - F Lerov	A311
	Coffea bonnieri Dubard	A535
	Coffea sp.	A533
	Coffea sp	A954
	Coffea augagneurii Dubard	A519
	Coffea boiviniana (Baill) Drake	A980
	Coffea pervilleana (Baill.) Drake	A958
	Coffea tsirananae JF.Lerov	A513, A515
VERAE	Coffea kianiavatensis JF Lerov	A213, A602
	Coffea lancifolia auriculata	A320, A405
	Coffea homollei IF.Lerov	A945
		11/10

Annexe III : Liste des espèces de Mascarocoffea étudiées

TEMOINS	ESPECES	ABREVIATIONS.	ACCESSIONS
TEM1	Coffea arabica	Cofara	B14
TEM1	Coffea arabica	Cofara	B2
TEM1	Coffea arabica	Cofara	Et1916 157
TEM1	Coffea arabica	Cofara	Et2
TEM2	Coffea canephora	Cofcan	K26
TEM2	Coffea canephora	Cofcan	K39
TEM2	Coffea canephora	Cofcan	K48
TEM2	Coffea canephora	Cofcan	K77
TEM3	Coffea liberica	Coflib	CL
TEM4	Coffea eugenioides	Cofeug	CE

	Annexe IV	:	Liste	et cod	lage	des	espèces	de	caféiers	africains	étudiés
--	-----------	---	-------	--------	------	-----	---------	----	----------	-----------	---------

Annexe V : Protocole d'Acétolyse



		-					1/=	-
ACCESSIONS	Р	E	P/E	IgE	diP	apd	d/E	epE
B14	30,75 (27,87 -35,25)	31,77 (28,51 -35,39)	0,97 (0,87 -1,05)	4,27 (3,28 -6,09)	4,95 (3,03 -6,29)	9,45 (5,81 -13,36)	0,3 (0,2 -0,43)	2,21 (1,68 -2,8)
B2	32,22 (28,5 -35,15)	31,86 (28,15 -35,69)	1,01 (0,94 -1,17)	3,88 (2,54 -4,84)	4,93 (3,46 -6,61)	7,01 (3,22 -10,95)	0,22 (0,09 -0,37)	2,1 (1,66 -2,78)
Et191 157	30,99 (28,95 -32,23)	32,67 (28,02 -36,16)	0,95 (0,89 -1,08)	3,24 (2,45 -4,11)	3,87 (2,28 -4,9)	4,34 (2,11 -8,06)	0,13 (0,06 -0,23)	2,15 (1,77 -2,66)
Et2	31,15 (27,41 -32,67)	32,23 (29,87 -34,64)	0,97 (0,89 -1,04)	4,06 (2,85 -5,92)	5,07 (3,52 -6,61)	4,2 (2,54 -5,86)	0,13 (0,08 -0,18)	2,04 (1,58 -2,61)
K26	27,61 (25,73 -29,37)	29,24 (26,27 -31,48)	0,95 (0,91 -1,02)	3,85 (2,72 -4,7)	5,15 (3,86 -6,45)	5,46 (3,35 -7,24)	0,19 (0,12 -0,25)	1,83 (1,53 -2,38)
K39	26,29 (23,92 -30,02)	28,37 (24,25 -31,53)	0,93 (0,84 -1,06)	3,9 (2,98 -4,34)	5,25 (4,14 -6,46)	8,44 (3,32 -12,14)	0,29 (0,12 -0,4)	1,86 (1,49 -2,35)
K48	27,11 (22,72 -32,32)	29,34 (25,06 -32,44)	0,93 (0,83 -1,03)	3,38 (2,19 -4,46)	4,69 (2,93 -6,45)	8,14 (4,46 -12,83)	0,28 (0,16 -0,45)	1,87 (1,61 -2,15)
K77	27,16 (23,82 -29,16)	29,2 (25,54 -31,07)	0,93 (0,85 -1,03)	3,9 (2,66 -5,34)	5,14 (3,54 -7,05)	7,72 (2,66 -12,2)	0,27 (0,09 -0,43)	1,84 (1,36 -2,19)
CL	22,38 (18,66 -25,25)	24,32 (20,94 -30,59)	0,92 (0,83 -1,12)	3,12 (1,73 -4,9)	3,63 (1,98 -4,61)	6,84 (4,66 -10,16)	0,28 (0,2 -0,45)	1,95 (1,49 -2,47)
CE	25,37 (21,43 -28,98)	25,32 (21,95 -30,84)	1 (0,92 -1,14)	3,12 (1,94 -4,34)	4,24 (3,33 -5,51)	6,4 (2,98 -10,73)	0,25 (0,12 -0,43)	1,89 (1,49 -2,11)
A572	26,3 (20,93 -29,85)	29,43 (21,37 -33,76)	0,9 (0,82 -0,98)	3,53 (2,35 -5,08)	3,46 (2,01 -4,46)	8,02 (5,77 -10,86)	0,27 (0,21 -0,38)	1,87 (1,41 -2,39)
A1010	22,83 (17,28 -26,16)	24,89 (20,32 -27,79)	0,92 (0,81 -1,19)	2,63 (1,94 -3,35)	2,96 (2,08 -3,96)	6,44 (4,45 -10,2)	0,26 (0,18 -0,4)	1,4 (0,89 -2,01)
A903	27,25 (25,47 -29,38)	29,36 (26,72 -32,67)	0,93 (0,89 -0,98)	3,54 (1,57 -4,84)	3,64 (2,63 -4,55)	7,46 (3,76 -9,9)	0,26 (0,13 -0,33)	1,7 (1,27 -2,01)
A955	23,88 (20,38 -26,51)	25,49 (22,79 -29,56)	0,94 (0,85 -1,05)	2,97 (2,16 -4,03)	2,65 (2,11 -3,33)	7,9 (5,75 -10,78)	0,31 (0,22 -0,43)	1,69 (1,09 -1,96)
A206	23,95 (21,22 -26,88)	27,09 (23,56 -29,05)	0,89 (0,8 -0,99)	2,85 (2,11 -3,69)	3,73 (2,15 -4,55)	6,67 (4,67 -9,37)	0,25 (0,16 -0,36)	1,61 (1,27 -1,88)
A828	26,17 (23,8 -32,79)	28,99 (26,51 -35,79)	0,9 (0,86 -0,95)	3,26 (2,33 -4,3)	3,03 (2,39 -3,42)	8 (4,07 -10,12)	0,28 (0,15 -0,37)	1,68 (1,4 -1,96)
A950	23,53 (21,64 -26,42)	26,56 (24,68 -28,56)	0,89 (0,83 -0,97)	3,17 (2,09 -3,95)	3,29 (2,01 -4,07)	4,09 (2,54 -7,23)	0,15 (0,1 -0,29)	1,89 (1,27 -2,38)
A208	27,68 (23,96 -30,31)	31,01 (27,93 -34,22)	0,89 (0,85 -0,95)	3,9 (2,8 -5,34)	4,18 (2,63 -6,26)	7,37 (3,84 -9,48)	0,23 (0,13 -0,32)	1,81 (1,49 -2,19)
A575	27,62 (24,5 -33,53)	30,69 (25,01 -34,52)	0,9 (0,83 -1,05)	3,31 (2,65 -4,67)	4,37 (3,91 -5,16)	8,52 (1 -11,51)	0,28 (0,03 -0,36)	1,66 (1,19 -2,36)
A817	28,27 (23,51 -32,28)	31,03 (26,52 -33,79)	0,91 (0,84 -0,99)	4,08 (2,32 -6,18)	4,93 (3,54 -7,05)	10,56 (6,41 -14,78)	0,34 (0,2 -0,47)	1,79 (1,36 -2,52)
A601	23,76 (14,14 -27,41)	26,13 (15,48 -31,33)	0,91 (0,82 -0,96)	2,65 (1,49 -3,59)	4,04 (2,26 -5,95)	8,17 (6,48 -10,05)	0,3 (0,23 -0,36)	1,57 (0,93 -1,93)
A807	25,51 (20,34 -27,98)	27,47 (22,57 -31,4)	0,93 (0,86 -1)	2,56 (1,43 -4,39)	3,7 (2,35 -4,94)	5,87 (3,24 -7,66)	0,22 (0,11 -0,31)	1,44 (1,03 -1,85)
A36	27,92 (20,53 -31,89)	29,83 (25,05 -33,82)	0,94 (0,82 -1,06)	3,52 (1,95 -4,71)	4,52 (3,52 -5,88)	6,93 (3,18 -11,19)	0,24 (0,12 -0,35)	1,76 (1,3 -2,32)
A520	24,67 (21,95 -27,37)	25,22 (23,1 -28,22)	0,98 (0,87 -1,05)	2,64 (1,59 -3,8)	3,49 (2,26 -4,55)	6,88 (4,5 -8,87)	0,27 (0,18 -0,33)	1,62 (1,31 -2,01)
A20	20,11 (14,99 -31,68)	21,02 (13,02 -32,52)	0,97 (0,73 -1,32)	2,19 (1,13 -3,71)	3,07 (1,27 -6,98)	5,84 (4,34 -7,26)	0,3 (0,2 -0,43)	1,7 (1,2 -2,19)
A600	19,25 (16,79 -21,63)	21,12 (18,82 -23,45)	0,91 (0,83 -1,1)	2,49 (1,9 -2,98)	3,18 (2,15 -4,56)	5,5 (4,71 -6,29)	0,28 (0,24 -0,32)	1,31 (1,06 -1,85)
A829	22,92 (20,41 -27,52)	24,68 (18,91 -29,92)	0,94 (0,86 -1,2)	3,18 (2,49 -4,03)	4,21 (2,91 -5,75)	6,83 (5 -9,68)	0,28 (0,2 -0,49)	1,55 (0,9 -2,35)
A946	19,7 (17,25 -21,89)	21,28 (16,71 -24,31)	0,93 (0,83 -1,3)	2,47 (1,59 -3,52)	2,82 (1,59 -4,37)	4,93 (1,88 -9,19)	0,23 (0,08 -0,41)	1,37 (0,98 -1,77)
A1011	18,68 (14,52 -21,86)	22,4 (18,6 -26,38)	0,83 (0,72 -0,92)	2,42 (1,21 -3,73)	2,86 (1,64 -6,45)	5,1 (3,69 -6,37)	0,24 (0,16 -0,31)	1,48 (1,11 -2,2)
A808	23,41 (21,28 -26,05)	26,37 (24,24 -29,49)	0,89 (0,83 -0,97)	2,83 (1,66 -4,03)	2,97 (2,2 -3,8)	7,26 (4,57 -10,36)	0,28 (0,19 -0,39)	1,72 (1,5 -2,54)
A525	23,67 (21,85 -25,39)	28,15 (25,26 -31,03)	0,84 (0,79 -0,93)	3,26 (2,28 -4,66)	3,87 (2,58 -6,25)	5,64 (3,34 -9,57)	0,2 (0,12 -0,36)	1,57 (1,31 -1,94)
A529	25,08 (22,27 -29,87)	26,6 (22,17 -31,98)	0,95 (0,86 -1,12)	3,25 (2,21 -4,43)	3,73 (2,63 -5,14)	5,72 (3,09 -8,61)	0,22 (0,1 -0,32)	1,5 (1,06 -2,01)
A730	21,38 (19,46 -23,27)	23,66 (21,78 -27,64)	0,9 (0,82 -0,96)	2,68 (2,11 -3,46)	3,17 (2,68 -3,96)	7,61 (6,3 -9,71)	0,32 (0,26 -0,43)	1,02 (0,7 -1,49)

Annexe VI : Tableau résumant les caractères morpho-métriques (en µ) des accessions de Mascarocoffea

Légende : P : longueur de l'axe polaire P, E : diamètre équatorial E, lgE : largeur de l'ectoaperture, diP : diamètre du pore, d : apocolpium d, epe : épaisseur de l'exine

Annexe VI	: Tableau résuman	nt les caractères mo	rpho-métriques ((en µ) des acces	sions de Masca	<i>trocoffea</i> (suite)		
ACCESSIONS	Р	E	P/E	lgE	diP	apd	d/E	epE
A12	22,27 (19,85 -24,56)	24,33 (20,96 -27)	0,92 (0,83 -1,03)	3,23 (2,28 -4,43)	3,78 (2,67 -5,53)	6,11 (3,25 -8,57)	0,26 (0,15 -0,35)	1,59 (1,24 -1,98)
A305	23,3 (21,02 -25,65)	25,62 (22,86 -28,27)	0,91 (0,85 -1)	3,54 (2,8 -5,04)	3,7 (2,54 -5,75)	7,87 (5,21 -11,29)	0,31 (0,2 -0,43)	1,59 (1,38 -1,87)
A421	21,92 (19,87 -24,4)	24,49 (22,07 -27,51)	0,9 (0,83 -0,96)	3,26 (2,89 -4,16)	3,78 (2,66 -4,5)	6,19 (4,31 -7,82)	0,25 (0,17 -0,33)	1,5 (1,18 -1,88)
A310	25,41 (23,71 -28,61)	28,52 (26,27 -31,08)	0,89 (0,8 -0,96)	2,93 (2,2 -3,99)	3,48 (2,11 -5,63)	8,3 (5,85 -11,16)	0,29 (0,21 -0,4)	1,67 (1,33 -2,2)
A227	23,13 (20,87 -25,02)	26,37 (23,59 -28,39)	0,88 (0,79 -0,95)	3,04 (2,11 -4,34)	3,63 (2,35 -6,2)	9,28 (6,37 -11,16)	0,35 (0,23 -0,44)	1,01 (0,63 -1,71)
A299	22,27 (19,27 -24,26)	26,75 (21,19 -29,75)	0,83 (0,78 -0,91)	3,23 (2,51 -4,02)	3,86 (2,41 -5,24)	6,91 (4,77 -9,71)	0,26 (0,19 -0,38)	1,58 (1,27 -1,88)
A303	25,14 (22,07 -27,57)	28,71 (24,24 -31,02)	0,88 (0,82 -0,92)	2,93 (2,01 -4,37)	3,75 (3,07 -5,48)	6,75 (4,37 -11,2)	0,24 (0,15 -0,42)	1,5 (1,09 -1,92)
A321	22,96 (19,97 -26,41)	25,04 (20,46 -28,9)	0,92 (0,86 -1,03)	3,39 (2,68 -4,24)	3,88 (2,85 -5,27)	5,87 (4,01 -7,09)	0,25 (0,15 -0,35)	1,51 (1,14 -1,73)
A402	23,62 (21,22 -25,83)	26,46 (23,78 -29,54)	0,89 (0,79 -0,96)	3,78 (2,84 -5,41)	3,37 (2,23 -5,11)	6,83 (4,74 -9,32)	0,26 (0,18 -0,36)	1,59 (1,31 -1,9)
A570	21,48 (18,47 -24,53)	24 (20,45 -27,77)	0,9 (0,82 -1,06)	2,65 (2,14 -3,61)	3,12 (2,54 -3,81)	5,56 (3,73 -8,3)	0,23 (0,16 -0,31)	1,51 (1,31 -1,97)
A71	24,12 (19,91 -27,86)	26,37 (23,53 -29,17)	0,92 (0,83 -1,01)	2,81 (2,35 -3,39)	4,05 (2,69 -5,14)	4,96 (2,01 -7,99)	0,19 (0,08 -0,29)	1,7 (1,37 -2,09)
A735	21,81 (19,83 -23,69)	24,84 (22,55 -27,94)	0,88 (0,83 -0,96)	2,98 (2,49 -3,92)	3,53 (2,2 -5,1)	6,39 (3,39 -9,58)	0,26 (0,15 -0,36)	1,53 (1,17 -1,84)
A915	22,97 (19,97 -25,62)	25,88 (22,45 -29,12)	0,89 (0,84 -0,96)	3,1 (2,44 -4,56)	3,91 (3,02 -5,15)	5,94 (3,32 -8,25)	0,23 (0,14 -0,31)	1,59 (1,31 -1,93)
A978	24,85 (21,83 -27,97)	27,33 (20,44 -31,18)	0,91 (0,85 -1,07)	3,14 (2,45 -3,65)	3,65 (2,63 -4,51)	9,23 (7,47 -11,46)	0,34 (0,25 -0,5)	1,47 (0,93 -8,57)
A818	23,98 (20,02 -31,83)	27,87 (23,82 -33,14)	0,86 (0,8 -0,96)	2,74 (1,92 -3,8)	3,73 (3,04 -4,7)	7,91 (4,98 -10)	0,28 (0,17 -0,35)	1,54 (0,96 -2,16)
A820	20,61 (18,61 -22,92)	24,16 (20,99 -26,24)	0,85 (0,75 -0,96)	3,13 (2,11 -4,35)	3,81 (2,98 -4,64)	4,14 (1,74 -5,96)	0,17 (0,08 -0,25)	1,53(1,24 -1,97)
A734	21,59 (17,48 -24,78)	22,95 (19,56 -26,43)	0,94 (0,78 -1,11)	2,07 (1,19 -2,63)	3,83 (2,17 -4,87)	7,78 (5,68 -10,01)	0,35 (0,24 -0,47)	1,32 (0,93 -1,8)
A308	22,94 (19,25 -26,24)	24,94 (20,97 -28,6)	0,92 (0,81 -1,12)	2,85 (1,61 -3,86)	3,03 (1,55 -4,46)	8 (5,48 -12,35)	0,32 (0,19 -0,48)	1,59 (1,14 -1,85)
A830	24,58 (21,76 -28,41)	26,14 (20,82 -30,2)	0,94 (0,85 -1,1)	2,35 (1,59 -2,98)	3,31 (1,84 -5,52)	7,06 (3,59 -10,76)	0,27 (0,15 -0,43)	1,53 (1,08 -2,42)
A311	24,49 (21,13 -27,7)	26,86 (18,18 -30,05)	0,92 (0,8 -1,26)	3,01 (1,53 -4,73)	3,53 (2,16 -4,72)	7,78 (4,84 -11,33)	0,3 (0,17 -0,45)	1,62 (1,11 -2,16)
A535	25,42 (16,38 -44,25)	26,47 (19,74 -41,47)	0,97 (0,81 -2,19)	3,03 (2,09 -4,11)	3,62 (2,28 -4,73)	5,98 (3,73 -7,78)	0,23 (0,13 -0,34)	1,74 (1,05 -2,57)
A533	24,26 (18,67 -27,56)	24,67 (16,24 -29,56)	0,99 (0,87 -1,57)	2,71 (1,66 -3,85)	3,17 (2,28 -4,65)	8,53 (6,21 -11,54)	0,35 (0,27 -0,58)	1,41 (1 -1,85)
A954	21,98 (18,77 -25,77)	19,61 (12,86 -30,62)	1,17 (0,73 -1,87)	2,99 (2,35 -3,6)	2,73 (1,8 -3,67)	5,57 (3,41 -12,12)	0,31 (0,19 -0,58)	1,57 (0,92 -2,29)
A519	22,83 (20,18 -25,02)	23,4 (21,27 -27,62)	0,98 (0,9 -1,07)	2,98 (2,01 -4,84)	3,18 (2,14 -5,13)	5,25 (2,44 -9,07)	0,23 (0,11 -0,38)	1,46 (1,18 -1,8)
A980	28,25 (24,69 -31,76)	28,89 (24,6 -33,75)	0,98 (0,84 -1,14)	3,43 (2,17 -4,98)	4,97 (3,8 -6,45)	7,48 (4,3 -11,24)	0,27 (0,15 -0,39)	1,57 (1,14 -1,95)
A958	25,19 (22,11 -28,37)	23,87 (20,41 -28,11)	1,06 (0,94 -1,14)	2,67 (2,31 -3,05)	3,93 (3,93 -3,93)	6,23 (1,42 -11,96)	0,28 (0,06 -0,54)	1,78 (1,4 -2,35)
A513	22,96 (20,49 -25,72)	24,79 (22,72 -27,01)	0,93 (0,85 -1,03)	2,71 (1,84 -3,89)	3,57 (2,16 -5,1)	6,51 (5,16 -8,35)	0,26 (0,2 -0,33)	1,33 (0,65 -1,62)
A515	25,33 (22,13 -27,41)	26,88 (23,39 -29,49)	0,94 (0,88 -1,05)	2,46 (1,73 -3,06)	3,4 (2,36 -4,51)	7,59 (2,8 -11,3)	0,28 (0,1 -0,43)	1,53 (1,25 -2,09)
A213	20,76 (15,84 -24,87)	23,97 (19,04 -27,65)	0,87 (0,74 -1,18)	3,06 (2,18 -4,71)	3,84 (2,63 -5,11)	7,12 (4,39 -12,94)	0,3 (0,18 -0,55)	1,44 (0,84 -1,85)
A602	19,1 (16,96 -21,94)	21,65 (19,84 -24,14)	0,88 (0,78 -1,1)	2,61 (1,66 -3,52)	3,49 (2,35 -5,07)	6,39 (2,66 -9,88)	0,3 (0,12 -0,48)	1,42 (1,14 -1,85)
A320	24,3 (21,69 -26,84)	25,13 (18,9 -28,8)	0,98 (0,83 -1,21)	2,8 (1,94 -3,87)	3,31 (1,67 -4,63)	5,24 (3,64 -7,66)	0,21 (0,13 -0,33)	1,79 (1,38 -2,36)
A405	21,78 (18,36 -26,19)	24,88 (22,08 -29,58)	0,88 (0,73 -1,04)	2,56 (1,53 -3,89)	3,25 (1,83 -5,16)	3,66 (1,11 -6,14)	0,15 (0,04 -0,27)	1,61 (1,11 -2,11)
A946	21,19 (19,36 -23,69)	24,8 (21,92 -29,06)	0,86 (0,75 -0,93)	3,63 (2,98 -4,6)	4,6 (3,71 -7,34)	5,85 (2,8 -9,81)	0,25 (0,11 -0,41)	1,51 (1,11 -2,08)

Légende : P : longueur de l'axe polaire P, E : diamètre équatorial E, IgE : largeur de l'ectoaperture, diP : diamètre du pore, d : apocolpium d, epe : épaisseur de l'exine

Annexe VII : Variation de la taille des grains de pollen des espèces de caféiers africains





Annexe VIII : Variation de la taille des grains de pollen des espèces de Mascarocoffea



Annexe VIII : Variation de la taille des grains de pollen des espèces de Mascarocoffea (suite)

	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Р	0,88	0,04	0,33	-0,16	-0,27	0,09	-0,01	-0,04
Е	0,92	-0,09	-0,12	-0,29	-0,18	0,07	-0,03	0,04
P/E	-0,12	0,24	0,91	0,28	-0,11	0,09	0,01	0,02
lgE	0,78	-0,17	-0,13	0,33	0,35	0,35	0,00	0,00
diP	0,73	-0,04	-0,23	0,54	-0,18	-0,31	0,00	0,00
d	0,57	0,79	-0,10	-0,18	0,07	-0,04	0,06	0,00
d/E	0,04	0,97	0,03	0,03	0,20	-0,09	-0,06	0,00
epe	0,53	-0,49	0,46	-0,20	0,37	-0,29	0,00	0,00

Annexe IX : Matrice de corrélations (ACP) entre les variables et les facteurs

<u>Légende</u> : F1 à F8 : Axes factoriels de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)

P : longueur de l'axe polaire P

E : diamètre équatorial E

lgE : largeur de l'ectoaperture

diP : diamètre du pore

d : apocolpium d

epe : épaisseur de l'exine





Légende :

Exemple: A602 (code des Caféiers) : C. kianjavatensis



Annexe XI : Planches photographiques de quelques espèces de *Mascarocoffea* au microscope électronique à balayage.

<u>Légende</u> : A et B. *C. millotii*: (A222), C et D. *C. abbayesi*: (A601), E, F, *C. perrieri*: (A305) G et H *C. mangoroensis*: (A402)



Annexe XI: Planches photographiques de quelques espèces de *Mascarocoffea* au microscope électronique à balayage (suite).

Légende : I et J. C. moratii: (A734), K et L. C. augagneuri: (A519), M et N. C. lancifolia auriculata (A405)

POLLEN MORPHOLOGY OF *MASCAROCOFFEA*, A WILD SPECIES ENDEMICS OF MADAGASCAR

Abstract:

Palynological study was carried out on 56 accessions distributed in 32 species of *Mascarocoffea* by light microscopy. After chemical treatment by acetolysed according to Erdtman's (1952) method, pollen grains were observed and measured. *Mascarocoffea* pollen is a monadic type, they varied from small to large size (10μ to 35μ) and its shape in equatorial view is breviaxy to longiaxy. Three apertural type are present, 2-, 3-, and 4-colporus, wide or narrow ectocolpus, with a periapertural thinning. The sexine ornamentation is foveolate to microreticulate. Pollen dicolporate was identified only in *Mascarocoffea*, it is absent in the other sections. Pollen variability in size, in apertural type and the exine made it possible to distinguish differents series of *Mascarocoffea*. All the characteristics analysed in this study allowed to differentiate *Mascarocoffea* with african coffee. Intrafloral pollen variations was identified in the accessions of the *Mascarocoffea*. In spite of that, our analysis of pollen characteristics does not allow to give correspondancy to the classification established by Chevalier (1947).

Key words: pollen morphology, Mascarocoffea, diversity, Kianjavato.

Author :

VOAHARINANTENAINA Rakotomalala Andriamanisa

<u>Supervisors :</u>

Pr. RAMAVOVOLOLONA Pr. RAKOTOMALALA Jean Jacques

MORPHOLOGIE POLLINIQUE DES *MASCAROCOFFEA*, CAFEIERS SAUVAGES ENDEMIQUES DE MADAGASCAR

<u>Résumé</u> :

L'étude palynologique en Microscopie photonique a été effectuée sur 56 accessions réparties dans 35 espèces de *Mascarocoffea*. Après traitement chimique par acétolyse selon la méthode d'Erdtman (1952), les grains de pollen ont été observés et mesurés. Le pollen est du type monade, breviaxe à longiaxe, petite à moyenne taille $(10\mu à 35\mu)$; le nombre d'aperture varie du 2-,3-,4-colporus; les sillons peuvent être larges ou étroites, avec un amincissement periapertural. L'ornementation de l'exine varie de fovéolée à réticulée à petites mailles. Le grain de pollen dicolporé a été identifié seulement chez les *Mascarocoffea*; il est absent chez les autres sections botaniques du genre *Coffea*. La variabilité au niveau de la taille, du type apertural et de l'exine chez *Mascarocoffea* a permis de distinguer les différencier les *Mascarocoffea* avec les caféiers africains. Des variations polliniques intraflorales ont été identifiées chez les accessions des *Mascarocoffea*. Malgré cela, l'analyse des différents caractères polliniques n'a pas pu donner une correspondance avec la classification établie par Chevalier (1947).

Mots clés : morphologie pollinique, Mascarocoffea, diversité, Kianjavato

Auteur :

VOAHARINANTENAINA Rakotomalala Andriamanisa

Encadreurs : Pr. RAMAVOVOLOLONA Pr. RAKOTOMALALA Jean Jacques