ASIC

Association Scientifique Internationale du Café

13ème
COLLOQUE SCIENTIFIQUE
INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ

13th
INTERNATIONAL SCIENTIFIC
COLLOQUIUM ON COFFEE

13.
INTERNATIONALES
WISSENSCHAFTLICHES
KOLLOQUIUM ÜBER KAFFEE

13°
COLÓQUIO CIENTÍFICO
INTERNACIONAL SOBRE
EL CAFÉ

Paipa (Colombie) 21-25 août 1989

TREIZIÈME COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ
Paipa, 21-25 août 1989

Liste des participants 5

Discurso inaugural 13

Communications

Communication introductive

— A new way to promote coffee : « the positive effects of coffee consumption », S. Milhaud . 15

Effets physiologiques

— Coffee and cholesterol. Epidemiological observations, human experiments, animal experiments, S. Heyden, K. A. Schneider 23
— Biochemical mechanism of caffeine tolerance, H. P. T. Ammon 39
— Effect of caffeine on selected physical performance parameters : response time and power output, B. H. Jacobson, S. W. Edwards 63
— *In vivo* inhibition of nitrosamide formation by coffee and coffee constituents, H. P. Würzner, E. Jaccaud, H. V. Aeschbacher 73

Chimie

— Sensory and analytical examination of ground and cup coffee with particular reference to bean maturity, A. A. Williams, A. Feria-Morales, P. Kari 83
— Identification des composés volatils alkylsulfures et alkyldisulfures de l'arôme café, B. Guyot, J.-C. Vincent 107
— Multidisciplinary study of Rio flavour in Brazilian green coffee, R. Liardon, J. C. Spadone, N. Braendlin, E. Dentan 117
— Cafés riotés. Etude microscopique du processus d'infection, E. Dentan 127
— Analytical study of the evolution of coffee aroma compounds during storage, J. C. Spadone, R. Liardon 145
— The research and test unit of the International Coffee Organization. Scientific activities focusing on the quality of coffee, A. M. Feria-Morales 159
— Objective evaluation of coffee aroma by multivariate analysis, K. Wada, K. Ohta, Y. Osajima 181
— Identification and quantification of a new carbohydrate in coffee chemistry, M. Blanc, J. M. Parchet 191
— New aspects in the analysis of melanoidins in coffee with liquid chromatography, H. Steinhart, A. Möller, H. Kletschkus 197
— Acidos fenólicos en pulpa de café, J. R. Ramirez-Martinez, M. N. Clifford 206
— Conséquences des variations biologiques de la teneur en caféine du café vert sur le choix d'une méthode d'échantillonnage pour son dosage, D. Le Pierrès, J.-C. Vincent, B. Guyot 211

Technologie

— Processing of instant coffee, K. F. Sylla 219
— Extraction de l'acide chlorogénique du café vert. Cinétique, conditions à l'équilibre et modélisation, K. Dibert, E. Cros, J. Andrieu . 226
— Determinación de las condiciones de extracción de aceite de café por extrusión, L. Falla, J. Ospina, E. Posada 232
— Decaffeination of coffee samples by CO_2-extraction, E. Lack, H. Seidlitz, P. Toro 236
— Physico-chemical and structural characterisation of « espresso » coffee brew, M. Petracco 246
— Evaluación de la perdida de calidad de la semilla de café durante su beneficio, F. Sierra Garzón, A. Fernández Quintero, G. Roa Mejía, J. Arcila Pulgarín 262
— Optimización operacional del secador intermitente de flujos concurrentes para café pergamino, E. C. Montoya R., C. E. Oliveros T., G. Roa M. 272

Biochimie

— Etude microscopique de quelques types de cafés défectueux : grains noirs, blanchâtres, cireux et « ardidos », E. Dentan 283
— El extracto de café torrefactado inhibe el crecimiento de *Escherichia coli*, B. Chica Giraldo, L. G. Chica Giraldo 303
— Contribution to the study of the chemical composition of cuticular waxes in the coffee weevil *Araecerus fasciculatus* (De Geer) (Coleoptera Arthribidae), E. Bautista, J. C. Biemont, R. Jullien, E. Moreno, J. Pouzat ... 313
— Biochemical aspects of coffee-coffee rust interactions and prospects for the genetic manipulation of the coffee plant, C. A. Ocampo, V. Montes de Gomez, M. L. Rojas, L. Manzanera, M. Sarmiento 323
— Etude d'une démucilagination rapide du café Arabica par trois substances enzymatiques, G. Fourny, E. Tchana, B. Guyot, J.-C. Vincent 331
— Superoxide dismutases in coffee plants. Presence of an iron-containing isoenzyme, M. C. Daza, L. M. Sandalio, L. A. Del Rio, M. Quijano-Rico 343
— Caffeine metabolism by *Coffea arabica* L. fruit, G. R. Waller, T. Suzuki 351
— A problem in coffee plantations : autotoxicity of caffeine and other compounds, G. R. Waller, A. L. Anaya-Lang, L. Sagrero-Nieves, A. B. Celis Ochoa Cordero, D. Kumari, J. Friedman, N. Friedman, Chang-Hung Chou. 363
— Factors related to the formation of « overfermented beans » during the wet processing method and storage of coffee, C. I. Lopez, E. Bautista, E. Moreno, E. Dentan 373

Documentation

— Sistematización de la documentación : CENIC, una base de datos sistematizada y automatizada de la información científica y técnica del café, L. A. Maya-Montalvo 385

Amélioration du matériel végétal

— The potential impact of biotechnology in coffee, M. R. Söndahl 407
— Les caféiers sauvages de Côte d'Ivoire et de Guinée : bilan des missions de prospection effectuées de 1984 à 1987, D. Le Pierrès, P. Charmetant, A. Yapo, T. Leroy, E. Couturon, S. Bontems, H. Tehe 420
— Coût et valorisation des ressources génétiques caféières, A. Charrier, J. Berthaud, F. Anthony 429
— Conservation des ressources génétiques caféières en vitrothèque, A. Bertrand-Desbrunais, A. Charrier 438
— Les hybrides Congusta (*C. canephora* × *C. congensis*) : comportement de rétrocroisements sur *C. canephora* dans les conditions de Côte d'Ivoire, A. Yapo, P. Charmetant, T. Leroy, D. Le Pierrès, J. Berthaud 448
— Mise en place d'un programme de sélection récurrente réciproque chez *Coffea canephora* Pierre, T. Leroy, A. Charrier 457

— Stérilité mâle détectée chez *Coffea arabica* et *C. canephora* au Brésil, P. Mazzafera, A. B. Eskes, J. P. Parvais, A. Carvalho 466
— La diversité biochimique dans les genres *Coffea* et *Psilanthus,* F. Anthony, M. N. Clifford, M. Noirot 474
— Utilización de los híbridos triploides en el mejoramiento genético del café, F. J. Orozco C. 485
— Méthodologie de la sélection caféière en Côte d'Ivoire, P. Charmetant, T. Leroy 496
— La sélection générative du caféier Robusta au Cameroun. Analyse des résultats d'un essai d'hybrides diallèle quasi complet implanté en 1981, P. Bouharmont, J. Awemo 502

Phytotechnie

— Innovations récentes en matière d'étude de la physiologie du caféier, M. André, D. Berry, M. Ducamp, D. Bieysse, J. Massimino, R. Muller 513
— Modélisation et simulation de la croissance et de l'architecture du caféier, Ph. de Reffye, J. Snoeck, M. Jaeger 523
— La fertilización del cafetal según el analisis de suelos, G. Valencia Aristizábal, F. Carrillo Pachón I., L. I. Estrada Hoyos 547
— Nouvelle méthode pour l'étude de la fertilisation minérale des caféiers basée sur l'analyse du sol, J. Snoeck, P. Jadin 555
— Effets du chlore sur le comportement de quelques clones de caféiers Robusta sur le littoral ivoirien, K. N'Goran 564
— Le problème de la carence en zinc sur caféier Arabica au Burundi, Ch. Lambot 573
— Coffee survey in PDR Yemen, A. B. Eskes, A. W. O. Mukred 582
— Mejoramiento genético del café en Venezuela : ensayos instalados, N. García Andrade 591
— Modernización de la caficultura costarricense, G. Gutiérrez Zamora 600
— Essais de mécanisation du recépage, D. Duris . 617
— Méthodologie de recherche — développement dans le bassin caféier Xalapa/Coatepec, Mexique, B. Sallée, R. G. Pasquis, F. Berhocoirigoin 627

Défense des cultures

— Synthèse des travaux de recherche sur la résistance générale (ou incomplète) de *Coffea arabica* L. à la rouille orangée (*Hemileia vastatrix* B. et Br.), R. A. Muller 639
— Le scolyte du fruit du caféier, *Hypothenemus hampei* Ferr. : considérations sur la lutte intégrée contre ce ravageur, B. Decazy 655
— Segregación para la resistencia completa e incompleta a *Hemileia vastatrix* en Icatu y en algunos derivados del Hibrido de Timor ; consecuencias para el mejoramiento genético, A. B. Eskes, J. G. J. Hoogstraten, F. A. Levy. 666
— Morphological features of the complex coffee leaf-coffee rust and of the fungal spore, M. Santa Cruz, C. Schlienger 675
— Estudios básicos de aplicación aerea de fungicidas con helicóptero para el control de la roya del cafeto, D. A. Villalba-G., F. L. Grisales-L. 691
— Inducción de sustancias antifungicas en celulas de cafeto en suspensión, E. Velásquez-S., E. Moreno-G., V. de Gómez, M. de Peña 708
— Perspectivas en el control biotecnológico de la broca del café (*Hypothenemus hampei* Ferr.), C. Klein Koch 717
— Méthodologie pour l'étude de l'épidémiologie de la rouille orangée du caféier, J. Avelino 726
— Has caffeine a role in the resistance of coffee to the orange rust ? M. A. P. X. L. Medeiros, M. E. M. Guedes, M. L. Barros e Sousa 733
— New rust genotypes and a new coffee genotype in Catimor 45, V. Várzea, C. J. Rodrigues Jr, J. E. do Passo, S. Palma 745

Affiches/Posters

— Aplicaciones del cultivo de tejidos en el mejoramiento del cafeto, F. J. Orozco *et al.* ... 749
— Micropropagation by nodal culture of cultivars Caturra, Geisha and Catimor regenerated *in vitro,* T. Oliveira Ribeiro, M. F. Carneiro. 757
— Investigations on the adsorption behaviour of caffeine on commercial activated carbons, P. W. Gabel, H. K. Cammenga 766

Rapport de synthèse 775
Summary report 779

Exposés présentés, non reçus pour publication

— Determinación de algunas propiedades físicas del café pergamino, G. Jaramillo Bastidas, E. Posada Flores.
— Despulpado del café cereza sin utilización del agua, J. Alvarez Gallo, E. C. Montoya.
— Estudio comparativo de secadores de café pergamino por radiación solar y convección natural, F. O. Gonzales Rizo, G. Roa Mejía.
— Estrategias particulares empleadas en la selección de la variedad Colombia, J. Castillo-Zapata.
— Diversidad enzimática y en caracteres agronómicos en progenies derivadas de las introducciones del Híbrido de Timor, G. Moreno, A. Charrier, J. Berthaud, M. Noirot, C. Lanaud.
— Effets d'une attaque de rouille orangée (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.) sur la physiologie du caféier (*Coffea arabica* L.), M. Ducamp, D. Bieysse, J. Massimino, M. André, R. A. Muller.
— Un modelo clima-planta adaptado para café (*Coffea arabica* L.), A. Jaramillo Robledo, L. O. Larsen, J. Arcila Pulgarin.
— Pruebas rápidas para determinar la viabilidad y vigor de la semilla de café, H. Arias Bonilla, J. Arcila Pulgarin, M. Aristizábal Loaiza.
— Development of DRIS norms for the interpretation of coffee leaf analysis results, C. Arboleda Valencia, J. Arcila Pulgarin.
— Quantitative and qualitative studies on growth and differentiation of reproductive buds in *Coffea arabica* L., N. Majerowicz, M. R. Söndahl.
— Metodología para la evaluación de fungicidas en el control de la roya del cafeto en condiciones de laboratorio y vivero, L. F. Gil Vallejo.
— Variación en la resistencia incompleta a la raza II de *Hemileia vastatrix* en progenies Caturra × Híbrido de Timor, G. Moreno, M. Noirot, A. Charrier, J. Berthaud, R. A. Muller.
— Diseminación de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk y Br.) en árboles de la variedad Caturra, C. Villegas Garcia.
— Efecto de extractos de *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas sobre la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk y Br.), J. E. Leguizamón-C., P. E. Vélez-A., A. González-S.
— Estudio epidemiológico de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk y Br.) en cafetales al sol y a la sombra en Colombia, J. E. Leguizamón-C., L. Orozco-G., L. Gómez-G.

PARTICIPANTS

Allemagne

AMMON H.P.T.	- Universität Tübingen, Pharmakologie für Naturwissenschaftler, Auf der Morgenstelle 8, D-7400 Tübingen 1
BECKER I.	- Botanisches Institut RWTH-Aachen, Worringer Weg, D-1500 Aachen
GABEL P.	- Inst. f. Phys. Theor. Chemie, Hans-Sommer-Str. 10, D-3300 Braunschweig
JUSTUS F.	- P.O.Box 760640, D-2000 Hamburg 76
KOEHLER H.	- Jacobs Suchard Corp., Res. & Eng., Weser-Ems-Strasse 3-5, D-2800 Bremen 44
KUNKE D.	- Dr. Otto Suwelack Nachf. GmbH & C°, Josef-Suwelack-Strasse, D-4425 Billerbeck
MAYER J.	- Botanisches Institut RWTH-Aachen, worringer Weg, D-1500 Aachen
MEYER-KOSTER J.	- Coffein C°, Sebaldsbrücker Heerstr. 177, D-2800 Bremen 44
MICHEL H.	- Max-Planck-Institut für Biophysik, Kennedyallee 70, D-6000 Frankfurt/M.
ROTZOLL F.	- Deutscher Kaffee-Verband, Pickhuben 3, D-2000 Hamburg 11
RUSCHENBURG-BAAS U.	- Willinger Weg 19, D-4134 Rheinberg 2
SCHELL J.	- Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Egelspfad 30, D-5000 Köln
STEINHART H.	- Universität Hamburg, Institut für Chemie und Lebensmittelchemie, Martin-Luther-King-Platz 6, D-2000 Hamburg 13
SUWELACK W.	- Dr. Otto Suwelack Nachf. GmbH & C°, Josef-Suwelack-Strasse, D-4425 Billerbeck
SYLLA K.F.	- Ohmstrasse 5, D-2800 Bremen 33
VAHLAND T.	- Coffein C°, Sebaldsbrücker Heerstr. 177, D-2800 Bremen 44
VITZTHUM O.G.	- Jacobs Suchard Corp., Res. & Eng., Weser-Ems-Strasse 3-5, D-2800 Bremen 44
Von HELDEN J.	- VG Instruments GmbH, Gustav-Nachtigalstrasse 4, D-6200 Wiesbaden
WAENKE H.	- Max-Planck-Institut für Chemie, Saarstrasse 23, Postfach 3060, D-6500 Mainz

Angola

AFONSO R.	- INCA, C.P. 6936, Luanda
CUMANDALA A.	- INCA, C.P. 6936, Luanda
DIAS M.	- INCA, C.P. 6936, Luanda
PERREIRA F.	- INCA, C.P. 6936, Luanda

Autriche

LACK E.	- Schöller-Bleckmann GmbH, A-2630 Ternitz

Belgique

POCHET P.	- UCL, Faculté des Sc. Agronomiques, 3 place Croix du Sud, 131348 Louvain-la-Neuve

Bolivie

CAPURRO M.	- ACRA, Calle Vincenti 921, Sopocachi, La Paz

Brésil

BASSOLI D.G.	- Cia Iguaçu de Café Soluvel, P.O.Box 199, Cornelio Procopio, 86300 Parana
CORREA MUNHE W.	- Cia Iguaçu de Café Soluvel, P.O.Box 199, Cornelio Procopio, 86300 Parana
DE CASTRO A.	- Cia Iguaçu de Café Soluvel, P.O.Box 199, Cornelio Procopio, 86300 Parana
OLIVEIRA P.L.C.	- Cia Cacique de Café Soluvel, C.P. 1769, CEP 86001, Londrina, PR
ROSAS H.	- Cia União Refinadores Açúcar-Café, R.Borges Figueiredo 237, São Paulo, SP
ROSAS Hijo H.	- Cia União Refinadores Açúcar-Café, R.Borges Figueiredo 237, São Paulo, SP
SPAGOLLA F.	- Macsol S.A. - Manufatura de Café Soluvel, Via Anhenguera Km 89.8, 13100 Campinas, SP
TOLEDO	-

Burundi

BARAMPANA D.	- ISABU, B.P. 795, Bujumbura
DESCROIX F.	- IRCC/OCIBU, B.P. 450, Bujumbura
LAMBOT C.	- ISABU, B.P. 795, Bujumbura
NAGAGUMA J.	- ISABU, B.P. 795, Bujumbura
NDAYIMIRIYE N.	- OCIBU, B.P. 450, Bujumbura
REYNES M.	- IRCC/OCIBU, B.P. 450, Bujumbura
RUFYIKIRI H.	- OCIBU, B.P. 450, Bujumbura
SEBATIGITA E.	- OCIBU, B.P. 450, Bujumbura
SINDAYIGAYA L.	- OCIBU, B.P. 450, Bujumbura
SNOECK D.	- IRCC/OCIBU, B.P. 450, Bujumbura

Cameroun

AWEMO J.	- IRA, B.P. 2123, Yaoundé
BOUHARMONT P.	- IRCC, B.P. 2577, Yaoundé
FOURNY G.	- IRCC, B.P. 2577, Yaoundé
NGUYEN BAN J.	- IRCC, B.P. 2577, Yaoundé
TCHANA E.	- IRA, B.P. 2123, Yaoundé

Canada

HENRY M.	- Allelix Crop Technologies, 6850 Goreway Drive, Mississagua, Ontario
SWANSON E.	- Allelix Crop Technologies, 6850 Goreway Drive, Mississagua, Ontario

Colombie

ABLANQUE E.	- LIQC, Calle 26A N°37-28, Bogotá
ACUNA R.	- Investigador Cientifico I, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A N°37-28, Bogotá
ALMARIO F.	- LIQC, Calle 26A N°37-28, Bogotá
ANGELO P.	- Niro Atomizer, Unicentro, Cra 15, N°123-30, Of. 444, Bogotá
ARANGO C.	-

ARCHILA M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
ARCILA F. - Investigador Cientifico II, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogota
ARCILA J. - Cenicafé, Chinchina, Caldas
ARISTIZABAL G.E. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
BAEZ H. MA. DEL C. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
BARCO E. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
BAUTISTA E. - Investigador II, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
BAYONA G. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
BELTRAN SUAREZ F. - Jefe de Promoción, División de Relaciones Publicas, Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
BETANCOURT A. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
BONILLA C. - Fabrica de Café Liofilizado, Chinchiná, Caldas
BRAVO I. - Manganesos de Colombia, Ed. Banco Ganadero, Of. 601, Pereira
BUITRAGO A. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
CADENA GOMEZ G. - Director, Cenicafé, Chinchiná, Caldas
CARDENAS J. - Gerente General, Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
CASTANO A. - Manganesos de Colombia, Ed. Banco Ganadero, Of. 601, Pereira
CASTANO CASTRILLON J. - Investigador Cientifico II, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
CASTILLO J. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
CELEITA M. E.J. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
CHAPARRO K. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
CHICA G. B. - Depto Fisica, Universidad Nacional, Lab. 100, Bogotá
CIFUENTES N. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
CRUZ F. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
CRUZ R. C.L. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
DAZA M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
DIJOUD P. - Ambassadeur, Embajada de Francia, Cra 7, Nº38-99, Bogotá
FALLA L. L. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
GIRAL M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
GOMEZ C. - Fabrica de Café Liofilizado, Chinchiná, Caldas
GONZALEZ A. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
GONZALEZ VALDERRAMA G. - Subdirector, Division de Relaciones Publicas y Publicidad, Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
HERNANDEZ N. - Fabrica de Café Liofilizado, Chinchina, Caldas
ISAZA R. A. - Colcafé, Calle 8 Sur, Nº50-19, Medellin
JARAMILLO G. - Federacafé LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
JARAMILLO H. - Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
JARAMILLO MEJIA H. - Jefe Unidad de Control de Calidad, Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
LANGEBAEK H. - Niro Atomizer, Unicentro, Cra 15, Nº123-30, Of. 444, Bogota
LEGUIZAMON J. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
LEON R. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
LLOREDA A. - Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
LONDONO L.C. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
LOPEZ A. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
LOPEZ C. - Investigadora, Almacafé, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
MANZANERA L. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
MARTINEZ H. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
MESA ABADIA A. - Comite de Cafeteros Pereira, Cra 12, Nº17-33, Pereira, Risaralda
MONTANA J. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
MONTES V. - Universidad Nacional, Departamento de Quimica, Bogotá
MORA I. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
MORALES E. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
MORENO G. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
MORENO GONZALEZ E. - Investigador Principal, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá

OCAMPO VALENCIA C. - Investigador Principal, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
OROZCO F. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
ORTIZ PERDOMO A. - Investigador Cientifico III, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
OSSA F. - Manganesos de Colombia, Ed. Banco Ganadero, Of. 601, Pereira
PAEZ A. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
PARDO P. A.I. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
PELAEZ A. - Federación Nacional de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
PENA M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
PIZANO D. - Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
POSADA FLOREZ E. - Investigador Principal, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
PUERTA A.M. - Central de Cooperativas Agrarias Ltda, CENCOA, Edificio el Café, Piso 11, A.A. 10037, Cali
QUINTERO G. M.C. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
RIANO LUNA C.E. - Investigador Cientifico II, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
RIVERA Y. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
ROA G. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
RODRIGUEZ A. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
RODRIGUEZ S. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
ROJAS M.L. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
ROZO L. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
SANABRIA S. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
SANCHEZ M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
SANTA CRUZ M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
SANTOS N. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
SARMIENTO M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
SEGURA H.J. - Fabrica de Café Liofilizado, Chinchiná, Caldas
TOBAR M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
TOVAR R. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
URIBE ARANGO H. - Subgerente General, Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
VALENCIA G. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
VALENZUELA SAMPER G. - Subgerente General Técnico, Federación de Cafeteros, Calle 73, Nº8-13, Bogotá
VEGA M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
VELANDIA C. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
VELANDIA M. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
VELASQUEZ E. - Becario, LIQC, Federación de Cafeteros, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
VELASQUEZ R. J. - Colcafé, Calle 8 Sur, Nº50-19, Medellín
VELEZ A. B. - Cenicafé, Chinchiná, Caldas
VELEZ G.E. - Colcafé, Calle 8 Sur, Nº50-19, Medellin
VIEITES C. - LIQC, Calle 26A Nº37-28, Bogotá
WEINSTEIN G. - Corporación Universitaria Lasallista Decano Facultad Ingenieria, Calle 54A, Nº30-01, Piso 5, Medellin

Costa-Rica

ALPIZAR J.M. - Programa Cooperativo, Instituto del Café de Costa Rica, Aptdo 10094-1000, San José
ECHEVERRY J.H. - IICA, Dirección General, Apdo 55-2200 Coronado, San José
GUTIERREZ Z. G. - Federación de Cooperativas de Caficultores de Costa Rica, San José
HIDALGO - CICAFE

Côte d'Ivoire

CHARMETTANT P. - IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01
COULIBALY N. - IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01
DELSOL E. - IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01
DURIS D. - IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01

IRIE BI Z.	- IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01
KOUASSI A.P.	- Caisse de Stabilisation et de Soutien des Prix des Productions Agricoles, B.P. V132, Abidjan
LEROY T.	- IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01
N'GORAN K.	- IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01
NIAMKEY I.	- SATMACI, 01 B.P. 1565, Abidjan 01
YAPO A.	- IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01

Danemark

BUSCHMANN P.	- Atlas Industries A/S, Baltorpvej 160, DK-2750 Ballerup, Copenhagen
ROLFGAARD S.	- Atlas Industries A/S, Baltorpvej 160, DK-2750 Ballerup, Copenhagen
STEND PETERSEN P.	- Atlas Industries A/S, Baltorpvej 160, DK-2750 Ballerup, Copenhagen

Equateur

KLEIN KOCH C.	- GTZ, Casilla 11368 CCNU, Quito

Etats-Unis

DAWSON-EKELAND K.	- Dow Chemical USA, Larkin Laboratory Midland, MI 48674
HEYDEN S.	- Duke Univ. Medical Center, Dept. Com. and Family Medicine, Box 2914, Durham, N. Carolina 27710
HOBDAY T.	- Kraft General Foods Corporation, 250 North St., White Plains, N.Y.10625
JACOBSON B.H.	- Oklahoma State University, Stillwater, OK 74078-0616
McCARTHY J.	- Procter & Gamble, 6210 Center Hill Road, Cincinnati, Ohio
REYNOLDS J.A.	- P.O.Box 8247, Emeryville, California 94662
RUFF J.	- Kraft General Foods Corporation, 250 North St., White Plains, N.Y.10625
SCHUCH U.	- Horticulture Dept., Oregon State Univ., Corvallis, OR 97330
SMALL L.	- Procter & Gamble, 6210 Center Hill Road, Cincinnati, Ohio
SONDAHL S.	- DNAP, 2611 Branch Pike, Cinnaminson, N.J. 08077
TAUSEND P.C.	- McBryde Sugar C° Ltd., P.O.Box 8, Eleele, Hawai
WALLER G.R.	- Biochemistry Dept., Oklahoma State University, Stillwater, Oklahoma 74074

Ethiopie

AREGA T.	- Ministry of Coffee and Tea Development, P.O.Box 2594, Addis Ababa
MOLLA A.	- Ministry of Coffee and Tea Development, P.O.Box 2594, Addis Ababa
SHIFERAW A.	- Ministry of Coffee and Tea Development, P.O.Box 2594, Addis Ababa

France

ANDRE M.	- Service de Radioagronomie, C.E.N., 13115 Saint-Paul-Lez-Durance
CAMINADE J.-L.	- IRCC, 42, rue Scheffer, 75116 Paris
CHARRIER A.	- ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex
COLLOT J.	- ASIC, 42, rue Scheffer, 75116 Paris
CROS E.	- IRCC, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1
DANON J.-L.	- SNICC, 17, rue de Constantinople, 75008 Paris
DEUSS J.	- IRCC, 42, rue Scheffer, 75116 Paris
ESKES A.B.	- IRCC, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1
FRANKEL J.-C.	- SNICC, 17, rue de Constantinople, 75008 Paris
GUYOT B.	- IRCC, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1
JULLIEN R.	- Laboratoire Chimie Structurale Organique, Université Paris-Sud, Bâtiment 410-415, 91405 Orsay Cedex
LE PIERRES D.	- ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex
MARCADET R.	- ASIC, 42, rue Scheffer, 75116 Paris
MULLER R.A.	- IRCC, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1
RAKOTOMALALA J.-J.	- ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex
REFFYE Ph. de	- CIRAD, B.P. 5035, 34022 Montpellier Cedex 1
SALVAGNAC C.	- SOPAD-NESTLE, 17, quai Pt P. Doumer, 92414 Courbevoie
SNOECK J.	- IRCC, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1
VAAST Ph.	- IRCC, 42, rue Scheffer, 75116 Paris
VINCENT J.-C.	- IRCC, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1

Ghana

APPIAH-NKANSAHK O. - Cocobod Plantations Ltd., Box 122, Dunkwa

Grande-Bretagne

CLARKE R.J. - Ashby Cottage, Donnington, Chichester, Sussex PO20
FERIA MORALES A.M. - International Coffee Organization, 22 Berners Street, London W1P 4DD
VERBOOM F.N. - Four Square Div. of Mars GB, Armstrong Rd, Basingstoke, Hants RG24 ONU
WILLIAMS A.A. - Sensory Research Laboratories Ltd., 4 High Street, Nailsea, Bristol BS19 1BW

Guatemala

DECAZY B. - Promecafé, IICA, Apdo. Postal 1815, Ciudad de Guatemala

Inde

RAMAIAH P.K. - Director of Research, Coffee Board, N°1 Dr. Veehdi, 560001 Bangalore

Indonésie

PANGGABEAN H. - Association of Indonesian Coffee Exporters, Jl.R.P.Soeroso N°20, Jakarta
SAPTA SURYA - Yasa Setia, Jl. Abdul Muis 26, Jakarta
SOENARYO - Jln. Moh. Seruji 4, Jember
SOEPARWAN WIGNYOSOEMARTO - State Owned Plantation Company, Jalan Gajah Mada 249, Jember

Italie

BRUMEN G. - Illycaffè SpA, Via Flavia 110, 34147 Trieste
ILLY A. - Illycaffè SpA, Via Flavia 110, 34147 Trieste
ILLY E. - Illycaffè SpA, Via Flavia 110, 34147 Trieste
PETRACCO M. - Illycaffè SpA, Via Flavia 110, 34147 Trieste

Japon

OSAJIMA - Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kyuschu University 46-09, Fukuoka 812
WADA K. - Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kyuschu University 46-09, Fukuoka 812

Kenya

MBURU N.J. - Coffee Research Foundation, P.O.Box 4, Ruiru
OPILE W. - Coffee Research Foundation, P.O.Box 4, Ruiru

Malawi

DUNCAN M.D. - Bvumbwe Research Station, P.O.Box 5748, Limbe
PHIRI N.A. - Bvumbwe Research Station, P.O.Box 5748, Limbe

Mexique

RIVERA A. - Moctezuma 114-9, 91000 Xalapa, Ver.
SALLEE B. - IRCC/INIREB, AP 63, 91000 Xalapa, Ver.
AVELINO J. - IRCC/INIFAP, AP 96, CP 30700 Tapachula, Chiapas

Papouasie

KIARA J.M. - PNG Coffee Research Institute, P.O.Box 105, Kainantu, E.H.P.
KULA G.R. - PNG Coffee Research Institute, P.O.Box 105, Kainantu, E.H.P.

Pays-Bas

VAN PELT W. - Grenco, NL-5201 AG 's-Hertogenbosch

Portugal

GUEDES M.E.	- Centro de Inv. das Ferrugens do Cafeeiro, Estação Agronomica Nacional, 2780 Oeiras

Rwanda

BAGILIMANA J.	-
BAYANGABOSE F.	-

Suisse

BAUMANN Th. W.	- Inst. of Plant Biology, University Zurich, Zollikerstr. 107, CH-8008 Zurich
BLANC M.	- Linor, Centre de Développement Alimentaire Nestec S.A., 1350 Orbe
BOCHSLER B.	- Inst. of Plant Biology, University of Zurich, Zollikerstr. 107, CH-8008 Zurich
BOULDOIRES J.-P.	- Nestec, Centre de Développement Alimentaire, Linor, 1350 Orbe
DENTAN E.	- Nestec S.A., Case postale 353, 1800 Vevey
GREEN D.	- Nestec, Centre de Développement Alimentaire, Linor, 1350 Orbe
LIARDON R.	- Nestec Ltd, Nestlé Research Centre, CH-1000 Lausanne 26
MILHAUD S.	- Nestec S.A., Av. Nestlé 55, 1800 Vevey
NEUENSCHWANDER B.	- Inst. Plant Biology, Hegibachstrasse 118, 8032 Zurich
RODRIGUEZ M.F.	- Inst. of Plant Biology, University of Zurich, Zollikerstr. 107, CH-8008 Zurich
SPADONE J.-C.	- Nestec Ltd, Nestlé Research Centre, CH-1000 Lausanne 26
VIANI R.	- Nestle Products Tech. Assistance C° Ltd., Case postale 88, CH-1814 La Tour de Peilz
WINTGENS J.-N.	- Nestec S.A., Services Agricoles, Av. Nestlé 55, 1800 Vevey
WUERZNER H.	- Nestlé Ltd Research Centre, P.O.Box 353, 1800 Vevey

Venezuela

ALVARADO S. G.	-
AMAYA F.	-
CARRILLO B. J.V.	- Productores asociados de café, Bocono
GARCIA ANDRADE N.	- Facultad de Agronomia, Apartado 29050, Caracas
RAMIREZ M. J.R.	- Res. Nova, Apto. 83-A, Urbanizacion Base Aragua, Maracay 2102

Zaïre

BISUTA BIETO	- OZACAF, B.P. 8931, Kinshasa
BWEBWE	- OZACAF, B.P. 8931, Kinshasa
MENDAKA BIKA	- OZACAF, B.P. 8931, Kinshasa
MUDINGAY	- OZACAF, B.P. 8931, Kinshasa

DISCURSO INAUGURAL

Es para mí una feliz oportunidad el poder dar a Ustedes la más cordial bienvenida aquí en Paipa.

Debo agradecerles sinceramente el haber venido numerosos de todos los continentes para fertilizar a la Ciencia del Café por medio de la discusión de los resultados de la investigación.

Hace dieciseis años se reunió en Bogotá por primera vez en Colombia la ASIC. Unos cuantos de los entonces asistentes estamos aquí hoy. Siento la ausencia del Ingeniero René Coste infatigable motor de ASIC y desvelado defensor del Café. ASIC 73 en Bogotá dió impulso definitivo a la constitución del Laboratorio de Investigaciones de la Federación Nacional de Colombia, el LIQC. Es este un ejemplo de las contribuciones de la ASIC para la defensa y promoción del consumo del café, por medio de la investigación.

Hemos creído oportuno asociar la apertura de ASIC 89 con la celebración de los 15 Años de nuestro Laboratorio.

ASIC 89 es complementada por la Exhibición Coffea Technica la cual pretende dar una idea del potencial de recientes avances tecnológicos para la investigación y la industria del café, bajo el lema : Alta Tecnología para Mejor Calidad. La presencia en Coffea Technica de empresas que cristalizan en la actividad industrial desarrollos iniciados en nuestro laboratorio, nos proporciona honda satisfacción.

Esta tarde, a partir de las 3:00 pm tendremos un seminario de celebración de los 15 Años del Laboratorio, en el cual escucharemos conferencias sobre grandes avances científicos y tecnológicos, que nos serán presentadas por el Dr. Hartmut Michel, Premio Nobel de Química 1988 y los profesores Joseph Shell y Heinrich Waenke, todos ellos de la Sociedad Max Planck para el Fomento de las Ciencias, en Alemania.

Esperamos que disfruten de su estadía en Paipa. La organización ha estado en manos de un dedicado grupo de colaboradores del laboratorio, a ellos: mil gracias!

Nestlé de Colombia, Jacobs Suchard Internacional, la Flota Mercante Grancolombiana, el Banco Cafetero, los Exportadores de Café de Colombia, entre otras empresas han querido hacer más agradable, por medio de atenciones, la estadía de ustedes.

El Dr. Otto Vitzthum nos prestó una invaluable colaboración para la realización de ASIC 89 y la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia la hizo posible.

"El progreso es la realización de la utopía" al decir de Oscar Wilde. Hace 16 años lo que aquí reunimos hoy en Paipa era una utopía; pese al dolor que nos embarga, estamos progresando, mil gracias por su atención.

M. Quijano Rico

A NEW WAY TO PROMOTE COFFEE :

"THE POSITIVE EFFECTS OF COFFEE CONSUMPTION"

S. MILHAUD

Senior Vice President, Nestec Ltd.
CH-1800 Vevey, Switzerland

The aim of this project is to promote positive public relations about coffee around the world, taking into account the scientific research which has already been carried out on positive effects of coffee, and even more the results of the new research studies that the project will allow to be undertaken.

Around three years ago, after observing trends in coffee consumption in most of the developed countries, we came to a conclusion :

"one of the reasons for the decline or stagnation of coffee consumption is the poor image of coffee which has developed in the past twenty or thirty years, due to continuous attacks from the scientific world".

These attacks came mainly from the media, specially the press reporting the results of research studies which were performed on the supposed negative effects of coffee, and specially from the way it was reported.

Frequently, when scientists publish results of their research, for instance about pancreatic cancer, or cholesterol, or about fertility, the media reports these studies using highly impressive headlines, whilst most of the time failing to report the limitations of the research that the scientists themselves had very well indicated in their publications.The cumulative effect has been to give the general public an impression that drinking coffee may be a hazardous practice, and progressively coffee has almost taken on the image of a dangerous product.

A lot of knowledge has been accumulated over the years at the coffee industry level allowing the industry to answer the attacks which come year after year. It is observed however that an answer which is sent to a newspaper in rebuttal of a sensational news item about the effect of coffee, even if this answer is published, never has the same impact as the bad news, and most of the time nobody notices the answer.

Positive Public Relations Activity for Coffee

INTRODUCTION

Situation	– Coffee is continuously attacked or the subject of controversy – Manufacturers are on the defensive
Consequences	– Worsening image for coffee – Decline in consumption in some countries, especially North America – Persuades young people away from drinking coffee
Proposition	– Instigate positive PR for coffee based on irreproachable scientific findings.

Considering this fact, we are faced with the following alternatives :

- either we can simply continue to be permanently on the defensive, waiting for the next attack, and spending money to prove that it was wrong,

- or we can start to be more aggressive and take the initiative by talking positively about coffee.

It is clear that some people will be reluctant to start talking about the so-called positive effects of coffee, thinking that this will create reactions and polemics, giving a new chance to the opponents of coffee to talk about the supposed negative effects.

Although we must admit that this risk exists, if we don't do anything, there is no reason to expect any change in what has happened in the last twenty years and the image of coffee will continue to get worse and worse. Surely, we have all come to the conclusion that it is better to try to do something than to simply maintain the passive defensive posture of the past twenty years.

In addition, we have the deep conviction that coffee, far from being harmful, when consumed in normal quantities, has really positive physiological effects on the people who drink it.

It is clear also that all claims made about the positive effects of coffee must be absolutely proved by scientific research studies initiated and controlled by scientific people, with all of the necessary precautions to avoid any risk of creating a new battle about the effects of coffee.

One may wonder why so much research has been made on the supposed negative effects of coffee and so little on the positive. The simple answer is that coffee is a little mysterious as well as being an exciting drink. It is quite normal therefore that scientists try to find if there are any negative effects coming from the consumption of

such a product. It is also much easier to measure the correlation between an illness and the consumption of coffee, as these are perceptible quantitative data, whereas it is more difficult to measure the correlation between coffee consumption and its positive effects on normal physiological parameters which are subject only to slight improvement. It is also clear that publishing about the possible dangers of coffee generates more interests from the large communication media, and hence scientists are more motivated to work on such a subject.

Given all these considerations it was decided by several large members of the coffee industry, to start this project, which mainly consists of promoting research studies into the positive effects of coffee, and further promoting better ways to communicate the results of this research to the general public.

After the agreement which was reached between the main worldwide coffee manufacturers, we talked to the main coffee producing countries (Brazil, Mexico, Columbia) and immediately got their support to go ahead.

Their support came through the ICO and at the beginning of 1988 the **Strategic Committee**, was created, which includes one representative of the Top Management of the 6 founding companies:

- General Foods, Jacobs Suchard, Douwe Egberts, Lavazza, Illy, Nestlé

and the Managing Director of the ICO.

The objectives of the Strategic Committee are given below :

Positive Public Relations Activity for Coffee

STRATEGIC COMMITTEE

1. **OBJECTIVES** to define the strategy to be followed for positive PR activity for coffee and to ensure that it takes place.
The Strategic Committee will have to deal with:

SUBJECTS, from among those proposed by PEC.
- Selection of suitable subjects
- Decide on future research topics

STRUCTURE to be put in place and made to work
- PR committee
- Central PR agency
- Diffusion systems

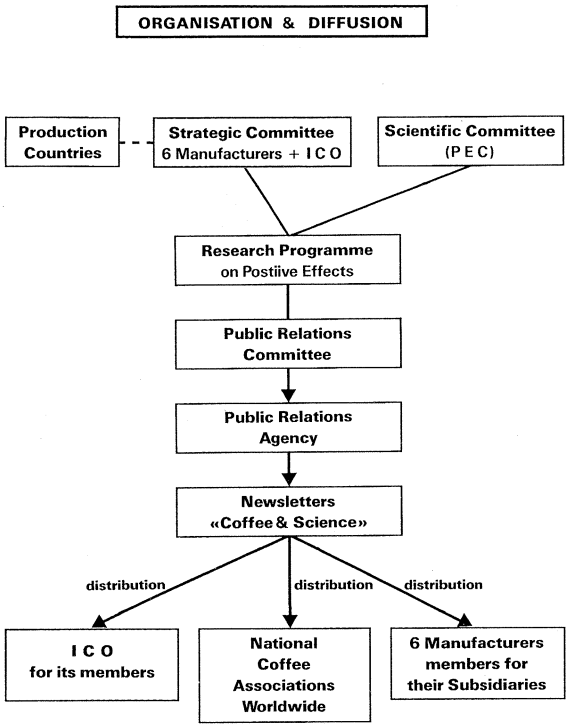
FINANCE, assure finance for
- Future research
- PR material development
- PR campaigns (mainly local)

The **Strategic Committee** is assisted in this action by two other Committees :

1. **PEC** : Physiological Effects of Coffee Committee which consists of scientific representatives of coffee manufacturers. PEC has already worked for at least ten years as the Scientific Committee advising the ICO.

2. The **Public Relations Committee**, composed of representatives of most European coffee manufacturers which has the function of creating the material, with the help of a public relations agency, which will be sent to the **National Coffee Associations** for action.

Positive Public Relations Activity for Coffee



The research programme and the work of the central public relations agency is today financed by the Promotional Fund of the ICO. Dr. Beltrao, as the Managing Director of the ICO, belongs to the Strategic Committee.

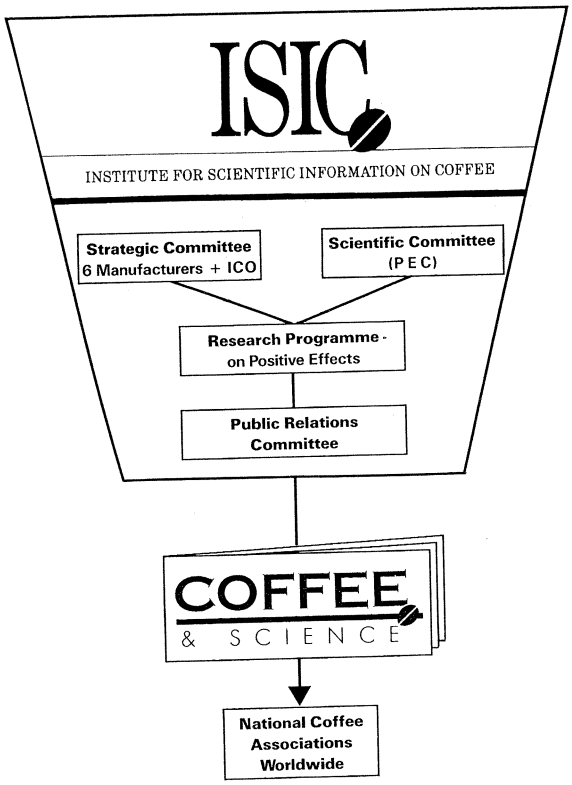
I would like to emphasise that the role of all these Committees, and the aim of the project is only to issue good material based on scientific research studies concerning the positive effects of coffee.

Since each country has its specific character, its specific situation as well as its specific media, news papers, TV channels, etc, each National Coffee Association has the responsibility to defend coffee in its own country, and decide how the material can best be used in its country.

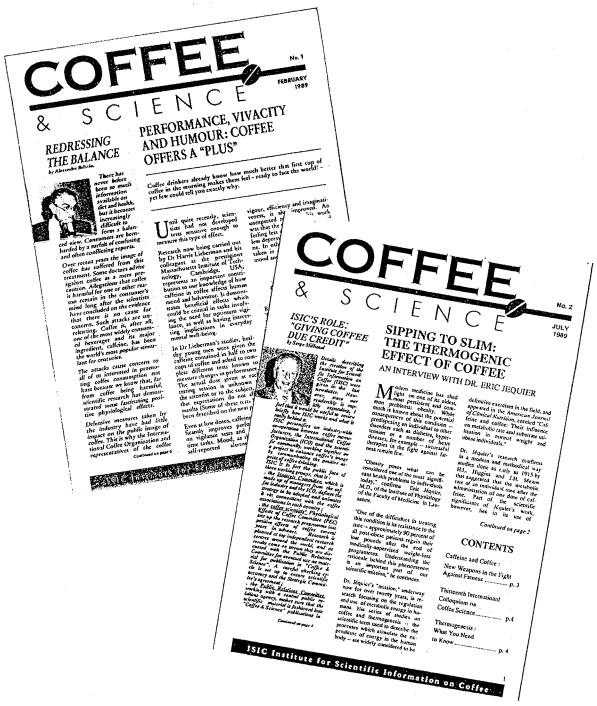
The organisation of the project is complicated, so there is the necessity to have one body which is seen to be promoting the project. We have called this body **ISIC: the Institute for Scientific Information on Coffee**, it is the visible communication channel of our the project, via its publications called "Coffee & Science".

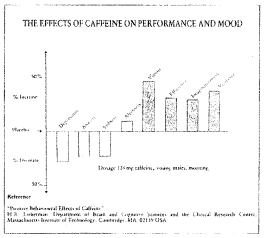
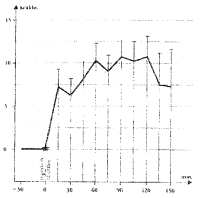
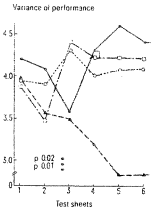
Today the project is Europe based,but the material will be issued globaly through the ICO.

From among the existing research data, we have already published in the first issue of "Coffee & Science" results from Professor Lieberman (MIT) about "Improvement in mood". The The results from Professor Jéquier (Lausanne University, Switzerland) on the " Increase in Energy Expenditure" are in the second Newsletter and some results of the work of Professor Bättig (Zurich University, Switzerland) on the "More regular performance during montonous tasks" will be published in the third Newsletter .



I S I C Newsletters: «Coffee & Science»



Proven Positive Effects of Coffee Consumption	3 Scientific Publications showing Positive Effects of Coffee Consumption
– Increases intellectual speed 5-10 %. – Helps keep awake. – Improves imaginativeness. – Fights sadness, anxiety and depression. – Improves reaction time. – Helps burn excess calories via «thermogenesis». – Improves stamina and endurance. – Alertness and performance improved during monotonous tasks. – Moderates asthma symptoms. – Lowers tumour incidence in animals. – Cover 10 % RDA of niacin. – Contains a significant level of potassium.	A. Prof. LIEBERMAN (USA): Improvement in mood and intellectual performance.  B. Prof. JEQUIER (Switzerland): Increase in energy expenditure (thermogenesis).  C. Prof. BAETTIG (Switzerland): More regular performance during monotonous tasks. 

To ensure future continuity, PEC has initiated a research programme for the next three years, including such topics as :

P E C (Physiological Effects of Coffee Committee) Research Programme on Positive Effects of Coffee Consumption	
1. Improvement in physical performance. (**Dodd**, USA, 1989) 2. Coffee can help you control «stress». (**Bättig**, Switzerland, 1990) 3. Protective effect of coffee against carcinogenic agents.(**Abraham**, India, 1989) 4. Memory improvement. (**Lieberman**, USA, 1990)	5. Prevention of cardiovascular attacks. (**Binder**, Austria, 1990) 6. Stimulation of Energy Metabolism. (**Jéquier**, Switzerland, 1990) 7. Intellectual performance improvement. (**Snel**, Holland, 1991)

This programme is an important start, however we do not feel that it is sufficient and we would be very glad if scientific people would come to us to propose research projects for financing. We know that one of the difficulties of our project will be to find scientists ready to spend time to work on the positive effects of coffee.

I hope that, by publishing results on the positive effects of coffee, we will stimulate the scientific world. Maybe some scientists will try to do the same research to prove that we are wrong. I don't think this will be a bad thing, because at least they will resaerch on positive effects, and if the articles which are published regularly in the newspapers would be on different researches relating results as to positive effects, this can only be to our advantage.

MILHAUD (S.). - A new way to promote coffee : "The Positive Effects of Coffee Consumption". XIIIe Colloque Scientifique International sur le Café, Paipa (Colombie), 21-25 août 1989. ASIC (Paris), 1989, 6p, 8 tabl.

In order to counteract a worsening image for coffee caused by continuous attacks and controversy on health aspects, the industry has decided to create **ISIC** to propagate worldwide information about the positive effects of coffee consumption via publications called "Coffee & Science". These provide easily read summaries of scientific research dealing with the positive effects on coffee drinkers. Local coffee associations receive the material and decide how best to use it. A programme of scientific research has been established to provide future data for use in "Coffee & Science" publications.

MILHAUD (S.). - Une nouvelle façon de promouvoir la consommation de café "Les Effets Positifs de la Consommation de Café". XIIIe Colloque Scientifique International sur le Café, Paipa (Colombie), 21-25 août 1989. ASIC (Paris), 1989, 6p, 8 tabl.

Afin de redresser une image du café qui, par des attaques continues et des controverses sur les aspects de la santé, se dégrade continuellement, l'industrie du café a décidé de créer l'ISIC. Cet organe a pour but de diffuser mondialement l'information concernant les effets positifs de la consommation de café par des publications intitulées "Café & Science". Celles-ci fournissent des résumés de recherches scientifiques, faciles à lire, et traitant des effets positifs de la consommation de café. Les associations de café locales recoivent le matériel et décident comment l'utiliser au mieux. Un programme de recherche scientifique a été établi afin de fournir des données qui pourront être utilisées dans ces publications.

COFFEE AND CHOLESTEROL.
EPIDEMIOLOGICAL OBSERVATIONS,
HUMAN EXPERIMENTS, ANIMAL EXPERIMENTS

S. HEYDEN and K. A. SCHNEIDER
Duke University Medical Center
Departments of Community and Family
Medicine and Pathology
Durham, NC 27710, USA

Introduction

In 1987 we (Thelle, Heyden, Fodor) had pointed out unexplainable discrepancies in results emanating from cross-sectional studies of the effect of coffee drinking on cholesterol. Investigators from 11 countries, including Australia, Belgium, England, Finland, Germany, Holland, Israel, Italy, Norway, Sweden and several U.S. research centers came to widely different conclusions particularly in marked sex differences in response of cholesterol levels to increased coffee consumption. We demonstrated 5 distinct groups of results from these observational studies: 1. Some appeared to show significantly positive associations between coffee and cholesterol in both sexes; 2. others could not confirm such an effect of coffee on cholesterol concentrations in either sex; 3. another subgroup would find a significant association in women only; 4. a fourth set of data found a significant association only in men; 5. finally, a few studies were conducted in men only, one half of which concluded that indeed, there <u>was</u>, and the other half that there was <u>no</u> association between coffee consumption and cholesterol levels.

Recent reviews on this deplorable state of epidemiological research have lamented that no solution appears to be forthcoming which would put an end to what seems to amount to endless speculations. Even Professor Thelle whose Tromso Heart Study had contributed more than any other investigation to the present controversy, resignated in response to an avalanche of letters to the editor of the N. Engl. J. Med. (Nov. 17, 1983): "Coffee consumption seems to be a major determinant of serum cholesterol level in our population but evidently not in others."

One could put the hypothesis to rest were it not for the fact that the general public as part of the increasing health awareness has now been alerted and is demanding a clear answer from their personal physicians. In the meantime, more reports keep surfacing in the medical literature further complicating a theoretical issue. It is our intent to contribute to a solution of the cholesterol-coffee problem by focusing on four questions which present logical outgrowths of the past 20 years of research in this field.

A. What are the cardioprotective high density lipoprotein (HDL) cholesterol levels showing us in those 18 studies in which they were measured?

B. In the six prospective studies where serum total cholesterol and coffee consumption was recorded at baseline, how did the coffee drinking habit rank as risk factor for the study end points either by itself or in conjunction with the cholesterol level?

C. More importantly than descriptive-observational studies, how did experimental-interventional trials contribute to the coffee-lipid and coffee-lipoprotein associations?

D. Does the animal model provide any insight into the cholesterol-coffee association?

Epidemiological Studies

A. High Density Lipoprotein - Cholesterol:

We find it remarkable that not a single study to date has found an HDL-lowering effect of increased coffee consumption. The Belgian Study (Pietinen

et al., 1988) showed slight increases of HDL levels from 0 to 40 cups of coffee/week in both sexes, significant only in women, i.e. from 53 to 56 mg/dl. The San Antonio Heart Study (Haffner et al., 1985) likewise demonstrated an increase of HDL levels from 53.5 in <1 cup/day to 56.5 mg/dl in female coffee consumers with 8 + cups/day. No changes were found among males.

In a German observational study by Arab-Kohlmeier (1989) young female coffee drinkers age 18-24 years showed significantly increased HDL levels with increasing coffee intake, i.e. 49 mg/dl at less than 1 cup/day to 52 mg/dl at 1-2 cups/day to 54 mg/dl at 3-4 cups/day and 57 mg/dl at > 4 cups/day. These HDL levels represent mean levels adjusted for alcohol intake, fat consumption, physical activity, body mass index and contraceptive use (Fig. 1). No changes were observed in men.

In the Southern California LRC Study (Mathias et al., 1985), HDL levels were elevated slightly in women who drank 2 cups of coffee or more per day. No changes were seen in males.

The Jerusalem Lipid Research Clinic prevalence study (Kark et al., 1985) summarized: "HDL cholesterol concentrations were mildly but significantly higher in women who drank coffee ($p < 0.01$)." However, this was not found to be true in male coffee drinkers. On the other hand, in a study of 658 Israeli men, Green and Jucha (1986) reported that the adjusted HDL levels for younger males (20-39 years) increased from 47.7 mg/dl to 49.2 mg/dl among non-coffee drinkers in comparison with users of $\geq$ 5 cups of coffee. In the older group, (40 to 69 years) the HDL levels remained the same in non- or high coffee consumers. Adjustment included Quetelet index, smoking, alcohol consumption and participation in leisure-time sport.

Tuomilehto et al. (1987) also reported a slight but non-significant increase in adjusted HDL levels among Finnish men and women with increased coffee drinking habits, with 47.1 and 55.7 mg/dl for non-coffee consuming men and women, respectively and 47.6 and 57.2 mg/dl for drinkers of 10 cups and more per day. Adjustment was made for age, body mass index, saturated fat intake,

smoking, fasting time, alcohol drinking, physical activity and sugar intake.

The Beaver County Study (Donahue et al., 1987) revealed an increase in HDL levels in both sexes: men from 46.5 mg/dl among non-drinkers to 48.2 mg/dl at 3 cups; women from 53.7 among non-drinkers to 57.2 mg/dl at 3 cups. Apolipoprotein A-I levels paralleled these findings in the HDL fraction.

In ten more studies in which HDL measurements were performed, no changes and notably no decrease with increased coffee drinking were reported. Thus, results of the HDL-cholesterol and coffee association reflect a similarly conflicting evidence as the relations of coffee use to total cholesterol levels.

B. Prospective Studies:

1. The Evans County Study (Heyden et al., 1978) had found no increase of cholesterol levels with higher coffee consumption among 2530 men and women and no association of coffee intake and 5 year mortality from all causes, stroke or CHD.

2. The Hypertension Detection and Follow-up Program (HDFP, Davis et al., 1984) had published age-adjusted mean serum cholesterol levels ranging from 228 to 230, to 233 and 235 mg/dl respectively for coffee drinkers of < 1 c./day to 1-4 c./day to 5-8 c./day to > 9 c./day. These small increases in cholesterol levels did not influence the CHD death rates over a four year observation period in the hypertensive population of 10,000 men and women as shown in Table 1. Compared to non-coffee drinkers and no-caffeine users, the light, medium or strong coffee/caffeine users had slightly albeit insignificantly lower rates of CHD than the no coffee group (Martin et al., 1988).

3. The prospective MRFIT Study had admitted hypercholesterolemic men into this 6 year long trial. Caggiula et al. (1986) concluded: "The results of this large, carefully evaluated longitudinal study do not support a relationship between coronary heart disease events or total mortality and coffee consumption in these high risk men." A coffee-cholesterol link was not discussed in this study since 83% of the men were hypercholesterolemic at baseline.

4. The Framingham Heart Study showed sex differences in cholesterol levels among coffee drinkers (Tables 2 and 3). In men significant negative associations between coffee and total cholesterol and VLDL-C were found, whereas in women positive associations with LDL-C were observed. "Although inconsistent effects on the lipid profiles were seen, no increase in primary or secondary cardiovascular disease was seen with coffee drinking" (Wilson et al., 1989).

5. The prospective Chicago Western Electric Study (Shekelle et al., 1989) followed 1873 men who were 41-57 years old and free of CHD in 1959. Follow-up to 1983 demonstrated that those men who reportedly consumed 6 + cups of coffee/day compared to those who consumed < 6 cups, had a 5.6 mg/dl increase in total cholesterol, twice the incidence of first major coronary events during 8 years of follow-up, and 1.5 times the risk of coronary death during 21 years of follow-up. The authors venture the opinion that the increased risk for CHD is absent in men with serum cholesterol levels < 230 mg/dl but may be significant for strong coffee drinkers with cholesterol levels > 230 mg/dl. It should not have escaped the reader that this paper represents the fourth interpretation of the same study: The 1st report by Paul et al. in 1963 on the Chicago Western Electric Study placed the blame for CHD on coffee; this association was later discussed in conjunction with intake of sugar in the coffee and ultimately, by Paul et al. (1968), to the association between coffee use and cigarette smoking.

6. The Kaiser Permanente Study so far has offered three versions: Klatsky et al. in 1973 had stated: "Coffee drinking is not an established risk factor for myocardial infarction." Klatsky et al. in 1985 found a positive association between increased coffee intake and higher cholesterol levels. In 1989 the same authors concluded from a new cohort study that coffee consumption presents an independent risk for acute myocardial infarction, independent of a coffee-cholesterol link (Klatsky et al., Abstract, 1989).

On balance, it appears that of the 6 prospective studies, 4 showed no association between coffee and CHD, irrespective of cholesterol levels.

Nevertheless, we are faced with the same unsatisfactory inconsistencies of results from within the same study centers; the Western Electric Studies seem to show a link of coffee with CHD via cholesterol and the Kaiser Permanente Studies apparently deny the cholesterol link but associate coffee consumption with CHD. These paradoxes lead the practitioner to the simple but unanswerable question, when do we get the next interpretation and which are we supposed to apply to our patients?

C. Human Experimental Studies:

When neither observational, cross-sectional, prevalence studies nor prospective studies of populations permit any conclusion on causality between coffee and cholesterol, one can resort to the experiment. In the past 20 years, ten human trials were conducted. If one were to present an optimistic forecast for the solution of the coffee-cholesterol problem, one would surmise from Table 4 that the results of ten human trials offer two preconditions for increasing cholesterol levels with increasing coffee consumption, a) the volunteers must be mildly or severely hypercholesterolemic, with baseline cholesterol levels ranging from 205 to 332 mg/dl; b) if no hypercholesterolemic patients are available, use boiled coffee. Table 4 provides evidence for an absence of influence of coffee on cholesterol when a) persons with cholesterol levels between 167 and 204 mg/dl are tested, or b) people who are accustomed to drinking boiled coffee, switch to instant or percolated coffee (see experiment by Aro et al., 1985).

Four of the ten human trials also employed lipoprotein measurements and thereby provided additional support for the above hypothesis. Three experiments used 173 volunteers with cholesterol levels in the normal range between 167 and 200 mg/dl. In those three (Rosmarin et al., 1988, Paoletti et al., 1989, Sedor et al., 1989), neither apolipoprotein A nor B was changed. Only the 4th experiment with 42 volunteers who displayed severe hypercholesterolemia (averaging 304 mg/dl) showed an increase in apo B (Aro et al., 1987).

Three more descriptive-epidemiological studies have determined apolipoprotein levels. Again, only the one which at the onset had 77 men with mild cholesterol elevation (214 mg/dl) demonstrated apo B increments with greater coffee consumption (Williams et al., 1985). Among 572 men and women with baseline cholesterol between 175 and 187 mg/dl, no change in apo A or apo B was recorded with increased coffee intake (Donahue et al., 1987, Kullmer et al., 1988).

If this optimistic approach to the solution of the cholesterol-coffee problem proves justified, then only two recommendations need to be issued. 1. Hypercholesterolemic patients should abstain from coffee-caffeine for a period of 4 weeks, remain weight stable and not change their diet or life style in any other way. If total and HDL-cholesterol after this coffee-caffeine free period do not change, we see no reason to curtail the use of either coffee or caffeine. 2. Further research may concentrate on the substances extracted from coffee ground in the intense heating process of boiling coffee.

D. Animal Experiments

An additional possibility beyond human trials remains by utilizing the animal model. Coffee feeding experiments in rabbits have been carried out as early as 1958. Over the last 30 years -surprising as it may seem - not a single experiment with rabbits, rats or rhesus monkeys with caffeine, applied orally or subcutaneously or intravenously has shown a cholesterol raising effect. Aortic atherogenesis was reduced in comparison to animals fed the control diet without caffeine. This unanimous finding of an absence of coffee's influence on cholesterol represents stark contrast to the human observational studies, but does not lead us out of the present dilemma.

REFERENCES:

1. Arab-Kohlmeier, L: Coffee and cholesterol in Germany. Presented at the Workshop of Coffee and Coronary Heart Disease with Special Emphasis on the Coffee - Blood Lipids Relationship. May 8 - 10, 1989, The Nordic School of Public Health, Goteborg, Sweden.

2. Aro A, Kostiainen E, Huttunen JK, Seppala E, Vapaatalo H: Effects of coffee and tea on lipoproteins and prostanoids. Atherosclerosis 57:123-8, 1985.

3. Aro A, Tuomilehto J, Kostiainen E, Uusitalo U, Pietinen P: Boiled coffee increases serum low-density lipoprotein concentration. Metabolism 36:1027-30, 1987.

4. Arnesen E, Forde OH, Thelle DS: Coffee and serum cholesterol. Br Med J 288:1960, 1984.

5. Bellet S, Kershbaum A, Aspe J: The effect of caffeine on free fatty acids. Arch Intern Med 116:750-6, 1965.

6. Caggiula AW, Tillotson J, Grandits TD, Kuller LH, Ockene J, (For the MRFIT Group). Coffee drinking, coronary heart disease and total mortality. Presented at X World Congress of Cardiology, September 14-19, 1986, Washington, DC.

7. Davis BR, Curb JD, Borhani NO, Prineas RJ, Molteni A: Coffee and serum cholesterol in the Hypertension Detection and Follow-up Program. CVD Epidemiol. Newsletter AHA 37:48, 1985.

8. Donahue RP, Orchard TJ, Stein EA, Kuller LH: Lack of an association between coffee consumption and lipoprotein lipids and apolipoproteins in young adults: The Beaver County Study. Prevent Med 16:796-802, 1987.

9. Forde OH, Knutsen SF, Arnesen E, Thelle DS: The Tromso Heart Study. Coffee consumption and serum lipid concentrations in men with hypercholesterolaemia. A randomized intervention study. Br Med J 290:893-5, 1985.

10. Green MS, Jucha E: Association of serum lipids with coffee, tea, and egg consumption in free-living subjects. J Epidemiol Commun Hlth 40: 324-329, 1986.

11. Haffner S, Knapp A, Stern M, Hazuda HP, Rosenthal M, Franco LJ, (San Antonio Heart Study): Coffee consumption, diet and lipids. Am. J. Epidemiol. 122: 1-12 1985.

12. Heyden S, Tyroler HA, Heiss G, Hames CG, Bartel A.: Coffee consumption and mortality. Total mortality, stroke mortality, and coronary heart disease mortality. Arch. Int. Med. 138: 1472-1476, 1978.

13. Hill C: Coffee consumption and cholesterol concentrations. Letter to the editor. Br Med J 290:1590, 1986.

14. Kark JD, Friedlander Y, Kaufmann NA, Stein Y.: Coffee, tea, and plasma cholesterol: the Jerusalem Lipid Research Clinic Prevalence Study. Brit. Med. J. 291: 699-704 1985.

15. Klatsky AL, Friedman GD, Siegelaub AB. Coffee drinking prior to acute myocardial infarction: Results from the Kaiser-Permanente Epidemiologic Study of myocardial infarction. JAMA, 226: 540-543 1973.

16. Klatsky AL, Petitti DB, Armstrong MA, Friedman GD. Coffee, tea and cholesterol. Am J Cardiol (Feb.) 577-578, 1985.

17. Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD: Coffee use and acute myocardial infarction. JACC 13 (Feb.) 1989 (Abstract) 36A.

18. Kullmer T, Kullmer B, Kindermann W: Behavior of apolipoproteins and lipoproteins with chronic coffee consumption. Herz/Kreisl 20:242-9, 1988.

19. Martin JB, Annegers JF, Curb JD, Heyden S, Howson C, Lee ES, Lee M. Mortality patterns among hypertensives by reported level of caffeine consumption. Prev Med 17: 310-320, 1988.

20. Mathias S, Garland C, Barrett-Connor E, Wingard DL, (Southern California LRC Study): Coffee, plasma cholesterol, and lipoproteins: A population study in an adult community. Am. J. Epidemiol. 115: 896-905, 1985.

21. Naismith DJ, Akinyanju PA, Szanto S, Yudkin J: The effect in volunteers of coffee and decaffeinated coffee on blood glucose, insulin, plasma lipids and some factors involved in blood clotting. Nutr Metabol 12:144-51, 1970.

22. Paoletti R, Corsini A, Tremoli E, Fumagalli R, Catapano AL: Effects of coffee on plasma lipids, lipoproteins and apolipoproteins. Pharmacol Res 21:27-38, 1989.

23. Paul O, Lepper MH, Phelan WH, Dupertuis GW, MacMillan A, McKean H, Park H: A longitudinal study of coronary heart disease. Circulation 28:20-31, 1963.

24. Paul O, MacMillan A, McKean H, Park H: Sucrose intake and coronary heart disease. Lancet 2:1049-1051, 1968.

25. Pietinen P, Geboers J, Kesteloot H: Coffee consumption and serum cholesterol: An epidemiological study in Belgium. Internat. J. Epidemiol 17:98-104, 1988.

26. Rosmarin PC, Applegate WB: The effect of coffee on serum lipids. Clin Res 36:7A (Abstract), 1988.

27. Sedor FA, Schneider KA, Heyden S: Absence of effect of coffee and caffeine on cholesterol, HDL-C, and apolipoproteins, corroborated by serum caffeine analyses. (in press), 1989.

28. Shekelle RB, Dyer AR, Stamler J: Coffee and risk of coronary heart disease in a population of employed, middle-aged men: The Western Electric Study. Presented at Workshop on Coffee, Plasma Lipids and Coronary Heart Disease, Goteborg, Sweden, May 8-10 1989.

29. Thelle DS, Heyden S, Fodor JG: Coffee and cholesterol in epidemiological and experimental studies. Atherosclerosis 67:97-103, 1987.

30. Thelle DS, Arnesen E, Forde O: Letter to the editor (Nov. 17) N Eng J Med 309: 1250, 1983.

31. Tuomilehto J, Tanskanen A, Pietinen P, Aro A, Salonen JT, Happonen P, Nissinen A, Puska P: Consumption of coffee is correlated with serum cholesterol in middle-aged Finnish men and women. J Epidemiol Commun Hlth 41:237-42, 1987.

32. Williams PT, Wood PD, Vranizan KM, Albers JJ, Garay SC, Taylor B: Coffee intake and elevated cholesterol and apolipoprotein B levels in men. JAMA 253:1407-11, 1985.

33. Wilson PWF, Garrison RJ, Kannel WB, McGee DL, Castelli WP: Is coffee consumption a contributor to cardiovascular disease? Insights from the Framingham Study. Arch Intern Med 149: 1169-1172, 1989.

SUMMARY

Conflicting results of prevalence studies regarding the relationship of coffee and caffeine to cholesterol metabolism have been reported. Some authors find a cholesterol increase with increased consumption, while other find no

change. We suggest that the occasional increase in cholesterol associated with coffee in observational studies of normocholesterolemic persons is not causal. This notion is confirmed by the results of 10 experimental intervention studies, 4 of which showed an increase of cholesterol levels with increasing coffee consumption while 6 experiments did not. The 4 intervention studies were conducted in slightly or severely hypercholesterolemic men and women in Scandinavian countries and England with baseline cholesterol levels ranging from 5.30 to 8.59 mmol/L (205 to 332 mg/dl), whereas the subjects in the remaining experiments were normocholesterolemic ($\leq$5.28 mmol/L = $\leq$204 mg/dl), residing in non-Scandinavian countries, meaning they did not use boiled coffee. Another important aspect of the potential effect of coffee/caffeine on lipid metabolism is the observation from 18 studies in which the high density lipoprotein (HDL-C) levels were measured. In some investigations this cardioprotective HDL-C level increased with higher coffee intake while not a single study found a reduction of HDL-C levels.

Additional evidence is presented from 7 more recent investigations which used either the observational or the experimental methods of coffee use and abstinence from either coffee or caffeine and measured apolipoproteins. Again, as in the reports which included HDL-C determinations, not a single experiment found a deleterious effect on the apolipoprotein A I or II, confirming the finding in HDL-C levels. Apolipoprotein B was seen to increase in 2 of these 7 studies, one with a baseline cholesterol of 5.53 mmol/L (214 mg/dl) and the other with 7.86 mmol/L (304 mg/dl).

It appears to us that a cholesterol-raising effect of coffee reported by some studies may be linked to an elevated cholesterol level at baseline. Normocholesterolemic persons do not need to be concerned about their coffee drinking habits. Hypercholesterolemic persons in Finland and Norway may want to test their cholesterol levels before and after a period of four weeks of abstention from coffee and may want to switch from boiled to percolated or instant coffee.

Résumé

Café et cholestérol.

Des résultats contradictoires issus d'études de prévalence concernant la relation café, caféine et métabolisme du cholestérol ont été publiés. Quelques auteurs trouvent que le cholestérol augmente avec la consommation alors que d'autres ne constatent pas de changement. Nous suggérons que l'augmentation occasionnelle du cholestérol associée au café dans des études d'observation de personnes normocholestérolémiques n'est pas causale. Cette notion est confirmée par les résultats de 10 études d'intervention expérimentales, 4 montrant une augmentation des niveaux de cholestérol avec l'accroissement de la consommation de café alors que les 6 autres non. Les 4 études d'intervention ont été conduites chez des hommes et des femmes légèrement ou sévèrement hypercholestérolémiques, dans des pays scandinaves et en Angleterre, avec des niveaux de base de cholestérol entre 5,30 et 8,59 mmol/l (205 à 332 mg/dl) alors que les sujets des 6 autres études étaient normocholestérolémiques ($\leqslant$ 5,28 mmol/l = $\leqslant$ 204 mg/dl) et ne résidaient pas dans des pays scandinaves, ce qui signifie qu'ils ne consommaient pas de café bouilli. Un autre aspect important de l'action du café/caféine sur le métabolisme lipidique est l'observation que l'on peut faire à partir de 18 études où les niveaux de lipoprotéines de haute densité (HDL-C) ont été mesurés. Dans certaines de ces investigations le niveau de HDL-C cardioprotectrices a augmenté avec l'ingestion accrue de café et aucune étude n'a observé de réduction des niveaux HDL-C.

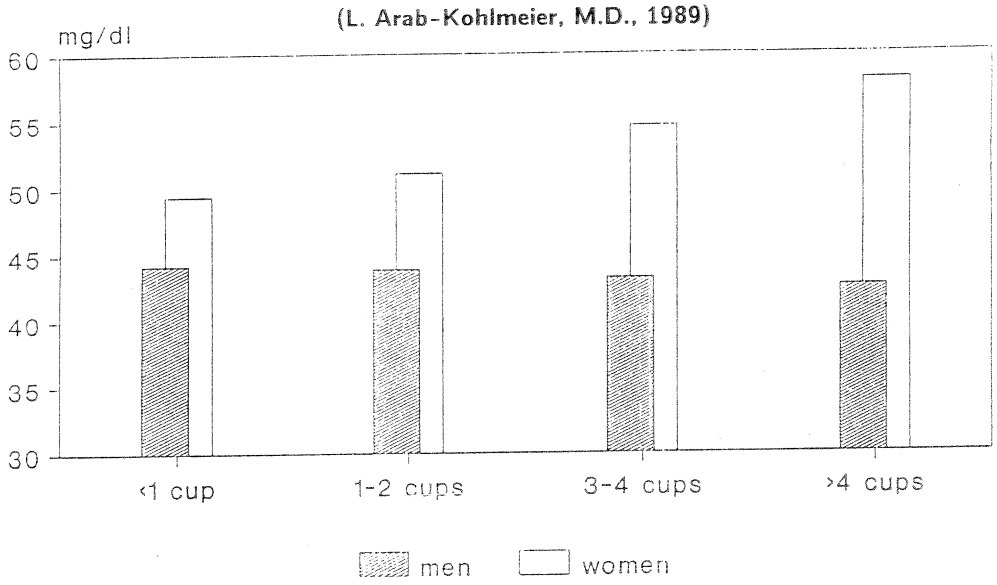
Une autre évidence est fournie par 7 autres études plus récentes, soit d'observation, soit expérimentales, quant à la consommation de café et l'abstinence soit de café, soit de caféine et les apolipoprotéines mesurées. A nouveau, comme dans les rapports comportant des déterminations de HDL-C, aucune étude n'a révélé d'action néfaste sur les apolipoprotéines A I ou II, confirmant ainsi les résultats en HDL-C. On a observé une augmentation de l'apolipoprotéine B dans 2 de ces 7 études, pour un niveau de base de cholestérol de 5,53 mmol/l (214 mg/dl) dans un cas et 7,86 mmol/l (304 mg/dl) dans l'autre cas.

Il nous apparaît qu'un effet d'augmentation du cholestérol par le café, rapporté par quelques études, pourrait être lié à un niveau de base de cholestérol élevé. Les personnes normocholestérolémiques ne sont pas concernées quant à leurs habitudes de consommation de café. Les personnes hypercholestérolémiques de Finlande et de Norvège devraient faire déterminer leur niveau de cholestérol avant et après une période d'abstinence au café de quatre semaines et elles pourraient vouloir consommer du café obtenu par percolation ou instantané au lieu de café bouilli.

Fig. # 1

Adjusted mean levels of serum HDL cholesterol in men and women (age 18-24) according to coffee consumption*

(L. Arab-Kohlmeier, M.D., 1989)



*** adjusted for alcohol, BMI, physical activity, contraceptive use**

TABLE 1

MORTALITY RATES OVER 4 YEAR FOLLOW-UP BY LEVEL OF CAFFEINE INTAKE

Rate ratios* totalled across subgroups; 95% confidence interval

Mortality (n = 592)	Caffeine Consumption Group			
	None	Low	Medium	High
All-cause	1.00	0.82	0.82	0.90
Cerebrovascular	1.00	0.73	0.61	1.30
All other cardiovascular	1.00	0.93	0.81	0.80
Cancer	1.00	0.98	0.95	1.05

* Standardized by race, sex and across five 10-year age groups.

(Martin et al., 1988)

Table 2

AGE ADJUSTED BASELINE MEAN LEVELS OF RISK FACTORS ACCORDING TO COFFEE INTAKE

	Men Cups of Coffee per Day			
	<1 (n=55)	1-2 (n=415)	3-5 (n=307)	6+ (n=68)
Cholesterol, mmol/L	5.80	5.70	5.75	5.41
LDL	3.71	3.63	3.78	3.63
VLDL	0.85	0.85	0.75	0.67
HDL	1.26	1.20	1.19	1.13
Cigarettes, %	24	24	32	39
Systolic BP	137	141	138	136
kg/m^2	25.5	26.1	26.4	25.9

(Wilson et al., 1989)

Table 3

AGE ADJUSTED BASELINE MEAN LEVELS OF RISK FACTORS ACCORDING TO COFFEE INTAKE

	Women Cups of Coffee per Day			
	<1 (n=159)	1-2 (n=569)	3-5 (n=431)	6+ (n=80)
Cholesterol, mmol/L	6.06	6.22	6.32	6.27
LDL	3.83	3.99	4.09	4.07
VLDL	0.75	0.72	0.70	0.72
HDL	1.48	1.49	1.52	1.47
Cigarettes, %	23	22	33	56
Systolic BP	142	144	139	137
kg/m^2	25.6	25.5	25.8	25.0

(Wilson et al., 1989)

Table 4

THE INFLUENCE OF COFFEE-CAFFEINE ON CHOLESTEROL IN EXPERIMENTAL STUDIES

Principal Author	Year of Publication	Baseline Cholesterol mmol/L	mg/dl	Number of Persons	Results: + Increased cholesterol - No Change
Arnesen (N)	(1984)	5.30	205	17	+ *
Forde (N)	(1985)	8.59	332	33	+ *
Aro (SF)	(1987)	7.86	304	42	+ *
Naismith (UK)	(1970)	6.67	258	20	+
Bellet (US)	(1965)	"normal"		34	-
Hill (UK)	(1986)	4.32	167	15	-
Aro (SF)	(1985)	4.97	192	12	-
Rosmarin (US)	(1988)	4.32	167	21	-
Paoletti (I)	(1989)	5.28	204	83	-
Sedor (US)	(1989)	5.17	200	63	-

*Boiled coffee used in these experiments.

BIOCHEMICAL MECHANISM OF CAFFEINE TOLERANCE

H. P. T. AMMON
Department of Pharmacology, Institute of Pharmaceutical Sciences,
University of Tuebingen, FRG

INTRODUCTION

During the last years evidence accumulated that after long term administration of high doses of caffeine, experimental animals as well as humans develope tolerance against its pharmacological actions. Moreover, a clinical syndrome known as the caffeine withdrawal syndrome has been described especially in people consuming daily high amounts of caffeine, upon cessations of caffeine ingestion.

There are two major possibilities for drug tolerance. One is an increased rate of elimination, the other one a diminished response of target tissues. In case of caffeine no acceleration of caffeine elimination has been found after prolonged coffee intake. Therefore, it is plausible that tolerance of the tissues responding to caffeine must have developed.

MECHANISM OF CAFFEINE ACTION

Caffeine and other methylxanthines i.e., theophylline and IBMX (isobutyl methylxanthine) are for long known to be inhibitors of phosphodiesterase.

Phosphodiesterase is the enzyme which catalizes the breakdown of cyclic adenosine monophosphate. cAMP acts as a "second messenger" in a variety of hormonal signal transductions. And many of the pharmacological actions of caffeine can indeed be attributed to an elevation of cAMP. However, doubts arised whether these effects of caffeine are really due to inhibition of phosphodiesterase since from in vitro studies it was clear that the concentrations of caffeine which are necessary to produce inhibition of this enzyme are in the range of 0.1 to 1 mM, whereas blood levels of caffeine following moderate coffee ingestion are far less.

Adenosine as a modulator of adenylate cyclase

New ligths into the mechanism of action of caffeine came from observations indicating that caffeine acts as an antagonist of adenosine. Previously the group of John Daily tested a variety of caffeine analogues to find if there are any correlations between adenosine receptor antagonists and behaviour of experimental animals. In these studies it turned out that the central nervous stimulations of caffeine mainly involved blockade of adenosine receptors.

The adenylate cyclase system (Fig.1) consists of a stimulatory and an inhibitory site. Stimulatory hormones i.e., ß-agonists, glucagon and others bind to stimulatory receptors (Rs). The stimulatory hormone-receptor-complex then activates a GTP-binding protein (Gs) which in turn increases the activity of the catalytic unit of this enzyme complex converting ATP to cAMP. On the other hand inhibitory hormones i.e. alpha-agonists, somatostatin and others bind to inhibitory receptors (R_i). The inhibitory hormone receptor complex also activates a GTP-binding proteine (G_i) which, however, decreases the activity of the catalytic unit and therefore decreases cAMP-formation. Both GTP-binding proteins consist of alpha-, beta- and a gamma-subunits. The alpha-subunit is considered to be responsible for the biological effects.

This system became more complicated when it turned out that both G-proteins are controlled by adenosine receptors (Fig.2), a high affinity A_1-receptor

which interacts with adenosine in the range of nM and a low affinity A_2-receptor which interacts with adenosine when present in the range of µM. Binding of adenosine to A_1-receptors inhibits adenylate cyclase activity whereas binding of adenosine to A_2-receptors finally acts stimulatory . Adenosine and the synthetic, more stable, adenosine agonists stabilize a high affinity form of the A_1-receptor thereby establishing conditions which activate the inhibitory G_i-protein and thus declining the activity of the catalytic unit. In this connection the formation of an adenosine-receptor-G_i-protein-complex permits GTP to associate with the alpha-subunit of G_i. This association is followed by dissociation of the ternary complex freeing the GTP-liganded alpha-subunit of G_i which then mediates the inhibition of the cyclase activity. Thereafter, the GTP is hydrolized by a GTP-ase and G_i- becomes inactive. Since both adenosine-receptors interact with different concentrations of adenosine it is easy to understand that at low adenosine the system is usually under inhibition. Under this point of view adenosine can be considered to function as a kind of an inhibitory transmitter. And it is only logical, that antagonists of adenosine finally cause overstimulation of cAMP formation and cAMP-related biological effects.

A_1- and A_2-receptors have been identified in a variety of tissues (Tab.1) and it is interesting to note that as far as the physiological actions of A_1-receptor stimulation is concerned, caffeine and other methylxanthines just produce opposite actions (Tab.2).

Adenosine and neurotransmitters in the brain

In brain adenosine inhibits the release of a variety of neurotransmitters such as acetylcholine, GABA, glutamate, dopamine, noradrenaline, and 5-hydroxytryptamine and in this connection decrease neuronal activity. Logically and consistent with these effects adenosine antagonists in contrary increase neurotransmitter release and cell firing. These effects are thought to be finally responsible for many of the central nervous actions of caffeine. At present it is difficult to prove whether or not the

central nervous effects of adenosine and caffeine - including neurotransmitter release and cell firing - are in general mediated via cAMP, since it was reported that increase of cAMP in the central nervous system may even cause depression.

C A F F E I N E T O L E R A N C E

General biochemical considerations

It is a general phenomenon that tissues react to hormonal overstimulation with a decrease, but to understimulation with an increase of the number of related receptors. In physiological terms this is called "downregulation" and "upregulation" of receptors.

In 1982, Fredholm first considered an effect of chronic ingestion of caffeine on adenosine-A_1-receptor regulation. In receptor binding studies with membranes of brain cortex of rats treated for two weeks with daily ingestions of 10 mg/kg of caffeine there was an increase of the number of binding sites for adenosine. This suggests that part of the physiologically present A_1-receptors must have been inactivated by caffeine and that the tissue has responded to the continous occupation of A_1-receptors with de-novo synthesis of A_1-receptors to compensate for caffeine blockade.

These observations were supported by the findings of Green and Stiles (1986). As a counterreaction to chronic caffeine ingestion in experimental animals they found that in rat brain membranes the binding of the adenosine analogue phenyl-isopropyl-adenosine (PIA), was shifted to the high affinity adenosine-A_1-receptors, also suggesting increased number of A_1-receptors. Since high affinity agonist binding represents the important step for activation of the G_i-protein, the data also suggested that the system was now sensitized to the effects of adenosine and its analogs respectively. This was indeed found to be the case since inhibitory actions of adenylate cyclase by phenylisopropyladenosine were enhanced by 35 % in the membrane

from treated versus control animals.

Further insight into the mechanism of caffeine tolerance comes from "Stiles" group. They found that chronic caffeine treatment not only increased the number of A_1-adenosine receptors but also increased receptor-G_i-coupling. Taken together these changes could account for the sensitization of the adenosine A-$_1$-inhibitory system to endogenous adenosine.

Interestingly, in addition the number of adrenergic ß-receptors was found to be decreased during long term administration of caffeine. This latter observation may be the result of permanent enhanced liberation of neurotransmitters including epinephrine from the adrenal medulla through the adenosine-antagonistic effect of caffeine.

Tolerance has been reported to occur to a variety of pharmacological actions of caffeine. Here, this review will concentrate, however, only on the cardiovascular and central nervous effects.

Cardiovascular System

It is generally accepted that acute administration of caffeine or coffee to humans increases systolic and diastolic blood pressure in the range between 5 and 15 mm Hg. This effect is associated with either a small increase, or with a small decrease of the heart rate. Previous studies (Ammon et al., 1983; Robertson et al. 1978, Greenburg and Shapiro, 1987; Smits et al., 1987) have confirmed these observations. Fig.3 shows the effects of an acute administration of coffee, containing 250 mg of caffeine on systolic and diastolic blood pressure and heart rate.

There are several possibilities by which caffeine acts on the cardiovascular system. First,the interaction with adenosine receptors of the heart will increase cAMP levels and thus stimulate cardiac output. On the other

hand the well known vasodilatatory action of caffeine will also be due to an increase of cAMP and subsequent relaxation of arterial smooth muscles. Second, it is well documented and has also been previously confirmed by Robertson et al. (1978) that caffeine increases blood levels of a variety of hormones elevating blood pressure i.e. epinephrine, norepinephrine, cortisol and renine. Epinephrine by stimulating ß-receptors increases heart rate and contraction force as well as the secretion of renine. Norepinephrine enhances peripheral resistance of arterial blood flow, and corticosteroids sensitize the cardiovascular system to the actions of catecholamines. Finally it is possible that the cardiovascular system is also indirectly affected via central nervous system.

Development of tolerance

Though the blood pressure elevating effect of caffeine is not a matter of controversy there is no evidence for a possible harm to humans. In a 4 years-lasting study including more than 10 000 hypertensive individuals there was no evidence supporting an association between increased caffeine consumption and increased all-cause mortality (Martin et al., 1988). Such an observation is not surprising since evidence has been presented by two groups (Robertson et al., 1981 and Ammon et al., 1983) that blood pressure and heart rate develop tolerance against long term ingestion of high caffeine and coffee.

In the study of Robertson et al. (Fig.4) healthy subjects received caffeine beverage (250 mg caffeine three times a day) for 10 days. Measurement of blood pressure exhibited a significant increase (10 mm Hg) only for two days. Then, systolic and diastolic pressure returned to normal after day 4 despite continuation of caffeine ingestion.

Similar results were achieved in a double blind cross over study with regular coffee and decaffeinated coffee in our laboratory over a period of 4 weeks daily intake of 8 cups of coffee (500 mg caffeine daily). As shown in Fig.5 mean blood pressure raised significantly only at day 1 - 3 after

starting intake of regular coffee when compared to decaffeinated coffee. When decaffeinated was given first and then coffee intake was switched to regular coffee there was again a 2 - 4 days significant increase of mean blood pressure which returned to normal despite continuation of regular coffee.

Robertson et al. (1981) tested whether or not during a 10 days administration of 250 mg of caffeine with each meal this would affect plasma epinephrine-, norepinephrine-, cortisol- and renin levels. However, no more significant increase of these parameters was observed. This suggests that tolerance of renin- and catecholamine-release has developed in response to caffeine and that non increase of blood pressure and heart rate may be explained at least in part by the failure of these hormones to raise.

Central nervous system

Development of caffeine tolerance of the CNS has been observed in humans and in experimental animals. Thus habitual high caffeine users acquire tolerance to caffeine, which reduces its effects for instance during prolonged exercise (Fisher et a., 1986). In humans withdrawal of heavy coffee drinking leads to the well known syndrome i.e. headache, sleepiness, laziness, decreased alertness and activeness which can be summarized to be symptoms of a common central nervous depression, a situation which is quite opposite to the known stimulating effects of caffeine.

In animal experiments locomotoric activity is a measure to study effects of drugs on CNS. In this test system caffeine exhibits stimulation of animal movements. In a study performed by Finn and Holtzmann (1986) the authors demonstrated (Fig.6) that acute administration of 5.6 up to 100 mg/kg of caffeine increased locomotoric activity in rats which have not seen caffeine previously but that this effect was diminished or abolished when the animals have been pretreated with 0.25, 0.5 and 1.0 mg/ml of caffeine

in the drinking solution for 2 weeks. This indicates that tolerance of the CNS has developed during prolonged intake of caffeine. Similar results were reported by Chou and colaborators (1985). These authors measured the effect of caffeine on the electrical firing rate of a single mesencephalic reticular neuron in anesthesized rats with and without 2 weeks daily pretreatment with 5 mg/kg caffeine. Fig.7 clearly shows that in the controls (2 weeks water) caffeine induced firing, whereas it did not in neurons of caffeine pre-treated animals. When specific binding of an adenosine analogue ((^3H)-cyclohexyladenosine) to mesencephalic reticular membranes was measured (Fig.8) they found an enhanced number of binding sites indicating an increased number of adenosine receptors or in other words an "upregulation" of adenosine receptors compensating for chronic caffeine intake. Fig. 9 shows the data of another study providing evidence that prolonged caffeine increased the number of adenosine receptors in different areas of the brain.

As mentioned earlier, stimulation of A_1-receptor by adenosine diminishes release of neurotransmitters in the central nervous system and therefore caffeine by blocking these adenosine receptors may allow increased neurotransmitter release. Corradetti et al. (1986) electrically stimulated acetylcholine release from slices of cerebral cortex from rats. In control rats addition of caffeine (50 uM) enhanced release of acetylcholine. This effect was, however abolished when brain slices were taken from rats chronically treated with caffeine solution. The conclusion is that brain cells must have developed tolerance to the acetylcholine-releasing action of caffeine.

Summary:

Most of the biological actions of caffeine are possibly mediated through its antagonistic effects to adenosine.

Adenosine activates an inhibitory GTP-binding protein (G_i).

One of the physiological actions of G_i is the inhibition of cAMP formation.

Caffeine overcomes this action thus leading to elevation of cAMP.

Firing of neurons and the release of neurotransmitters is also under the inhibition of adenosine.

Caffeine overcomes this effect, thus producing increased CNS-activity.

During long term administration of caffeine many functions of the organism develope tolerance including cardiovascular and central nervous systems.

Present evidence suggests that caffeine tolerance following continuous severe coffee ingestion is the response of the body agonist caffeine through the upregulation of adenosine receptors.

Résumé

Mécanisme biochimique de la tolérance à la caféine.

La plupart des actions biologiques de la caféine sont vraisemblablement dépendantes de ses actions antagonistes vis-à-vis de l'adénosine.

L'adénosine active une protéine bloquant la GTP (Gl).

Une des actions physiologiques de Gl est l'inhibition de la formation de l'adénosine monophosphate cyclique (c AMP).

La caféine contrecarre cette action et provoque ainsi l'élévation de la teneur en adénosine monophosphate cyclique.

L'excitation des neurones et la libération des neurotransmetteurs dépendent également de l'inhibition de l'adénosine.

La caféine contrecarre cet effet et favorise ainsi une élévation de l'activité du système nerveux central.

Au cours d'une administration prolongée de caféine, de nombreuses fonctions de l'organisme, comme les systèmes nerveux central et cardiovasculaire , développent une tolérance.

L'observation actuelle permet de penser que la tolérance à la caféine, qui est notée après une ingestion importante et continue de caféine, est la réponse de la caféine agoniste du corps humain par l'intermédiaire de la régulation des récepteurs de l'adénosine.

References

Reviews:

Bruce, M.S. and Lader, M.H.: Caffeine: Clinical and experimental effects in humans.
Human Psychopharmacology 1, 63-82 (1986)

Fredholm, B.B.: Are methylxanthine effects due to antagonism of endogenous adenosine?
Trends Pharmacol.Sci. 1, 124-132 (1980)

Griffiths R., R. and Woodson, Ph.P.; Caffeine physical dependence: a review of human and laboratory animal studies.
Psychopharmcol. 94, 437-451 (198

Jarris, M.F. and Williams, M.: Adenosine and dopamine function in the CNS.
Trends Pharmacol. Sci. 8, 330-332 (1987)

Stiles, G.L.:
Adenosine receptors: Structure, function and regulations
Trends Pharmacol. Sci. 7, 486-490 (1986)

Original papers:

Ahlijanian, M.K. and Takremori, A.E.: Cross-Tolerance between caffeine and (-)-N^6-(phenylisopropyl)-adenosine (PIA) in mice.
Life Sci. 38, 577-588 (1986)

Ammon, H.P.T., Bieck, P.R., Mandalaz, D. and Verspohl, E.J.: Adaptation of blood pressure to continuous heavy coffee drinking in young volunteers. A double-blind crossover study.
Br.J.clin.Pharmac. 15, 701-706 (1983)

Choi, O.H., Shamin, M.T., Padgett, W.l. and Daly, J.W.: Caffeine and theophylline analogues: Correlation of behavioral effects with activity as adenosine receptor antagonist and as phosphodiesterase inhibitors
Life Sci. 43, 387-398 1988)

Chou, D.T., Khan S:, Forde, J. and Hirsh, K.R.: Caffeine tolerance: Behavioural, electrophysiological and neurochemical evidence.
Life Sci. 36, 2347-2358 (1985)

Coradetti, R., Pedata, F., Pepen, G. and Vannucchi, G.: Chronic caffeine treatment reduces caffeine but not adenosine effects on corticol acetyl-choline release.
Br.J.Pharmac. 88, 671-676 ((1986)

Finn, J.B. and Holtzmann, S.G.: Tolerance to caffeine-induced stimulation of locomotor activity in rats.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 238, 542-546 (1986)

Fischer, S.M., McMurray, R.G., Berry, M., Mar, M.H. and Forsythe, W.A:. Influence of caffeine on exercise performance in habitual caffeine users.
Int.J.Sports.Med. 7, 276-280 (1986)

Green, R.M. and Stiles, G.L.: Chronic caffeine ingestion sensitizes the A_1-adenosine receptor-adenylate cyclase system in rat cerebral cortex
J.Clin.Invest. 77, 222-227 (1986)

Greenberg, W. and Shapiro, D.: The effects of caffeine and stress on blood pressure in individuals with and without a family history of hypertension.
Psychophysiology 24, 151 (1987)

Hawkins, M., Dugich, M.M., Porter, N.M., Urbanic, M. and Radulovacki, M.: Effects of chronic administration of caffeine on adenosine A_1 and A_2

receptors in rat brain
Brain Res. Bull. 21, 479-482 (1988)

Marangos, P.J., Boulenger, J.-Ph. and Patel, J.:Effects of chronic caffeine on brain adenosine receptors: Regional and Ontogenetic studies.
Life Sci. 34, 899-907 (1984)

Martin, J.B., Annegers, J.F., Curb, J.D., Heyden, S., Lee, E.S., and Lee, M.: Mortatility pattern among hypertensives by reported level of caffeine consumption. Prev.Med. 18, 310-330 (1988)

Ramkumar, V., Bumgarner, J.R., Jacobson, K.,A. and Stiles, G.l.: Multiple components of the A_1 adenosine receptor-adenylate cyclase system are regulated in rat cerebral cortex by chronic caffeine ingestion.
J.Clin.Invest. 82, 242-247 (1988)

Robertson, D., Frölich, J.C., Carr, R.K., Watson, J.Th., Hollifield, J.W., Shand, D.G. and Oates, J.A.: Effects of caffeine on plasma renin activity, catecholamines and blood pressure
New Engl.J.Med. 298, 181-186 (1978)

Robertson, D., Wade, D., Workman, R., Woosley, R.L. and Oates, J.A:: Tolerance to the hormonal and hemodynamic effects of caffeine in man.
J.Clin.Invest. 67, 1111-1117 (1981)

Smits, P., BockemaP., DeAbrea, R., Thien, Th. and van't Laar, A.: Evidence for an antagonism between caffeine and adenosine in the human cardiovascular system
J.Cardiovasc.Pharmacol. 10, 136-143 (1987)

TABLEAU I

Distribution of A_1 and A_2 receptors

A_1 Adenosine receptors		A_2 Adenosine receptors	
Tissue	Physiological Effect	Tissue	Physiological Effect
brain	sedation, inhibition of neurotransmitter release	brain	modulate neurotransmitter release
adipocyte	inhibit lipolysis	platelet	inhibit aggregation
testis	unknown	smooth muscle	relaxation
heart	supress contractility, inhibit SA node and AV node activity	kidney	? vasoconstriction ? antidiuresis
		liver	stimulation of gluconeogeneses

A_1 and A_2 receptors have also been demonstrated in blood vessels, heart and instestine where they prejunctionally inhibit the peripheral nervous swystem

from: STILES, G.L., 1986

TABLEAU II

Some effects of methylxanthines and adenosine

Methylxanthines	Adenosine
Enhaced lipolysis in adipose tissue	Inhibited lipolysis adipose tissue
Increased renal blood flow and renin release	Decreased renal blood flow and renin release
Increased release of catecholamines	Decreased release of catecholamines
Increased heart rate and force of constraction	Decreased heart rate and force of constraction
Inhibited anaphylactic bronchoconstriction	Enhancedhistamine release
CNS activation. Decreased cyclic AMP	CNS depression. Increased cyclic-AMP

from: FREDHOLM, B.B. 1980

Legends:

Fig.1: Simplified scheme of the adenylatecyclase system

Fig.2: Schematic representation of the compounds of the A_1- and A_2-adenosine receptor-adenylate cyclase system.
modified scheme from: Stiles, G.L., 1986

Fig.3: Effect of acute administration of coffee (250 mg caffeine) on blood pressure and heart rate.
* $p < 0.05$ compared with measurements after placebo.
from : Robertson et al. (1978)

Fig.4: Blood pressure in healthy subjects receiving coffee (250 mg caffeine three times a day) for 10 days.
PLA: Placebo
from: Robertson et al. (1981)

Fig.5: Changes in mean blood pressure and heart rate after heavy drinking of decaffeinated coffee or of regular coffee compared to no coffee. Experimental design as indicated at the top of the figure (Mean ± S.E.): Period of significant difference between both groups.
from: Ammon et al. (1983)

Fig.6:
Tolerance to caffeine-induced stimulation of locomotor activity in rats as a function of concentration of caffeine in the drinking water.
+ control 0.25mg/ml * 0.5mg/ml 1.0mg/ml
from: Finn and Holzmann (1986)

Fig.7: Effects of acute caffeine challenge (2.5 mg/kg i.v.) on single mesencephalic reticular neuronal activity in chloral hydrate

anesthetized rats after chronic caffeine exposure (Approximately 5mg/kg/day via drinking water for at least 2 weeks).
from: Chuo et al. (1985)

Fig.8: Saturation Isotherm and scatchard plots (inset) of a representative experiment showing up-regulation of specific [^{3}H]-CHA binding sites in rat mesencephalic reticular membranes following chronic caffeine treatment (approximately 10 mg/kg/day for 14 days via drinking water).
from: Chuo et al. (1985)

Fig.9: Effect of chronic caffeine on adenosine receptors in various brain areas (^{3}HDPX)
from: Marorgos P.J.et al. (1984)

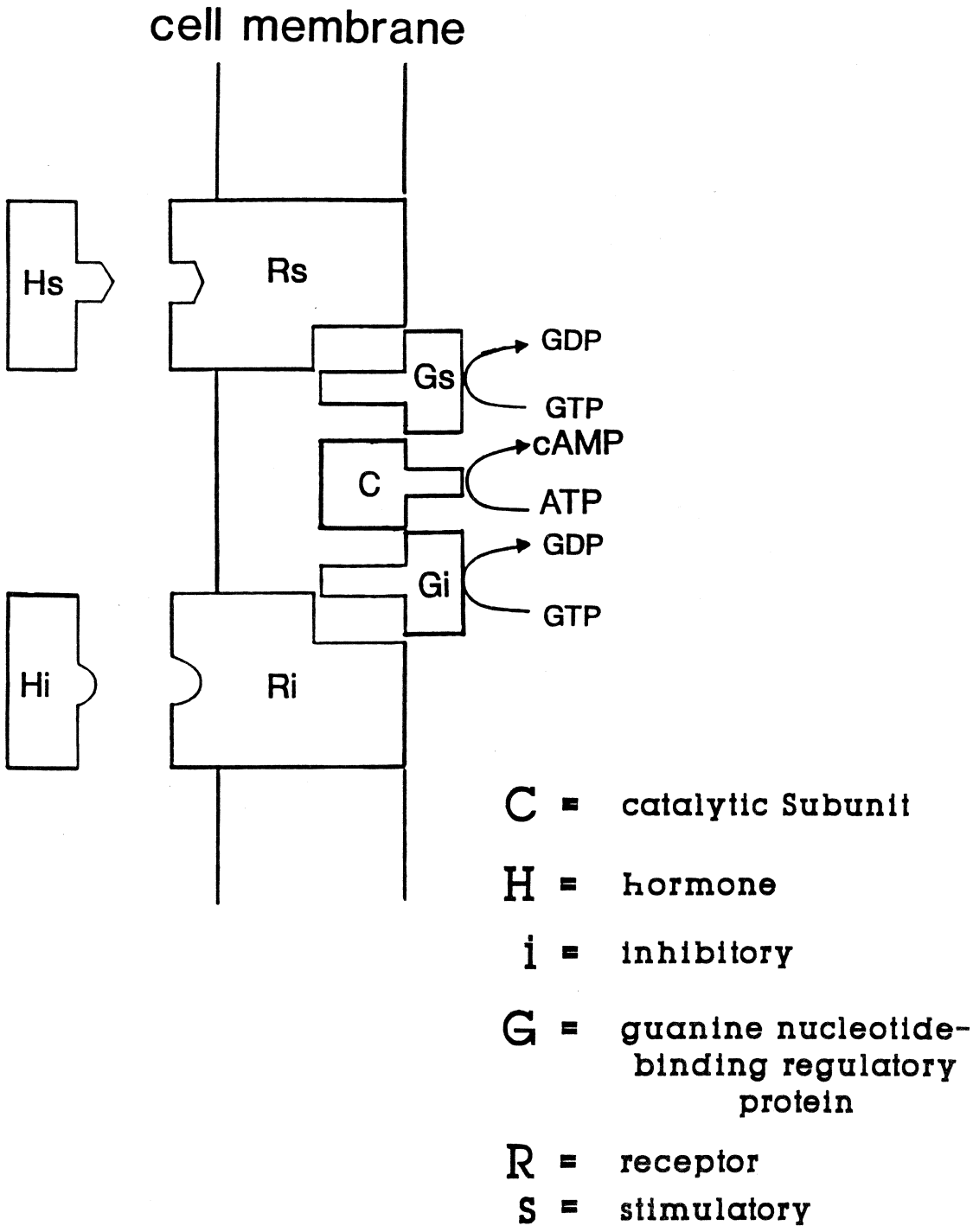

cell membrane
Hs
Rs
GDP
Gs
GTP
cAMP
C
ATP
GDP
Gi
GTP
Hi
Ri
C = catalytic Subunit
H = hormone
i = inhibitory
G = guanine nucleotide-binding regulatory protein
R = receptor
S = stimulatory

FIGURE 1

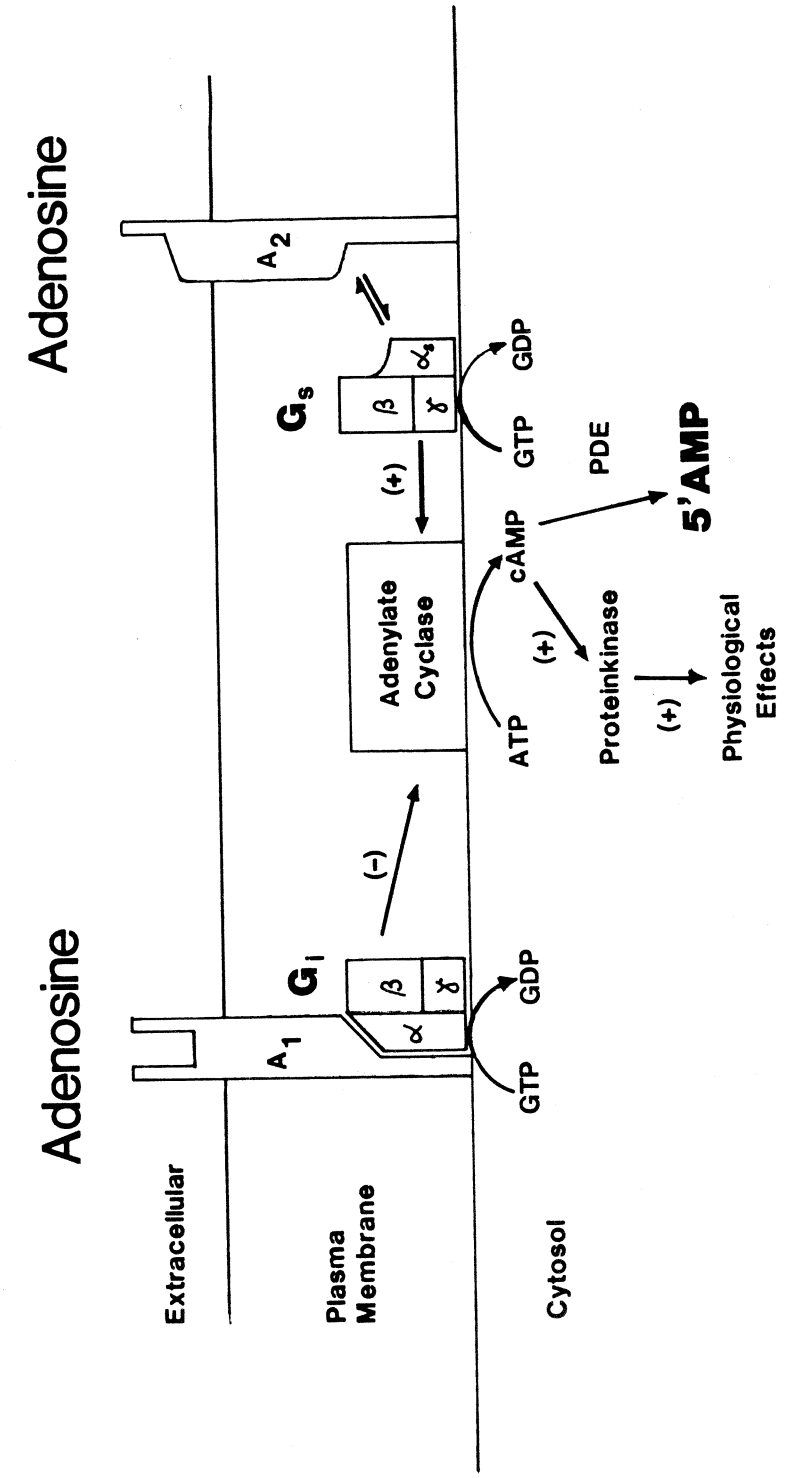

Adenosine
Adenosine
A2
A1
Gs
Gi
α
β
γ
GDP
GTP
(+)
(-)
Adenylate Cyclase
ATP
cAMP
PDE
5'AMP
(+)
Proteinkinase
(+)
Physiological Effects
Extracellular
Plasma Membrane
Cytosol

FIGURE 2

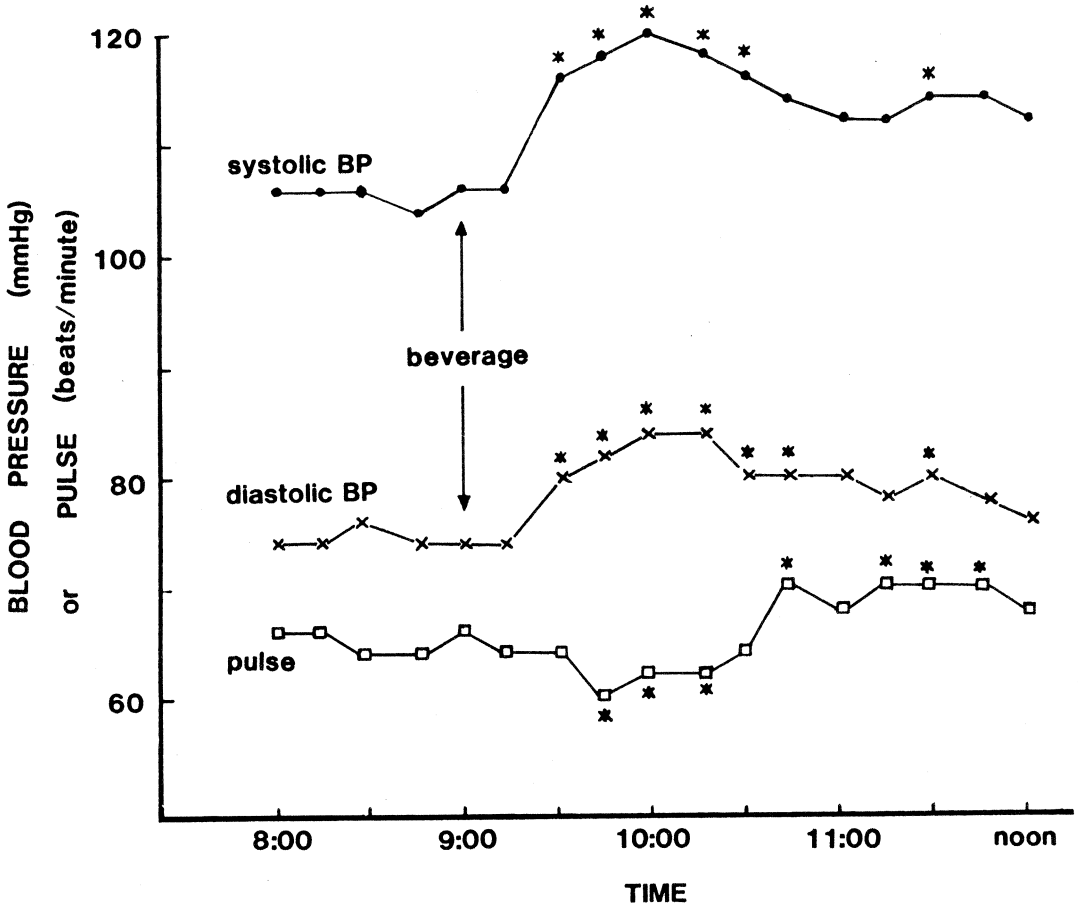

120
100
80
60
BLOOD PRESSURE (mmHg)
or PULSE (beats/minute)
systolic BP
beverage
diastolic BP
pulse
8:00
9:00
10:00
11:00
noon
TIME

FIGURE 3

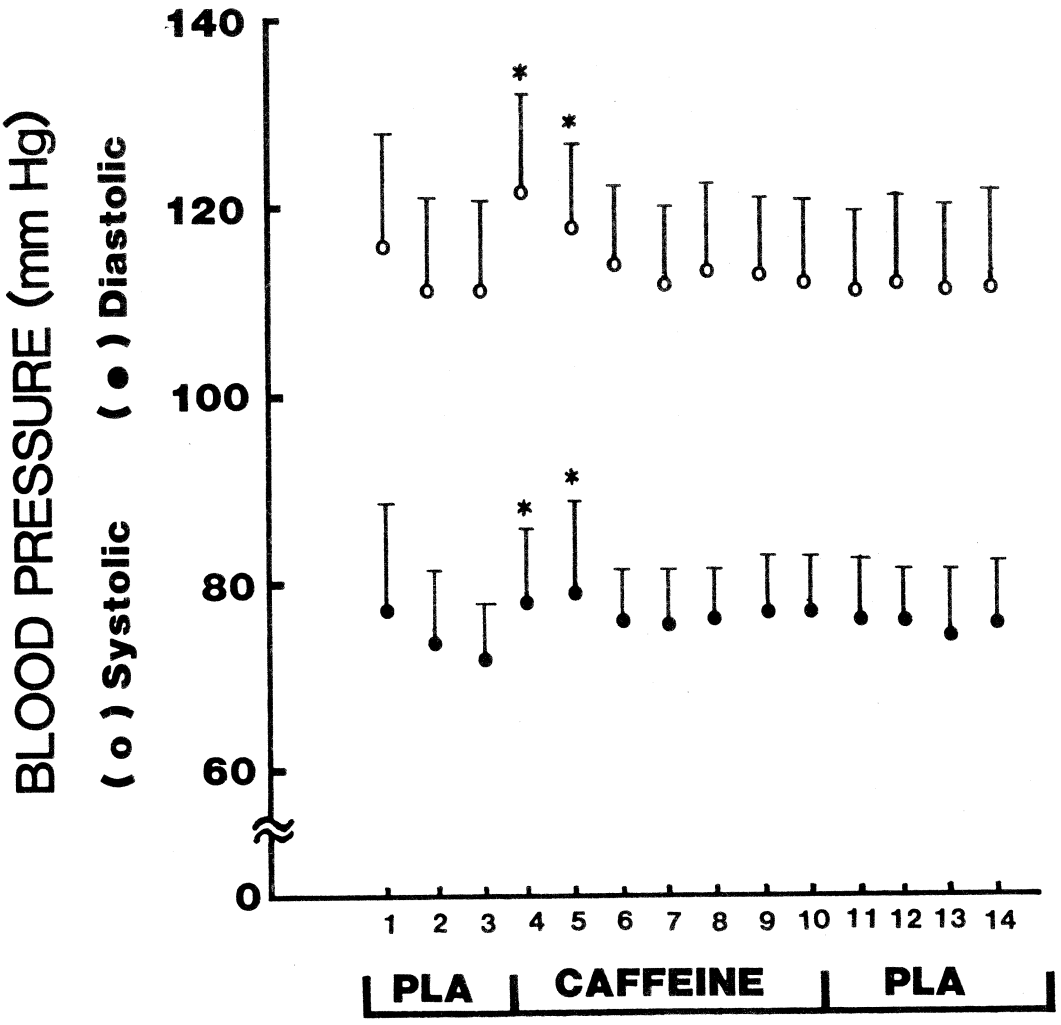

BLOOD PRESSURE (mm Hg)
(o) Systolic (●) Diastolic
140
120
100
80
60
0
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
PLA
CAFFEINE
PLA

FIGURE 4

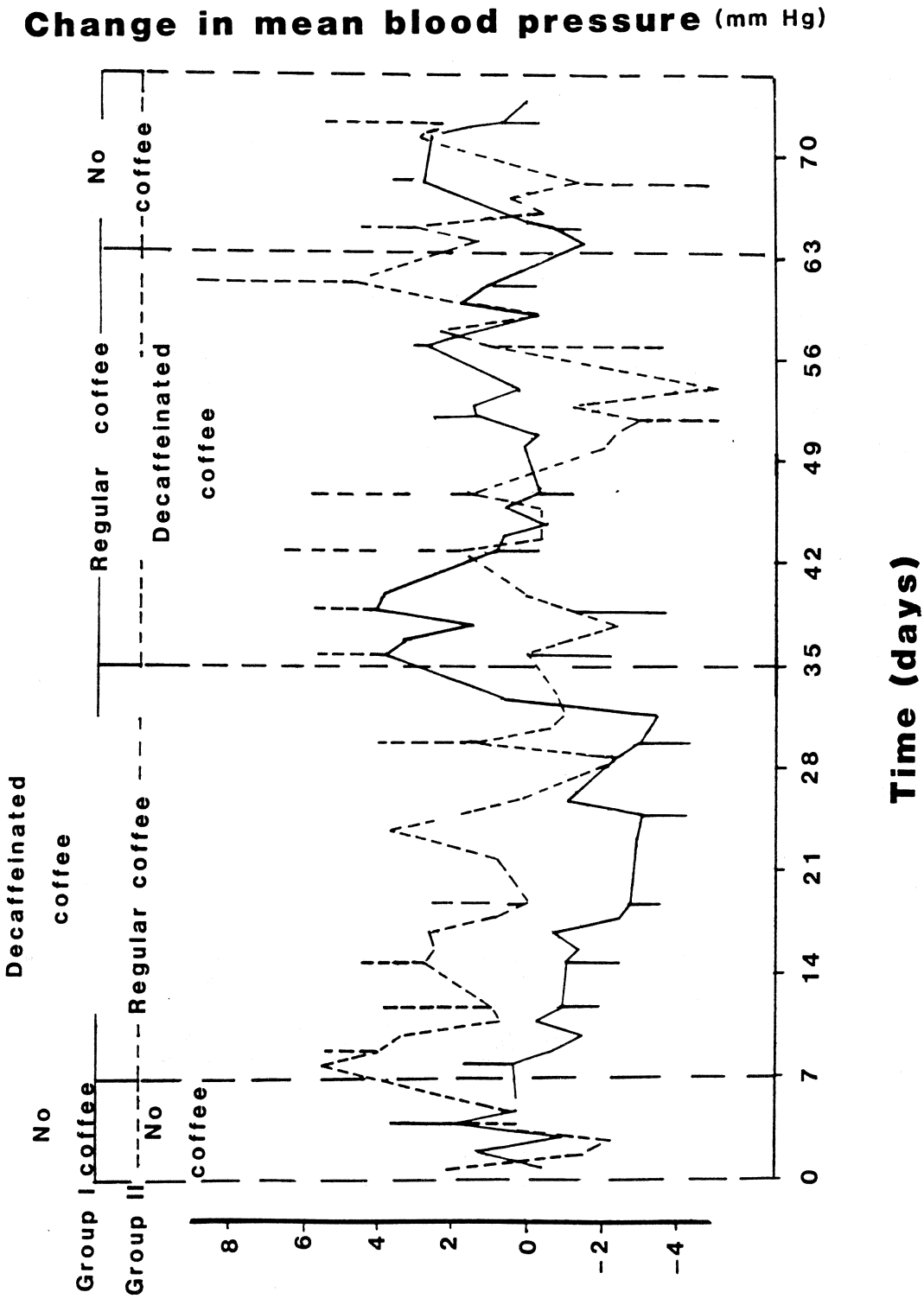

Change in mean blood pressure (mm Hg)
Group I
Group II
No coffee
Decaffeinated coffee
Regular coffee
Regular coffee
Decaffeinated coffee
No coffee
8
6
4
2
0
-2
-4
0
7
14
21
28
35
42
49
56
63
70
Time (days)

FIGURE 5

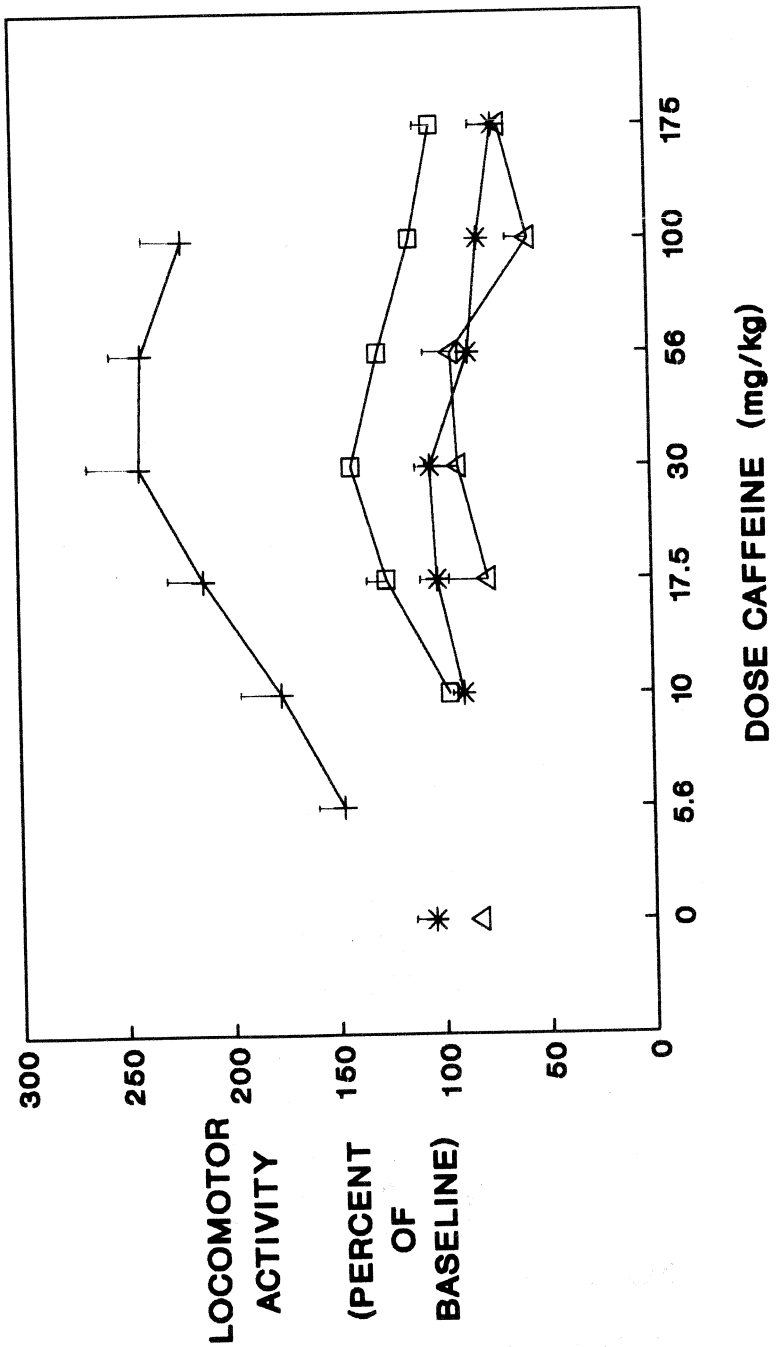

LOCOMOTOR ACTIVITY (PERCENT OF BASELINE)
300
250
200
150
100
50
0
0
5.6
10
17.5
30
56
100
175
DOSE CAFFEINE (mg/kg)

FIGURE 6

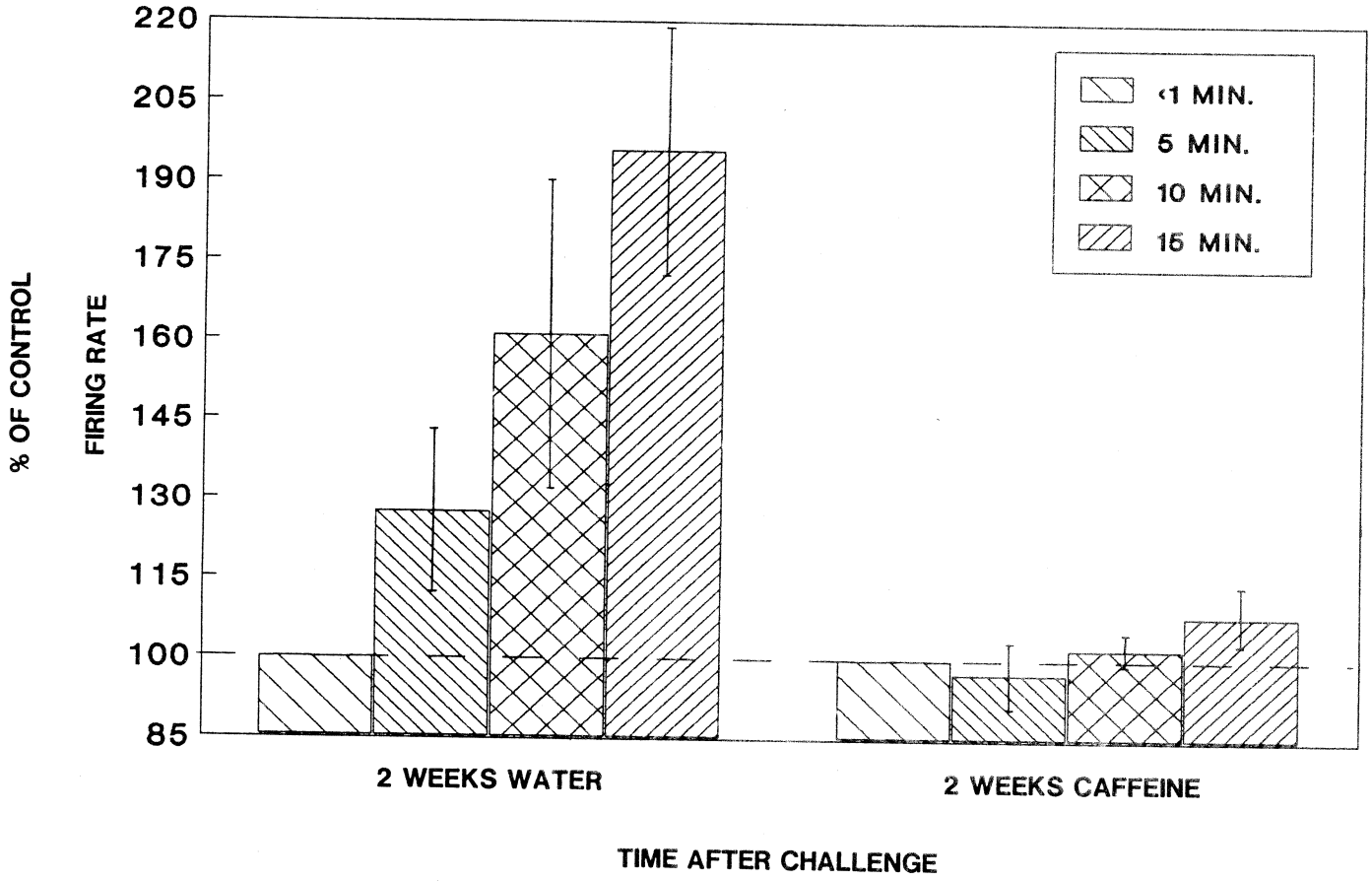

220
205
190
175
160
145
130
115
100
85
% OF CONTROL
FIRING RATE
<1 MIN.
5 MIN.
10 MIN.
15 MIN.
2 WEEKS WATER
2 WEEKS CAFFEINE
TIME AFTER CHALLENGE

FIGURE 7

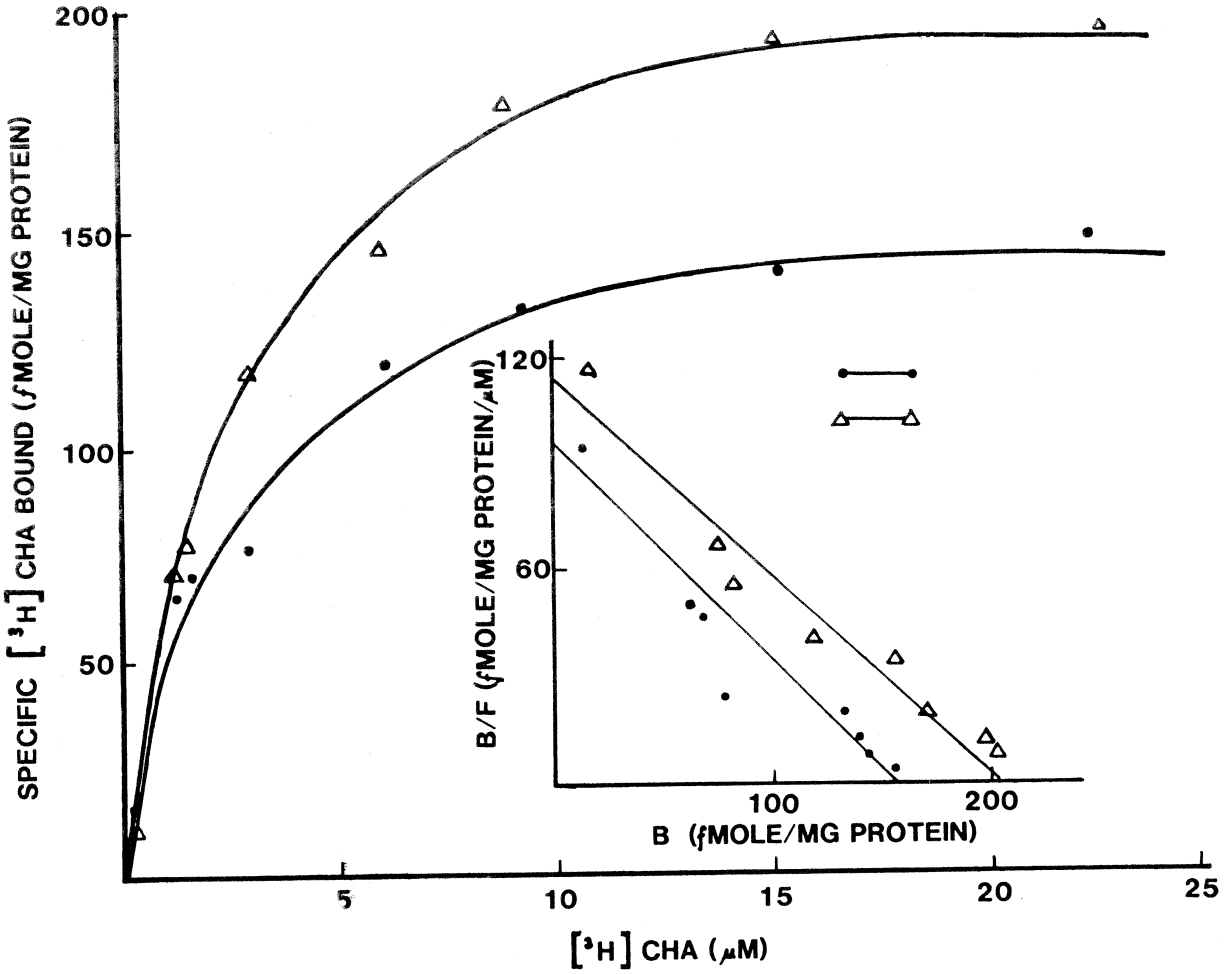
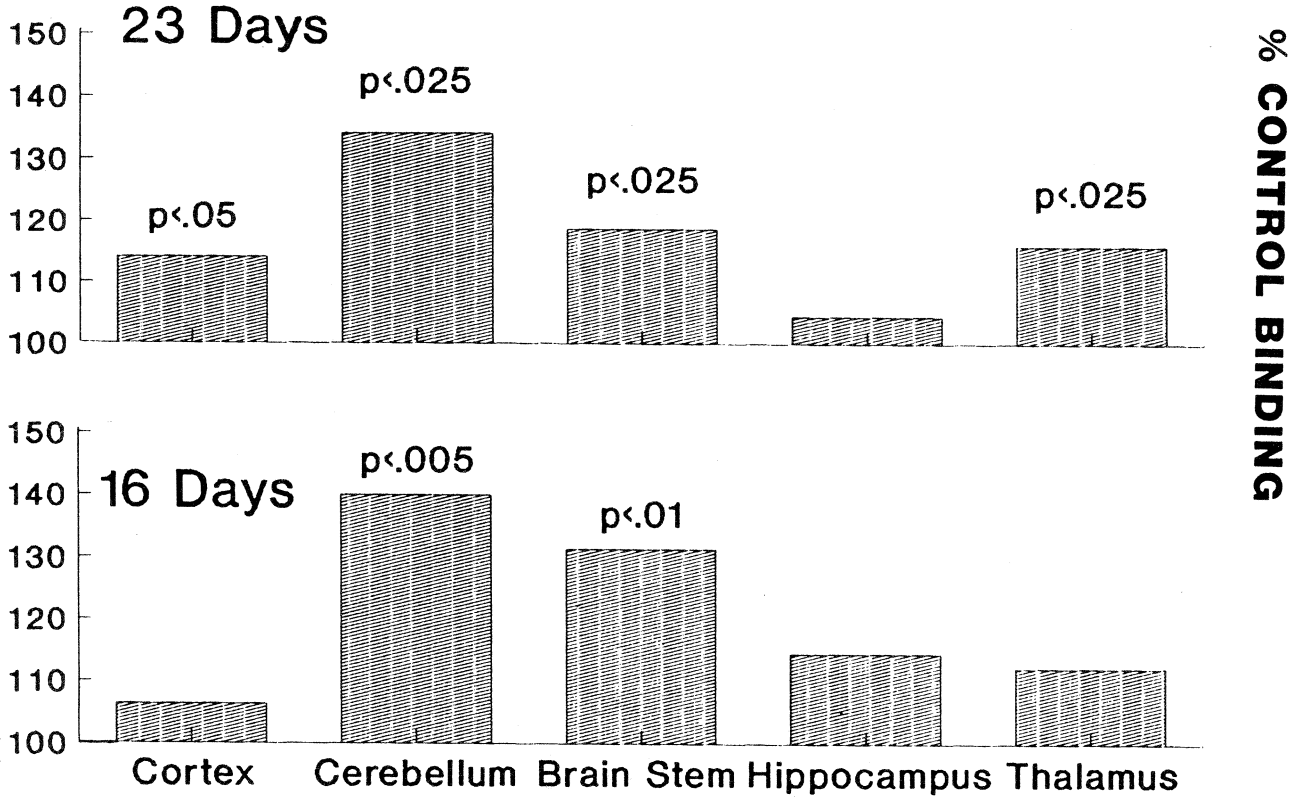

200
150
100
50
SPECIFIC [³H] CHA BOUND (fMOLE/MG PROTEIN)
120
60
B/F (fMOLE/MG PROTEIN/μM)
100
200
B (fMOLE/MG PROTEIN)
5
10
15
20
25
[³H] CHA (μM)

FIGURE 8

FIGURE 9


23 Days
150
140
130
120
110
100
p<.05
p<.025
p<.025
p<.025
16 Days
150
140
130
120
110
100
p<.005
p<.01
Cortex
Cerebellum
Brain Stem
Hippocampus
Thalamus
% CONTROL BINDING

EFFECT OF CAFFEINE ON SELECTED PHYSICAL PERFORMANCE PARAMETERS : RESPONSE TIME AND POWER OUTPUT

B. H. JACOBSON
Coordinator of Health, Assistant Professor
School of HPELS, Oklahoma State University, U.S.A.

S. W. EDWARDS
Associate Professor, School of HPELS
Oklahoma State University, U.S.A.

Two separate studies involving 30 college-age, caffeine naive subjects each (14 females, 16 males), were conducted to investigate the effect of 600 mg., 300 mg., and 0 mg. caffeine on reaction time (RT), movement time (MT), and knee extensor/flexor power output (T). Subjects were randomly chosen from a pool of low caffeine users (<100 mg./day) as determined by a caffeine consumption questionnaire. Additionally, the subjects were screened for high blood pressure, history of cardiac or vascular disorders, pregnancy, stomach or intestinal disorders, emotional disorders, and current illness and/or medication. Any subjects indicating any of the aforementioned disorders were eliminated from the study. Further, subjects abstained from caffeine and exercise 48 hr. and fasted 12 hrs. prior to testing.

Caffeine doses were administered to the subjects by a random double-blind, placebo controlled design. Caffeine was mixed with 150 ml. water and 0.5 tsp. decaffeineated coffee

and the placebo contained 150 ml. water, 0.5 tsp. baking soda and 0.5 tsp. decaffeineated coffee. Pre-testing was done prior to caffeine ingestion and a one hour absorbtion period was monitored prior to post-testing. A single plane, uniaxial shoulder abduction movement (Fig. 1), initiated by a light stimulus, was the criterion for measurement of RT and MT. Reaction time constitued the elapsed time between a visual stimulus and the inital movement of the arm away from the microswitch timer. Movement time constituted the elapsed time between the inital movement of the arm from the microswitch until the total movement was completed as measured by a photo-electric cell connected to the timing apparatus. A Cybex II Isokinetic Dynomometer interfaced with a Data Reduction Computer was used to test T in knee flexion and extension for 3 repetitions at angular velocities of 75 and 180 degrees per second, and for 15 repetitions at 300 degrees per second. Peak T and subsequent joint angle, peak T at 30 degrees, and peak T at 70 degrees were measured at all angular velocities for both knee flexion and extension. At 300 degrees per second the dependent variables were total T for 15 repetitions, total T for the first 3 repetitions, and total T for the last 3 repetitions. All subjects were pre-tested for RT, MT, and T prior to consumption of one of the three solutions. A 3x2 repeated measures analysis of variance indicated a significant effect ($p < 0.05$) between pre- and post-test measurements for both RT and MT favoring the 300 mg. group. No significant effect ($p > 0.05$) was found between pre- and post-test for RT and MT in the 600 mg. group (Tables 1-4). Results for T indicated that maximal strength and muscle endurance were not affected ($p > 0.05$) by the two levels of caffeine used in this study at any of the

angular velocities (Tables 5-8) and that caffeine may not be considered an ergogenic aid in strength output in subjects naive to resistance training.

It was concluded that a moderate dose of caffeine may have a stimulating effect in enhancing RT and MT but a larger dose may interfere with the initial positive effects due to a saturation point in the neuromuscular system. Suggestions for further investigations were to use resistance trained athletes and to utilize a caffeine dose in accord to body weight to ascertain the possibility of a dose response curve.

Résumé

Action de la caféine sur quelques paramètres de la performance physique : temps de réponse et énergie produite.

Deux études séparées sur 30 sujets non habitués à la caféine ont été menées pour connaître l'action de 600 mg, 300 mg et 0 mg de caféine sur le temps de réaction (RT), la durée de mouvement (MT) et le couple de torsion de l'extension/flexion du genou (T). Les doses de caféine ont été administrées aux sujets au hasard, en double aveugle avec contrôle par un placebo. Les sujets se sont abstenus de caféine et d'exercice pendant 48 heures et ont jeuné pendant 12 heures avant les essais. Les résultats pour T ont indiqué que la force maximale et l'endurance du muscle n'étaient pas affectées ($p > 0,05$) par les deux niveaux de caféine étudiés à quelque vitesse angulaire que ce soit et que la caféine ne peut être considérée comme une aide ergogène dans l'expression de la force chez des sujets non accoutumés à un entraînement de résistance.

On en conclut qu'une dose modérée de caféine peut avoir une action stimulante en augmentant RT et MT, mais une dose plus importante peut interférer avec les effets positifs initiaux par suite de l'apparition d'un point de saturation dans le système neuromusculaire. On suggère que des études ultérieures devraient s'attacher à des athlètes entraînés à la résistance et que les doses de caféine à utiliser devraient être en rapport avec le poids du corps, si l'on veut savoir s'il est possible d'établir une courbe de réponse en fonction de la dose.

TABLE 1. PRE- AND POST-TEST RT MEANS, S.D. AND CHANGE IN ms. BY GROUP.

	PRERT	PSTRT	CHANGE
GROUP 1 S.D.	244.3 ms +13.01	245.1 ms +15.90	+.8 ms
GROUP 2 S.D.	273.2 ms +34.33	240.2 ms +20.88	-33.0 ms
GROUP 3 S.D.	255.5 ms +29.81	255.3 ms 29.12	-.2 ms

TABLE 2. PRE- AND POST-TEST MT MEANS, S.D. AND CHANGE IN ms. BY GROUP.

	PREMT	PSTMT	CHANGE
GROUP 1 S.D.	242.5 ms +39.42	243.8 ms +38.22	+1.3 ms
GROUP 2 S.D.	225.3 ms +32.15	209.9 ms +30.41	-15.6 ms
GROUP 3 S.D.	215.6 ms +47.65	215.2 ms +47.45	-.5 ms

TABLE 3. ANALYSIS OF VARIANCE FOR REACTION TIME

	Sum of Squares	Deg. of Freedom	Mean Square	F
Group	9520.0	2	4760.0	1.15
Error	85198.1	27	3155.5	
R	351.6	1	361.6	*36.09
RG	872.3	2	436.7	*43.53
Error	270.5	27	10.0	

*Probability < .05.

TABLE 4. ANALYSIS OF VARIANCE FOR MOVEMENT TIME

	Sum of Squares	Deg. of Freedom	Mean Square	F
Group	1728.3	2	864.2	.72
Error	32615.3	27	1208.0	
R	1746.4	1	1746.4	*35.05
RG	3685.7	2	1842.8	*36.98
Error	1345.5	27	49.8	

*Probability < .05.

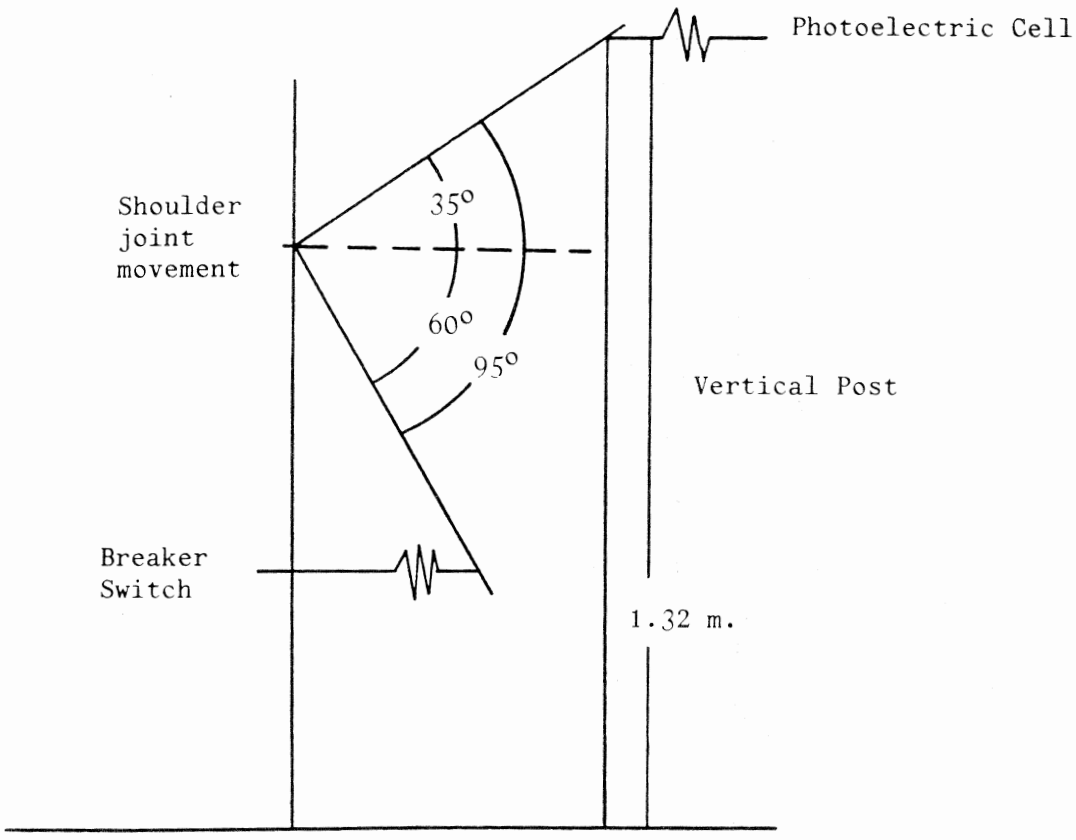


Fig. 1. RT - MT Testing apparatus and shoulder joint displacement.

TABLE 5

EXTENSION AND FLEXION BY GROUP FOR 3 REPETITIONS AT 75 DEG/SEC ANGULAR VELOCITY

Dependent Variable	Movement	Control Group (0 mg.) Pre-Test M ± SD	Control Group (0 mg.) Post-Test M ± SD	Experimental Group (300 mg.) Pre-Test M ± SD	Experimental Group (300 mg.) Post-Test M ± SD	Experimental Group (600 mg.) Pre-Test M ± SD	Experimental Group (600 mg.) Post-Test M ± SD
Maximum Torque	Extension	280.7 ± 86.11	271.5 ± 84.63	338.2 ± 75.49	335.4 ± 70.68	369.6 ± 146.71	363.9 ± 147.61
Maximum Torque at 30°	Extension	204.1 ± 62.48	187.5 ± 59.25	241.3 ± 66.58	240.7 ± 72.10	224.1 ± 64.52	228.8 ± 71.02
Maximum Torque at 70°	Extension	270.8 ± 103.49	265.2 ± 84.26	317.1 ± 69.83	308.5 ± 63.05	331.7 ± 104.02	348.0 ± 123.10
Maximum Torque	Flexion	175.3 ± 53.47	182.5 ± 53.14	226.2 ± 65.60	224.7 ± 66.79	233.1 ± 89.21	244.1 ± 100.58
Maximum Torque at 30°	Flexion	168.8 ± 54.93	172.4 ± 54.87	211.9 ± 64.74	218.6 ± 67.61	227.7 ± 88.06	237.2 ± 100.51
Maximum Torque at 70°	Flexion	159.7 ± 44.00	161.0 ± 38.52	185.8 ± 55.17	191.8 ± 54.75	192.4 ± 65.25	206.0 ± 71.34

TABLE 6

EXTENSION AND FLEXION BY GROUP FOR 3 REPETITIONS AT 180 DEG/SEC ANGULAR VELOCITY

Dependent Variable	Movement	Control Group (0 mg.)		Experimental Group (300 mg.)		Experimental Group (600 mg.)	
		Pre-Test M ± SD	Post-Test M ± SD	Pre-Test M ± SD	Post-Test M ± SD	Pre-Test M ± SD	Post-Test M ± SD
Maximum Torque	Extension	191.8 ± 73.16	191.5 ± 68.53	237.2 ± 54.08	245.6 ± 58.32	262.8 ± 93.52	266.1 ± 104.25
Maximum Torque at 30°	Extension	170.6 ± 61.39	161.5 ± 59.50	202.6 ± 46.85	203.1 ± 48.05	203.9 ± 62.54	208.0 ± 70.03
Maximum Torque at 70°	Extension	168.1 ± 62.68	170.5 ± 57.80	208.8 ± 49.00	222.0 ± 54.38	239.5 ± 86.86	245.7 ± 84.95
Maximum Torque	Flexion	148.5 ± 46.86	150.4 ± 49.52	180.2 ± 56.80	182.6 ± 58.50	192.0 ± 72.78	197.3 ± 86.52
Maximum Torque at 30°	Flexion	138.6 ± 47.50	138.3 ± 55.95	164.9 ± 49.37	172.2 ± 55.93	178.7 ± 69.11	192.0 ± 94.06
Maximum Torque at 70°	Flexion	127.4 ± 30.01	133.8 ± 35.83	154.9 ± 49.70	157.3 ± 53.03	170.6 ± 61.63	175.0 ± 71.44

TABLE 7

EXTENSION AND FLEXION BY GROUP FOR 3 REPETITIONS AT 300 DEG/SEC ANGULAR VELOCITY

Dependent Variable	Movement	Control Group (0 mg.)		Experimental Group (300 mg.)		Experimental Group (600 mg.)	
		Pre-Test M ± SD	Post-Test M ± SD	Pre-Test M ± SD	Post-Test M ± SD	Pre-Test M ± SD	Post-Test M ± SD
Maximum Torque	Extension	143.6 ± 61.71	133.6 ± 50.44	184.2 ± 46.24	182.1 ± 46.96	189.7 ± 72.56	196.9 ± 77.11
Maximum Torque at 30°	Extension	122.9 ± 50.46	123.4 ± 47.82	158.7 ± 40.14	159.6 ± 44.02	167.3 ± 60.37	164.4 ± 60.20
Maximum Torque at 70°	Extension	112.8 ± 37.45	120.5 ± 39.88	155.8 ± 49.49	158.9 ± 50.08	164.1 ± 53.47	165.8 ± 67.24
Maximum Torque	Flexion	114.4 ± 39.64	117.4 ± 39.25	137.0 ± 53.25	145.1 ± 47.43	149.9 ± 66.21	158.9 ± 69.57
Maximum Torque at 30°	Flexion	107.6 ± 37.16	104.4 ± 37.05	127.0 ± 44.38	129.5 ± 33.50	106.0 ± 45.11	145.1 ± 65.40
Maximum Torque at 70°	Flexion	96.1 ± 29.33	101.4 ± 32.54	118.9 ± 39.38	120.4 ± 45.83	133.6 ± 53.80	139.9 ± 56.17

TABLE 8

EXTENSION AND FLEXION BY GROUP FOR 15 REPETITIONS AT 300 DEG/SEC ANGULAR VELOCITY

Dependent Variable	Movement at 300°.sec^{-1}	Control Group Pre-Test M ± SD	Control Group Post-Test M ± SD	Experimental Group Post-Test M ± SD	Experimental Group Post-Test M ± SD	Experimental Group Pre-Test M ± SD	Experimental Group Post-Test M ± SD
Total Torque for 15 Repetitions	Extension	2695.2 ± 619.49	2772.5 ± 637.92	3266.8 ± 644.13	3350.8 ± 721.08	3342.7 ± 847.79	3570.8 ± 960.30
Total Torque for repetitions 1-3	Extension	578.0 ± 147.09	546.2 ± 140.01	668.7 ± 138.42	664.1 ± 143.61	689.7 ± 179.96	678.1 ± 148.78
Total Torque for repetitions 13-15	Extension	519.9 ± 105.18	508.9 ± 98.76	586.2 ± 118.89	628.4 ± 138.52	600.3 ± 146.74	605.7 ± 136.05
Total Torque for 15 repetitions	Flexion	2495.7 ± 478.75	2634.8 ± 580.40	2864.0 ± 735.57	2925.8 ± 866.91	2945.3 ± 851.46	3208.7 ± 879.48
Total Torque for repetitions 1-3	Flexion	531.5 ± 118.25	525.8 ± 134.06	598.6 ± 195.51	610.6 ± 196.78	621.3 ± 201.70	644.0 ± 185.67
Total Torque for repetitions 13-15	Flexion	503.5 ± 83.68	501.5 ± 112.70	537.0 ± 129.14	564.3 ± 159.97	533.7 ± 153.46	578.2 ± 142.86

IN VIVO INHIBITION OF NITROSAMIDE FORMATION BY COFFEE AND COFFEE CONSTITUENTS

H. P. WÜRZNER, E. JACCAUD, H. U. AESCHBACHER

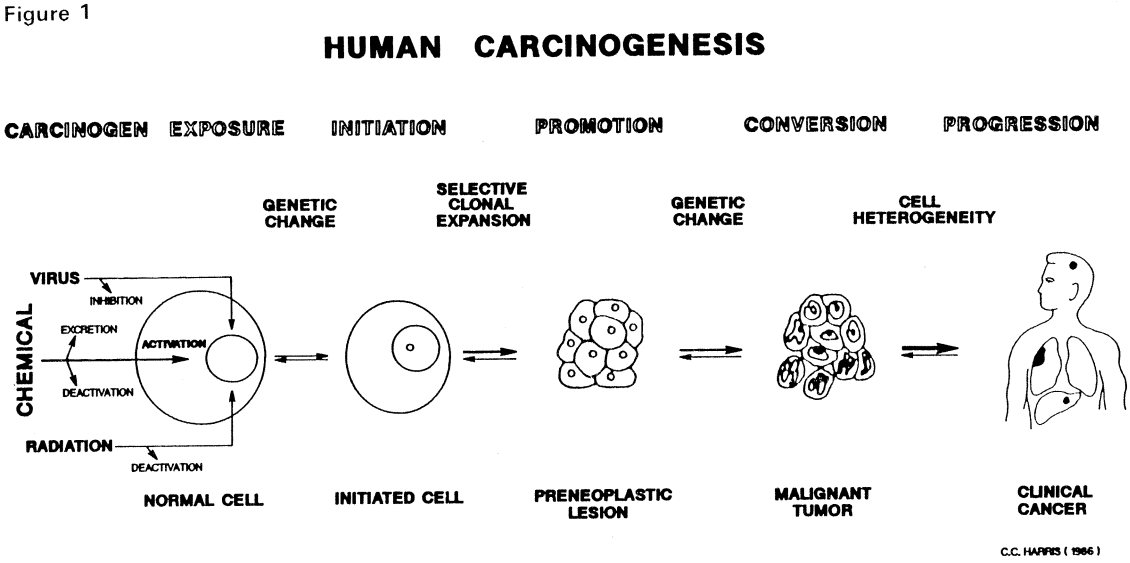
Nestec Ltd., Nestlé Research Centre, Vers-chez-les-Blanc,
CH-1000 Lausanne 26 (Switzerland)

Introduction

Carcinogenesis is second only to cardiovascular disease as cause of death in the Western world. Lung cancers the most frequent human cancer are followed by those of the gastrointestinal tract.

Epidemiological studies within immigrant and religious communities it have reported that gastrointestinal cancers in particular showed significantly different frequencies in comparison to the resident population (Waterhouse et al., 1976; Rawson, 1980; Lyon and Gardener, 1980). For example Japanese immigrants to Hawaii or California lost the well documented high frequency of stomach cancer prevailing in Japan and acquired the local frequency for colon cancer. In Columbia, where Fava beans have been the staple food for a long time, marked differences in the incidence of stomach cancer were observed between high and low altitude regions. It was found that Fava beans contain a chlorinated indole, which readily undergoes nitrosation in the body,(Yang et al., 1984). In low altitude regions local access to fruits containing high amounts of l-ascorbic acid and β-carotene may extensively inhibit the formation of N-nitroso compounds and the prevailing incidence of this specific cancer type is much lower. In a prospective study in Switzerland (Stähelin 1989), elevated plasma levels of the antioxidative vitamins C, E and β-carotene were found to be protective for lung and stomach cancer in comparison to low plasma levels. In fact there is growing evidence that oxygen free radicals such as singlet oxygen and hydroxy radicals both may initiate and promote tumour development by damaging DNA, cell membranes and by activation of oncogenes and loss of suppressor gene activity. Human carcinogenesis is a complex biochemical process characterised by sequential cellular events ultimately leading to clinical cancer (Figure 1). Actually 3 major initiating agents are known : viruses, radiation and certain chemicals. These agents, either directly or by metabolic activation, are able to cause genetic changes at the nuclear level of a cell and the DNA structure. This step is called initiation and consequently leads to an initiated cell, which might acquire a selective clonal growth advantage in comparison to normal surrounding cells. A variety of other biologically active substances may act as promoters of this process and, after continuous exposure to these agents further damage may occur which finally will lead to tumour formation.

Figure 1



These numerous observations point to a key role of nutritional habits, food constituents and food contaminants in the induction and inhibition of gastrointestinal cancers. In addition further evidence suggests that some of the gastrointestinal cancers may be prevented and their regional incidences lowered by changes in eating and drinking habits combined with specific nutritional recommendations. It is therefore important to further investigate all avenues to minimise and reduce exposure to food contaminants and their precursors. Our objectives in the present study were therefore to study the possible nitrosation inhibiting effects of coffee, chlorogenic acid and Maillard reaction products. In fact N-nitrosocompounds are a potent class of carcinogens and it has been demonstrated, that their formation from precursors may be effectively inhibited by antioxidative compounds (Shepard, Schlatter and Lutz 1987; Newmark et al., 1984 and Lingert et al., 1981). As endpoint, micronucleated erythrocytes in bone marrow (Schmid, 1975 and Heddle et al., 1983) which have been proposed as predictors of cancer risks (Jenssen et al., 1980) and nuclear aberrations in mice colon cells which are also considered as colon cancer predictor (Blakey et al., 1985) were applied.

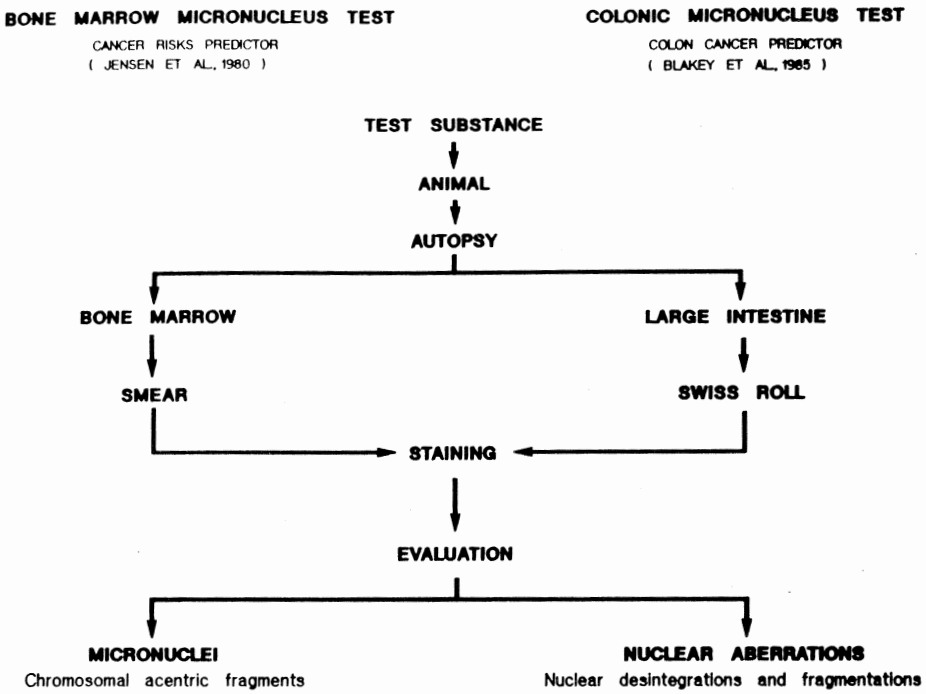
Material and Methods

Animals : MS/Ae mice (10-13 weeks old) were obtained from our breeding colony. The animals were housed individually under conventional conditions and were given a standard laboratory diet ad libitum. Twelve or six (equal number of males and females) mice were used per concentration and the test substance was administered per os.

Test substances : N-methylurea (MU) (Fluka, Buchs, Switzerland), N-methylnitrosourea (MNU) (Sigma, St. Louis, USA), sodium nitrite ($NaNo_2$) (Merck, Darmstadt, FRG), chlorogenic acid (Fluka, Buchs, Switzerland) and instant coffee (Société des Produits Nestlé, Vevey, Switzerland) were dissolved in water. The premelanoidin was prepared in our laboratory as described by Adrian et al., (1966), whereas the chlorogenic acid containing heat reaction product was prepared according to Yamaguchi et al., (1986). 1,2-dimethyllhydrazine (1,2-DMH) (Sigma, St. Louis, USA) was used as positive control when investigating nuclear aberrations in colonic cells. The mice were injected intraperitoneally 20mg per kg body weight of 1,2-DMH. Administration of MNU or MU together with nitrite served as its own positive control in the bone marrow micronucleus test, since these substances were previously found to induce micronucleated bone marrow cells (Aeschbacher et al., 1977). All substances except 1,2-DMH were administered orally. Instant coffee was given at dose level of 150, 300 and 600mg/kg body weight. N-Nitrosomethylurea was given at a dose level of 5 mg/kg body weight. Methylurea was administered at a dose level of 300mg/kg body weight (150mg/kg b.w.)and sodium nitrite at a level of 15mg/kg body weight (7.5mg/kg b.w.). Chlorogenic acid was given at 150mg/kg body weight, whereas premelanoidin and the chlorogenic acid containing heat reaction product were given at 1g/kg body weight respectively.

Preparation and evaluation : The bone marrow micronucleus test was carried out according to Schmid et al., (1975). On each of the two best smears 1000 polychromatic erythrocytes were evaluated (Figure 2).

Figure 2

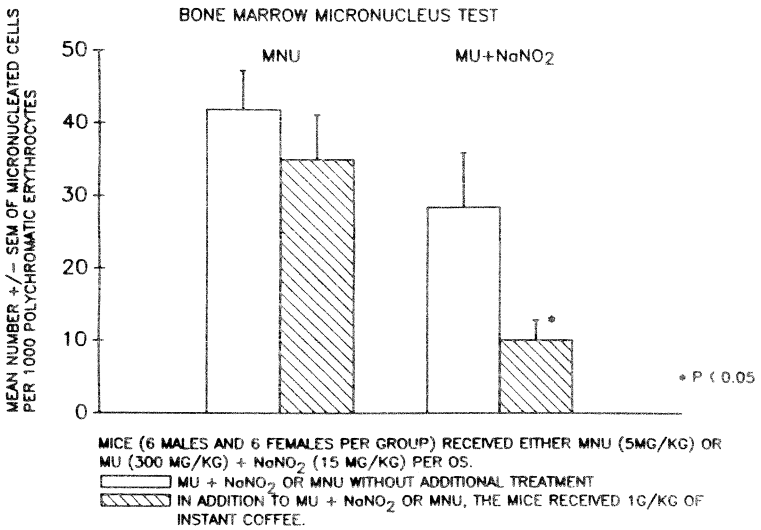


The results were expressed as the number of micronucleated cells per 1000 polychromatic erythrocytes and subjected to variance analysis on transformed values $\sqrt{x} + \sqrt{x+1}$. The Dunnett's test was used for comparison between each dose level of the test substance and the treatment without the potential inhibitor. The colonic micronucleus test was carried out as described by Blakey et al., (1985). On each of the two best slides 10 colonic crypts were scored for nuclear aberrations and the results expressed as the mean number of nuclear aberrations per crypt section (Figure 2). Statistical analysis was performed as previously described. As criteria for statistical significance a probability limit of 95 % ($p<0.05$) was set considering a two-sided test.

Results

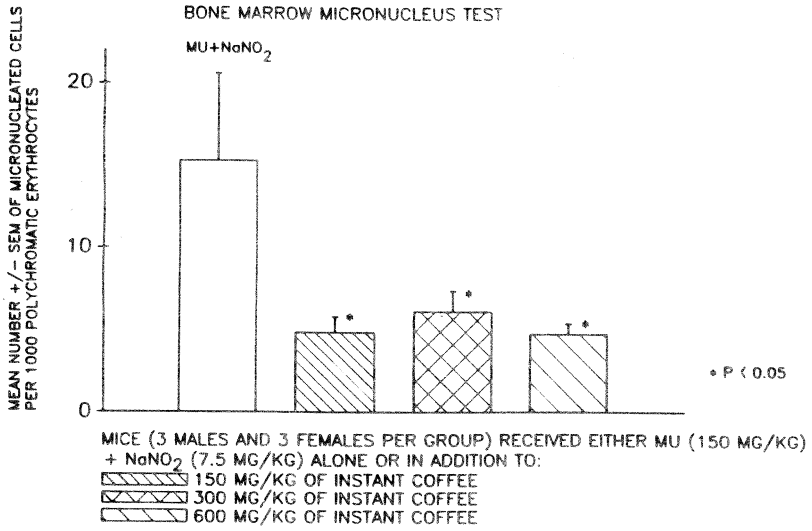
Instant coffee administered orally to the mutagen sensitive mouse strain MS/Ae did not affect N-nitrosomethylurea induced bone marrow micronuclei (Figure 3).

Fig. 3 INHIBITORY EFFECT OF COFFEE ON NITROSAMIDE FORMATION



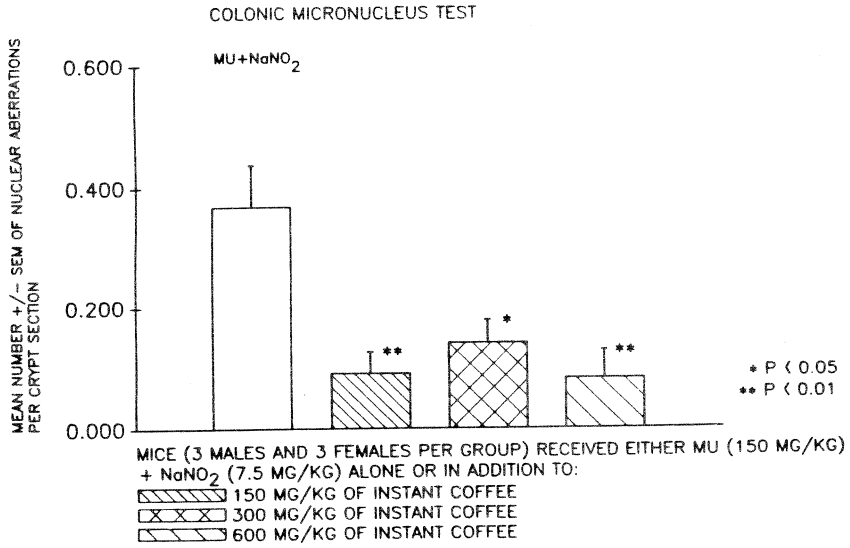
However, when sodium nitrite and methylurea were administered together with instant coffee, a significant inhibition of induced micronuclei in polychromatic erythrocytes was observed. Even lower doses of instant coffee, down from 1g/kg body weight to 150mg/kg body weight reproducibly inhibited bone marrow micronuclei formation induced by oral treatment with sodium nitrite and methylurea (Figure 4).

Fig. 4 INHIBITORY EFFECT OF COFFEE ON NITROSAMIDE FORMATION



Very similar observations were obtained by the evaluation of colonic crypts, where again instant coffee at dose levels ranging from 600, 300 and 150mg/kg body weight was able to effectively inhibit nuclear aberrations at all dose levels (Figure 5).

Fig. 5 INHIBITORY EFFECT OF COFFEE ON NITROSAMIDE FORMATION



In addition to instant coffee, we were interested in several other preparations such as premelanoidins and others as described in material and methods. These preparations at their respective dose levels were also able to inhibit formation of micronuclei in bone marrow polychromatic erythrocytes as well as nuclear aberrations in colonic crypts almost down to the spontaneous mutation rate (1.8 ± 0.4 micronuclei per 1000 polychormatic erythrocytes and 0.15 ± 0.03 nuclear aberrations per colonic crypt). This inhibitory effect was highly significant in all instances (Figures 6 and 7).

Fig. 6 INHIBITORY EFFECT OF COFFEE CONSTITUENTS ON NITROSAMIDE FORMATION

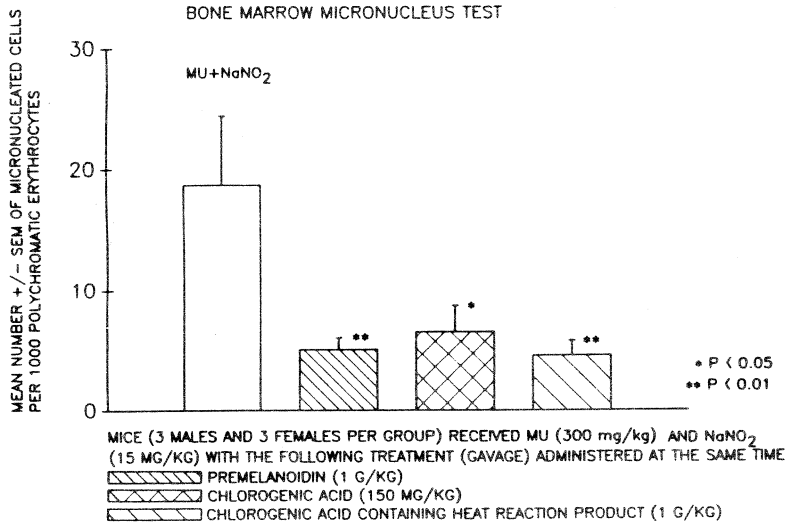
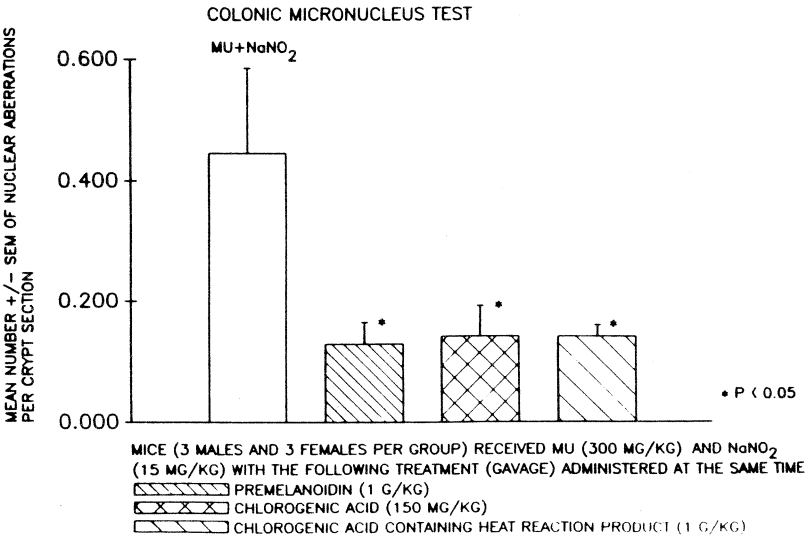


Fig. 7 INHIBITORY EFFECT OF COFFEE CONSTITUENTS ON NITROSAMIDE FORMATION

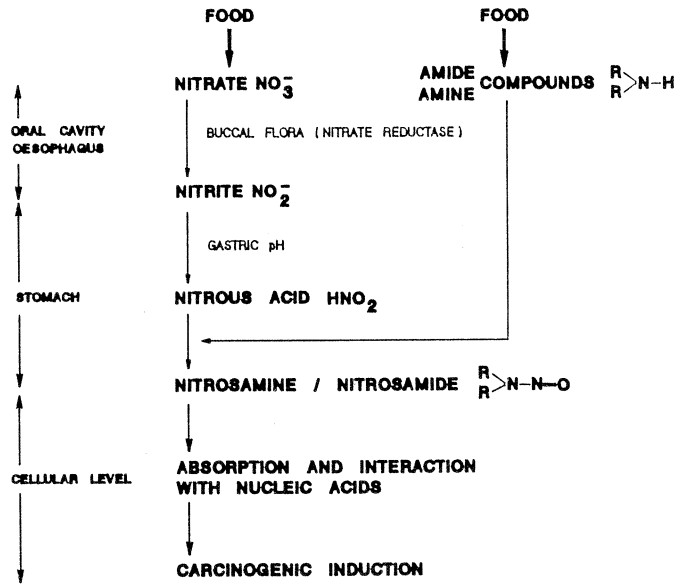


Discussion

N-nitroso compounds represent an intensively studied class of chemical substances, which may occur in various food products and are formed endogenously in the body under various conditions. Convincing evidence has accumulated showing, that they are linked with increased risk of cancer (Magee and Barnes, 1967; Bartsch and Montesano, 1984; Preussmann and Stewart, 1984). They have been shown to be mutagenic and carcinogenic in numerous experimental studies and various animal species. Human exposure to this class of compound is either environmental or through endogenous formation by several distinct mechanisms and chemical reactions. Generally the endogenous nitrosation of amines and amides through nitrite in the stomach has been considered to be the most significant source of exposure (Figure 8).

Figure 8

IN VIVO NITROSAMINE / NITROSAMIDE FORMATION



Recently, however, other routes of important endogenous formation have been identified involving macrophages, bacteria and possibly endothelial cells in the body (Marletta et al., 1988; Kosaka et al., 1989; Susuki and Mitsuoka, 1984). The nitrosation reactions have been described in detail by several investigators (Mirvish, 1975; Challis, 1981). Formation of nitroso compounds in humans can be demonstrated by analysing urinary excretion of N-nitrosoproline since this compound is not metabolised and is not carcinogenic (Oshima and Bartsch, 1981). There is good agreement that the daily average urinary excretion of N-nitrosoproline ranges in non smoking subjects from 15-30 μmole (Oshima and Bartsch, 1981; Leaf et al., 1987; Wagner et al., 1983). Inhibition of exogenous and endogenous nitrosation can be effectively performed by ascorbic acid, and α-tocopherol both considered as potent biological antioxidants (Leaf et al., 1987; Wagner et al., 1985). Moreover other compounds with antioxidative properties such as phenolic acids, browning-and Maillard reaction products have also been shown to inhibit nitrosation (Kato et al., 1987).

In the present series of studies we were able to show that instant coffee as well as chlorogenic acid and premelanoidins, which are typically formed during heat processing of carbohydrate and amino acid or protein containing foods, significantly inhibited the formation of micronuclei in bone marrow polychromatic erythrocytes and nuclear aberrations in colonic crypts in mutagen sensitive MS/Ae mice. As shown by the administration of preformed N-Nitrosomethylurea, which induced a high number of these aberrations in our experimental conditions, instant coffee obviously only inhibits the in vivo formation of this N-nitroso compound from its precursors sodium nitrite and methylurea. Even the lowest orally administered dose level of 150mg/kg body weight of soluble coffee effectively inhibited the induction of these genotoxic lesions almost down to the background level. Our findings therefore suggest, that soluble coffee, heat reaction products and chlorogenic acid were able to contribute to lower the exposure to freshly formed N-nitroso compounds by their inhibition of in vivo nitrosation of precursors such as sodium nitrite and methylurea. In the complex dynamics of exogenously and endogenously formed N-nitroso compounds and continuous exposure our observations may have some significance, since these mechanisms were reported in several mammalian species including man. However, effective inhibition of in vivo nitrosation in human subjects by current consumption levels of coffee remain to be proven. Urinary N-nitrosoproline excretion and use of stable isotopes would render such direct investigations in humans ethically acceptable and of definite importance.

Acknowledgments :

The authors are very grateful to Mr. A. Bexter for histological technical assistance and Ms A.R. Jarret for preparing the premelanoidins.

Literature :

Waterhouse, J. Muir C. Correa P. and Powell J. (1976). In: IARC Scientifc Publications No. 15. Cancer Incidence in Five Continents, volume III.

Rawson, R.W. in : Banbury Report 4, J. Cairns, J.L. Lyon, M. Scolnick, (1980). Cancer Incidence in Defined Populations. Cold Spring Harbor Laboratory, 109-119.

Lyon J.L. Gardener J.W. and West D.W. in: Banbury Report 4, J. Cairns, J.L. Lyon, M. Scolnick, (1980). Cancer Risk and Life style : Cancer Among Mormons from 1967-1975, 3-30.

Yang D. et al., (1984). 4-chloro-6-methoxyindole is the precursor of a potent mutagen (4-chloro-6-methoxy-2-hydroxy-1-nitroso-indolin-3-one oxime) that forms during nitrosation of the fava bean (Vicia faba), 5, 1219-1224.

Stähelin, H.B. (1989). Vitamine und Krebs : Resultate der Basler Studie Soz. Praeventivmedizin, 34, 75-77.

Shephard, S.E., et al. (1987). Assessment of the risk of formation of carcinogenic N-Nitroso compounds from dietary precursors in the stomach, Fd Chem. Toxic. 25/1, 91-108.

Newmark, H.L. (1984). A hypothesis for dietary components as blocking agents of chemical carcinogenesis : plant phenolics and pyrrole pigments. Nutr. Cancer 6, 58-70.

Lingnert, H. and Eriksson, C.E. (1981). Antioxidative effect of Maillard reaction products. In C. Eriksson (ed), Prog. Fd. Nutr. Sci. Pergamon Press, Oxford, vol. 5, 453-466.

Schmid, W. (1975). The micronucleus test. Mutation Res. 31, 9-15.

Heddle, J. et al., (1983). The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. Mutation Res. 123, 61-118.

Jenssen, D. and Ramel C. (1980). The micronucleus test as part of a short-term mutagenicity test program for the prediction of carcinogenicity evaluated by 143 agents tests. Mutation Res,. 75, 191-202.
Blakey, D.H. et al., (1985). Detection of nuclear anomalies in the colonic epithelium of the mouse. Cancer Res. 45, 242-249.

Adrian J. et al., (1966). Répercussions nutritionnelles des produits solubles formés au cours de la réaction de Maillard. Ann,. Nutr. Aliment. 3, 257-277.

Yamaguchi T. and Iki M. (1986). Inhibitory effect of coffee extract against some mutagens. Agric. Biol. Chem. 50, 2983-2988.
Aeschbacher et al., (1977). Individual susceptibility of mice to a mutagen in both germ and somatic cells. Mutation Res. 43, 71-80.

Magee P.N. and Barnes J.M. (1967). Carcinogenic nitroso compounds. Advances in Cancer Research 10, 163-246.

Bartsch, H. and Montesano, R. (1984). Relevance of nitrosamines to human cancer. Carcinogenesis 5, 1381-1393.

Preussemann R. and Stewart B.W.. (1984). N-nitroso compounds carcinogens. In : CE Searle (ed), Chemical Carcinogens, 2nd Edition, American Chemical Society, Washington, D.C., 642-828.

Marletta, M.A. et al., (1988). Macrophage Oxidation of L-arginine to Nitrite and Nitrate : Nitric Oxide is an intermediate. Biochemistry, 27, 8706-8711.

Kosaka H., et al. (1989). Nitrosation by stimulated macrophages, Inhibitors, enhancers and substrates. Carcinogenesis, 10/3, 563-566.

Suzuki, S. and Mitsuoka, T. (1984). N-nitrosamine formation by bacteria of intestine. In : I.K. O'Neill, R.C. von Borstel, J.E. Long, C.T. Miller and H. Bartsch (eds). N-Nitroso compounds : occurence, biological effects, and relevance to human cancer (IARC scientific Publication no. 57), International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 275-282.

Mirvish, S.S. (1975). Formation of N-nitroso compounds : chemistry, kinetics, and in vivo occurrence. Toxicology and Applied Pharmacology, 31, 325-351.

Challis, B.C. (1981). The chemistry of formation of N-nitroso compounds. In : G.G. Gibson and C. Ioannides (eds). Safety Evaluation of nitrosable drugs and chemicals, Taylor and Francis Ltd., London, 16-55.

Ohshima H. and Bartsch H. (1981). Quantitative estimation of endogenous nitrosation in humans by monitoring N-nitrosoproline excretion in the urine. Cancer Research 41, 3658-3666.

Leaf, C.D. et al. (1987). Influence of ascorbic acid dose on N-nitrosoproline formation in humans. Carcinogenesis 8/6, 791-795.

Wagner, D.A. et al. (1983). Metabolic fate of an oral dose of ^{15}N-labeled nitrate in humans : effect of diet supplementation with ascorbic acid. Cancer Research 43, 1921-1925.

Wagner, D.A. et al. (1985). Effect of vitamins C and E on endogenous synthesis of N-nitrosamino acids in humans : precursor-product studies with (15-N)nitrate. Cancer Research 45, 6519-6522.

Kato, H. et al. (1987) Inhibition of nitrosamine formation by non-dialysable melanoidins. Agric. Biol. chem. 51, 1333-1338.

SUMMARY

IN VIVO INHIBITION OF NITROSAMIDE FORMATION BY COFFEE AND COFFEECONSTITUENTS.
H.P. Würzner, E. Jaccaud and H.U. Aeschbacher

The aim of the present study was to investigate a possible antimutagenic and anticarcinogenic effect of instant coffee, chlorogenic acid and premelanoidines by inhibition of nitrosamide formation in mice.

Methylurea and sodium nitrite were administered to mice simultaneously to instant coffee, chlorogenic acid or premelanoidines in order to study inhibition of nitrosation of methylurea. Mice which received instant coffee at doses of 150 to 600 mg per kg bw or 150 mg chlorogenic acid per kg bw or 1 g premelanoidines per kg bw together with 300 mg (150 mg) of methylurea and 15 mg (7.5 mg) of sodium nitrite per kg bw respectively significantly reduced the number of micronucleated cells in bone marrow and nuclear aberrations in colonic epithelial cells almost down to background levels.

These results lead to the conclusion that instant coffee and its constituents had an inhibitory effect on nitrosamide formation in mice hence resulting in a decrease of mutagenic and carcinogenic risk in this model.

RESUME

INHIBITION IN VIVO DE LA FORMATION DES NITROSAMIDES PAR LE CAFE ET LESCONSTITUANTS DU CAFE.
H.P. Würzner, E. Jaccaud et H.U. Aeschbacher

Le but de la présente étude consistait à étudier un éventuel effet antimutagénique et anticarcinogénique du café soluble, de l'acide chlorogénique ou de prémélanoïdines par inhibition de la formation des nitrosamides chez la souris.

Du methylurée ainsi que du nitrite de sodium ont été administrés à des souris en même temps que du café soluble, de l'acide chlorogénique ou des prémélanoïdines de façon à étudier l'inhibition de la nitrosation du methylurée. Chez les souris qui ont été respectivement traitées soit avec du café soluble à des doses de 150 jusqu'à 600 mg par kilo de poids corporel soit avec 150 mg d'acide chlorogénique ou avec 1 g de prémélanoïdines par kilo de poids corporel en même temps qu'avec 300 mg (150 mg) de methylurée et 15 mg (7.5 mg) de nitrite de sodium par kilo de poids corporel, le nombre des cellules micronuclées dans la moelle osseuse et le nombre des aberrations nucléaires dans les cellules épithéliales du côlon est significativement réduit presque au niveau du bruit de fond.

Ces résultats permettent de conclure que le café et ses constituants inhibent la formation des nitrosamides chez la souris, il en résulte en conséquence une diminution du risque mutagène et carcinogène dans ce modèle.

SENSORY AND ANALYTICAL EXAMINATION OF GROUND AND CUP COFFEE WITH PARTICULAR REFERENCE TO BEAN MATURITY

A. A. WILLIAMS
Sensory Research Laboratories, 4 High Street, Nailsea, Bristol, BSI9 1BW, UK
A. FERIA-MORALES and P. KARI
International Coffee Organisation, 22 Berners Street, London, WIP 4DD, UK

INTRODUCTION

Coffee is an international commodity, important to both the producing countries where the green bean provides a valuable exporting crop and the consuming countries where the roasting of the bean and the consumption of the brewed coffee forms a major part of a modern life style.

Many scientists have examined the volatile and non-volatile constituents of the roasted coffee bean (1, 2) identifying aliphatic aldehydes, pyrroles, pyrazines and sulphur compounds all of which are known to play a significant role in coffee aroma. Relatively little attempt has however been made to explore and characterise important sensory aspects of the beverage, or to determine the influence various production factors, whether in the actual growing of the green bean, its convertion to the ground roasted product, or its final brewing have on these sensory properties (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

One such factor influencing quality is bean maturity at harvest. To produce quality coffees, coffee beans need to be harvested at just the correct maturity, which in view of the fact that the coffee plant bears fruit at various stages of maturity, at the same time can be a very labour intensive operation.

Although over-ripe beans and under-ripe beans are believed to produce inferior quality coffee, little is known about the true impact they have on flavour and quality or whether it is in fact possible to differentiate, either sensorially or analytically roasted and brewed coffees using all or a portion of such beans, from normal coffee.

The series of research programmes on which this presentation has been based had both fundamental and somewhat more practical objectives. From a practical point of view it aimed to provide information on how similar or different coffees were in respect to the sensory properties they delivered and what influence bean maturity had on both the sensory and analytical properties of different coffees.

Such an investigation however necessitated the acquisition of a large amount of both sensory and analytical data which was used to provide some insight into the more fundamental question of the cause and origin of particular aroma/flavour characteristics.

THE RESEARCH PROGRAMME

The first phase of the programme involved the establishment of methodology for monitoring sensory properties and for the routine isolation and analysis of compounds within coffee which potentially give rise to its sensory characteristics.

These procedures were then used to investigate 40 mature and immature coffees from various parts of the world both analytically and sensorially to establish the true impact of bean maturity on sensory and analytical properties. It also provided a data base for exploring relationships between sensory and analytical information.

Table 1: Terms used in the profiling of coffee.

AROMA	
ANIMAL-LIKE	FRUITY/CITRUS
ASHY	GRASSY/GREEN/HERBAL
BURNT/SMOKY	NUTTY
CHEMICAL/MEDICINAL	RANCID/ROTTON
CHOCOLATE-LIKE	RUBBER-LIKE
CARAMEL	SPICY
CEREAL/MALTY/TOAST-LIKE	TOBACCO
EARTHY	WINEY
FLORAL	WOODY

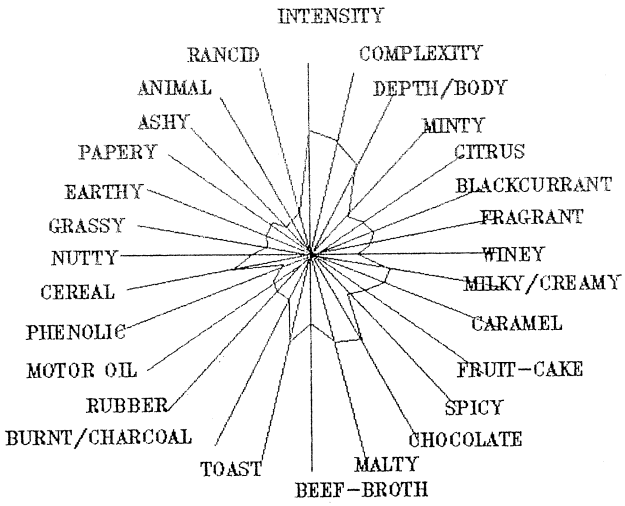
FLAVOUR
ACIDY
BITTER
SWEET
SALTY
SOUR
BODY
ASTRINGENCY

PROCEDURES

SENSORY

The sensory evaluations described in this research were carried out at the International Coffee Organisation by trained assessors, using the predefined descriptors listed in table 1 and described previously (15). Such procedures enable profile diagrams to be produced (figure 1) describing the

Figure 1: Star diagram of brewed mature Robusta coffee

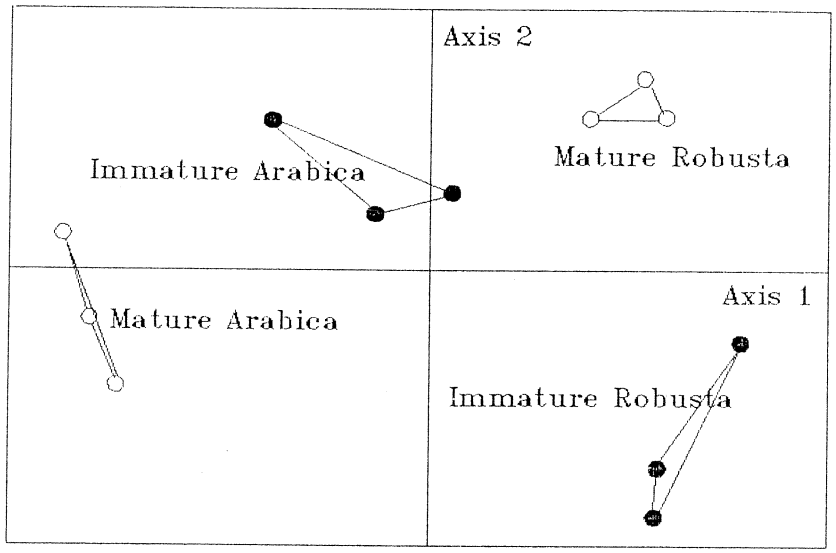


sensory properties of individual coffees. The ability and precision of assessors to differentiate coffees was checked using four coffees, one immature and one mature Ethiopian Arabica and one immature and one mature Brazilian Robusta, each evaluated in triplicate. Such data was treated statistically using analysis of variance, principal component, canonical variate and generalised Procrustes analysis techniques.

Such approaches were applied to explore data in its entirity and highlight attributes and groups of attributes which have most influence in differentiating samples. Principal component analysis which has already been applied to coffee sensory information (10) enables data to be explored without any preconstraints, looking for combinations of attributes which account for maximum variation. Canonical variate analysis looks for combinations of attributes which account for maximum separation between groups of similar samples yet provide minimum separation between samples within a group.

The results of treating the preliminary profile data with canonical variate analysis is presented in the sample map shown in figure 2, which clearly identifies the ability of

Figure 2: Canonical variate plot based on flavour of brewed coffees



the assessors to group and differentiate the coffees, (replicates are joined by lines).

Sensorially Robusta ground coffee is more burnt charcoal, earthy-like and less sugary caramel, spicy and phenolic than ground Arabica coffee and mature beans are less nutty and earthy than their immature counterparts.

In the brewed form Robusta coffee has a more complex milky, creamy, phenolic and chocolate-like and less musty and rancid aroma than Arabica coffee. Flavourwise, the brewed Robusta coffee is more papery, woody and less acid than Arabica.

ANALYTICAL

A sample of Kenyan Arabica and the above mature and immature Ethiopean and Brazilian coffees were used to explore procedures both in respect to volatile and non-volatile components.

NON VOLATILES

On the non volatile side, initially coffees were analysed for a total of 88 different components and parameters using a variety of wet chemical and instrumental procedures; these including such things as percent ash, total nitrogen and soluble solids. In the final assessment this was reduced to

those listed in table 2. (Data provided by R. Macrae, the University of Reading).

Table 2: Non-volatile parameters examined in coffee (Courtesy R. Macrae)

MOISTURE CONTENT
SUGARS
CAFFEINE AND TRIGONOLINE
CHLOROGENIC ACIDS
AMINO ACIDS: TOTAL
AMINO ACIDS: FREE
TRYPTOPHAN
HYDROXYTRYPTOPHAN
LIPIDS

As well as examining the roasted bean, non-volatile examinations were also conducted on the green bean to provide potential precursur information on important volatile and non-volatile components in the ground and brewed coffees. With the exception of such factors as moisture content, coffees were examined as aqueous extracts, therefore there was no differentiation between brewed and ground samples.

VOLATILES

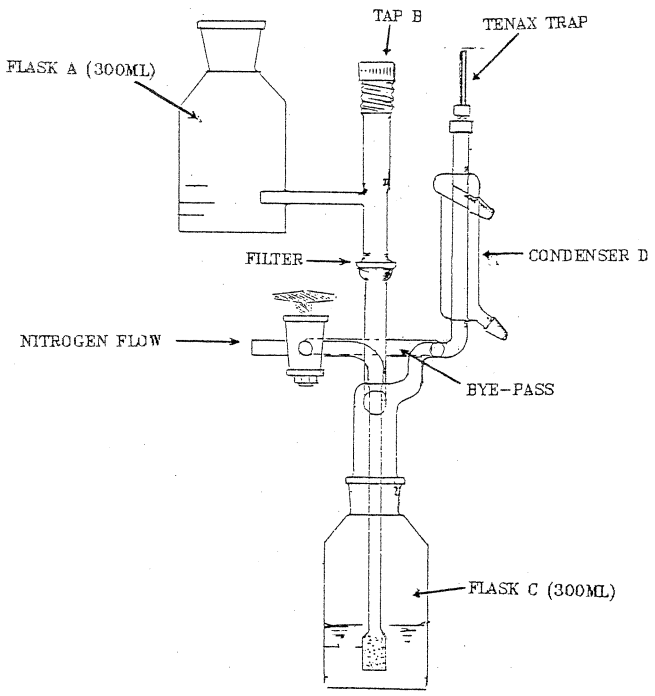
Isolation Procedures:

Two basic procedures were investigated for examining volatile constituents, namely solvent extractions and headspace entrainment. The former procedure particularly when coupled with class separation into acid, base, and neutral and gradient elution silica gel chromatography, (pentane/methylene chloride/ether/methanol), provided useful information on the identities of coffee constituents and fractions which were associated with particular flavour characteristics in the coffee. It was however considered too complex for routine evaluation.

Headspace entrainment techniques, similar to those recently described by other workers (12, 13, 16, 17), it was felt provided the most rapid procedures for routine evaluation, readily providing information on a 100 or more constituents, the quantities of which should be more closely related to what is being perceived in respect to sensory aroma assessment than any solvent extraction based procedure. These by nature measure the total amount of components in the coffee and not that giving rise to aroma sensations.

Special collection procedures were developed for examining both the headspace of brewed coffee and ground coffee, that designed for handling brewed coffees (figure 3) is worthy of further mention as it enabled very precise information to be obtained and various brewing variables to be investigated.

Figure 3: Apparatus for collecting volatiles from brewed coffees



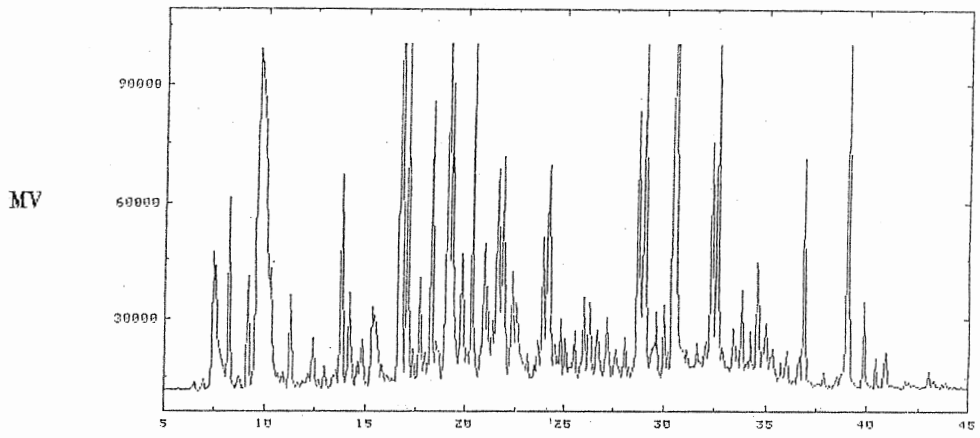
In operation coffee (16 gms) was placed in the 300ml vessel (A). Boiling water, 230mls, was added and allowed to stand on the coffee grounds for the required time (5 mins.), following which tap B was opened and the coffee transferred via a 0.125mm nylon mesh filter to the vessel C, which was held in a water bath at 70 °C whilst purified nitrogen at 10ml/m-1 was bubbled through the coffee, the emerging gas and entrained volatiles being passed via a condensor D through a Tenax trap E. After the required collection time (normally 30 mins), the trap was disconnected and placed in an SGE unijector located in the injection port of a gas chromatograph where the volatile material was transferred to the front of the appropriate column and chromatographed.

Separation and Identification

Aroma or solvent extracts were subject to gas chromatography using either a CP Wax 57 or CP Sil 8 bonded phase fused silica column fitted with either flame ionisation (FID) or flame photometric (FPD) detectors. Compound identification was based primarily on coupled gas chromatographic - mass spectrometric examinations performed on a selection of samples, using similar columns and phases to those described above, identities being based primarily on comparison of spectra with reference collection and personal libraries.

Literature odour comments were collected and gas chromatographic odour sniff examinations conducted to provide an indication of the odour characteristics associated with particular separated components, both identifiable and unidentifiable.

Figure 4: Chromatogram of immature Robusta brewed cofffee



Treatment of analytical data

As modern gas chromatography provides a large amount of information from each examination, readily providing information on between 100 to 200 constituents, the data had to be rationalised before being subjected to statistical analysis. This was accomplished by a combination of specifically written computer programs and manual examination both prior to and subsequent to transfer to a VAX 750

computer. As with the sensory data multivariate techniques in particular principal component and canonical variate analyses were used to abstract underlying factors differentiating brewed, ground, green, mature and immature coffees.

Specific Points for Preliminary Investigations

Typical results from the headspace examination of a brewed coffee are given in figure 4.

The procedures described for isolation headspace components produced information which enabled variables such as storage time following grinding, coarseness of grind, brewing time, temperatures of cup and time of brewing and roasting as well as overall bean maturity to be investigated.

The first three of the variables appeared to have minimal effect on volatiles, whereas temperatures or time of brewing and roasting, particularly in the case of immature beans producing the greatest variation in the results. Figures 5 and 6 shows the effect of temperature of brewing and degree of roasting on aroma profiles.

Figure 5: Influence fo brewing temperature on headspace volatiles

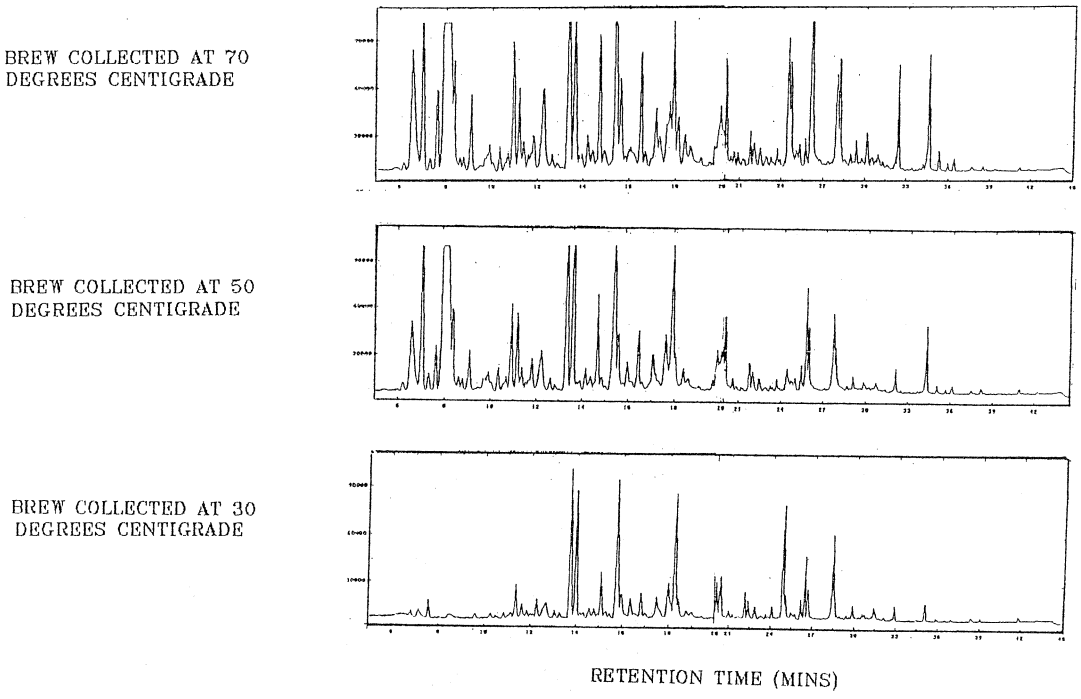


Figure 6: Influence of degree of roast on headspace volatiles

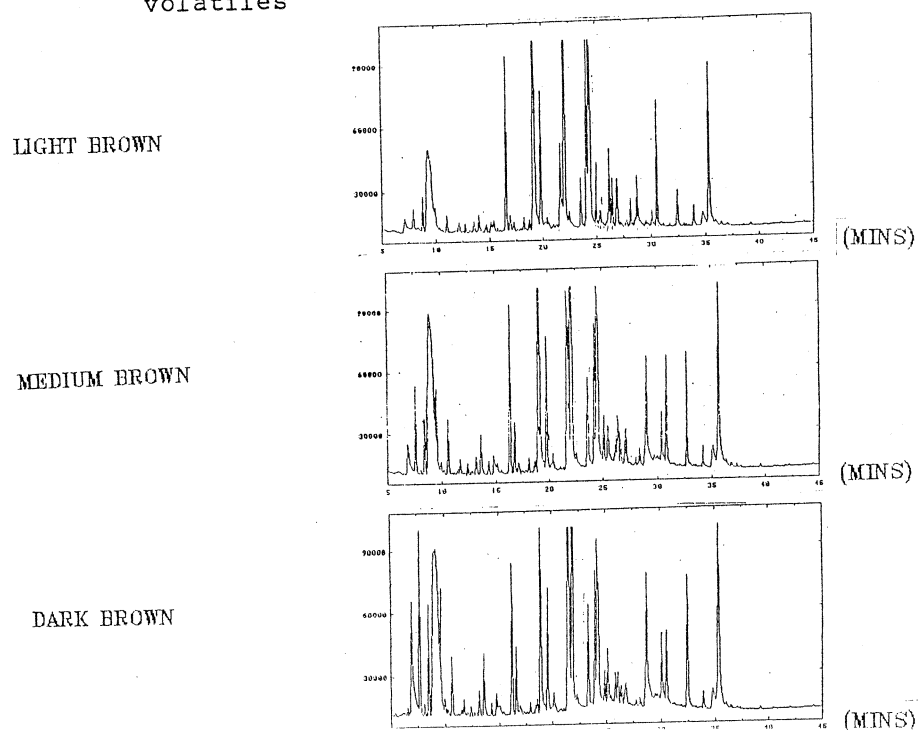


Table 3: Compounds identified in coffee in present investigation

43 HYDROCARBONS
21 ALIPHATIC ALCOHOLS
3 AROMATIC ALCOHOLS
6 DIOLS
11 PHENOLS
4 THIOPHENOLS
13 ACIDS
15 ALIPHATIC ESTERS
2 ALIPHATIC HYDROXY ESTERS
2 LACTONES
4 ALIPHATIC KETO ESTERS
4 AROMATIC ESTERS
3 AROMATIC HYDROXY ESTERS
25 ALIPHATIC ALDEHYDES
6 AROMATIC ALDEHYDES
27 ALIPHATIC KETONES
4 AROMATIC KETONES
12 ALIPHATIC DICARBONYLS
1 AROMATIC HYDROXY CARBONYL
5 ALIPHATIC ETHERS
1 ALIPHATIC NITRILE
10 ALIPHATIC SULPHUR COMPOUNDS
1 AROMATIC SULPHUR COMPOUND
30 FURANS
3 FURFAN ALCOHOLS
6 FURAN ESTERS
3 FURAN ALDEHYDES
9 FURAN KETONES
8 FURAN DICARBONYLS
4 FURAN ETHERS
2 FURAN NITRILES
5 FURAN SULPHUR COMPOUNDS
12 PYRROLES
7 PYRROLE CARBONYLS
5 PYRIDINES
2 PYRIDINE CARBONYLS
1 PYRIDINE SULPHUR COMPOUND
26 PYRAZINES
2 PYRAZINE CARBONYLS
6 FURAN HETROCLYC COMPLEXES
4 OXAZOLES
11 NITROGEN CONTAINING COMPOUNDS (NOT CLASSIFIED)
14 THIOPHENES
5 THIOPHENE CARBONYLS
11 THIAZOLES
2 THIAZOLE CARBONYLS
3 MISCELLANEOUS

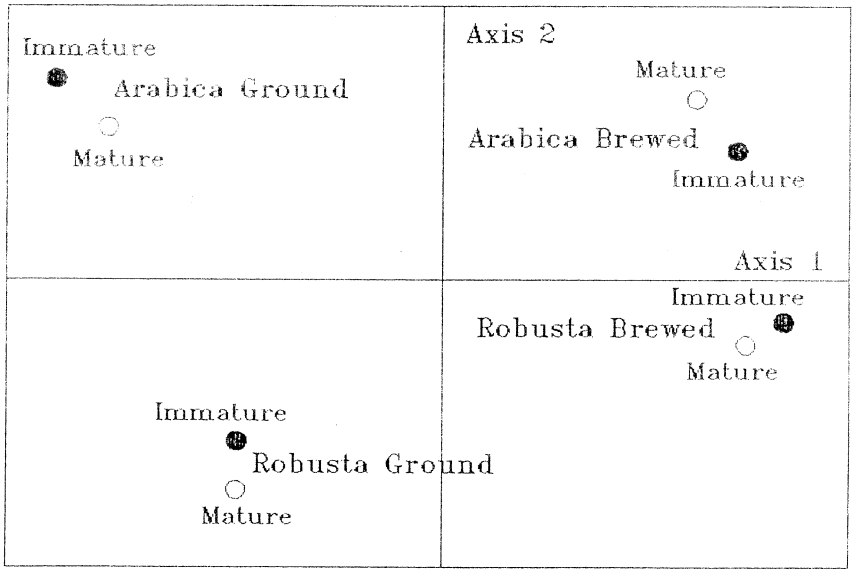
Structures, (some only tentatively) were allocated to over 400 components detected (table 3). Of particular interest are the thiuranes and terpenes.

Sulphur components which are of particular interest could readily be differentiated from non sulphur containing compounds using the FPD (table 6).

Furfural mercaptan, a compound believed to be particularly important to coffee aromas (4, 18, 19) was detectable using headspace techniques down to 25ng/ml in the brewed coffee or 300ng/gm in ground coffee using the Sil 8 and FPD. Determination using FID alone and mass spectral confirmation of structure was difficult due to coelution with 2-acetylfuran and 2-methylpyrazine. Using single ion monitoring and FPD chromatography, furfural mercaptan could only be detected in the headspace of brewed coffees indicating that its presence in the ground coffee must be less than the above quantity. The above information also indicates that furfural mercaptan, even at the same concentration must contribute more to the aroma of brewed coffees than ground coffees.

The application of multivariate statistical analysis (figure 7) showed that again dimensions could be extracted which clearly separated ground and brewed coffees and Arabica from Robusta coffees. Brewed coffee would appear to contain more pyrrole and complex furan components but less methylpyrazine, 2,5-furanedione and furfuryl alcohol than ground coffee and the Arabica coffees more terpinolene and furfural than the Robustas.

Figure 7: Principal component analysis of Arabica and Robusta coffees



Non-volatile information from the same coffee was also subjected to statistical examination. Again the samples could be clearly differentiated, several variables accounting for differences except in the case of the roasted ground beans where 4,5-dicaffeolquinic acid and galactose appeared to carry the most weight when differentiating immature and mature beans.

PHASE II THE MAIN INVESTIGATION

In the main investigation immature and mature coffees were received from India (1 sample), Brazil (1 sample), Indonesia (1 sample), the Ivory Coast (1 sample) and Ethiopia (6 samples) and subjected to the following four part investigation:-

(i) the analysis of the non volatiles of the green bean and cup coffees

(ii) the analysis of the volatile components of the ground roasted bean and cup coffees

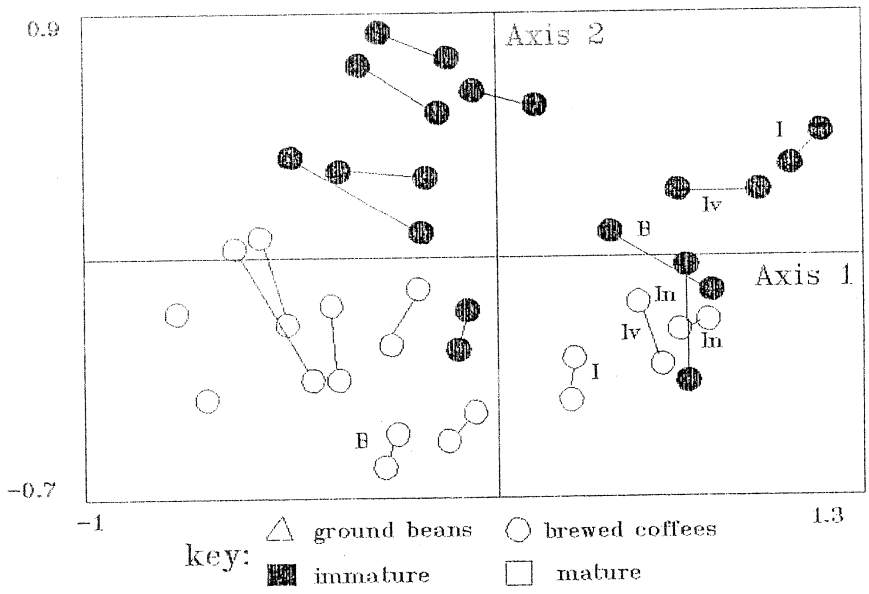
(iii) the sensory examination of the cup coffees

(iv) the statistical analysis of the above data sets to discover differences in respect to maturity, brewing and origin as well as relationship between parts I and II with the sensory data (part iii above).

Sensory Data

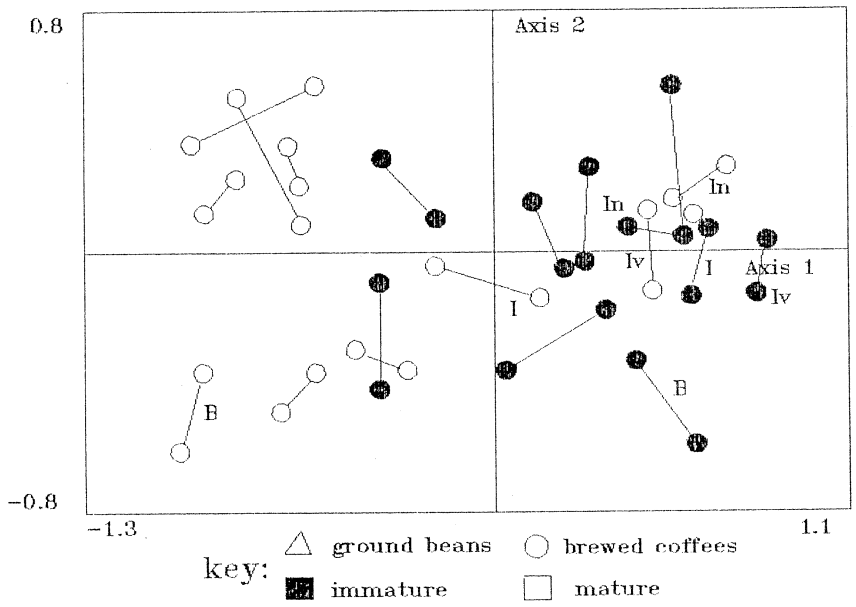
In the main investigation coffees were only examined as brews, the results of applying multivariate techniques being

Figure 8: Procrustes analysis of sensory aroma data (mature and immature coffees)



summarised in figures 8 and 9, the first figure based on aroma and the second on flavour. Replication, as indicated

Figure 9: Procrustes analysis of sensory flavour data (mature and immature coffees)



by lines and in both cases was good indicating assessors were behaving in a constant manner.

As far as aroma is concerned, the first dimensions, with the exception of the Brazilian mature coffee separates Ethiopian coffees from non Ethiopian (axis 1), on the basis of fruityness, wineyness and rubbery burnt notes, the Ethiopian coffee having more fruity aromas than the non Ethiopian coffees. Axis 2, in general, separates the coffees with the exception of one of the Ethiopian roasted immature coffees, on the basis of maturity. The immature coffees being described as rancid and animal like and the mature coffees as caramel like.

When examining flavour, the first dimension, with the exception of the Indonesian roasted mature coffees, the Ivory Coast roasted mature coffees and two Ethiopian roasted immature coffes, separated the coffees on the basis of maturity, the mature coffees being described primarily as acid and slightly more astringent and less bitter than the immature coffees. Axis 2 was largely described as the presence of sourness and lack of sweetness, body and

astringency; coffees such as one of the Ethiopian roasted mature coffees and one of the Ethiopian roasted immature being the most sour and the Brazilian roasted mature and immature (4) coffees, the least sour and most sweet, astringent and full of body.

ANALYTICAL

General Information

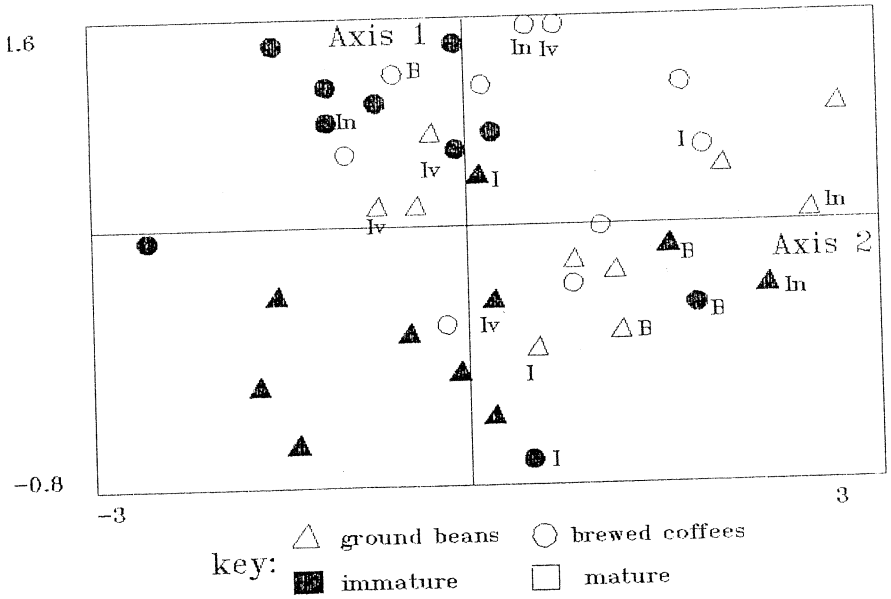
Taking the examinations as a whole, the various matching exercises led to the belief that 530 different components were being detected following examination on the CP wax column and 340 on the Sil 8 column. Although by a long way not all components were present in all samples, the average number in any one run being of the order of 150, many were common varying only in relative concentrations.

Visual examination of the data also showed a number of interesting points.

Higher concentrations of C1 - C3 substituted pyrazines were found in the ground beans as apposed to the brewed coffees, this being confirmed by single ion monitoring.

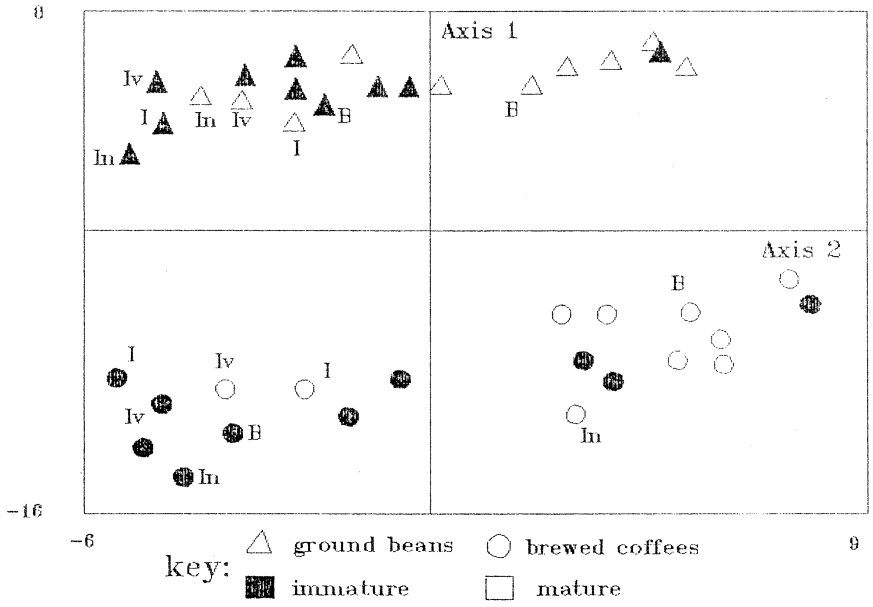
There was a higher concentration of sulphur containing compounds in brews as opposed to ground coffees. Immature coffees in particular Ethiopian products contained more dimethyl sulphide than mature counterparts, irrespective of whether examining brewed or ground coffee. Mature coffees and immature brewed coffees contained higher concentrations of alkyl pyrroles and alkyl thiazoles than immature ground coffees. Linalool oxide could only be detected in the ground coffee and linalool itself was found in higher concentrations in the brewed coffees. Ethiopian coffees would appear to have high levels of low boiling components.

Figure 10: Canonical variate analysis of all coffees (FID CP Wax 57)



Examination of the data sets using multivariate statistical techniques generally provided good separation between brewed and ground coffees (figure 11) but only in the case of the data generated from the CP Wax 57 column using CVA was there an indication of an overall separation between mature and immature coffees (fig 10).

Figure 11: Principal component analysis of all coffees (FPD)



Although not clear cut, Axis 2 (27% of the variation) separated immature coffees from mature coffees. Correlation with the raw data indicated that this separation was largely due to immature coffees having higher levels of furan components and lower levels of an unknown component eluting at a retention time of 28.305 mins.

PCA examination of the sulphur containing constituents on their own provided the information given in figure 11. Axis 1 accounting for 55% of the variation and axis 2, 11%. Axis 2 with the exception of the Ivory Coast, the Indian and three of the Ethiopian coffees, provided a degree of separation between mature and immature coffees. Immature coffees whether brewed or ground were seen to contain more sulphur containing components than the mature coffees.

Examination of the ground and brewed coffees on their own using the CP Wax 57 column again provided some indication of

separation between mature and immature coffees when subjected to Principal component analysis (figures 12 and 13). In the case of the ground coffee axis 1 (10.7% of the

Figure 12: Principal component analysis of all ground coffees (FID CP Wax 57)

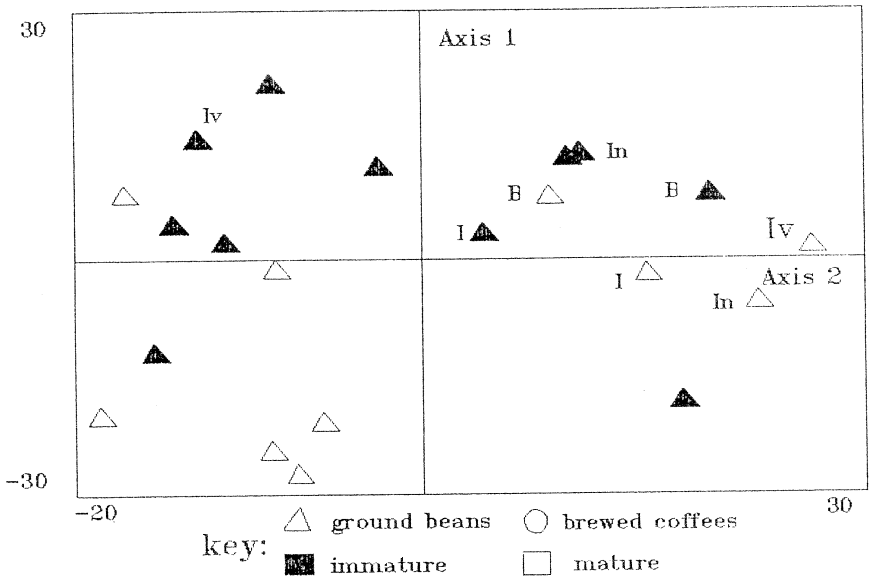
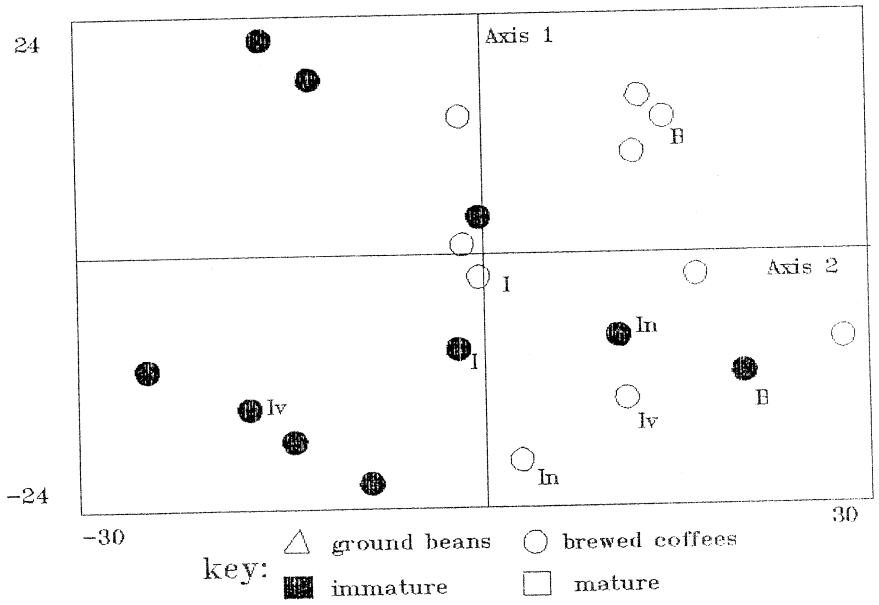


Figure 13: Principal component analysis of all brewed coffees (FID CP Wax 57)



variation) provided a degree of separation between immature and mature samples and axis 2 on the basis of origin. In the case of the brewed products, axis 2 (7.6%) with the exception of the immature Indian, Indonesian and Brazilian coffees showed separation in respect to maturity. Mature ground coffee would appear to have less pyrrole and more furfural and bifuran and Ethiopian ground coffee more propane-2-one, substituted pyrrole and hexanal and less isobutanol. Brewed mature coffees were separated from immature coffees primarily on the basis of two unidentified peaks of low retention time.

NON-VOLATILE DATA

Non-volatile data was examined primarily following scaling to remove the effect that different measurements were arbitrarily of different numeric magnitude. Also in view of the first flavour dimension separating mature and immature coffees, relationships of this dimension with the non-volatile data was also explored in an attempt to throw further light on important analytical indeces of maturity.

Examining the non volatile data using PCA without superimposing constraints provided little information. Canonical variate analysis (eg table 4), however irrespective of whether

Table 4: Canonical variate scores based on roasted beans

	SAMPLE	SCORE
IMMATURE	INDIAN	-2.4
	BRAZILLIAN	-2.3
	INDONESIAN	-1.06
	IVORY COAST	-2.12
	ETHIOPIAN	-0.49
	ETHIOPIAN	0.63
	ETHIOPIAN	-1.52
	ETHIOPIAN	-3.09
	ETHIOPIAN	-2.27
	ETHIOPIAN	-1.6
MATURE	INDIAN	2.5
	BRAZILLIAN	2.56
	INDONESIAN	1.64
	IVORY COAST	1.96
	ETHIOPIAN	0.84
	ETHIOPIAN	0.74
	ETHIOPIAN	2.14
	ETHIOPIAN	0.14
	ETHIOPIAN	1.21
	ETHIOPIAN	2.84

examining the total data set or subset based on green or

roasted beans provided a linear combination of variables, which with just one exception separated the coffees on the basis of maturity. With the exception of one mature roasted Ethiopian coffee in the case of the total data set and one immature roasted Ethiopian coffee in the case of the separate examinations all immature coffees were rated in one direction and the immature in the other. Compounds which are significant in making the separation independently of numeric magnitude of the measurements made are listed in table 5.

Table 5: Non volatile compounds contributing to separation of mature and immature coffees

CVA

COMPONENTS CONTRIBUTING TO SEPARATION OF MATURE AND IMMATURE COFFEES

3,4-DICAFFEOYLQUINIC ACID, 4,5-DICAFFEOYLQUINIC ACID, ARGININE(F) LYSINE(F), TYROSINE(F), THREONINE(F), ALANINE(F), ASPARTAMINE(T), GLUTAMINE(T LEUCINE(T), LYSINE(T), TYROSINE(T), GALACTOSE, MOISTURE, SUGAR, TRIGONOLINE

PLS

COMPONENTS RELATING TO FIRST SENSORY DIMENSION

5-FERUOYLQUINIC ACID, CAFFIENE, TOTAL VALINE AND TRIGONOLINE

The partial least squares examination relating flavour and mouthfeel sensory data to the non-volatile analytical data (see later), indicated 5-feruoylquinic acid, caffiene, total valine and trigonoline to be related to sensory dimension 1 which in turn was related to maturity.

RELATIONSHIPS BETWEEN SENSORY AND ANALYTICAL DATA

Both mathematical and non-mathematical approaches were used to provide information on the origin of particular flavour characteristics. Simple sniffing of the components as they were separated by gas chromatography provided some indication of what flavour characteristics could be associated with particular components. Table 6 based purely on sulphur containing components illustrates the sort of information obtained.

Aroma or flavour however is not perceived as a series of individual stimuli but as the result of the assessors response to the components in total when various interactions can take place. Mathematical approaches attempt to some extent to simulate this phenomena. In this research the relationships between various data sets were investigated using techniques

ranging from simple correlation to partial least squares

Table 6: Flame photometric data and odour comments

Peak	Identification	Odour comments Sampler 1	Sampler 2
4		chocolate (2)	Sweet sulphur (2)
7	dimethyl sulphide	cabbage water (1)	sulphur component/ Me SH?
8	carbon disulphide	cabbage water (1)	
10	thiurane		
11	methylthiurane		
12	thiophene		peanuts (1)
13			toffee (1)
14	thiazole		strawberry jam (2)
16	dimethyl disulphide	sweet/sour (2)	acetone (2)
17	dihydrothiophene		
18	a methylthiophene		wet cardboard (1)
19	a methylthiophene		cardboard
23	methylthiazole	cyclic sulphur (onions)(1)	acid/alcoholic (2)
24			cabbage (3)
25	methyldihydrothiophene		sickly/bad breath (3
26	methylthiazole		sweaty feet (4)
27	ethylthiophene	lacrimate (1)	
28	dimethylthiophene	butyl/rubber/ sweet	cocoa (2)
29	a C2-thiophene?		
30	a C2-thiophene ?		
31	diemthylthiophene		
32	dimethylthiophene		
35	thiophenol	roasted nuts (2)	new engine oil (3)
36	a C2-thiazole ?		
37	dihydromethylthiophene		
39	furfurylmercaptan		scrambled eggs (2)
40	dimethylthiazole		
41	a C2-thiazole	nutty/cocoa (3/4)	roasted nuts
43	ethylthiazole		
44		fruity (1)	
47	a C3-thiophene?		
49	dimethyl disulphide		wet cardboard (2)
50	methyltetrahydro thiophene		
51	methyltetrahydro thiophene	sulphur rubber compound (3)	sweet (1)
53	furan derivative		very pungent metalli (3)
54	a methylthiophenol	fruity (1)	cocoa/coffee (1)
55	a methylthiophenol?		
56	a methylthiophenol		
61	a C4-thiazole?		
62	a C4-thiazole		
65	a C5-thiazole		
66	a C4-thiazole?		
67	a C4-thiazole?		
68	methylethylthiophene		
70	furan derivative	brazil nuts (2)	strong rubber (2)
72	methoxymethyl thiobenzene		fresh roast
73	dimethyl tetra-sulphide		
74	butanoylthiophene		
75	furan derivative		

regression (20). Mean sensory scores singly or in combination and scores for samples on each of the main sensory dimensions, as obtained by generalised Procrustes analysis, on one side were related to various volatile and non-volatile analytical data sets, singly and in combination on the other.

Typical of the type of results obtained are given in tables 7 and 8.

Table 7: Relationship between sensory and gas chromatographic data based on first procrustes sensory dimension

FIRST SENSORY DIMENSION	RELATED ANALYTICAL DATA
RUBBERY, BURNT, NUTTY ASHY AND WOODY (+)	METHYLCYCLOPENTANONE, 2,5-DIMETHYLPYRAZINE PLUS TWO UNKNOWNS(+)
CONTRASTED WITH	CONTRASTED WITH
FRUITYNESS (-)	ETHYLPYRAZINE LINALOOL DIHYDROINDOLE PULEGONE AN UNKOWN TERPENE PLUS FOUR UNKNOWNS(-)

Table 8: Components associated with burnt/smokey characteristics

ATTRIBUTE	PERCENT VARIATION EXPLAINED (SENSORY)	PERCENT VARIATION ACCOUNTED FOR (ANALYTICAL)	SIGNIFICANT COMPONENTS
BURNT/ SMOKEY	92%	2%	METHYLTHIOPHENE A C2 SUB BENZENE A C2 SUB PHENOL A METHOXYMETHYL-BENZENE FURFURYLMERCAPTAN

Although a relatively large number of components were detected and monitored only 34 volatiles and 16 non-volatiles appear to show significance in the mathematical models, many of these too still elude identification. Terms such as oily, burnt/smokey, caramel, cereal/malt/toast-like, earthy, floral, fruity, citrus, grassy, green, herbal, rubber-like, winey, and woody were well explained. The analytical data too was with the exception of saltyness able to explain 50% of the variation in the sensory taste data. The terms chocolate, malty rancid/rotton, spicy and tobacco however only showed poor relationships. Sulphur components on their own accounted for reasonable variation in burnt, smokey, caramel and earthy notes.

Particularly important components in the above relationships were furfuryl mercaptan (related positively to oily, burnt/smokey, cereal/malty toast-like, rubber and woody and negatively to fruity, floral, citrus and winey): hexanal and terpenes (related positively to fruity, floral, and citrus): methylcyclopentanone, thiophenes and thiazoles (related positively to rubbery, burnt, nutty, ashy, and woody and negatively to rancid and fruity): 2,3-octanedione, 2,3-pentanedione, 2,3-butanedione (related positively to caramel and negatively to chemical/medicinal): dihydroindole (related positively to fruity and winey): ethylpyrazine related positively to ashy, grassy, green, herbal, winey and negatively to cereal/malt/toast-like and rubbery): 3-ethyl-6-methylpyrazine (related positively to fruityness): 2,5-dimethylpyrazine (related positively to ashy, grassy, green, herbal and fruity and rubbery): caffeine (related positively to bitterness and negatively to acidity and sweetness): feroulquinic acid (related positively to acidity and negatively to bitterness) and trigonolene (related positively to astringency).

CONCLUSIONS

The research has provided some interesting information in respect to coffee flavour and its origin in brewed and ground coffees. Coffees could readily be distinguished but differences based on maturity, although showing meaningful differences within a product from a given region, showed no clear cut pattern over the coffees as a whole. Despite this some trends were extracted.

On the sensory side, the aroma of immature coffees in particular the Ethiopian coffees were described as rancid and animal-like whereas mature coffees had more caramel aromas. Flavourwise the trend was for mature coffees to be more acid and less bitter than immature coffees.

Examination of the analytical data again showed large differences particularly between brewed coffees and ground beans and between coffees of different origins but no clear cut differences between mature and immature products.

Immature coffees, in particular Ethiopian products and brewed coffees however appear to contain more dimethyl sulphide, and sulphur compounds in general. Mature brewed coffees also contain higher levels of alkyl pyrroles and thiazoles and less furans than immature coffees whereas mature ground coffees would appear to have less pyrroles and more furans.

Although non of the non-volatiles monitored demonstrated a clear separation between immature and mature coffees as a whole, some components showed definite trends. Mature beans in general contained higher levels of 3,4- and 4,5-dicafeoylquinic acid, 5-feruolquinic acid, lysine (free), threonine (free), threonine (free), galactose, total sugar and moisture and lower levels of most total amino acids, caffeine and trigonoline than immature beans. Obviously however, on the basis of the various canonical variate analyses carried out, these can be used in combination to differentiate mature and immature beans.

Exploring relationbships between sensory and analytical data provided many interesting clues as to the origin of particular sensory characteristics such as burnt/smokey, caramel, cereal/malty toast-like, floral, fruity and citrus like. Unfortunately a number of the components noted as being statistically significant in various relationships still remain unidentified.

ACKNOWLEDGEMENTS:

Dr. R. Macrae is ackowledged in respect to the provision of the non-volatile data used in the various statistical analyses.

The International Coffee Organisation, who funded the research programme is also thanked for giving their permission to publish this paper.

REFERENCES

1, Maarse, H. and Visscher, C.A. Volatile Compounds in Food Qualitative Data. Supplement 3 (1986). TNO., Division for Nutrition and Food Research, Utrech, The Netherlands.

2, Clarke, R.J. and R. MacRae (Editors). Coffee Vol. 1. Elsevier, Applied Science (1985).

3, Silwar, R., Bendig. I., Walter, G. and Dommers, D. Kapillar-gaschromatographische Untersuchungen fluchtiger Scwefelverbindungen des Kaffeearomas durch simultane FID/FPD-Detection. Lebensmittelchem., Gerichtl. Chem., 40, 84-88, (1986).

4, Silwar, R., Kamperschroer, H. and Tressl, R. Verhalten einiger schwefelsubstitutierter Furanderivate wahrend der Alterung von Arabica- und Robustarostkaffee. Chem. Mikrobiol, Technol, Lebensm., 10, 176-187, (1987).

5, Baltes, W., Bochmann, G. Model Reactions on Roast Aroma Formation. Reaction of Serine and Threonine with Sucrose under the Conditions of Coffee Roasting and Identification of

New Coffee Aroma Compounds. J. Agric. Food Chem., 35, 340-346, (1987).

6, Baltes, W. and Bochmann, G. Model Reactions on Roast Aroma Formation. Mass Spectrometric Identification of Furans and Furanones from the Reaction of Serine and Threonine with Sucrose under the Conditions of Coffee Roasting. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 184, 179-186, (1987).

7, Baltes, W. and Bochmann, G. Model Reactions on Roast Aroma Formation. Mass Spectrometric Identification of Pyrroles from the Reaction of Serine and Threonine with Sucrose under the Conditions of Coffee Roasting. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 184, 478-484, (1987).

8, Baltes, W. and Bochmann, G. Model Reactions on Roast Aroma Formation. Mass Spectrometric Identification of Pyrazines from the Reaction of Serine and Threonine with Sucrose under the Conditions of Coffee Roasting. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 184, 485-493, (1987).

9, Baltes, W. and Bochmann, G. Model Reactions on Roast Aroma Formation. Mass Spectrometric Identification of Pyradines, Oxazoles and Carbocyclic Compounds from the Reaction of Serine and Threonine with Sucrose under the Conditions of Coffee Roasting. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 185, 5-9, (1987).

10, Wada, K., Ohgama, S., Sasaki, H., Shimoda, M., Osajina, Y. Classification of Various Trade Varieties of Coffee by Coupling of Sensory Data and Multivariate Analyses. Agric. Biol. Chem., 51, 1745-1752, (1987).

11, Wada, K., Sasaki, H., Shimoda, M. and Osajima, Y. Objective Evaluation of Various Trade Varieties of Coffee by Coupling of Analytical Data and Multivariate Analyses. Agric. Biol. Chem., 51, 1753-1760, (1987).

12, Liardon, R., Ott, U. and Daget, N. Analysis of Coffee Headspace Profiles by Multivariate Statistics. In: Analysis of Volatiles, Methods and Applications. (Ed. P. Schreier), Walter de Gruyter and Co., Berlin 447-459, (1984).

13, Liardon, R. and Spadone, J.C. Coffee Aroma Investigation by Combined Capillary GC. Headspace Analysis and Multivariate Statistics. Colloq. Sci. Int. Cafe, 11, 181-196, (1985).

14, Nurok, D. Anderson, J.W. and Zlatkis, A. Profiles of Sulfur Containing Compounds Obtained from Arabica and Robusta Coffees by Capillary Column Gas Chromatography. Chromatographia, 11, 188-192, (1978).

15, Feria-Morales, A Technical and Research Activities Towards Improving Coffee Quality at the Research and Test Unit and Promotion Fund of the International Coffee Oeganisation, this procedings.

16, Vitzthum, O.G., and Werkhoff, P. Aroma Analysis of Coffee, Tea and Cocoa by Headspace Techniques. In: Analysis of Foods and Beverages. Headspace Techniques. (Ed. G. Charalambous), Academic Press, New York, 115-133, (1978).

17, Tassan, C.G. and Russell, G.F. Sensory and Gas Chromatographic Profiles of Coffee Beverage Headspace Volatiles Entrained on Porous Polymers. J. Food Sci., 39, 64-68, (1974).

18, Bauer, K. and Garbe, D. Common Fragrance and Flavour Materials. VCH, Weinheim (1985).

19, Tressl, R. and Silwar, R. Investigation of Sulfur-Containing Volatiles in Roasted Coffee. J. Agric. Food Chem., 29, 1078-1082, (1981).

20, Williams, A.A., Rogers, C.A and Collins, A.J. Relating Chemical/Physical and Sensory Data in Food Acceptance Studies. Food Quality and Preference, 25-31, (1988).

SUMMARY

Although our knowledge of constituents in coffee potentially contributing to its aroma and flavour has increased tremendously over the last fifteen years, relatively little is known about how these relate to the various notes making up the coffee aroma/flavour complex. Neither is much known about how such factors as cultivar, climate, harvesting procedures, roasting, grinding or final brewing influence sensory and analytical properties.

The research reported in this paper was instigated primarily to investigate the effect of bean maturity on both the sensory and analytical properties of brewed coffee, but also permitted other factors such as the relationships between the sensory characteristics and chemical composition to be explored.

Following preliminary research in which a sensory profiling language was developed, non-volatile components selected for analysis, various aroma collection procedures investigated and standardised and volatiles identified, 10 coffees, (6 Ethiopian, 1 Indian, 1 Brazilian, 1 Indonesian and 1 Ivory Coast) as green beans, ground roasted beans and brewed coffee from immature and mature beans, were analysed chemically and where appropriate sensorily.

All results, sensory and chemical (volatile and non-volatile) were examined directly and subjected to various multivariate statistical analyses to assist in both abstracting significant information and in determining relationships between the various data sets.

Sensory analysis of coffee aroma showed that each of the ten brewed coffees made from mature beans were different from their immature counterparts. Taking the coffees as a whole, however no systematic differences were determined since differences between mature and immature coffees varied according to country and region of origin. With regard to taste, coffee prepared from mature beans were generally more acid, more astringent and less bitter than coffee made from immature beans. Chemically, differences were found between each mature sample and its immature counterpart when examining both ground coffees and brewed coffees, furans and sulphur containing compounds and the general level of non-volatiles enabling mature and immature coffees to be differentiated. In addition, the chemical composition of brewed coffees differed markedly from that of ground coffees.

Based on partial least squares regression various sensory terms such as burnt, smokey, caramel, cereal/malty/toasty, earthy, floral, fruity, citrus, grassy, winey and woody were also well explained by the analytical data but others such as chocolate, nutty, rancid, spicy and tobacco-like only provided poor relationships.

Résumé

Examen analytique et sensoriel de café moulu et de café boisson, en tenant particulièrement compte de la maturité du grain.

Après des études préliminaires, 10 cafés (6 éthiopiens, 1 indien, 1 brésilien, 1 indonésien et 1 ivoirien) à l'état vert, torréfié moulu et sous forme de boissons préparées à partir de grains immatures et mûrs ont été analysés chimiquement et soumis à l'analyse sensorielle pour déterminer d'éventuelles relations.

Tous les résultats ont été examinés directement et soumis à des analyses statistiques multivariables.

L'examen sensoriel de l'arôme des boissons a montré que dans tous les cas il y avait une différence entre celles issues de grains mûrs et celles issues de grains immatures. Mais les différences variant en fonction des pays et des régions d'origine il n'a pas été possible d'établir des différences systématiques entre les cafés mûrs et les cafés immatures. En ce qui concerne le goût, les boissons préparées avec des grains mûrs étaient généralement plus acides, plus astringentes et moins amères que celles issues de grains immatures. L'examen chimique des échantillons "mûrs" et "immatures", au stade des cafés moulus et des boissons, a permis d'établir entre eux des distinctions au niveau des furanes, des composés soufrés et des teneurs en composés non volatils. En outre, la composition chimique des cafés boissons était nettement différente de celle des cafés moulus.

Certaines notations sensorielles, telles que "brûlé", "fumé", "caramel", "céréale/malté/toasté", "terreux", "floral", "fruité", "citrus", "herbeux", "vineux" et "boisé" ont pu être expliquées par des résultats analytiques, alors que d'autres, telles que "chocolat", "noix", "rance", "épicé" et "comme le tabac" n'ont pas pu être reliées à des données analytiques.

IDENTIFICATION DES COMPOSÉS VOLATILS ALKYLSULFURES ET ALKYLDISULFURES DE L'ARÔME CAFÉ

B. GUYOT, J.-C. VINCENT
Laboratoire de Chimie-Technologie de l'IRCC-CIRAD
B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

INTRODUCTION

L'arôme du café torréfié est composé environ de 1000 constituants qui ont été identifiés (CLARK R.J.) et les principales familles de composés de cet arôme sont les furannes (16,1 %), les pyrazines (11,8 %), les pyrroles (11,0 %) et les cétones (FLAMENT I.). Il existe également une famille de composés très importante qui représente environ 100 produits soufrés à savoir les thiazoles, thiophènes, mercaptans, sulfures ou polysulfures divers (MAARSE H.). L'importance de ces composés du point de vue aromatique a été mise en évidence par TRESSL R. et SILWAR R. en ce qui concerne les furfurylmercaptans dont l'odeur varie en fonction de la concentration. La formation de ces produits tels que furfuryl-2 méthanethiol, furfuryle méthyle sulfure et furfuryle méthyle disulfure a été étudiée récemment en système modèle sous conditions de torréfaction (TRESSL R. et ENGEL K.H.) ; par contre, la formation et l'identification de composés soufrés très volatils n'ont pas été étudiées et peu de produits sont cités dans la littérature (REICHSTEIN T., SULLIVAN J.H., STOFFELSMA J., STOLL M.).

Ces composés très volatils tels que hydrogène sulfure, méthyle sulfure, méthyle éthyle sulfure, dont la présence à haute concentration est toujours considérée comme mauvaise au niveau de l'odeur, n'ont été jusqu'à présent déterminés qu'à l'état de traces car les techniques analytiques utilisées comme l'extraction avec solvant, co-distillation avec un appareil de Lickens, entraînement à la vapeur, n'ont pas permis une extraction fiable de ces composés très volatils, la perte étant toujours importante lors des phases de concentration du solvant d'extraction.

Le but de cette étude a donc été d'utiliser une méthode d'extraction avec enrichissement des fractions volatiles (GUYOT B., WANG T.H., NUROK D.) et d'analyser par chromatographie phase gazeuse avec un détecteur à photomètre de flamme afin d'identifier ces produits soufrés très volatils de l'arôme café.

Une comparaison des profils chromatographiques de différents cafés ARABICA et ROBUSTA, et de cafés à goût puant a également été effectuée.

I - PARTIE EXPERIMENTALE

1) Préparation des échantillons

Les échantillons de café vert (150 g) de provenance géographique diverse :

- ARABICA : BRESIL, KENYA, COSTA RICA, BURUNDI, CAMEROUN, COLOMBIE
- ROBUSTA : COTE D'IVOIRE, MADAGASCAR, CAMEROUN

ont été torréfiés avec un torréfacteur de laboratoire PROBAT type RE1 à 250°C.

Les échantillons sont ensuite conservés à -25°C avant analyse.
Les échantillons à goût puant ont été sélectionnés par tests organoleptiques : Origine : BURUNDI, CAMEROUN, HAITI.

2) Conditions expérimentales

Le dispositif utilisé pour l'extraction, la concentration et l'analyse des composés soufrés volatils est constitué du couplage suivant :

- Platine DCI Girdel (Désorption-Concentration-Injection)
- Chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard modèle 5890 équipé d'un détecteur à photomètre de flamme Référence 19256A.

2.1.) Paramètres de fonctionnement de la platine DCI

- Four de désorption

  * Cafés torréfiés
    . Echantillon 50 à 130 mg de café torréfié broyé
    . Température : 70°C
    . Durée : 2 mn

  * Solutions témoins de composés soufrés
    . Dépôt de 3 µl de solutions témoins sur 1 cm2 de papier, soit environ de 0,05 µg à 0,1 µg suivant les produits
    . Température : 70°C
    . Durée : 1 mn

  * Gaz de balayage
    . Hélium
    . Débit : 35 ml/mn

- Piège concentrateur

  * Absorbant : TENAX GC (12 mg)
  * Température d'absorption : 0°C
  * Température de désorption : 150°C

2.2.) Conditions chromatographiques

- Colonnes capillaires

  * FSOT Bonded 30 m x 0,32 mm RSL 160
  * WCOT fused silica 50 m x 0,32 mm CP Sil 8 CB
  * Gaz vecteur : Hélium

. Débit : 2,5 ml/mn
* Température
. Phase isotherme : 40°C pendant 6 mn
. Phase de programmation : 2°C/mn jusqu'à 150°C

- Injecteur

* Split : débit 35 ml/mn
* Température : 180°C

- Détecteur photomètre de flamme

* Filtre : 393 nM
* Température : 180°C
* Débit des gaz
. air : 100 ml/mn
. hydrogène : 75 ml/mn
. ajout (He) : 20 ml/mn

II - RESULTATS ET DISCUSSION

La technique d'extraction utilisée -préconcentration des composés alkylsulfures et alkyldisulfures de la fraction volatile des composés aromatiques sur polymère absorbant TENAX GC- a permis d'obtenir une concentration suffisante permettant l'analyse chromatographique.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés aux composés les plus volatils et nous avons donc limité volontairement le temps d'absorption à 2 mn. Dans ces conditions expérimentales, les figures (1), (2) et (3) représentent les chromatogrammes types des composés soufrés présents dans l'arôme d'un café ARABICA ayant pour origine le KENYA et le COSTA RICA et d'un café ROBUSTA ayant pour origine la COTE D'IVOIRE. Ces 18 composés (mercaptans, sulfures et disulfures) ont été identifiés par deux techniques différentes :

- comparaison des temps de rétention sur deux colonnes capillaires de polarité différente,
- méthode des ajouts de différents composés soufrés aux poudres de café.

La liste des produits identifiés est donnée par le tableau I.

D'après les chromatogrammes, on constate que certains produits sont en quantité importante: Méthylmercaptan, Diméthyle sulfure, Diméthyle disulfure ; par contre, d'autres sont à l'état de traces : tert-butylmercaptan, propylmercaptan, éthyle méthyle sulfure, sec-butylmercaptan. Pour les mêmes conditions analytiques, les différences observées sur les chromatogrammes correspondant aux cafés ARABICA et ROBUSTA sont importantes. Seuls deux composés sont pratiquement présents dans le café ROBUSTA : Méthylmercaptan et diméthyle disulfure. Les autres composés, en particulier le diméthyle sulfure , sont présents seulement à l'état de traces. Ces résultats ont été également obtenus pour les cafés ROBUSTA provenant du Cameroun et de Madagascar. Les produits soufrés volatils sont donc en quantité moins importante dans les cafés ROBUSTA que dans les cafés ARABICA. Ces résultats semblent donc être en contradiction avec ceux exposés par NUROK D. qui trouve que les composés soufrés sont en quantité plus abondante dans le café ROBUSTA que dans le café ARABICA. Cependant, même si les techniques d'extraction et de préconcentration des composés volatils sont les mêmes, il faut noter que les conditions opératoires (absorption, température, durée et conditions analytiques chromatographiques) sont très différentes.

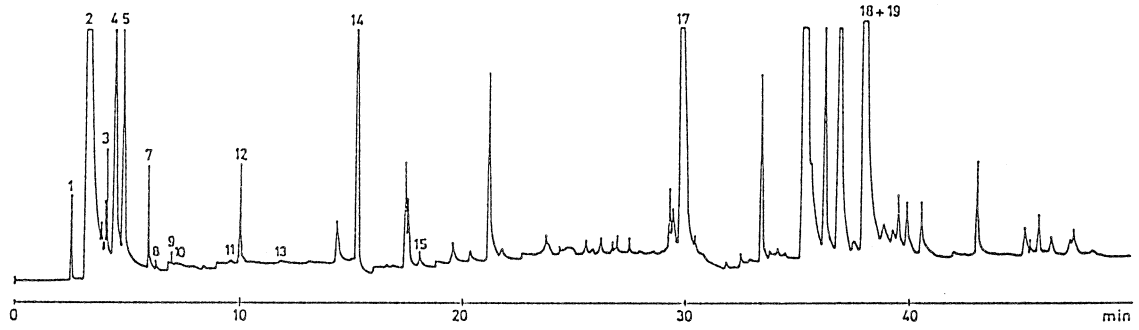


Fig. 1 : Chromatogramme correspondant à un café ARABICA KENYA

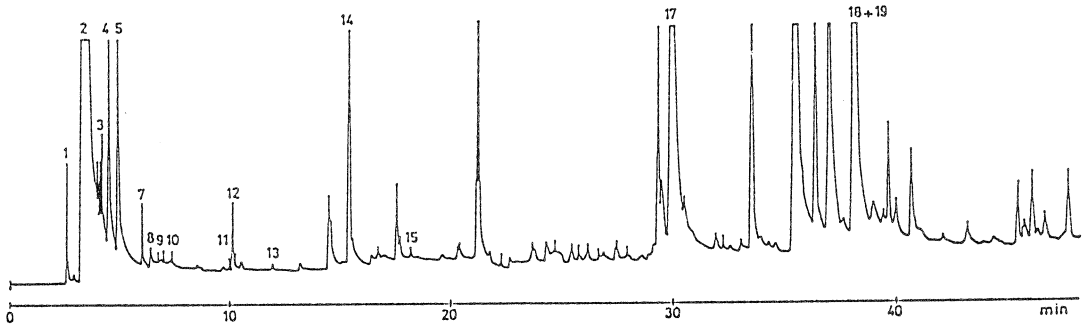


Fig. 2 : Chromatogramme correspondant à un café ARABICA COSTA RICA

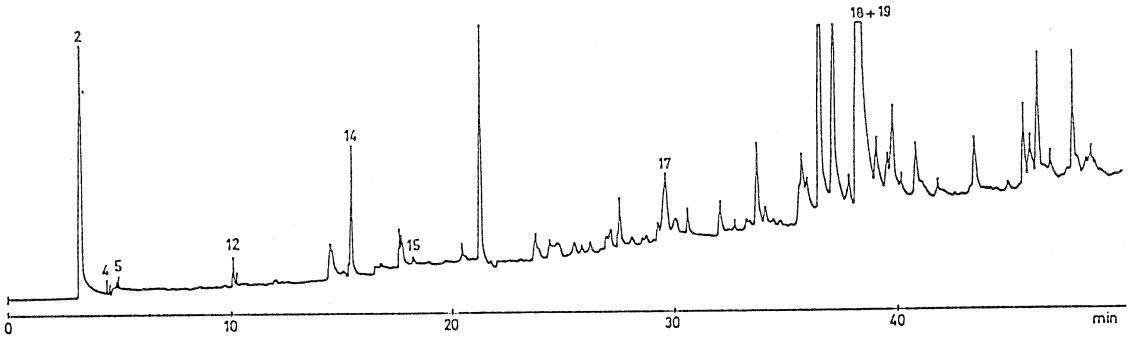


Fig. 3 : Chromatogramme correspondant à un café ROBUSTA COTE D'IVOIRE

NUROK s'est basé essentiellement sur des produits soufrés ayant une masse moléculaire plus élevée, tandis que notre étude ne concerne que les produits les plus volatils.

Tableau I : Liste des composés soufrés volatils identifiés dans l'arôme de différents cafés

Pic	Nature des composés soufrés
1	Hydrogène sulfure
2	Méthylmercaptan
3	Ethylmercaptan
4	Diméthyle sulfure
5	N.D.
6	Isopropylmercaptan
7	N.D.
8	Tert-butylmercaptan
9	Propylmercaptan
10	Ethyle méthyle sulfure
11	Sec-butylmercaptan
12	Thiophène
13	Diéthyle sulfure
14	Diméthyle disulfure
15	Méthyl-3 butanethiol-1
16	Méthyl-2 butanethiol-1
17	Furfurylmercaptan
18	Thiophènecarbaldéhyde-2

APPLICATION AUX CAFES A "GOUT PUANT".

Les cafés torréfiés à goût puant ont une odeur très caractéristique, volatile qui est facilement perçue par exemple lors du broyage des grains pour la préparation du café boisson. Jusqu'à présent, des analyses chromatographiques avec un détecteur FID de cet arôme n'ont pas montré de différences par rapport à un café sain ; nous avons alors analysé cette fraction volatile de l'arôme à l'aide d'un détecteur FPD spécifique aux composés soufrés.

La figure 4 représente un chromatogramme typique provenant d'un café ARABICA à goût puant (origine BURUNDI) analysé d'après les conditions opératoires décrites auparavant.

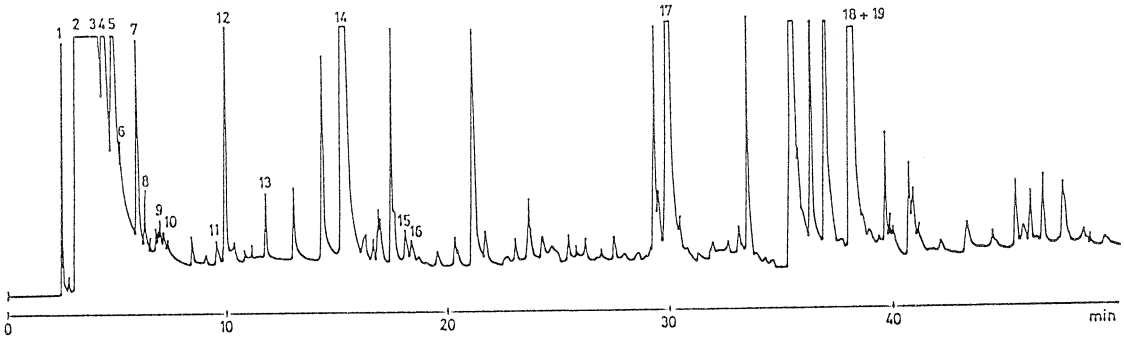


Fig. 4 : Chromatogramme correspondant à un café ARABICA à goût "puant"

Certains composés soufrés : Méthylmercaptan, Ethylmercaptan, Diméthyle sulfure et Diméthyle disulfure sont en quantité très importante, de l'ordre de 8 à 10 fois plus élevé que dans un café ARABICA sain. Des essais de dosage quantitatif ont permis de caractériser les concentrations en diméthyle sulfure (DMS) et en diméthyle disulfure (DMDS) pour des cafés ARABICA sains et des cafés ARABICA à goût puant (Tableau II).

Tableau II : Teneur en µg/g de DMS et DMDS dans un café ARABICA sain et dans un café ARABICA à goût puant

	DMS (µg/g)	DMDS (µg/g)
C. ARABICA sain	0,1 - 0,2	0,04 - 0,05
C. ARABICA à goût puant	0,8 - 1,0	0,3 - 0,4

D'autres composés comme isopropylmercaptan, tert-butylmercaptan, propylmercaptan, éthyle méthyle sulfure, sec-butylmercaptan, méthyl-3 et méthyl-2 butanethiol-1 ne sont plus à l'état de trace mais apparaissent en quantité non négligeable. Il apparaît que ces produits soufrés très volatils, à odeur désagréable lorsqu'ils sont à des concentrations relativement élevées participent activement au goût "puant". Ce résultat a été confirmé par l'analyse de café ARABICA à goût puant ayant pour origine HAITI et CAMEROUN.

TRESSL R. a montré que la dégradation d'acides aminés soufrés cystine, cystéine et méthionine, pendant la torréfaction peut conduire à la formation de composés soufrés. Ces réactions de dégradation en présence de sucres réducteurs conduisent à une série de composés soufrés tels que furfuryle méthyle sulfure, difurfuryle sulfure, difurfuryle disulfure. Ces réactions en système modèle entre acides aminés et sucres par exemple (BALTES W., YUANG Y.Z.) ont montré l'importance des acides aminés libres disponibles lors de la formation des composés aromatiques dans les conditions de la torréfaction du café.

Dans le cas des cafés à goût puant, l'origine de la forte concentration en composés soufrés volatils provient de la dégradation des acides aminés soufrés libres en forte concentration en particulier de la méthionine. Cette hypothèse a pu être vérifiée en dosant les acides aminés libres dans le café vert. D'après le tableau III, on constate que la teneur en méthionine libre est environ deux fois plus importante dans les cafés à goût puant que dans les cafés sains. Il en résulte donc logiquement une plus forte concentration de composés soufrés volatils formés par dégradation lors de la torréfaction.

Tableau III : Teneur en acides aminés libres (µmoles/g) de différents cafés verts

Acides aminés libres	CAFE ARABICA SAIN			CAFE ARABICA PUANT			
	BURUNDI			BURUNDI			CAMEROUN
	1	2	3	1	2	3	1
ASP	2,12	2,15	2,34	1,49	2,50	1,46	1,91
GLU	4,25	4,63	4,57	3,01	2,94	2,97	3,95
ASN	2,82	3,15	3,23	2,29	2,19	2,07	2,92
SER	1,29	1,50	1,59	1,84	1,79	1,82	2,04
GLN	0,13	0,16	0,17	0,85	0,78	0,72	0,76
HIS	0,28	0,37	0,39	0,64	0,68	0,63	0,64
GLY	0,70	0,87	1,15	2,30	2,21	2,18	2,63
THR	0,24	0,28	0,33	1,10	1,08	1,08	1,26
ARG	0,68	0,83	0,86	2,43	2,57	2,41	3,20
ALA	1,94	2,15	2,32	2,65	2,76	2,57	3,64
GABA	4,66	5,81	5,08	3,45	3,35	3,05	4,94
TYR	0,50	0,63	0,58	1,39	1,43	1,38	1,81
MET	0,40	0,52	0,50	0,87	0,88	0,84	0,99
VAL	0,62	0,78	0,74	2,04	2,10	2,00	2,30
PHE	0,83	0,85	0,89	1,71	1,76	1,71	1,97
ILE	0,62	0,63	0,66	1,16	1,22	1,16	1,41
LEU	0,57	0,77	0,77	3,96	4,11	3,90	4,22
LYS	0,63	0,83	0,75	3,48	3,42	3,22	4,30
TOTAL	23,28	26,90	26,94	36,66	36,79	35,28	45,08

Du point de vue pratique, cette technique analytique permet de caractériser un café torréfié à goût puant par l'examen du profil chromatographique des composés soufrés volatils caractéristiques tels que méthylmercaptan, éthylmercaptan, diméthyle sulfure et diméthyle disulfure. Jusqu'à présent, il n'existait pas de méthode objective caractérisant un café torréfié à goût "puant".

CONCLUSION

L'utilisation de cette technique d'extraction -préconcentration des composés volatils sur polymère absorbant couplée à la chromatographie phase gazeuse avec détecteur à photomètre de flamme- a permis de confirmer la présence et d'identifier un certain nombre de composés très volatils alkylsulfures et alkyldisulfures présents dans l'arôme café. Ce mode opératoire est particulièrement intéressant pour caractériser, de manière objective, des cafés torréfiés à goût "puant". Ceux-ci ont en effet, par rapport à un café sain, des teneurs plus fortes en composés soufrés volatils tels que méthylmercaptan, éthylmercaptan, diméthyle sulfure et diméthyle disulfure. Le rapport des concentrations peut varier de 8 à 10 fois.

B I B L I O G R A P H I E

BALTES W., BOCHMANN G.
J. Agric. Food Chem., 1987, 35, 340-346.

CLARK R.J.
The flavor of coffee. In : Food Flavours Part B : The flavour of beverages. Morton and Mac Lead (Editors), ELSEVIER (Amsterdam), 1986, 1-47.

FAMENT I.
12è Colloque Scientifique International sur le Café, 29 Juin-3 Juillet 1987, Montreux, ASIC (Paris) (1988), 146-156.

GUYOT B., CROS E., VINCENT J-C.
10è Colloque Scientifique International sur le Café, 11-14 Octobre 1982 Salvador, ASIC Paris (1983), 253-269.

MAARSE H., VISSHER C.A.
TNO, Zeist, Volatile Compounds in Food, Suppl. 3(1986).

NUROK D., ANDERSON J.W., ZLATKIS A.
Chromatographia, Aprile 1978, 11, 4, 188-192.

REICHSTEIN T., STARDINGER H.
British Patent 260, 960 (1926).

STOFFELSMA J., SIPMA G., KETTENES D.K., PYPKER J.
J. Agric. Food Chem., 1968, 16, 1000-1004.

STOLL M., DIETRICH P., SUNDT E., WINTER M.
Helv. Chim. Acta, 1967, 50, 2065.

SULLIVAN J.H., ROBERTSON D.H., MERRITT C.
Division of Agricultural and food chemistry, 135 th Meeting ACS Boston, April (1959).

TRESSL R., ENGEL K.H. and HELAK B.
Eurofood Chem. II Federation of European Chemical Societies, Rome 1983, 31-55.

TRESSL R., SILWAR R.
J. Agric. Food Chem., 1981, 29, 1078.

WANG T.H., SHANFIELD H., ZLATKIS A.
Chromatographia, August 1983, 17, 8, 411-416.

YUANGANG ZHANG, MINGJIEN CHIEN and CHITANG HO
J. Agric. Food Chem., 1988, 36, 5, 992-996.

GUYOT (B.), VINCENT (J.-C.).- Identification des composés volatils alkylsulfures et alkyldisulfures de l'arôme café.

L'arôme du café torréfié est constitué par un ensemble de familles de composés chimiques et parmi ceux-ci les composés soufrés jouent un rôle important dû à leur odeur caractéristique qui peut être agréable ou désagréable suivant leur concentration.

L'étude des composés les plus volatils alkylsulfures et alkyldisulfures a été effectuée suivant un processus en deux étapes pour permettre leur détection :

- préconcentration des composés de l'espace de tête par piégeage sur un polymère adsorbant TENAX GC.
- analyse par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur spécifique à photométrie de flamme.

Un tel dispositif est nécessaire par suite des difficultés d'analyses et de détection.

Après identification des composés soufrés volatils, les résultats obtenus ont permis de caractériser, par comparaison des profils chromatographiques, différentes variétés de café - ROBUSTA et ARABICA - ainsi que certain défaut rencontré sur café torréfié tel que le goût puant.

GUYOT (B.), VINCENT (J.-C.).- Identification of alkylsulphide and alkyldisulphide volatile compounds of coffee aroma.

The aroma of roasted coffee is made up of a set of families of chemical compounds including sulphur compounds which play an important part because of their characteristic odours which may be pleasant or unpleasant depending on their concentration.

The most volatile alkylsulphides and alkyldisulphides were studied by a process in two stages which makes it possible to detect them :

- preconcentration of the compounds in the headspace by trapping on an adsorbent polymer, TENAX GC.
- gas chromatography analysis with a specific flame spectrometry detector.

This process is necessary because of the analysis and detection difficulties involved.

After the volatile sulphur compounds had been identified, the results obtained were used to identify, by comparing the chromatographic profiles, the characteristics of different coffee varieties - ROBUSTA and ARABICA - as well as some defects found in roasted coffee such as the stinking taste.

MULTIDISCIPLINARY STUDY OF RIO FLAVOUR IN BRAZILIAN GREEN COFFEE

R. LIARDON, J. C. SPADONE, N. BRAENDLIN, E. DENTAN
Nestlé Research Center
Vers-chez-les-Blanc, CH-1000 Lausanne 26, Switzerland

Introduction

An important part of Brazilian coffees presents the so-called Rio flavour, which is considered as an off-flavour by a majority of the consumers. Rio flavour, usually described as phenolic or medicinal, also possesses a distinct musty odour note (Jobin, 1982). In view of the limited knowledge of the cause and origin of this defect, a comprehensive study of Rio coffee beans was undertaken in our laboratories. The first results of this investigation, including chemistry, microbiology and microscopy, were reported at the last ASIC meeting (Spadone and Liardon, 1988; Dentan, 1988; Vanos, 1988). Two main points came out of this study:

1) The identification of 2,4,6-trichloroanisole (TCA) as an important contributor to Rio off-flavour.

2) The observation that Rio coffee beans were all heavily contaminated with various moulds and bacteria, probably responsible for generating the off-flavour.

In this report, we present the results of a new investigation that was conducted i) to verify the role of TCA in Rio off-flavour, ii) to understand the formation pathway of TCA in green coffee, iii) to determine the origin of the microbial infection observed in Rio coffee beans.

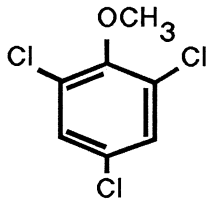
Role of 2,4,6-Trichloroanisole (TCA) in Rio flavour

In our first study, the analysis of the volatiles isolated from Rio beans showed that TCA was responsible for the typical musty odour of the samples. As shown in Table 1, this compound is a well-known food contaminant, characterized by a very low odour threshold (Maarse et al., 1985). Further investigation conducted with a view to finding other

components susceptible to contribute to Rio flavour failed to reveal any other compound possessing odour characters that could be related to this off-flavour (Spadone et al., in press). However, this work led to the identification of 2,4,6-trichlorophenol (TCP), which was assumed to be the precursor of TCA.

Table 1. Chemical and sensory characteristics of TCA

2,4,6-TRICHLOROANISOLE (TCA)



Odour threshold in air: 0.002 ng/liter

in water: 0.00003 ppb

Odour character: musty, moldy, phenolic

MW: 211.5

m.p.: 61°C

b.p.: 240°C, sublimes slowly at RT

The sensory impact of TCA in a coffee brew was evaluated by a tasting panel. The tasters, who for the most part were not familiar with Rio flavour characteristics, were presented samples spiked with TCA at various concentrations and asked to describe the off-flavour perceived. As shown in Table 2, the list of the reported flavour descriptors included the characters traditionally associated to Rio flavour, as well as the musty note.

Table 2. Sensory impact of TCA in coffee brew

ODOUR

rioy - musty - earthy - woody - wine cork taint

stale - iodine - phenolic

FLAVOUR BY MOUTH

bitter - burnt - rubbery - rioy - phenolic - pungent

earthy - wine cork taint - musty - stale

Using the same panel, TCA perception thresholds in coffee brew were also determined. A threshold of 0.008 ppb was found for odour perception and 0.001 ppb for flavour by mouth. The corresponding levels in roast and

ground coffee were 0.16 and 0.02 ppb. In comparison with these values, it can be seen in Table 3 that TCA concentration measured in various Rio coffee samples was systematically above the perception threshold, sometimes by several orders of magnitude. (In our first study, we established that TCA elimination during roasting did not exceed 50% (Spadone and Liardon, 1988)).

Table 3. TCA content in Rio green coffees

Coffee	Concentration (ppb)	Odour Unit
Sul de Minas	**78**	**3'900**
Brazil C	**12**	**600**
Brazil D	**15**	**750**
Brazil E	**37**	**1'850**
Santos	**53**	**2'650**
Caratinga	**1**	**50**

Odour Unit = Concentration / Threshold

A final confirmation of the key role of TCA in Rio flavour was obtained from coffee experts at Illycaffè (Trieste). They positively recognized the Rio flavour in coffee brews prepared with clean beans spiked with ca. 25 ppb TCA.

Investigation of Rio Flavour Origin

As already mentioned, the microbial infection observed in Rio beans is very probably responsible for the off-flavour occurrence. The second part of our study was an attempt to determine at what stage of green coffee processing both the microbial infection and Rio flavour development occur. To this effect, a campaign was organized with the help of the International Coffee Organisation (ICO) and the Brazilian Coffee Institute (IBC) to collect samples of coffee cherries. The sampling protocol defined different types of samples designed to permit the discrimination of the various possible sources of microbial infection, viz. tree, soil, drying area (Table 4).

Furthermore, these samples were collected according to a clearly defined procedure (Table 5). They were obtained from two plantations, one located in a so-called Rio area (Petropolis), reputed for producing coffee with Rio flavour, the other located in a non Rio area (Varginha). Ten replicate samples of each type were collected in the two locations. All the coffee samples were sent over from Brazil in the form of dried coffee cherries. Dehulling was carried out in our laboratories. All samples were kept frozen until being submitted to chemical, microbiological and microscopic analyses.

The chemical analyses were focused on the detection and quantification of TCP and TCA, as well as other possible chlorophenols and chloroanisoles. As it turned out, TCA and TCP could not be detected in any of the samples from the non Rio area. On the other hand, these two compounds were found in almost all the samples from the Rio area (Table 6). The highest levels

Table 4. Definition of the samples collected in Brazil

Sample 1 :	Soil
Sample 2 :	Mature coffee cherries directly from the tree and dried aseptically
Sample 3 :	Mature coffee cherries directly from the tree and dried by normal procedure
Sample 4 :	Mature coffee cherries from the ground and dried aseptically
Sample 5 :	Coffee cherries picked and dried according to normal procedure

were measured in type 2 samples, i.e. in cherries picked from the trees and dried under protected conditions. This rather unexpected result will be discussed later. Beside TCA and TCP, no other chlorophenol or chloroanisole was found in the samples from either area.

Table 5. Procedure for sample collection in Brazil

Two plantations: Rio area (Petropolis) -> RA samples non Rio area (Varginha) -> NR samples
Ten units per plantation (unit= 5-10 trees) over an area of ca. 1 sq.km
For each sample type, material is collected from each unit, numbered accordingly and processed separately
For aseptic collection, use plastic gloves, sterile plastic gloves, sterile bags and containers, etc.
For aseptic drying, spread coffee cherries on plastic sheet and cover with gauze

Microbiological analyses were performed separately on whole dried cherries and on dehulled beans. Distinct analyses were also carried out to distinguish the microbial population present on the surface of the beans or in the inside. The results of these analyses are presented in Fig. 1 and 2. In summary, the microbial contamination rate was significantly higher in the Rio area samples than in those from the non Rio area. Among the Rio

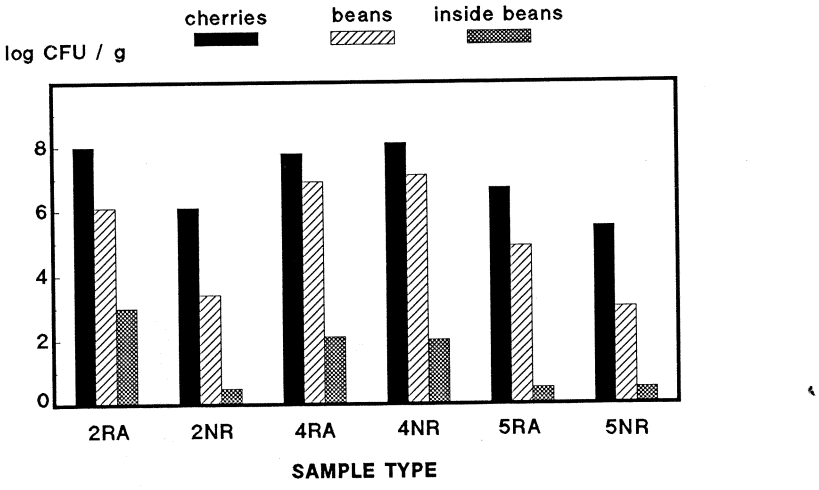
area samples, type 2 and 4 were the most contaminated. In particular, the contamination rate of the interior of the beans was about ten times higher in type 2 samples than in the other series. A majority of the species identified were found in samples from the two areas. Some of them, however, were found only in the Rio area samples, and more particularly in type 2 samples. Interestingly, a difference in population was also oberved between the outside (Aspergillus versicolor, Wallemia sebi) and the inside (Fusarium spp., Pseudomonas spp., and yeasts) of the contaminated beans (Fig. 3).

Table 6. TCA and TCP levels in samples from Rio area

Sample #	TCA		TCP	
	Mean	Range	Mean	Range
1RA (soil)	n.d		0.4	
2RA	3.9	2.3 – 8.6	2.1	0.2 – 5.2
3RA	0.4	0.2 – 0.5	0.1	0.1 – 0.2
4RA	0.6	0 – 1.2	0.4	0 – 1.2
5RA	0.1	0 – 0.3	0.5	0 – 1.3

Concentrations in ppb (ng/g)

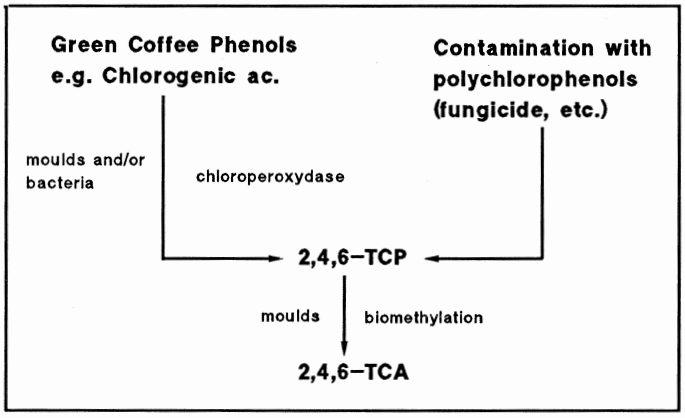
Fig. 1. Mould and yeast counts in Brazilian coffee samples



The results of the microscopic examination of the Brazilian coffee beans are detailed by E. Dentan in a separate report. Basically, they confirmed the conclusions of the microbiological analyses: Little or no infection in the beans from the non Rio area, but quite significant microbial contamination of the Rio area samples. For most samples series, this contamination was limited to the surface of the beans, the exception being type 2 samples where molds were also observed in the interior of the beans.

produce chlorinated metabolites (Strunz, 1973).

Fig. 4. TCA alternative formation pathways in green coffee



Conclusions

An important outcome of this study is a better understanding of the microbiological and chemical factors responsible for Rio flavour, as well as for the conditions necessary for its development. Several important points, however, remain to be clarified:

The source of infection is not known. The possibilities are air borne microorganisms, insects, or infection via the tree.

Despite the identification of different molds and bacteria specifically in the Rio area samples, we do not know which one, or which combination is responsible generating Rio flavour.

Finally, our knowledge of TCA formation pathway is still incomplete.

Acknowledgement

We thank the International Coffee Organisation (ICO) and the Brazilian Coffee Institute for their support and help in organizing the sample collection. We are also thankful to Dr. E. Illy for his help in the characterization of Rio coffees and to Dr. R. Viani for enriching discussions.

Summary

Analyses of green coffee beans with Rio flavour have shown that the off-flavour is related to the presence of 2,4,6-trichloroanisole (TCA) at levels ranging from 1 to 100 ppb. The flavour threshold of TCA in coffee is 0.02 ppb (flavour by mouth). Microscopic and microbiological investigations have further shown that Rio beans are infested with various strains of moulds and bacteria.

To determine at what stage of coffee processing the formation of Rio flavour occurs, samples of coffee cherries were collected from two areas in Brazil, Varginha (non Rio area), and Petropolis (Rio area). TCA was only found in samples from the Petropolis area, confirming the known geographical specificity of Rio flavour occurrence. TCA levels ranged from 0.1 to 5

ppb, depending on the processing conditions. The highest amounts were found in cherries picked from the trees and dried slowly under aseptic conditions. These samples were also found to present the highest microbiological counts. Different moulds species were specific to the Petropolis samples. Among them, Aspergillus versicolor and Wallemia sebi were isolated from the surface of the beans, while different strains of Fusaria were found in the interior of the beans. Pseudomonas bacteria were also identified inside the beans.

Résumé

Les analyses de café verts riotés ont montré que ce défaut était lié à la présence de 2,4,6-trichloroanisole (TCA) en concentration variant entre 1 et 100 ppb. Le seuil de perception (goût) du TCA dans le café est de 0.02 ppb. D'autre part, les investigation basées sur la microscopie et la microbiologie ont établi que les grains riotés étaient tous infectés par des moisissures et des bactéries.

Afin d'établir à quel stade du traitement du café apparaît le goût rioté, des échantillons de cerises de café ont été récoltés dans deux régions du Brésil: Varginha (région non Rio) et Petropolis (région Rio). Le TCA n'a été trouvé que dans les échantillons de la région de Petropolis, confirmant la spécificité géographique de l'apparition du goût rioté. Les niveaux de TCA variaient entre 0.1 et 5 ppb suivant les conditions de traitment des échantillons. Les concentrations les plus élevées ont été trouvées dans des cerises cueillies sur l'arbre et séchées lentement sous conditions aseptiques. Ces échantillons présentaient également les plus fortes contaminations microbiologiques. Plusieurs microorganismes ont été trouvés spécifiquement dans les échantillons de la région de Petropolis. Parmi ceux-ci, Aspergillus versicolor et Wallemia sebi ont été identifiés à la surface des grains, alors que des Fusaria ont été observés à l'intérieur des grains. L'intérieur des grains les plus infectés contenaient aussi diverses souches de bactéries Pseudomonas.

References

Dentan, E. Examen microscopique de grains de café rioté. In 12th International Colloquium on Coffee, Montreux 1987; ASIC: Paris, 1988.

Jobin, P. The Coffees Produced throughout the World; P. Jobin and Co.: Le Havre, 1982; pp 44-57.

Maarse, H., Nijssen, L.M., Jetten, J. Chloroanisoles, a Continuing Story. In Topics in Flavour Research; Berger, R.G., Nitz, S., Schreier, P., Eds.; H. Eichhorn: Hangeham, 1985; pp 241-285.

Neidleman, S.L.; Geigert, J. Biohalogenation: Principles. Basic Role and Applications; Ellis Horwood Ltd.: Chichester, 1986.

Spadone, J.C., Vanos, V., Liardon, R. Chlorinated Compounds of Microbiological Origin in Green Coffee Beans with Rio Defect. Poster presented at Bioflavour '87, Wuerzburg, FRG, 1987.

Spadone, J.C. and Liardon, R. Identification of Specific Volatile Components in Rio Coffee Beans. In 12th International Colloquium on Coffee, Montreux 1987; ASIC: Paris, 1988.

Spadone, J.C., Takeoka, G., Liardon, R. Analytical Investigation of Rio Off-flavor in Green Coffee. J. Agric. Food Chem., in press.

Strunz, G.M. Microbial Chlorine-containing Metabolites. In Handbook of Microbiology. Vol. III; Laskin; A.I.; Lechevalier, H.A., Eds.; CRC Press: Cleveland, 1973.

Vanos, V. Preliminary Microbial Ecological Studies in Rio Coffee Beans. In 12th International Colloquium on Coffee, Montreux 1987; ASIC: Paris, 1988.

CAFÉS RIOTÉS

ÉTUDE MICROSCOPIQUE DU PROCESSUS D'INFECTION

E. DENTAN

Centre de Recherche Nestlé
Vers-chez-les-Blanc
CH-1000 Lausanne 26

Le goût dit "rioté", considéré généralement comme un défaut, affecte essentiellement les cafés brésiliens, en provenance des Etats d'Esperito Santo, Minas Gerais et Rio de Janeiro, ainsi que quelques régions d'Amérique Centrale et d'Afrique.

Lors du précédent colloque de l'ASIC (Montreux, 1987) nous avions montré que ces cafés étaient matures, toujours infectés par divers types de moisissures, associées ou non à diverses bactéries et levures, et que ce goût était dû à la présence de trichloroanisole (TCA). (1, 3, 4). A la demande de l'Organisation Internationale du café (OIC, Londres), une étude a été entreprise dans le but de déterminer l'origine des infections fongiques, et de vérifier le rôle du TCA dans le goût "rio". Ce travail présente l'étude microscopique entreprise afin de déterminer l'occurrence et l'importance des infections fongiques dans des cafés brésiliens récoltés dans des conditions strictement contrôlées. Les études chimiques et microbiologiques sont présentées ailleurs dans ce volume (2).

MATERIEL ET METHODES

Deux récoltes successives de cerises (1986 et 1987) ont été effectuées selon le schéma suivant :

Une zone d'environ 1 km^2 est choisie dans deux régions distinctes, l'une produisant des cafés non riotés, l'autre des cafés typiquement riotés. 10 lots de caféiers sont alors choisis et les divers échantillons numérotés de 1 à 10 sont récoltés et traités de manière définie :

A : Cerises cueillies "aseptiquement" et séchées "aseptiquement". (Usage de gants stériles, emballages stériles, séchage sur feuilles de plastic, et sous couches de gaze).

B : Cerises cueillies aseptiquement et séchées selon les méthodes habituelles à la région.

C : Cerises récoltées à terre, sous les caféiers, et éventuellement séchées aseptiquement.

D : Cerises cueillies et séchées selon la méthode traditionnelle de la région.

Ces zones sont choisies dans des plantations contrôlées par l'Institut Brésilien du Café (IBC), et les récoltes effectuées sous le contrôle d'ingénieurs agronomes de la Fondation du Café à Campinas, et d'une phytopathologiste de l'Université de Sao Paulo (CENA, Piracicaba).

Récolte de 1986 :

Bon café : Zone de Varginha, Minas Gerais

Café rio : Zone de Caratinga, Minas Gerais

Récolte de 1987 :

Bon café : Zone de Varginha, Minas Gerais

Café rio : Zone de Petrópolis, Rio de Janeiro

Les cerises sèches sont envoyées dans nos laboratoires, et dépulpées par nos soins.

Microscopie :

Après dépulpage, les grains récoltés sont mis à fixer, coupés, déshydratés selon la méthode précédemment décrite (1). Recouverts de 20 nm d'or par pulvérisation cathodique, ils sont examinés avec un microscope à balayage Philips 505, sous 20 kv.

RESULTATS :

A : Cerises cueillies et séchées aseptiquement :

Récolte de 1986 :

Pas de différences observées entre les deux régions. Environ 5 % des grains présentent une légère infection fongique, uniquement au niveau du tégument argenté, sans incidence sur le parenchyme. 80 % des grains montrent quelques rares bactéries et levures. Sur la fig. 1, on observe une coupe transversale partielle d'un grain, comprise entre l'épiderme extérieur et le tégument argenté du repli central (TAC). Le mucilage central (MC) et intact, et les cellules parenchymateuses normalement remplies. La fig. 2 montre quelques hyphes dans le repli central, à proximité du TAC.

Récolte de 1987 :

Les grains récoltés à Varginha sont à nouveau faiblement infectés par des moisissures : 5 %, mais uniquement au niveau du tégument argenté. Cette infection est sans incidence sur le parenchyme. Les grains récoltés à Petrópolis ont subi un séchage très long (Pluies persistantes). On observe alors une prolifération très importante des moisissures à la surface des grains, ainsi que dans le repli central, de même qu'une abondance de bactéries de type Pseudomonas. 90 % des grains sont infectés, mais sans infiltration fongique dans le parenchyme. Les figures 3 et 4 montrent l'aspect du tégument argenté externe (Fig. 3) et du repli central (Fig. 4). On y observe de grandes accumulations bactériennes, ainsi que des spores de moisissures de type Fusarium (F). Toutes les fissures des grains sont envahies (Fig. 5). A part les Fusarium, de nombreuses autres moisissures sont observées. la figure 6 montre des têtes sporifères de type Aspergillus à la surface des grains (A).

B : Cerises cueillies aseptiquement, mais séchées d'une manière conventionnelle.

Récolte de 1986

Les grains provenant de Varginha ne sont pratiquement pas infectés, alors que pour Caratinga, on observe une infection très faible (10 %) uniquement au niveau du tégument argenté, sans incidence sur le contenu des grains.

Récolte de 1987

Les grains provenant de Varginha présentent une très faible infection au niveau du tégument argenté. En ce qui concerne Petrópolis, une première récolte a été détruite par la pluie. La deuxième récolte, séchée dans de bonnes conditions, présente une très faible infection au niveau du tégument argenté, sans incidence sur le contenu des grains.

Dans la zone de Caratinga, les cerises cueillies ne sont pas séchées immédiatement, mais restent en sac dans les champs au moins 24 h. avant d'arriver sur les aires de séchage. Si l'on reproduit cette attente, en laissant les cerises 24 h. en sac avant de les sécher, on n'observe pas l'apparition de moisissures, mais une augmentation très importante de levures comme le montrent les figures 7-10. La fig. 7 illustre la surface du tégument argenté externe. Des amas de levures sont visibles. la fig. 8 montre un détail de ces amas. Les levures visibles sont très actives, on note la formation de nombreux bourgeons, ainsi que des cicatrices (↑). Sur la figure 9 on observe une coupe transversale d'un grain. Le mucilage central (MC) paraît encore intact, mais les cellules parenchymateuses présentent un aspect plus ou moins vidé, dû à un début de fermentation. La figure 10 montre l'aspect des levures localisées sur le tégument argenté central, et formant une sorte de tapis.

C : Cerises récoltées sous les caféiers

Dans les deux zones, et les deux années successives, 80-100 % des grains examinés sont infectés. Les moisissures envahissent le tégument argenté en surface et dans le repli central, et entrent généralement dans le grain, envahissant le parenchyme, l'embryon et la zone de mucilage central. Le tégument argenté extérieur est souvent fortement envahi, ainsi que le montre la figure 11, alors que la figure 12 montre un agrandissement de la précédente. Dans le cas de faible infection, même si les moisissures n'ont pas envahi le parenchyme, celui-ci présente un aspect plus ou moins vidé (Fig. 13), le mucilage central (MC) pouvant être encore intact. Le mycélium, présent dans le repli central, est souvent couvert de bactéries de type Pseudomonas (Fig. 14). Dans le cas de forte infection, tout le repli central des grains est envahi par des moisissures (Fig. 15) qui tapissent le tégument argenté (TAC) et remplissent l'espace compris entre ce TAC et le parenchyme. Celui-ci peut être également fortement envahi comme le montre la figure 16. On constate que le contenu cellulaire a disparu, remplacé par un mycélium très important (↑). Seules subsistent les parois cellulaires (PC). Dans le cas d'infection moyenne, le tégument argenté du repli central est tapissé de mycélium (Fig. 17, TAC). Si le parenchyme n'est pas infecté, les moisissures sont déjà au centre des grains, au niveau du mucilage central comme le montre la fig. 18..

Les grains récoltés au sol sont souvent infectés par des moisissures xérophiles, de type Eurotium. Ces moisissures sont un danger potentiel d'infection ultérieure. Elles sont connues pour leur croissance dans des produits secs. Les ascospores, bien abritées à l'intérieur de cléistothèques peuvent se mettre à germiner lors du stockage de grains en sac. L'infection est sournoise, car les grains sont complètement envahis et leur intérieur détruit, sans que l'on puisse distinguer quoique ce soit d'anormal en surface. La fig. 19 montre une telle cléistothèque localisée dans le repli central du grain, et coupée lors de la préparation de l'échantillon. Cette cléistothèque (C) est adossée au tégument argenté central (TAC). On distingue à l'intérieur un grand nombre d'ascospores dont la fig. 20 montre un agrandissement (S).

D : Cerises cueillies et séchées d'une manière traditionnelle.

Récolte de 1986

Dans la zone de Varginha, 5 % des grains présentent une légère infection au niveau du tégument argenté, sans incidence sur la morphologie interne. Dans la zone de Caratinga, 80 % des grains ont un tégument argenté fortement infecté, mais les moisissures n'ont attaqué le parenchyme que dans 1 % des cas.

Récolte de 1987

Dans la zone de Varginha, à nouveau 5 % des grains présentent une infection fongique au niveau du tégument argenté, sans incidence sur le contenu du parenchyme.

Dans la zone de Petrópolis, les cerises sont généralement séchées dans un courant d'air chaud. Le séchage est donc rapide, ce qui explique que l'infection observée soit beaucoup moins importante que dans le cas des cerises cueillies et séchées aseptiquement. Néanmoins, 80 % des grains présentent une infection fongique au niveau du tégument argenté, sans grande incidence sur le contenu du parenchyme. Dans de très rares grains, on observe un début d'infiltration de mycélium dans le parenchyme, surtout au niveau du mucilage central. les figures 21-24 illustrent ce type d'infection légère. la figure 21 montre un tégument argenté extérieur (TA) infiltré par du mycélium peu dense, alors que la fig. 22 montre deux spores de type Fusarium sur ce TA. Les coupes transversales de grains (Fig. 23) montrent un parenchyme peu ou pas dégradé. Les cellules paraissent généralement pleines, et le mucilage central (MC) intact. Mais on peut observer des faisceaux relativement importants de mycélium au niveau du tégument argenté central (TAC, Fig. 24).

Des cerises ayant séché sur les caféiers ont également été récoltées. Dans 70 % des grains, on observe une infection nette au niveau du tégument argenté, sans prolifération de levures ou bactéries.

CONCLUSION

Il apparaît clairement que les cerises sont déjà infectées sur les caféiers, et que suivant les conditions et la durée du temps de séchage, les moisissures présentes peuvent proliférer fortement. Les conditions climatiques doivent jouer un rôle important dans la propagation et la croissance des moisissures. L'infection fongique, d'origine tellurique joue un rôle secondaire. D'autre part une infection de type xérophile, si elle est sans importance dans l'apparition du goût rioté, peut être une source importante d'infection ultérieure lors du stockage des grains verts en sac.

Au cours de cette étude, environ 80 souches de moisissures ont été isolées. Nombreuses sont celles susceptibles de générer le goût rioté, éventuellement en association avec des bactéries du genre Pseudomonas.

Une espèce dominante dans ces échantillons (2) est le genre Fusarium, également abondamment trouvé dans des échantillons commerciaux de café rioté brésilien. Certains Fusarium sont phytopathogènes. On pourrait envisager que dans les zones produisant des cafés riotés, les caféiers soient déjà infectés par ce type de moisissure. De toute façon, il reste encore à déterminer clairement quelles sont les moisissures vraiment impliquées dans la formation du goût rioté et le rôle possible de bactéries.

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement Mme N. de Lima Nogueira (CENA, Piracicaba) ainsi que M. J.G. Cortez (Fundaçao do Café, Campinas) pour leur aide dans la récolte des divers échantillons de café, M. le Dr E. Illy, Illycaffè, Trieste, ainsi que mes collègues : Mme N. Braendlin, MM. R. Liardon, J.-C. Spadone et R. Viani pour d'intéressantes discussions, enfin Mme M. Weber pour son excellent travail photographique.

RESUME

Comme précédemment démontré, les grains de café riotés sont toujours infectés par diverses moisissures. Afin de déterminer quand ces infections se produisent, des échantillons bien spécifiques de cerises mûres ont été récoltées dans deux régions distinctes du Brésil, l'une produisant des cafés riotés, l'autre du café normal, et examinés par microscopie.

A. Cerises cueillies aseptiquement et séchées aseptiquement

B. Cerises cueillies aseptiquement, mais séchées d'une manière conventionnelle

C. Cerises récoltées sous les caféiers, et séchées aseptiquement

D. Cerises cueillies et séchées de manière conventionnelle.

Pour A. aucune différence observée. Dans les deux régions, 5 % des grains étaient infectés, mais uniquement au niveau du tégument argenté.

B. Dans la région non rio, aucune infection n'était observée. Dans la région rio, 10 % des grains présentaient une infection légère limitée au tégument argenté. Dans cette région, les cerises sont généralement gardées en sac 24 h. dans les champs avant séchage. Dans ce cas, on observe une prolifération importante de levures, et les grains présentent des signes de fermentation.

C. Dans les deux régions 80-90 % des grains étaient fortement infectés avec différentes moisissures, qui envahissent le parenchyme et le détruisent.

D. Dans la région non rio, 5 % des grains présentent une légère infection fongique au niveau du tégument argenté. Dans la région rio, 80 % des grains présentent une infection fongique limitée au tégument argenté.

Cette étude a été répétée une deuxième année, mais comme les conditions climatiques étaient défavorables, et le temps de séchage anormalement long, la situation était moins claire. Cependant, il a été démontré que les cerises sont déjà infectées sur les caféiers, que les moisissures d'origine tellurique ne jouent probablement pas de rôle dans l'apparition du goût rioté, et que les méthodes de séchages doivent jouer un rôle prépondérant ainsi que les conditions climatiques locales.

SUMMARY

As previously demonstrated, rioy coffee beans are always infected by several types of moulds. in order to determine when such an infection occurs, specific samples of mature cherries were collected in two regions of Brazil (one producing rioy coffee and the other normal coffee) and examined by microscopy.

A) Cherries collected aseptically on the trees, and dried aseptically.

B) Cherries collected aseptically, but dried by conventional process.

C) Cherries collected under the trees and dried aseptically.

D) Cherries collected and dried in a conventional way.

For A), no differences were observed. In the two regions, 5% of the beans were infected by moulds, but only at the silver skin level.

For B), in the non rioy region, no infection was detected. In the rioy region, 10% of the beans presented a slight infection which was restricted to the silver skin. In this region, the cherries can stay 24 h. in bags in the fields before the drying process. In this specific case, a considerable augmentation of yeast cells could be observed, and the beans presented signs of fermentation.

For C), in the two regions, 80-90% of the beans were strongly infected with several moulds, which invaded the parenchyma and destroyed it.

For D), in the non rioy region, 5% of the beans presented a slight infection by moulds at the silver skin level. In the rioy region, 80% presented an infection by several moulds at the silver skin level.

This study was repeated a second year but, due to climatic effects and problems during drying process, the situation was less clear. Nevertheless, it was demonstrated that the cherries were infected on the trees, that telluric fungi did not interfere with the rioy taste, and that drying process could be the more important step.

LITTERATURE

1. **Dentan, E.** (1987) : Examen microscopique de grains de cafés riotés. ASIC. XIIe Colloque scientifique international sur le café. Montreux, 335-352.

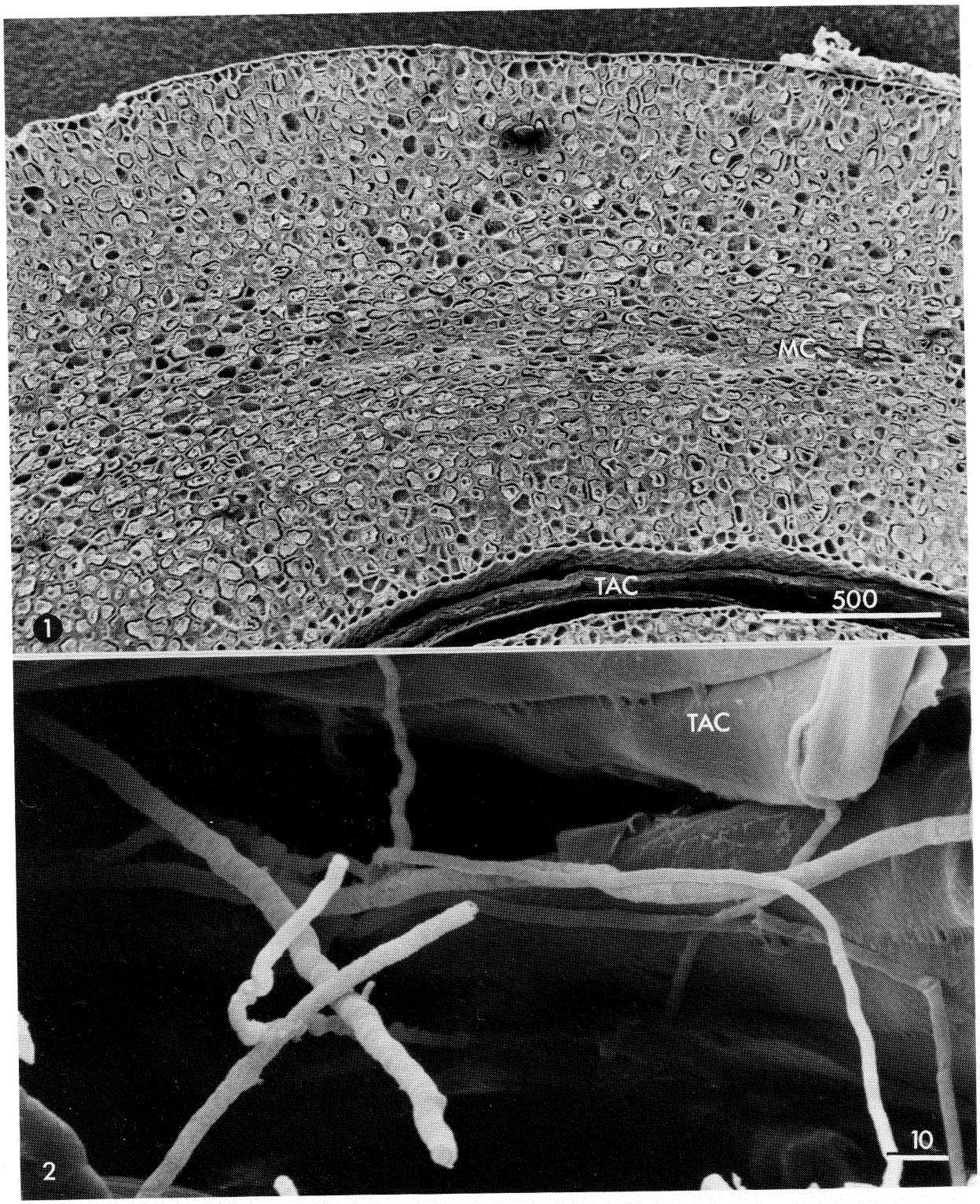
2. **Liardon, R.** et coll. (1989) : Multidisciplinary study of rio flavour in brazilian green coffe. ASCI. XIIIe Colloque scientifique international sur le café. Paipa. Colombie.

3. **Spadone, J.-C. et Liardon, R.** (1987) : Identification of specific volatile components in rio coffee beans. ASIC. XIIe Colloque scientifique international sur le café. Montreux, 194-202.

4. **Vanos, V.** (1987) : Preliminary microbial ecological studies in rio-taste coffee beans. ASIC. XIIe Colloque scientifique international sur le café. Montreux, 353-376.

REMARQUE

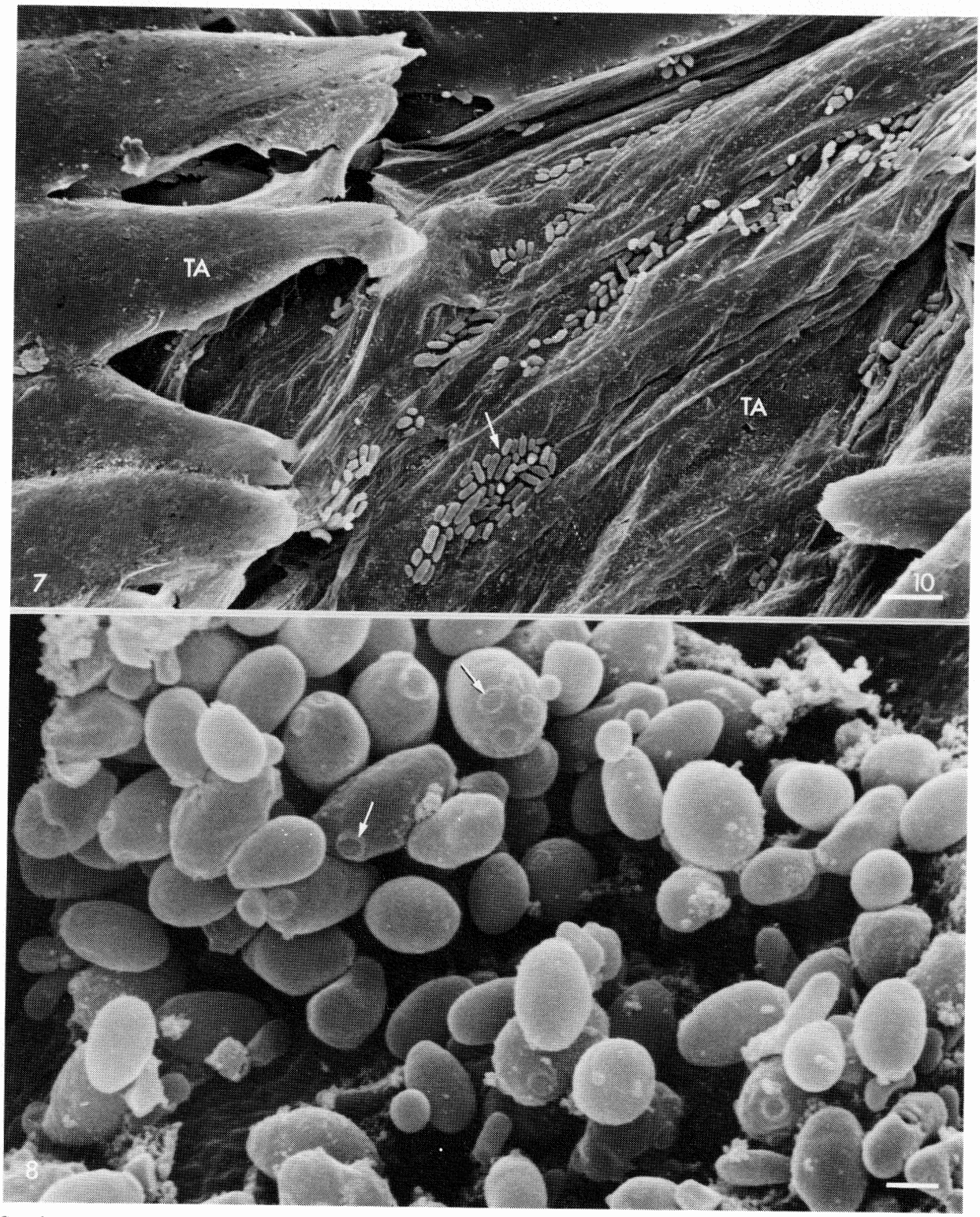
Sur les illustrations suivantes, le trait blanc en bas à droite exprime une longueur en microns. Sans autre indication, cette barre représente 1 micron. Si non, le nombre équivalent de microns est inscrit au dessus du trait.



Grain cueilli et séché aseptiquement. Récolte 1986.

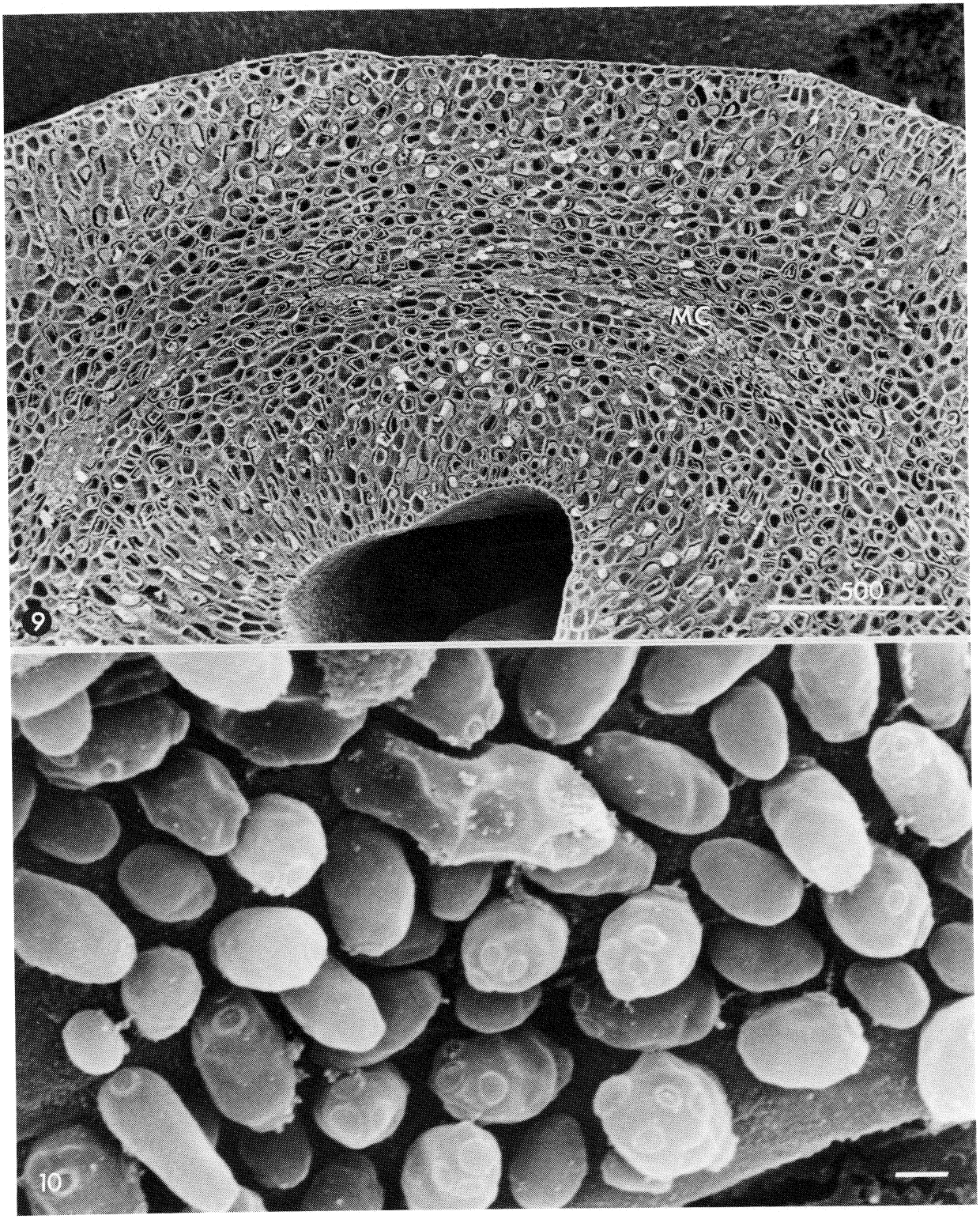
Fig. 1 : Coupe transversale. MC : mucilage central. TAC : tégument argenté central.

Fig. 2 : TAC : tégument argenté central.



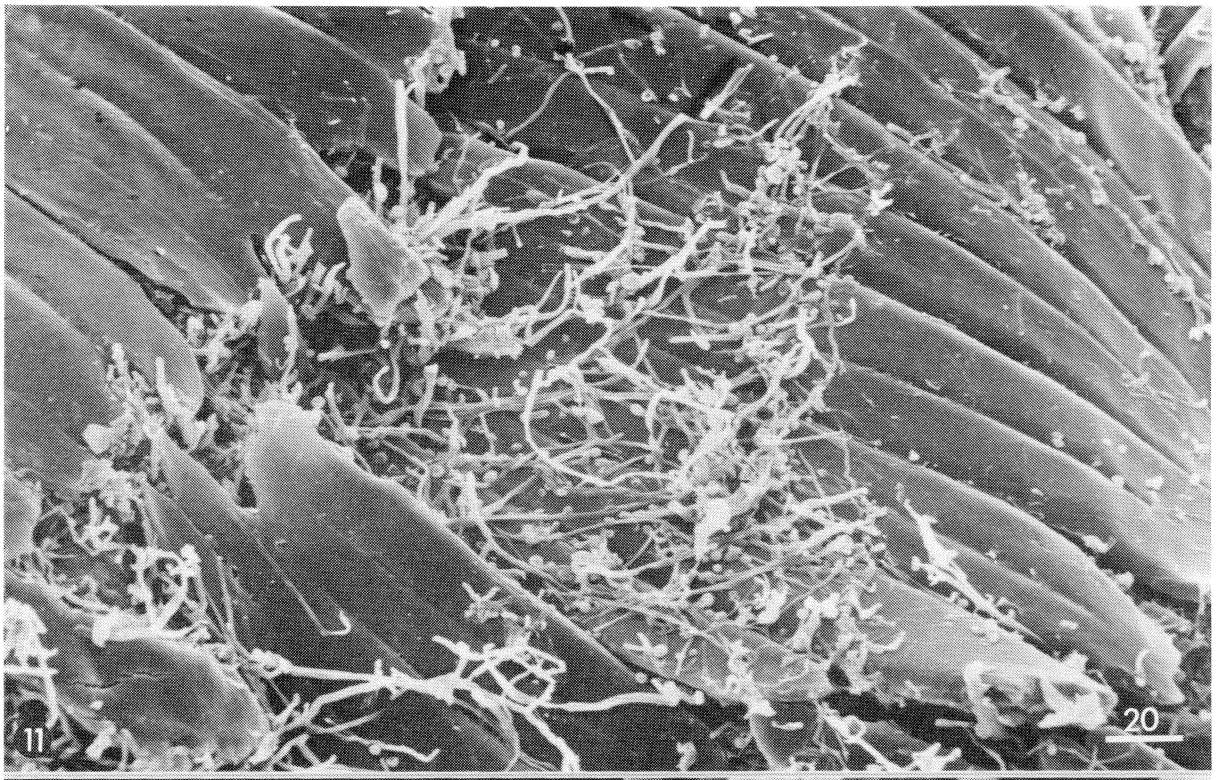
Grain cueilli aseptiquement, gardé 24 h. en sac avant séchage.

Fig. 7 : TA : Tégument argenté extérieur. Levures :⟶
Fig. 8 : Détail. Cicatrices de bourgeonnement :⟶



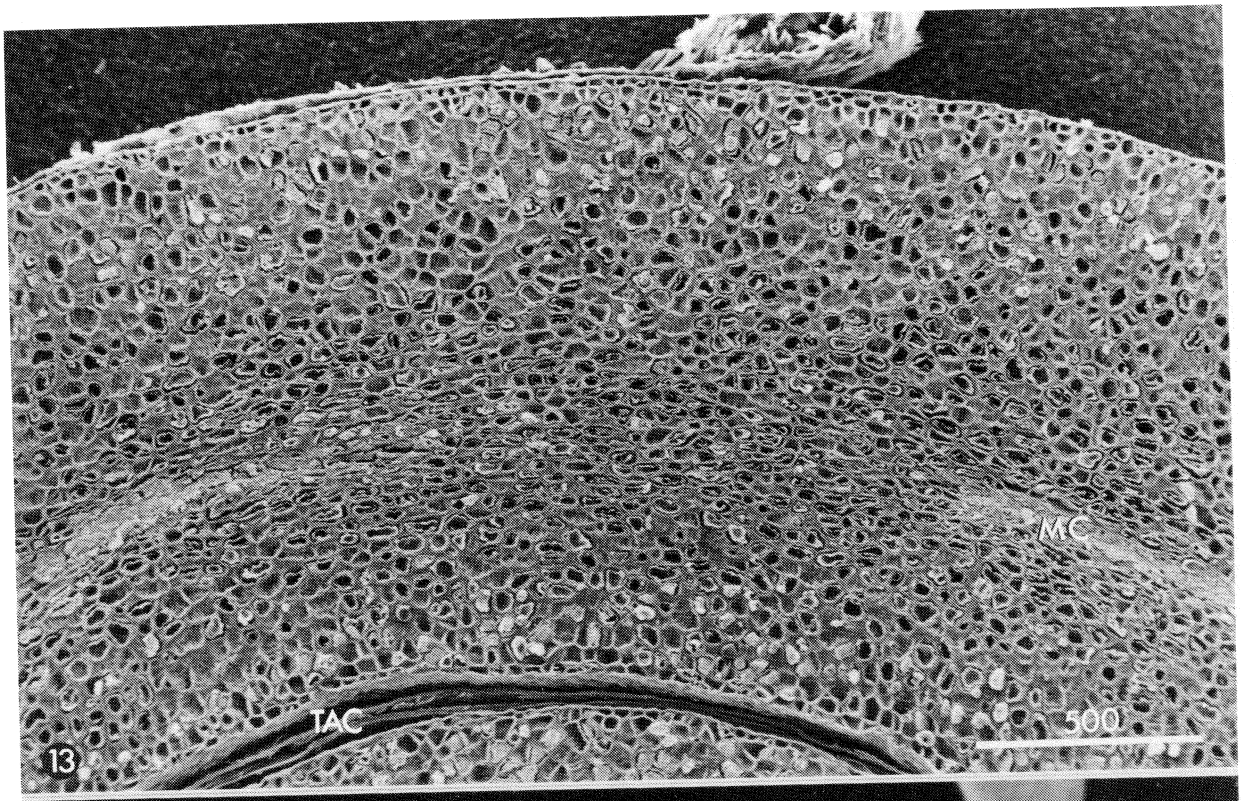
Grain cueilli aseptiquement, gardé 24 h. en sac avant séchage.

Fig. 9 : Coupe transversale. MC : mucilage central.
Fig. 10 : Levures sur le tégument argenté central.



Grain récolté sous les caféiers.

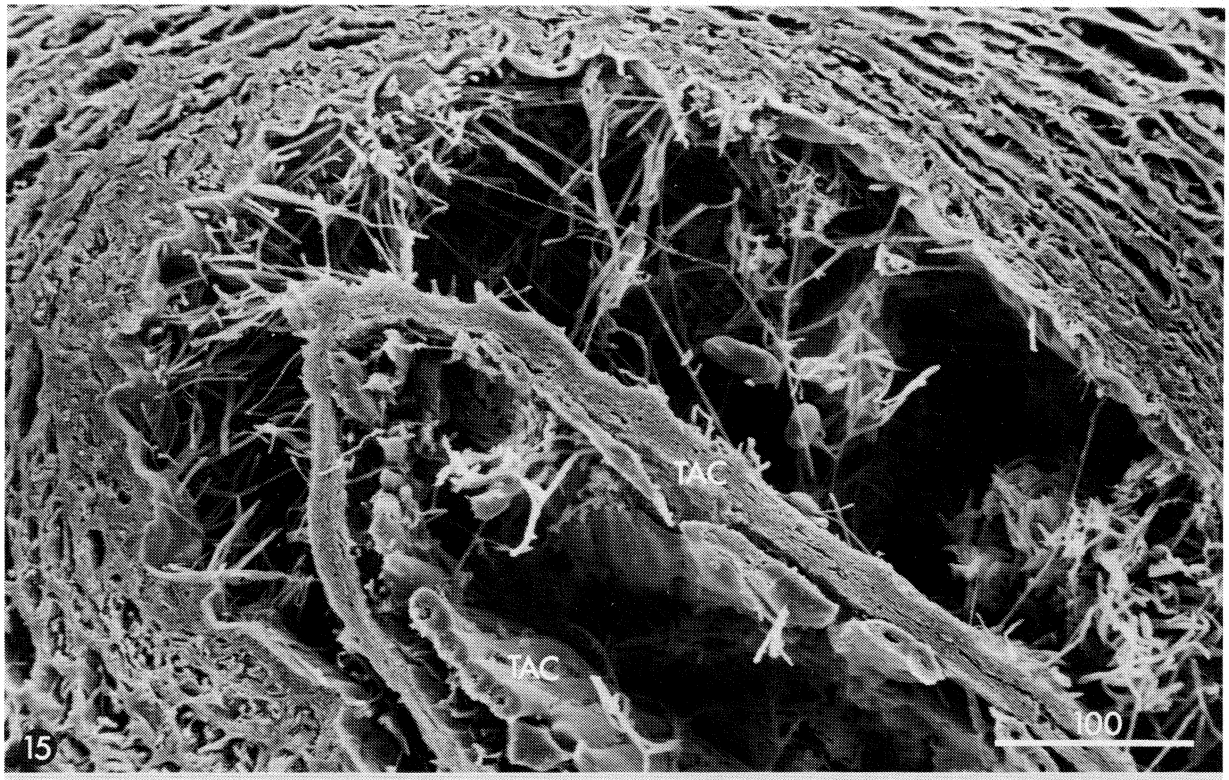
Fig. 11 : Tégument argenté extérieur.
Fig. 12 : Détail.

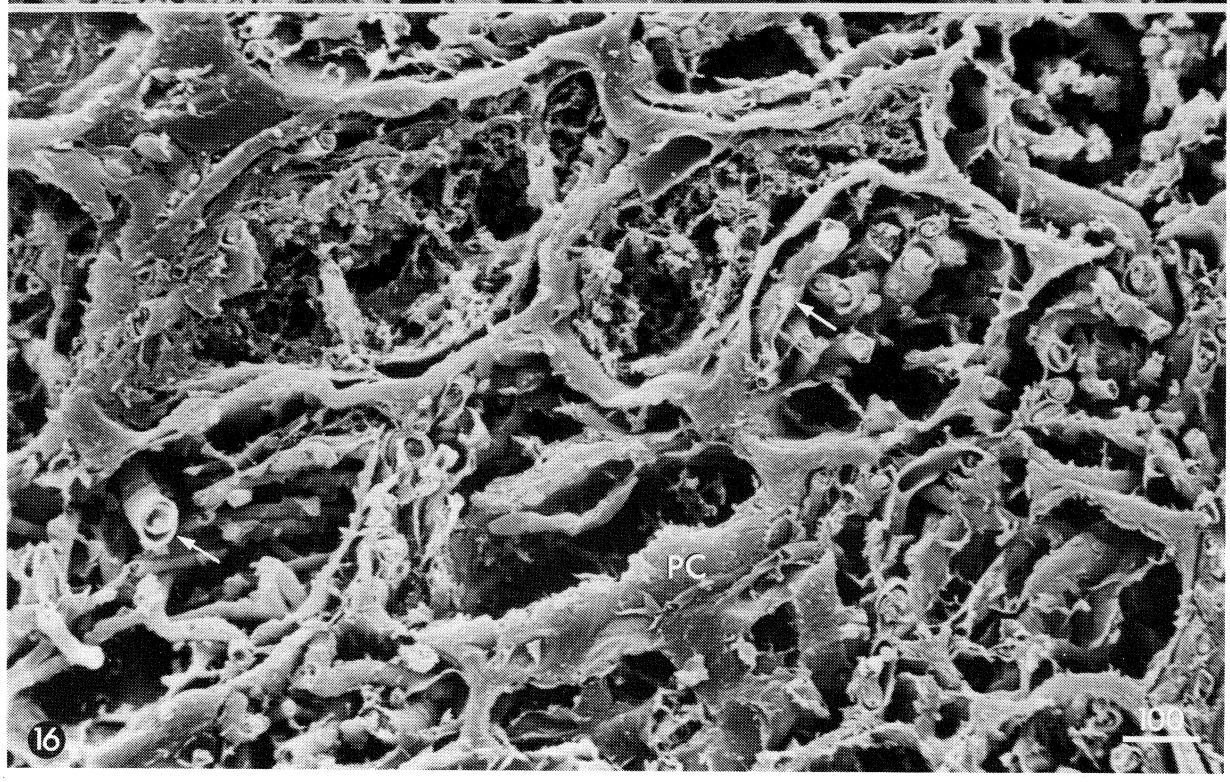


Grain récolté sous les caféiers. Faible infection.

Fig. 13 : Coupe transversale du grain. MC : mucilage central.
TAC : tégument argenté central.

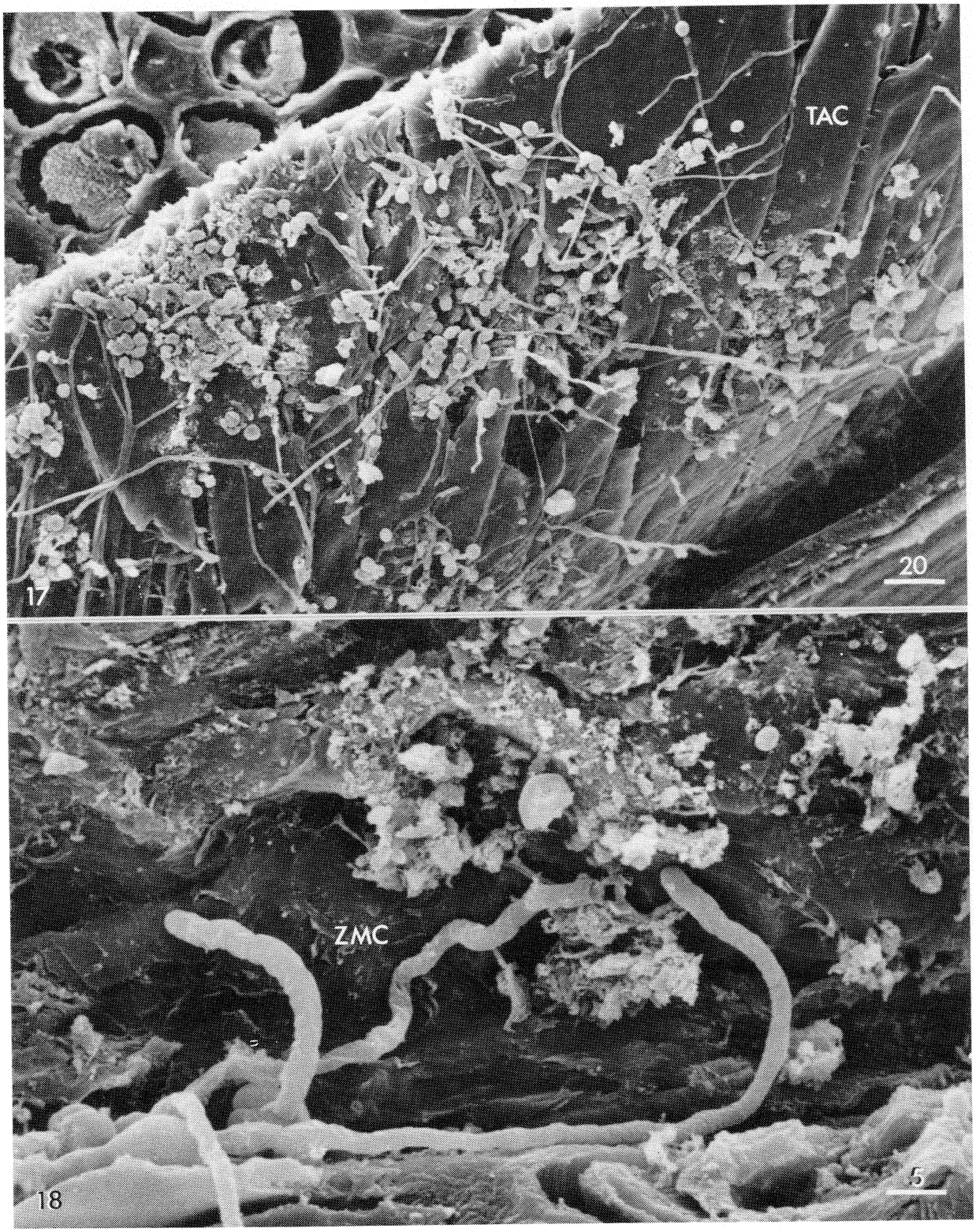
Fig. 14 : Repli central. Symbiose bactéries moisissures.





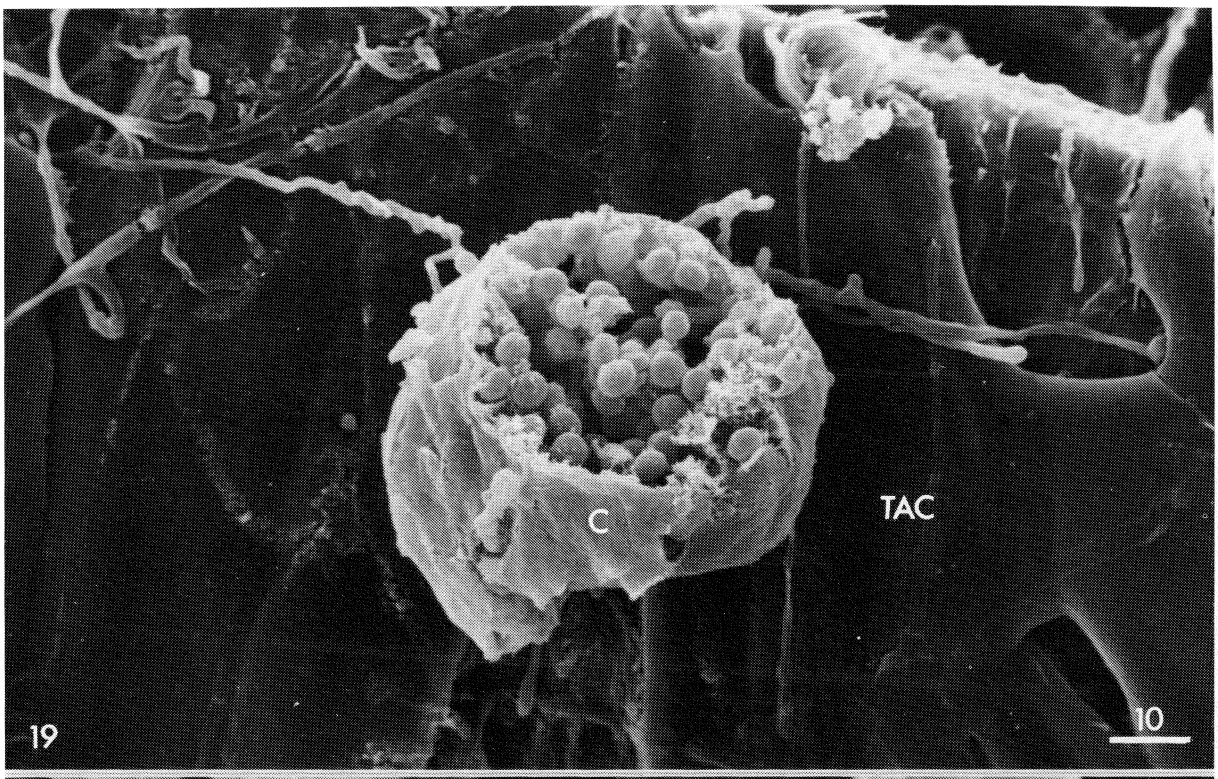
Grain récolté sous les caféiers. Forte infection.

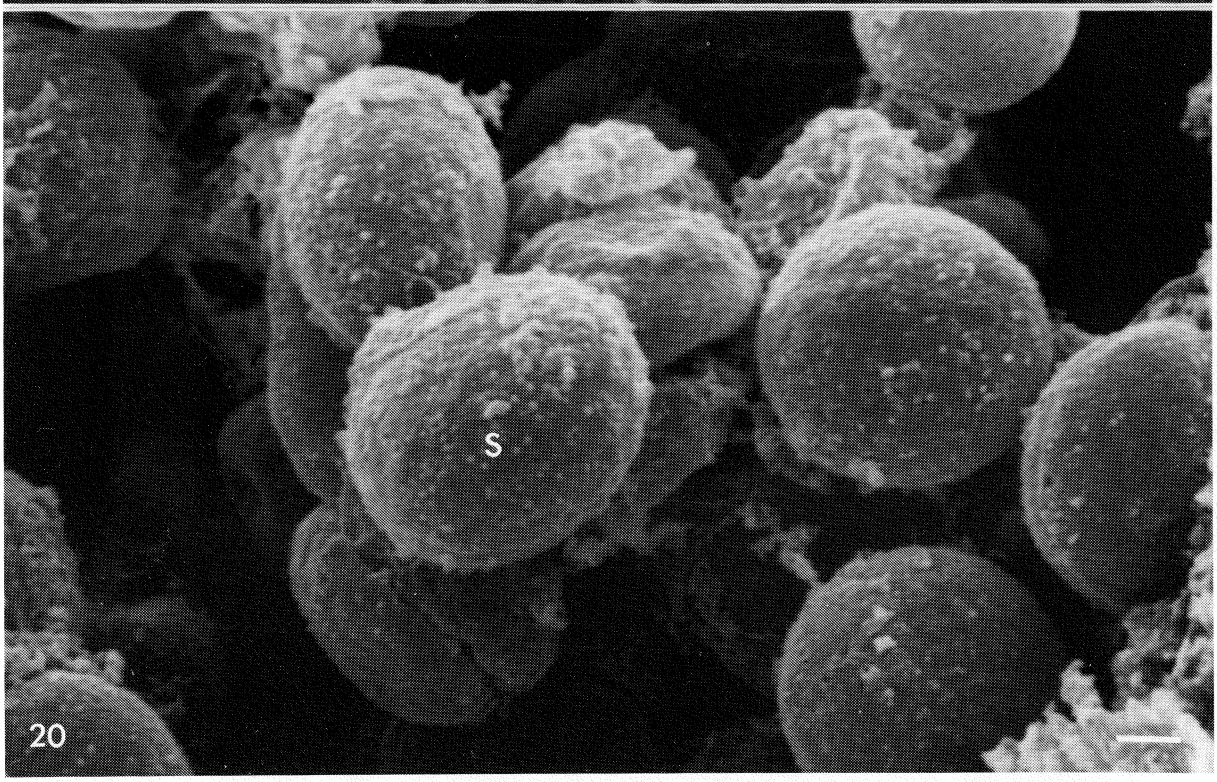
Fig. 15 : Vue partielle du repli central. TAC : tégument argenté central.
Fig. 16 : Parenchyme infecté. PC : parois cellulaires. Hyphes :⟶



Grain récolté sous les caféiers. Infection moyenne.

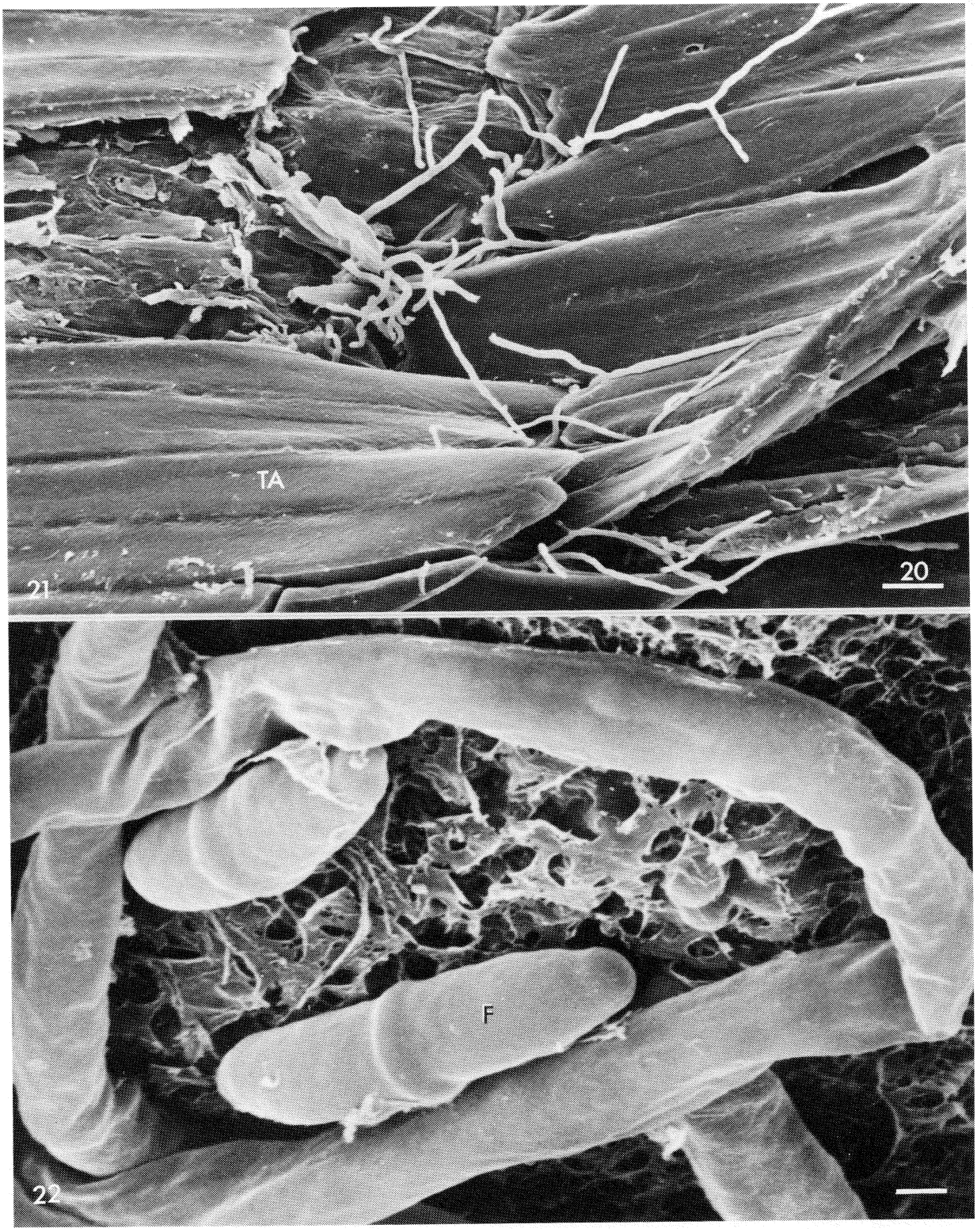
Fig. 17 : Vue partielle du repli central. TAC : tégument argenté central.
Fig. 18 : ZMC : zone du mucilage central.





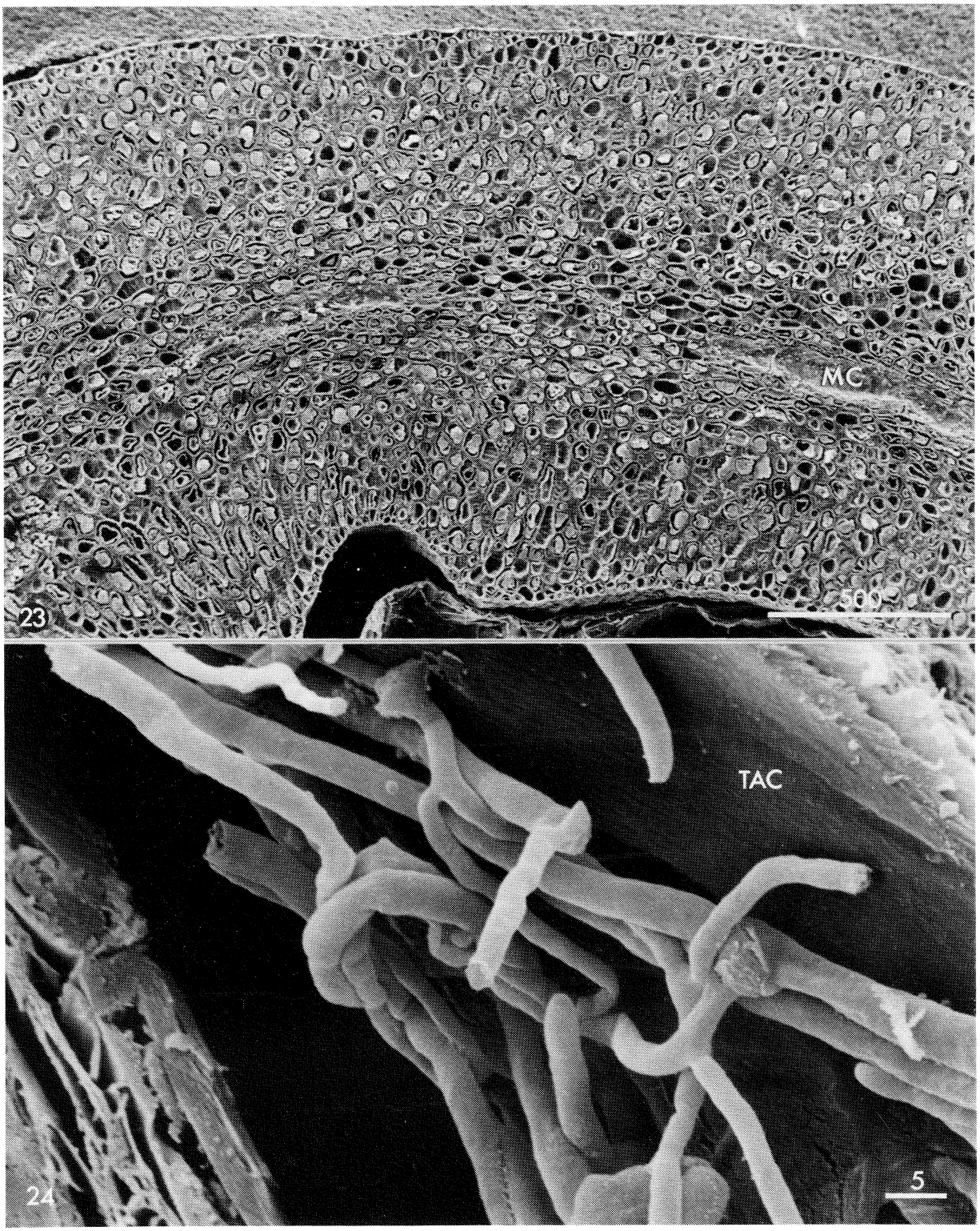
Grain récolté sous les caféiers. Infection moyenne.

Fig. 19 : Repli central. TAC : tégument argenté central.
C : cléistothèque.
Fig. 20 : Détail. S : ascospores.



Grain cueilli et séché de manière conventionnelle.

Fig. 21 : TA : tégument argenté extérieur.
Fig. 22 : Détail. F : spore de Fusarium.



Grain cueilli et séché de manière conventionnelle.

Fig. 23 : Coupe transversale. MC : mucilage central.
Fig. 24 : Repli central. TAC : tégument argenté central.

ANALYTICAL STUDY OF THE EVOLUTION OF COFFEE AROMA COMPOUNDS DURING STORAGE

J. C. SPADONE, R. LIARDON
Nestlé Research Center
Vers-chez-les-Blanc, CH-1000 Lausanne 26, Switzerland

Introduction

As applied to coffee, staling, i.e. the quality degradation occurring during storage, is a subject of continuous interest for manufacturers. In relation with this sensory quality loss, a better knowledge of the chemical processes involved in staling is still highly desirable.

With improvement in analytical techniques, several research groups already tried to associate coffee staling with some chemical changes, i.e. mainly modifications in aroma composition, taking place during this process. In particular, it was of importance to find simple chemical indicators of staling. As a result, several markers of coffee degradation upon storage were proposed in the literature. The best known index is probably the ratio of 2-methyl-furan to butanone concentration (M/B), a decrease of which is related to staling (Arackal and Lehmann, 1979; Vitzthum and Werkhoff, 1979). Another marker, called S-index, consisted to follow the sum of the content in several volatile compounds during a conservation period. A diminution of this sum was linked to coffee quality loss (Radtke and Piringer,1981). In contrast, Tressl et al. (1979) have shown that staling might be associated to an increase in furfuryl-thiols or pyrrols.

On the other hand, very little is known about the chemical changes specifically induced by oxygen or water. Thus, the study presented here was designed to determine the respective influence of oxygen level, water content and storage temperature on coffee aroma modifications arising during a 12 month conservation period. Both analytical techniques and sensory tasting were applied to a series of coffee samples. Results were treated separately and then combined to look for possible correlations between organoleptic findings and chemical modifications. Known chemical indicators of coffee staling were also evaluated.

Experimental

1. Coffee sample preparation

Two batches from the same lot of Arabica green coffee (Colombia) were roasted separately to give coffee samples with the same medium roast degree but different humidity. Each series was then conditioned in metal cans at three headspace oxygen levels and the samples were stored at room temperature (RT). In addition, low oxygen samples were kept under refrigeration to serve as reference. The resulting eight coffee series are described below. Samples of each series were analyzed and tasted at time zero and 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 and 12 months.

Table 1. Coffee sample description.

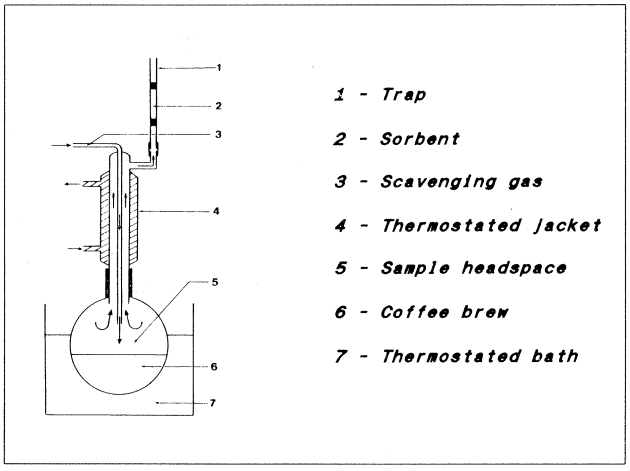
Series	Water content (%)	Oxygen level (%)	Oxygen level (µg/g coffee)	Storage temp.
1	1.3	0.44	13	-20°C
2	1.2	0.22	6	RT
3	1.4	0.57 *	17	RT
4	1.7	22.90	677	RT
5	5.6	0.55	16	-20°C
6	5.4	0.50	15	RT
7	5.4	2.48	77	RT
8	5.1	16.50	490	RT

(* lower oxygen level than expected)

2. Volatile analyses

Coffee aroma composition was analyzed using a headspace sampling procedure (see fig. 1) followed by a gas chromatographic separation of the trapped volatiles, as previously described (Liardon and Spadone, 1986).

Figure 1. Dynamic headspace sampler



Headspace volatiles of coffee brew samples (5g / 100 ml water) were swept by a nitrogen stream (50 ml/min) into an adsorbing trap containing 50 mg graphitized carbon black. After 5 minutes trapping, the loaded tube was transferred into a microwave desorber (MW-1, J. Rektorik) allowing a

very fast injection of the collected volatiles in the capillary column. The chromatographic conditions applied were as follows :

Gas chromatograph	HP 5880 A (Hewlett-Packard)
Capillary column	DB-Wax (J&W Scientific) 30 m, 0.25 mm i.d.
Injection device	MW-1 (J.Rektorik, Geneva) Split ratio 30/1
Carrier gas	Helium, inlet pressure : 1 bar
Oven temperature	14°C - 2°/min - 180°C - 10 min.
Detection	FID, 250°C

For each coffee series, 3 replicate analyses were performed at the successive pulling times. Therefore, the treatment of the great amount of data collected during this study was carried out using a procedure previously described (Liardon and Spadone, 1986). The following statistical analyses were applied:

- Variance analyses to select the volatile substances which presented significant concentration differences between coffee series or changes with time.

- Discriminant analyses, using these selected compounds, to determine those allowing the best differentiation between coffee groups.

- Canonical analyses to vizualize these discriminations : from the informations brought by the selected components, each coffee group was localised in a multidimensional chemical space defined by a set of orthogonal axes.

3. Sensory analyses

A comparative, quantitative and descriptive analysis method was used to evaluate the quality evolution of the coffee samples over the storage period. At the successive pulling times, each coffee series was compared to a reference, taken as the sample with low oxygen and water content kept under refrigeration. The descriptive analysis was based on nine characteristics of coffee aroma or flavour and was performed at the same time by three different panels. For each sensory attribute, a score of 5 indicated a perception equal to the reference, whereas a higher score corresponded to a loss in quality. The results of the three panels were treated as a single pool.

Results

1. Overall evolution of coffee aroma

As a first result, a typical headspace-GC profile is reproduced in figure 2. In this chromatogram, the numbered peaks refer to the volatile substances selected by discriminant analysis and listed in table 2.

As a preliminary step, a variance analysis was applied to the whole set of chromatographic data to get a preselection of the volatiles presenting significant changes over the storage period. Then, to separate the effects of the different storage parameters, stepwise discriminant analyses were run on several data subsets. As mentioned, the resulting discriminations between coffee series could then be visualized through their canonical projections.

Figure 2. Gas chromatographic profile.

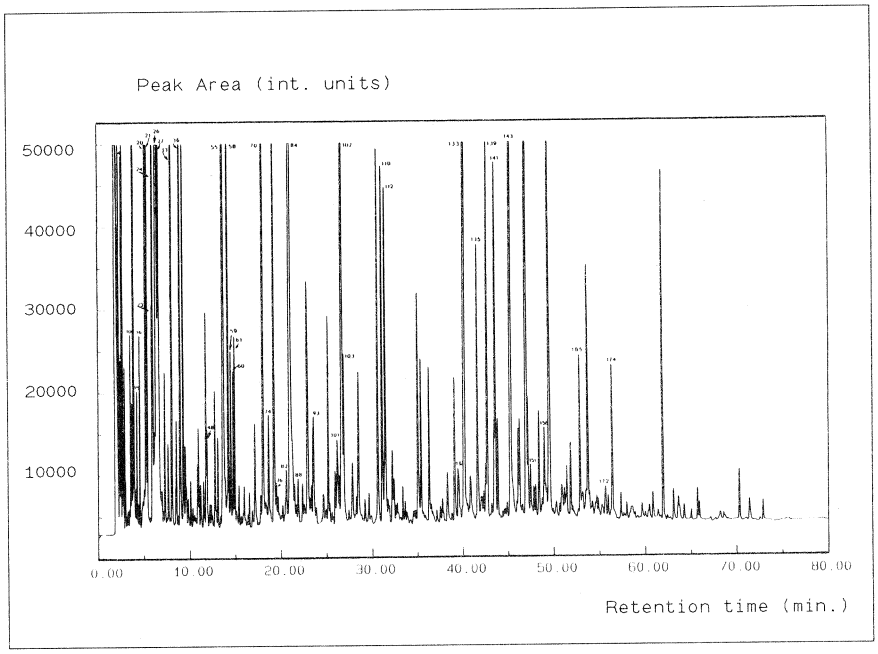


Table 2. Headspace components selected by SDA

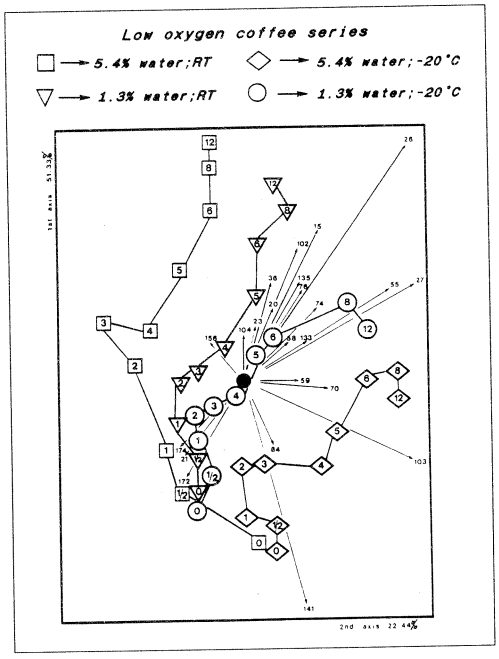
Peak number	Component	Peak number	Component
3	Methanethiol	82	n.i.
4	Acetaldehyde	84	Pyridine
10	n.i.	88	n.i.
15	Methylacetate	93	1-Pentanol
16	Propenal	101	n.i.
20	2-Methylfuran	102	2-Methylpyrazine
21	2-Methylpropenal	103	N-Methyl-2-methyl-pyrrol
23	3-Methylfuran		
24	2-Butanone	104	Methylthiazole
26	2-Methylbutanal	110	2,6-Dimethylpyrazine
27	3-Methylbutanal	112	2,3-Dimethylpyrazine
32	Methylvinylketone	132	n.i.
33	2,5-Dimethylfuran	133	Furfural
36	3-Pentanone	135	Furfuryl-methyl-sulfide
48	n.i.		
55	2,3-Pentanedione	139	Furylmethylketone
58	2-Vinylfuran	141	Pyrrol
59	Hexanal	142	Furfurylmethylketone
60	2-Methylthiophene	143	Furfurylacetate
61	Isopentenal	151	n.i.
70	N-Methylpyrrol	156	Furfurylpropionate
74	n.i.	165	Furfurylalcohol
76	n.i.	172	n.i.
		174	Kawheofuran

(n.i. : not identified)

A first example is illustrated in figure 3, representing the changes in volatile composition of the four coffee series with low oxygen level.

Each series is identified by a particular symbol and the sampling periods are indicated by numbers inside these symbols, whereas vectors represent the selected volatile substances, numbered according to table 2.

Figure 3. Effect of temperature and humidity.



As evidenced with this graphic representation , the positions of the coffee groups define quite regular trajectories for each coffee series, which demonstrates progressive and real modifications of aroma composition and not just fortuitous changes. This is even true for coffee samples stored under the best conditions, i.e. 1% oxygen, 1% water and -20°C, even though the amplitude of the corresponding trajectory is the smallest. Diverging trajectories between coffee series stored at room temperature or under refrigeration reflect differences in the chemical reactions implied in aroma evolution as a function of storage temperature. This effect appears to be enhanced by a high coffee humidity.

The important and expected role of oxygen level in can headspace on coffee aroma evolution is clearly shown in figure 4.

As can be seen, ungassed samples exhibit the largest modifications in volatile composition, as shown by comparison of trajectory amplitudes. Interestingly, both series gassed at 1% and 3% oxygen and stored at room temperature underwent a very similar aroma evolution, significantly divergent from the changes in the ungassed samples. It means that non-oxidative processes occurred in these gassed samples during storage and that a very complete gassing of R&G coffee might be not required to ensure its effective protection against oxidation.

Oxygen related processes in coffee aroma evolution are further assessed in figure 5 in observing the diverging trajectories between gassed and ungassed series. The reinforcing influence of a high humidity content on volatile composition modifications is shown by comparison of rate and amplitude of the respective trajectories.

Figure 4. Effect of oxygen and temperature.

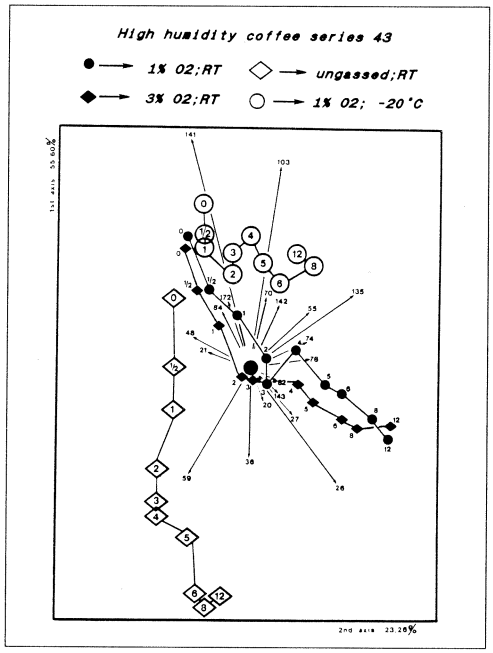
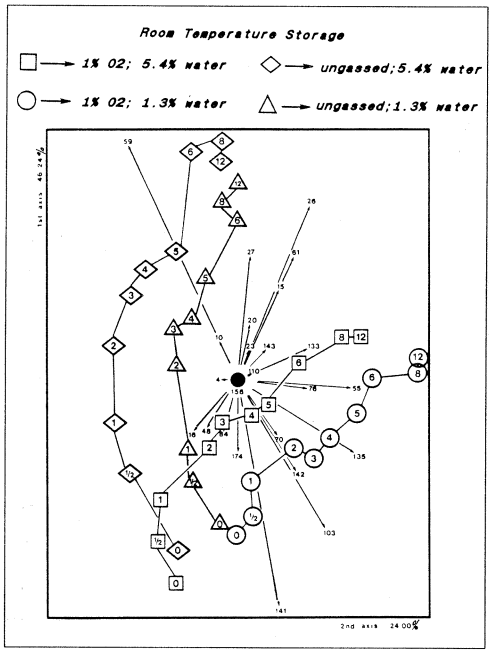


Figure 5. Effect of oxygen and humidity.

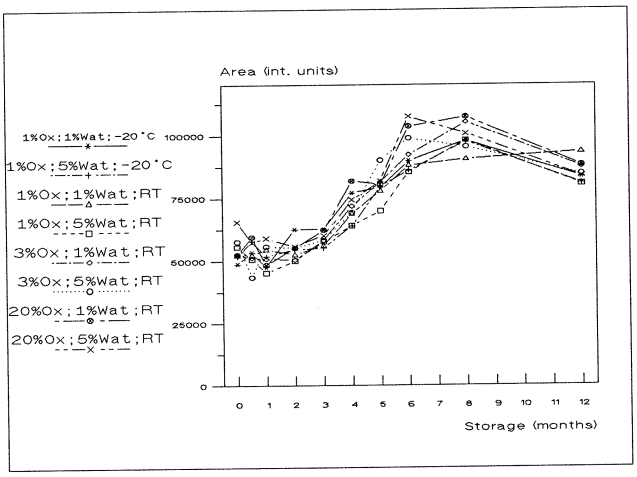


2. Evolution of some coffee volatiles during storage.

To detail these global findings, we examined the evolution of some characteristic volatiles over the conservation period.

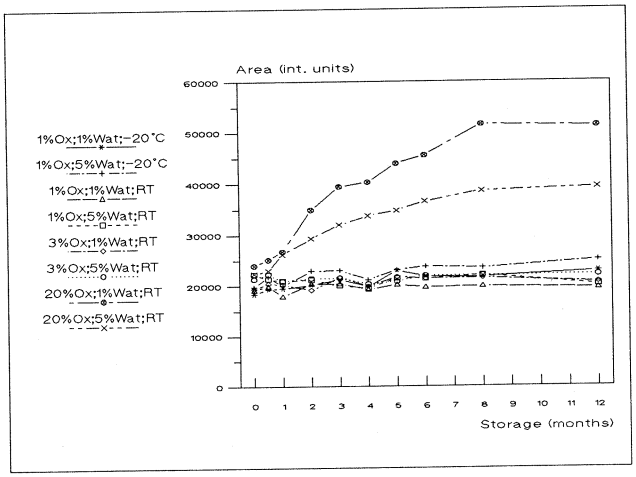
As illustrated in figure 6, isobutanal concentration changed very similarly in all eight coffee series during storage.The same trend was observed for other branched aldehydes and for several other volatile compounds, including ketones and alkyl-furans. Thus, rather unexpectedly, some of the chemical reactions involved in coffee ageing appear to be independant of oxygen, water or temperature.

Figure 6. Evolution of Isobutanal content.



On the contrary (fig. 7), hexanal concentration increased strongly in both ungassed series, whereas it remained nearly unchanged in all the other samples. Hexanal formation arising mainly through lipid oxidation, this result means that the corresponding sequence of reactions did not occur to a significant extent, even at 3% oxygen in can headspace.

Figure 7. Evolution of Hexanal content.



As shown in figure 8, the processes linked to hexanal formation are directly related to oxygen consumption, but they start only after about 300 µg oxygen/ g coffee have been consumed through other reactions. Coffee water content does not seem to play any significant role in lipid oxidation, as data points for low and high humidity samples are situated on

the same curve.

In contrast, pyrrol concentration was mainly affected by the initial water content of coffee samples. Of the curves drawn in figure 9, the dashed lines, representing the high humidity series, present the most significant decrease over storage, at least for samples stored at room temperature. In this degradation, oxygen has mainly a reinforcing effect on water related processes.

Figure 8. Hexanal formation related to oxygen consumed.

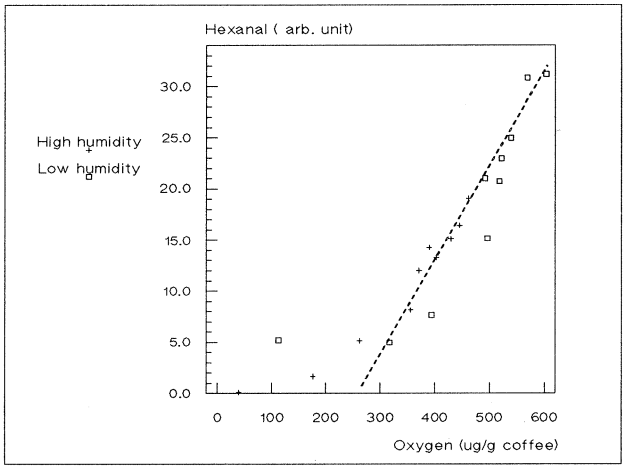
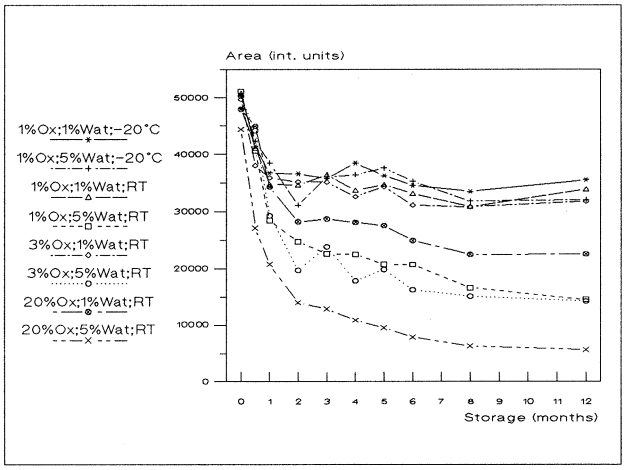


Figure 9. Evolution of Pyrrol content.



In the case of the decomposition of another pyrrol compound, the N-methyl-2-methylpyrrol (NMMPy), this synergistic influence of water and oxygen can be demonstrated in expressing the decrease in NMMPy as a function of oxygen consumption (fig. 10). As a result, two separate curves were defined for low and high humidity series.

3. Chemical indicators of staling

In the present study, as described in the literature (Arackal and Lehmann, 1979; Vitzthum and Werkhoff, 1979), the ratio between 2-methylfuran and butanone concentrations decreased continuously over the conservation period (fig. 11). However, the same trend was found for all coffee series, meaning that none of the storage parameters had an influence on this staling index.

The same result was obtained for the evolution of the S-index, sum of 2-methylpropanal, 3-methylbutanal, butane-dione and 2-methylfuran concentrations (Radtke and Piringer, 1981). Thus, those purely empirical indicators of coffee staling cannot bring valuable informations to predict the respective effects of the different storage parameters.

Figure 10. NMMPy decrease related to oxygen consumed.

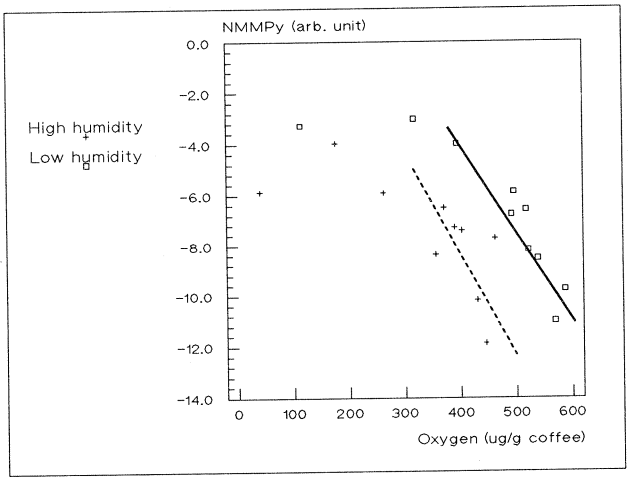
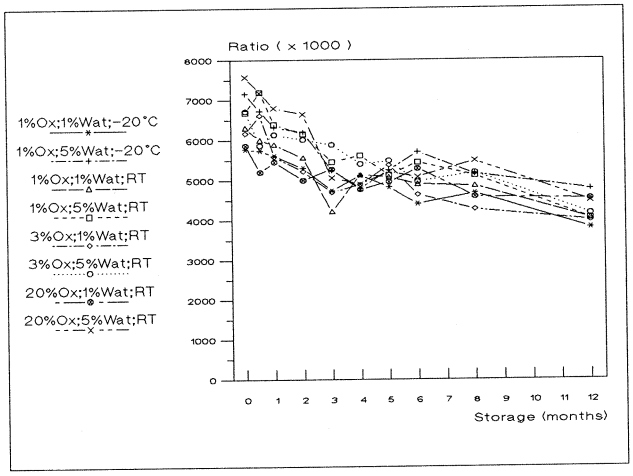


Figure 11. Evolution of M/B index.



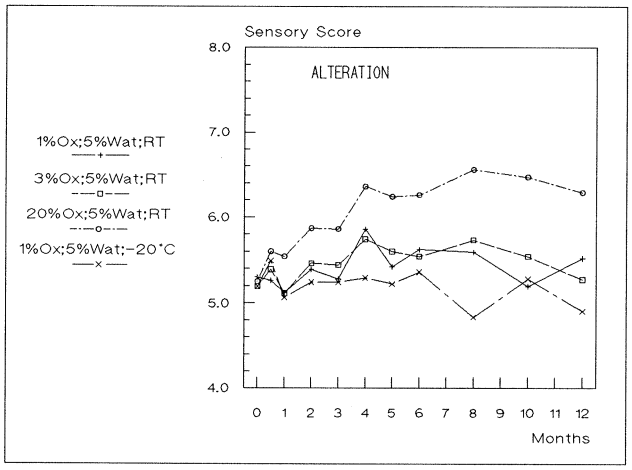
4. Sensory findings

Beside treating the results of the three panels as a single pool, the scores attributed to the three sensory characters which presented the most significant changes during storage were combined. Thus, an overall alteration score was obtained, describing the quality evolution of the different coffee series over the conservation period.

The resulting curves were drawn in figure 12 for the high humidity series. As expected, the rate and amplitude of coffee quality alteration were higher for ungassed samples. But a significant alteration was still reached by both gassed series stored at room temperature. Confirming the analytical results, no perceptible difference could be detected between samples conditioned at 1% or 3% oxygen : the need for a very complete gassing to protect R&G coffee from ageing can be again questioned.

The surprising negative inflection of the alteration curves taking place after 8 month storage can in fact be associated to the quality loss of the reference samples themselves. In comparison, the alteration of the samples stored at room temperature appeared to be of minimized importance.

Figure 12. Coffee alteration over storage.



5. Correlation studies

Analytical and sensory results being quite concordant, attempts were made to correlate them in order to get a model capable of predicting coffee quality alteration as a function of volatile composition changes. For this purpose, both headspace-GC data and sensory scores were combined in a single file, to which stepwise multiple regression analyses were applied. The result consisted in a linear equation relating the scores of a sensory attribute to the concentration of several volatile constituents, selected by the program. As an example, the alteration scores could be predicted by the following polynomial equation :

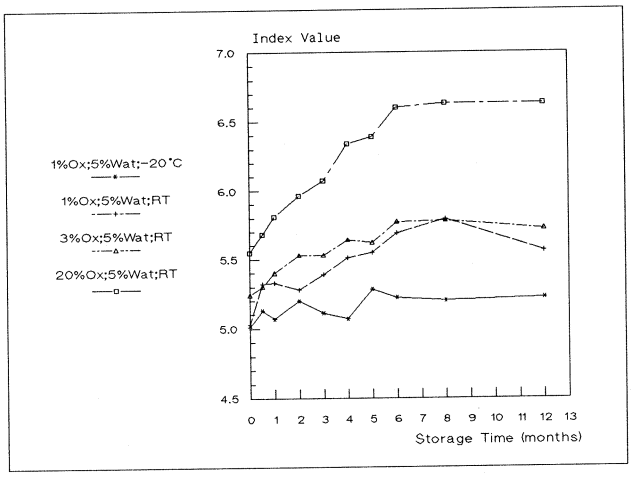
Alteration = 6.53 + 0.027 [Hexanal] - 0.08 [Vinylpyrazine]

- 0.04 [Pyrrol] - 0.022 [Furfurylmethylketone]

- 0.001 [Pyridine]

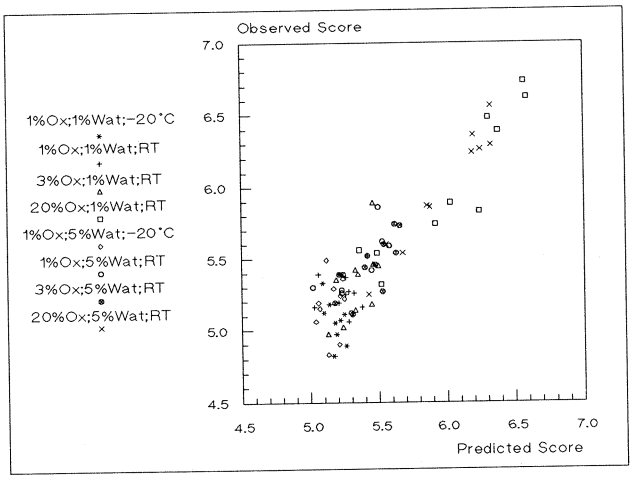
The step number of the analysis was limited to five, which still gave a multiple regression coefficient of 0.9131. On the basis of this model, a quality index could be calculated at the successive pulling times for each coffee series. Remarkably close to the experimental curves, the calculated ones (fig. 13) are bringing the same valuable informations on the respective influences of the storage parameters.

Figure 13. Flavour Quality Index Evolution.



To further assess the validity of the correlation model, all the experimental sensory scores were plotted against the corresponding calculated scores. As illustrated in figure 14, the resulting points are situated closely to the diagonal, demonstrating a very good fit.

Figure 14. Experimental vs. calculated alteration scores.



Even if a good correlation between analytical and sensory results was evidenced by the mathematical treatment applied, this model remains limited to the present work. Several complementary studies would be required to get quality indicators of more general applicability.

Conclusion

With a view at determining the respective influence of different storage parameters on coffee staling, this study has shown that:

- Even in the best storage conditions, coffee samples underwent a real quality alteration.

- No significant difference could be detected in aroma evolution between samples gassed at 1% or 3% oxygen in can headspace and stored at room temperature.

- As expected, maximal coffee aroma degradation was reached in both ungassed series.

- A high humidity content induced a significant enhancement of sensory and chemical modifications of coffee aroma.

- The evolution of sensory quality and volatile composition could be correlated through a multiple regression model capable of predicting coffee alteration with storage time.

Acknowledgement

We gratefully acknowledge Drs. E. Voirol and N. Daget for the sensory analyses.

References

Arackal, T. and Lehmann, G. Messung des Quotienten 2-Methylfuran/ 2-Butanon von ungemahlenem Röstkaffee während der Lägerung unter Luftausschuss. Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 6, pp. 43-47, 1979.

Liardon, R. and Spadone, J.C. Coffee aroma investigations by combined capillary GC-headspace analysis and multivariate statistics. In 11th International Colloquium on Coffee, Lomé 1985; ASIC: Paris, 1986.

Radtke, R. and Piringer, O.G. Zur Problematik der Qualitätsbeurteilung von Röstkaffee durch quantitative Spurenanalyse flüchtiger Aromakom- ponenten. Dtsch. Lebensm. Rundsch. , 77, pp. 203-210, 1981.

Tressl, R., Grünewald, K., Kamperschröer, H. and Silwar, R. Verhalten einiger sshwerflüchtiger Aromastoffe während der Alterung von Röst- kaffee. Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 6, pp. 52-57, 1979.

Vitzthum, O.G. and Werkhoff, P. Messbare Aromaveränderungen beim Bohnen- kaffee in Sauerstoffdurchlässiger Verpackung. Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 6 , pp. 25-30, 1979.

Summary

This study aimed at determining both the chemical and the sensory modifications of coffee aroma associated to staling. More precisely, we examined the influence of oxygen level, water content and temperature on coffee aroma evolution over a 12 month storage period. The different coffee series prepared were analyzed by headspace-gas chromatography and tasted by three panels at successive pulling times.

Applying a statistical approach, we found that both quality loss

and volatile composition changes developed even in coffee samples stored under refrigeration, at low oxygen and water content. Expectedly, the aroma alteration was maximal in ungassed coffee series. On the other hand, a similar level of aroma modification was detected in both series gassed at 1% or 3% oxygen, possibly ruling out the need for a complete gassing at conditioning. Coffee staling appeared to be reinforced by a high humidity content. Finally, a model was proposed to predict coffee quality alteration as a function of the concentrations in several volatile constituents. Its validity should be confirmed through other studies.

Résumé

Les modifications chimiques et sensorielles de l'arôme qui se développent lors du vieillissement du café ont été déterminées sur des échantillons conditionnés à différents niveaux d'oxygène et d'eau, stockés à température ambiante ou sous réfrigération. A intervalles réguliers sur une période de 12 mois, ces cafés ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse de l'espace de tête et leurs profils sensoriels ont été établis.

A partir d'un traitement statistique permettant une interprétation globale des résultats, nous avons pu montrer que même dans les meilleures conditions de conservation, une dégradation progressive du café rôti moulu se développait au cours du temps. Comme escompté, l'altération la plus forte s'opérait dans les séries conditionnées à atmosphère normale, par des réactions oxydatives. Par contre, le niveau d'altération était similaire aussi bien avec un niveau initial d'oxygène de 1% que de 3%. Une humidité élevée avait pour principal effet de renforcer l'influence des autres paramètres. Enfin, un modèle a été développé, permettant de prédire le degré d'altération du café en fonction de la concentration en quelques substances volatiles. Sa validité devra être confirmée par d'autres études comparables.

THE RESEARCH AND TEST UNIT OF THE INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION SCIENTIFIC ACTIVITIES FOCUSING ON THE QUALITY OF COFFEE

A. M. FERIA-MORALES
International Coffee Organization
22 Berners Street, London W1P 4DD, UK

The International Coffee Organization has always recognized that the quality of a cup of coffee is the key element in any promotional activity and that quality depends just as much on how the coffee is treated on the farm, during storage and shipment, as on the details of roasting, packing and brewing. With different countries and companies using a bewildering variety of quality control methods and terminologies, a coordinated international approach could be of great value in maintaining and improving that quality. For this reason the Promotion Fund of the ICO decided in 1982 to make use of its central position and international contacts and establish a programme of objective scientific research on aspects of coffee quality. The Research and Test Unit, based at ICO Headquarters in London, has applied sensory evaluation techniques used in the food industry, complemented by instrumental chemical analysis and consumer studies, to the scientific assessment of coffee. The unit has carried out a range of studies designed to investigate the effect of factors as diverse as harvesting methods and water hardness on the quality of the coffee beverage.

As a central reference for its studies, the Research and Test Unit houses the Organization's unique collection of green coffee samples, supplied and updated regularly by the coffee exporting Member countries. Over two hundred examples of green coffee are displayed in clear plastic cassettes, clearly labelled in a uniform format to show the origin, variety, grade of coffee and processing method used.

Through its international contacts, the Unit is able to obtain samples of coffees grown or processed under specific conditions as the raw material for its investigations. Roasting and preparation of the brew are carefully supervised under controlled conditions on the premises. This paper describes the techniques, methodologies and experiments developed by the Unit for studying the effects on coffee quality, under the broad headings of:

Sensory analysis;

Chemical analysis and

Consumer Studies.

1. SENSORY ANALYSIS

One of the first objectives of the Unit was to establish a sensory evaluation panel for the assessment of the coffee beverage. An internationally renowned expert in sensory analysis was brought in to advise on the principles and techniques involved and to adapt methodologies already developed for assessing other foods and beverages. A panel of members of staff of the Organization was selected and trained. Through a process of experimentation and discussion, the panel developed a vocabulary (Table 1) which would be used to describe the aroma and taste attributes of coffee. As the vocabulary has no national or commercial bias (Panel members come from many coffee exporting and importing countries) and was created by consumers, it could be used worldwide to facilitate international communication about the merits or defects of the coffee beverage.

The panel has used the vocabulary to demonstrate the value of descriptive profiling techniques and produce data for multivariate statistical analysis.

Descriptive Flavour Profiles

To profile a coffee, the intensity of each aroma, flavour and mouthfeel attribute is assessed on a numerical scale. Panel members enter scores directly into a computer system designed for data capture and statistical analysis. The discriminative abilities of the panel were demonstrated by the first profiling exercises on two different sets of coffees, shown in Table 2. Principle component scores (vectors 1 and 2) for each coffee within a set of six are presented in Figure 1 for flavour of the brew and in Figure 2 for the aroma of roast and ground coffee. Figure 3 shows the attribute loadings, which allows us to identify the most characteristic attributes for each coffee brew.

In another profiling exercise on a set of nine coffees (identified in Table 3), the contrast between the descriptive profiles of Arabica and Robusta coffees can be observed, as can the similarity of profiles within species (Figures 4, 5 and 6).

Having tested the reliability and consistency of the Sensory Evaluation Panel, as a whole and individually, and having standardised the procedures for preparing and serving the samples, it was appropriate to begin investigating the factors which affect coffee quality.

Field Variables

The presence of immature beans is one of the most damaging defects in coffee. Sensory analysis of immature and mature coffee concluded that:

(1) highly statistically significant differences were always detected between coffees harvested when immature and when mature, independently of the country or region of origin or the species;

(2) immature coffees have no homogeneous taste characteristics and vary like their mature counterparts.

The different profiles of mature and immature pairs of samples of Arabica and Robusta coffees are presented in Figures 7 and 8.

Triangle tests, in which panel members are asked to select the odd sample from a set of three, were used to identify the effects of harvesting methods. In a total of 66 triangle tests carried out by 11 trained tasters the differences between mechanically harvested and selectively harvested coffee could not be detected. This was true both for dry processed coffee and in a further series of tests on wet processed coffee.

However, when wet and dry processed coffees were compared, either mechanically or selectively harvested, the triangle tests gave statistically significant differences ($p < 0.01$).

In a recent collaborative study with the Coffee Board of an Exporting Member country, field research was complemented by the

Unit's sensory evaluation methods. The task was to assess the degree of similarity in flavour between a newly developed disease resistant cultivar and the cultivar hitherto mostly exported. The panel's findings showed a high degree of similarity between the two cultivars (see Figure 9).

Another project involved the use of new chemicals such as maturation hormones on coffee quality. The results confirmed that, despite the good appearance of the green coffee, tasting is the best method for assessing quality. Highly significant differences in flavour were detected between samples of the highest quality coffee which had been treated with maturation hormones and those which had not (see Figure 10).

Roasting

The effects of the degree of roast and of different methods of heat transmission during roasting were investigated. The results revealed that coffee from a particular origin produced distinctive flavour profiles when roasted to different degrees (see Figure 11). When fast roasting was compared to conventional roasting, differences in flavour profiles were detected, but preference was not significantly affected as long as the brews were prepared to the same concentration (ie. identical coffee to water ratio).

Alterations in roasting variables such as temperature and time on the same equipment were found to have a great effect on the final flavour of the cup, affecting the complexity of the flavour profile (see Figure 12). This information could form a basis for the selection of roasting equipment producing cup flavour characteristics to suit international, regional or even local tastes.

Brewing

Coffee brewing is no less important than roasting. Variables such as brewing method and equipment, the ratio of coffee to water, brewing temperature and time, water quality always play an important role in producing the best quality coffee flavour in the cup. For example, significant differences in flavour characteristics were found when different coffee/water ratios (40 g/l, 55 g/l and 70 g/l) were used (see Figure 13). These concentrations represent those actually used in certain markets around the world and illustrate how consumer preferences tend towards specific flavour characteristics.

Water quality is known to affect coffee beverage flavour but little has been reported in terms of chemical differences in water. A sensory evaluation study carried out by the Unit found that water obtained by reverse osmosis (with characteristics listed in Table 4) produced a better beverage. Four types of water, three types of coffee (washed and unwashed Arabicas and Robusta) and three degrees of roast (light, medium and medium-dark) were tested. Among other factors in this category are the holding time of coffee on a hot-plate and the use of various filter devices, which may impart an off-flavour. Results from tests have shown that coffee should not be held on a hot plate (approximately 85°C) for more than 30 minutes. Also, a procedure has been developed to test filter papers by sensory methods and to assess whether off-flavours can be passed into the beverage.

Decaffeination

Market trends are indicating an increased consumption of decaffeinated coffees; however, some traditional coffee drinkers find that decaffeination causes too much variation in the flavour. The Research and Test Unit tested decaffeinated and non-decaffeinated coffees of the same type and found differences in flavour that were easily detected but varied in degree depending on the type of coffee and the decaffeination process used. A principal component analysis of the sensory evaluation data showed how different each decaffeinated coffee was from its non-decaffeinated counterpart (see Figure 14).

2. CHEMICAL ANALYSIS

In contrast with the sophisticated hardware supporting the sensory evaluation programme, the chemistry laboratory of the Research and Test Unit consists of more basic equipment for traditional physico-chemical and chemical measurements on green, roasted, roast and ground and brewed coffees, such as bean size, colour, moisture, particle size distribution, pH and soluble solids. The strongest asset of the Unit in the field of chemical analysis is its network of scientific contacts in research centres and academic institutions as well as coffee trading or processing companies worldwide.

The main aim of the Research and Test Unit in this area is to identify correlations between measurements based on traditional or newly developed analytical techniques and the sensory evaluation information generated by the coffee sensory panel. Therefore, investigations are increasingly designed to cover both areas.

The same team of scientists involved in setting up the coffee sensory evaluation panel participated in the design of the first large inclusive investigation entitled "An Investigation of the Effects of Bean Maturity on the Sensory and Analytical Properties of Ground and Cup Coffee". Analysis of the volatiles was carried out by scientists from Long Ashton Research Station, non-volatiles by Reading University and the sensory tests by the Research and Test Unit. Further details of this project will be presented by one of the investigators during this Colloquium. The overall conclusion was that individual coffees from the same country showed a different pattern of maturation. Table 5 illustrates some of the non-volatile constituents of different mature and immature Arabica coffees from Ethiopia.

Chemical analysis of coffees roasted by two different techniques

Differences between fast roasted and conventionally roasted coffees were demonstrated by chemical, as well as by sensory analysis. Blends of coffees or individual coffees of one origin would result in different chemical profiles. Canonical variate analysis of the pyrolysis-mass spectrometry (Pyr-MS) data showed how coffees roasted on a fluidised bed roaster were positioned close to, but separate, from coffees roasted by the conventional drum roaster, as a result of their different chemical composition (see Figure 15). On the other hand, chemical analysis by Pyr-MS did not separate brew samples of fast roasted coffees prepared at two concentrations (55 g/l and 47 g/l), since the technique was applied qualitatively and not quantitatively. In this case, sensory techniques proved the poor flavour quality of the weaker brew. This finding confirmed the importance of combining the two approaches when investigating the effects of factors affecting coffee quality.

Investigation of the causes and origin of Rio flavour in coffee

The Unit coordinated an investigation into the causes of a well-known defect in coffee called "Rio flavour". This defect, which originated in Brazil and was recently detected in coffees from other origins, has a characteristic cup flavour profile. Although it resembles the aroma of phenolic-like compounds and is sometimes identified as medicinal or chemical-like by sensory panels or consumers, Rio flavour is appreciated in some countries such as Greece and Turkey.

Experimental proposals based on individual research efforts and theories were combined into a joint project coordinated by the Organization, grouping together the Brazilian coffee authorities represented by the Brazilian Coffee Institute (IBC) and the Research teams of coffee companies such as Nestlé and Illycaffè.

Electronic scanning microscope, microbiological and chemical analyses were carried out at the Nestlé Research Centre (Nestec Ltd.), X-ray, fluorescent and other spectroscopy techniques were applied at Illycaffè S.p.A., while the Organization and the Brazilian Coffee Institute were in charge of all sample collection,

processing and shipping operations. Activities in the coffee fields were filmed to serve as a guide for future investigations of this type. To date, findings have concluded:

(1) The detection of trichloro-anisole (TCA) only in samples collected in the Rio zones confirmed the theory associating this compound to the Rio flavour;

(2) Higher levels of TCA detected in cherries picked from trees and dried aseptically highlighted the key role played by drying conditions; and

(3) Further research is needed to identify which species of microorganism of the ones found in the Rio samples is totally or partially responsible for TCA production and to identify the pathway followed for its production.

Authentication of coffees by origin

At present there is no objective analytical methodology which permits the validation of a coffee's origin, although there are cases in which coffees of two origins may be clearly distinguished.

The Research and Test Unit has explored several sophisticated analytical techniques in its attempt to discover a method or combination of methods to authenticate any green coffee sample's origin with the highest percentage of reliability.

Techniques used so far are listed in Table 6. The more promising results have been obtained from Pyrolysis-Mass Spectrometry and from Near-Infrared Spectroscopy (NIR), however, the former would have to be linked with some other techniques such as gas chromatography for a detailed identification of discriminative chemical components. The NIR technique could form the basis for identification of the chemical constituents of green coffee and software for this purpose is being developed in a collaborative programme with NIR-Systems, a company based in Maryland, USA.

The major problem when utilizing these techniques is to standardise sample preparation. In addition to sampling error, this makes it difficult to achieve the reproducibility and precision required.

The Unit has contracted the expertise of researchers at the University of Surrey in the United Kingdom to focus on the analysis of trace elements in green and brewed coffee by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) but sample preparation of the green coffee has proved to be an obstacle in achieving the reproducibility desired. On the other hand, whereas there were no difficulties in preparing brewed samples following ISO standard procedures, detection limits seemed to be reduced after the roasting and brewing processes and therefore lack of reproducibility was again a problem.

At present we are continuing with the analysis of trace elements in coffee and a more sophisticated technique is being investigated. Radiochemical Neutron Activation Analysis (RNAA), a non-destructive technique requiring minimum sample preparation, is being investigated on green coffee at the University of Ulm in West Germany and results are expected by the end of 1989.

Analysis of coffee constituents

Chemical analysis of the most important constituents in green, roasted and brewed coffees is highly laborious and time consuming and has therefore been of limited use within the quality control area. Quite often only the big coffee processing companies make frequent use of all these types of analysis. Therefore, following the approach already used by other food industries in applying a range of multi-analysis techniques, the Unit has been engaged in a collaborative programme with an American equipment manufacturer to

develop a technique for coffee analysis. Calibration curves are being produced for the analysis of moisture, extractable solids, caffeine, protein, lipids, soluble carbohydrates, sucrose, trigonelline and total chlorogenic acids. Preliminary testing has shown good correlation with the standard/official wet chemistry methods. Quality control monitoring on chemical variables would be much easier and wet chemistry of green coffees produced worldwide could be done on a comparative basis. For example, the average content of the main constituents could be obtained by species, country of origin, variety, etc. (see Figure 16). Similar work on roasted and brewed coffee already forms part of a two year NIR and chemical analysis programme.

3. CONSUMER STUDIES

Information about consumer preferences is an essential requirement for the success of any product and coffee is no exception. The Research and Test Unit has given strong emphasis to this fact by creating a consumer-oriented vocabulary which can be easily understood by coffee producers, traders, manufacturers, roasters and consumers.

Methodologies established by the sensory evaluation panel have also been tried in consumer field tests. Although consumers would not be able to learn and apply all the coffee terminology and definitions in the short time available, a few selected terms which suit specific coffee samples can be used.

The Unit has tested its coffee sensory evaluation approach in consumer field tests and confirmed its value as a tool which enables consumers to communicate the merits and/or defects of individual cups of coffee as well as their specific preferences.

During a food exhibition in Paris, the Research and Test Unit hired sensory facilities to introduce coffee tasting educational exercises and to explore the sensory responses of consumers when assessing coffees of individual origins (in contrast to the traditional blended coffee).

Figures 17 and 18 showed some of the results obtained from the consumer field test in France. Approximately 250 consumers who were questioned showed a very positive attitude towards coffee in general and about the samples they were tasting. Consumers agreed with previous results from the ICO analytical panel in rating Kenya coffee as the coffee with the highest fruity flavour (see Figure 17). Great variability in preference was found among three different categories of coffee drinkers (see Figure 18). Full results of this test will be available from ICO technical publications to be released in due course.

Consumer field tests have also been designed to test the potential acceptability of new products. Following the growing success of iced coffee in some countries such as Japan and market research studies conducted by the ICO in the United States (Coffee Development Group) the Unit carried out a consumer field test on iced coffee in several locations in England. The results show that the iced coffee was received with a high level of interest. Only about 1 in 10 of those consumers approached declined to try iced coffee because they disliked the idea. Although test results showed low acceptance scores for six formulations (soluble decaffeinated and non-decaffeinated, roast and ground decaffeinated and non-decaffeinated, and half strength roast and ground decaffeinated and non-decaffeinated), preference mapping confirmed that this was due to the fact that individual consumers had different views about what constitutes an acceptable coffee.

The main factor related to acceptance was strength. The full strength roasted and ground coffee was too strong, and the half strength coffee too weak. However, it is likely that if consumers were given the choice of producing iced coffee to their own preferred strength, they would find it a very acceptable product. In support of this, it was found that 53% of respondents liked at least one of the formulations "very much" and only 10% did not like any of the coffees at all (see Figure 19). Preference mapping also revealed that drinkers of black coffee were generally more discerning about the coffee types

served (i.e. found clear differences between soluble and roast and ground, and between decaffeinated and non-decaffeinated coffees).

Conclusion

The Research and Test Unit of the International Coffee Organization has adopted a three-pronged approach to the search for scientific data on quality related aspects of the coffee beverage.

Sensory analysis, chemical investigations and consumer studies all provide valuable information on a product of almost infinite variability.

This information, it is hoped, will help to define quality in the cup, the goal of producers, processors, traders and consumers.

Abstract

The Research and Test Unit was established in 1982 at the headquarters of the International Coffee Organization (ICO) to provide a central facility which could be of practical use in identifying the many and complex factors affecting cup quality. Sensory analysis techniques, successfully applied to other foods and beverages, have been developed and applied to coffee to highlight the effect of different practices as they affect the final coffee quality. Studies concentrate on parameters affecting the cup flavour and may vary from the development of a flavour fingerprint of a coffee of specific origin to the assessment of the effect of field variables, roasting and brewing equipment and conditions.

As a consumer-oriented approach, analytical sensory results are complemented by consumer tests among members of the public to reinforce initial findings.

In the same manner, sensory data is complemented by chemical, physio-chemical analysis and/or instrumental techniques so that statistical correlations between the two measurements can form the basis for a practical method of monitoring quality.

As a central resource of the ICO the Unit also aims to keep ICO Member countries up-to-date on the latest developments in coffee processing techniques, equipment and analysis useful to coffee. In this context the Unit aims to identify a methodology to authenticate the origin of coffee using techniques such as Gas Chromatography (GC), Pyrolysis Mass Spectrometry (Pyr-MS), Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES), Radiochemical Neutron Activation Analysis (RNAA) and Near Infrared Spectrophotometry (NIR).

Producing countries use the facilities and expertise of the Unit to rationalize their grading and classification systems utilizing modern, objective criteria. The Unit has developed a network of contacts worldwide to undertake or coordinate comprehensive investigations involving two or more parties with a common objective of improving coffee quality. These investigations benefit from all the developed methodology, information, training, results and experience of the Unit and of the Organization as a whole.

Unité expérimentale et laboratoire de l'Organisation internationale du Café Activités scientifiques centrées sur la qualité du café

Alejandro M. Feria-Morales

Extrait

L'Unité expérimentale et laboratoire a été créée en 1982 au siège de l'Organisation internationale du Café (OIC) afin de servir de foyer d'activités pratiques destinées à mettre en évidence les facteurs nombreux et complexes dont dépend la qualité du café en tasse. Les techniques d'analyse sensorielle utilisées avec succès dans le cas de divers autres aliments et boissons ont été affinées et appliquées au café dans le but de faire ressortir les effets des divers procédés qui influent sur la qualité finale du café. Les travaux portent sur les éléments qui agissent sur la saveur du café et vont de l'établissement d'un fichier de la saveur d'un café d'origine donnée à l'appréciation de l'influence des divers facteurs de la production ainsi que du matériel et des conditions de torréfaction et de préparation.

Cette activité étant orientée vers le consommateur, l'analyse sensorielle est complétée par des tests de consommateurs choisis parmi les membres du public, tests qui sont destinés à renforcer les observations originales.

De même, les données de l'évaluation sensorielle sont complétées par des analyses chimiques ou physiochimiques et/ou par des procédés instrumentaux de manière que les analogies statistiques entre les deux séries de mesures puissent servir de base à l'élaboration d'une méthode pratique de surveillance de la qualité.

En tant que centre d'activités de l'OIC, l'unité a également pour objectif de tenir les pays Membres de l'OIC au courant des progrès en dernière date des techniques et du matériel de transformation et des méthodes d'analyse en rapport avec le café. A ce titre, l'Unité cherche à dégager un processus permettant de certifier l'origine du café à l'aide de procédés tels que la chromatographie en phase gazeuse, la spectrométrie de masse des produits de pyrolyse, la spectrométrie d'émission optique couplée à une source plasma, l'analyse par activation radiochimique avec des neutrons et la spectrophotométrie dans la zone proche de l'infrarouge.

Les pays producteurs s'appuient sur les moyens pratiques et l'expérience de l'Unité pour rationaliser leurs systèmes de calibrage et de classement par l'utilisation de critères modernes et objectifs. L'Unité dispose d'un réseau de contacts à l'échelle mondiale qui lui permet de mener ou coordonner des recherches complètes embrassant deux ou plusieurs parties dont l'objectif commun est d'améliorer la qualité du café. Ces recherches bénéficient de toutes les méthodes de pointe et de tous les renseignements, connaissances, résultats et données de l'expérience pratique de l'Unité et de l'Organisation dans son ensemble.

TABLE 1

CONSUMER ORIENTED VOCABULARIES DEVELOPED BY THE ICO PANEL TO DESCRIBE THE FLAVOUR OF THE COFFEE BREW

Updated Vocabulary
(Revised in 1985 and currently used)

Aromas/Flavours		Mouthfeel
Animal-like	Spicy	Body
Ashy	Tobacco	Astringency
Burnt/Smokey	Winey	
Chemical/Medicinal	Woody	
Chocolate-like		
Caramel		
Cereal/Malty/Toast-like		
Earthy	Tastes	
Floral		
Fruity/Citrus	Acidity	
Grassy/Green/Herbal	Bitterness	
Nutty	Sweetness	
Rancid/Rotten	Saltiness	
Rubber-like	Sourness	

Original Vocabulary
(developed in 1982-1983)

Intensity	Toasted bread-like
Depth/Body	Burnt/Charred
Acidity	Rubber-like
Sweetness	Motor oil
Bitterness	Phenolic/Medicinal
Astringency	Cereal-like
Saltiness	Nutty
Minty	Grassy
Citrus	Earthy
Blackcurrent-like	Woody
Flagrant/Floral	Ashy
Winey	Rancid
Milky	Broth
Sugary/Caramel	Animal-like
Fruitcake-like	Rotten
Spicy	Sour
Chocolate-like	Musty
Malty	

TABLE 2

DESCRIPTION OF COFFEES USED IN
FIRST PROFILING EXERCISES

(Flavour of brewed coffees)

Code letter 1/	Type of coffee
A.	Ethiopia Yergacheffe washed Arabica
B.	Cote d'Ivoire unwashed Robusta
C.	Costa Rica SHG washed Arabica
D.	Angola unwashed Robusta
E.	Instant coffee
F.	Brazil unwashed Arabica

1/ Code letters were used in Figure 3 to represent position of coffee due to scores from Principal Component Analysis.

SECOND PROFILING EXERCISE
(Aroma of roast and ground coffee)

Type of coffee
Brazil Type 2 Arabica, dry processed
Angola Ambriz; Standard 1 Robusta dry processed
Kenya A.A.; Standard 1 Arabica wet processed
Colombia MAM Arabica wet processed
Ethiopian Haror Lonberry Arabica wet processed
Uganda Standard grade Robusta dry processed

TABLE 3

DESCRIPTION OF A SET OF NINE COFFEES PROFILED

Coffee origin and grade or region		Variety and process	
Brazil	Santos type 2	Arabica	Unwashed
Costa Rica	Aragon	Arabica	Washed
Ethiopia	Limmu	Arabica	Washed
Kenya	AA Std. 2	Arabica	Washed
Nicaragua	Segovia	Arabica	Washed
Philippines	Bukidnon	Robusta	Unwashed
Philippines	Luzon	Excelsa	Unwashed
Uganda	Impala	Robusta	Unwashed
Zaire	HTM-N-M	Robusta	Unwashed

TABLE 4

CHEMICAL CHARACTERISTICS OF PURIFIED WATER
FAVOURED BY SENSORY ASSESMENTS FOR BREWING COFFEE

Purified Waters Analysis 2/		Purified Waters Analysis 2/	
Soluble solids (ppm)	70	Calcium mg/l	8
pH value	6.5	Magnesium mg/l	0.3
Conductivity mS/cm at 20oC	98	Sodium, mg/l	7.4
Colour/ Hazen units	1	Potassium mg/l	1.3
Turbidity, NTU	0.1	Alkalinity as CaCo , mg/l	<20
Suspended solids at 105oC (%)	0.8	Reactive Silica as SiO , m/l	0.7
Total oxidised Nitrogen as N, mg/l	3.2	Total manganese, mg/l	<10
Chloride as Cl, mg/l	6	Total iron, mg/l	<10
Sulphate as SO , mg/l	<5	Fluoride, mg/l	<100
Total hardness as CaCo , mg/l	21		

2/ Analysis were carried out at the New River Head Laboratory of Thames Water Services, London.

TABLE 5

NON-VOLATILES ANALYSIS OF MATURE AND IMMATURE GREEN COFFEES
FROM DIFFERENT REGIONS AND GROWING CONDITONS IN ETHIOPIA

COFFEE DESCRIPTION		Non-volatiles constituents						
		Total Chlorogenic Acids (%)	Sucrose (%)	Caffeine (%)	Total Amino acids (mg/100g) MET	CYS	TRY	TYR
Kaffa Seka Arabica Dry grown on red loam soil type under dense shade.	Immature	7.31	9.57	1.75	34.99	24.72	51.80	78.40
	Mature	7.75	9.83	1.89	22.44	41.40	62.80	94.35
Harrargei Arabica Dry grown on sandy red loam soil type at 1800m of altitude under no shade.	Immature	5.90	8.36	0.84	19.99	33.91	54.45	73.45
	Mature	6.34	10.36	1.36	22.96	24.41	72.75	86.50
Kaffa Limu Kossa Arabica Dry grown on sandy loam soil type at 1760m of altitude under medium shade considered as a forest coffee.	Immature	8.88	10.39	1.92	32.08	40.25	117.60	115.20
	Mature	9.25	9.78	1.20	29.47	30.39	126.60	101.95
Wolega Gimbi Arabica Dry grown on red loam soil type at 1780m of altitude and under light shade.	Immature	6.88	5.39	0.94	29.96	35.00	99.10	100.40
	Mature	7.27	10.58	1.00	25.47	13.79	118.25	37.90
Sidamo Yergacheffe Arabica Dry grown on clay soil type at 1760m of altitude and under medium shade.	Immature	6.64	7.08	0.99	23.28	34.01	106.75	95.55
	Mature	6.96	9.41	1.02	29.68	43.28	110.20	87.50
Sidamo Dale Arabica Dry grown on sandy loam soil type at 1680m of altitude and under light shade.	Immature	6.96	9.87	1.00	28.35	32.90	102.05	54.35
	Mature	7.25	9.57	0.98	27.73	14.21	112.85	69.75

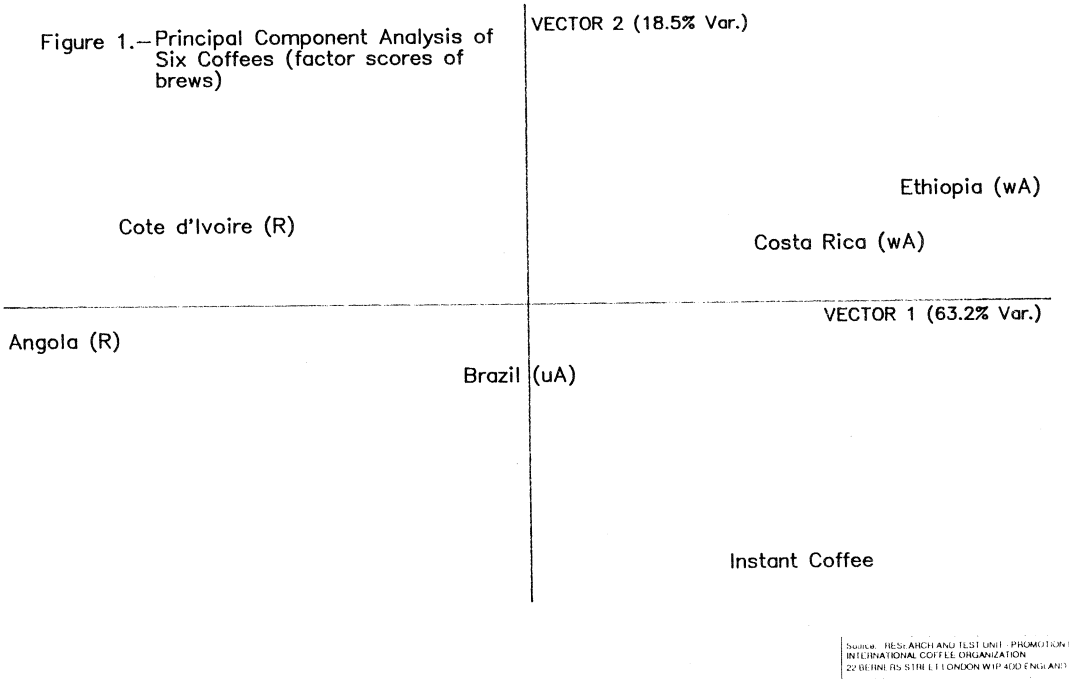


Figure 1.– Principal Component Analysis of Six Coffees (factor scores of brews)

Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION 22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

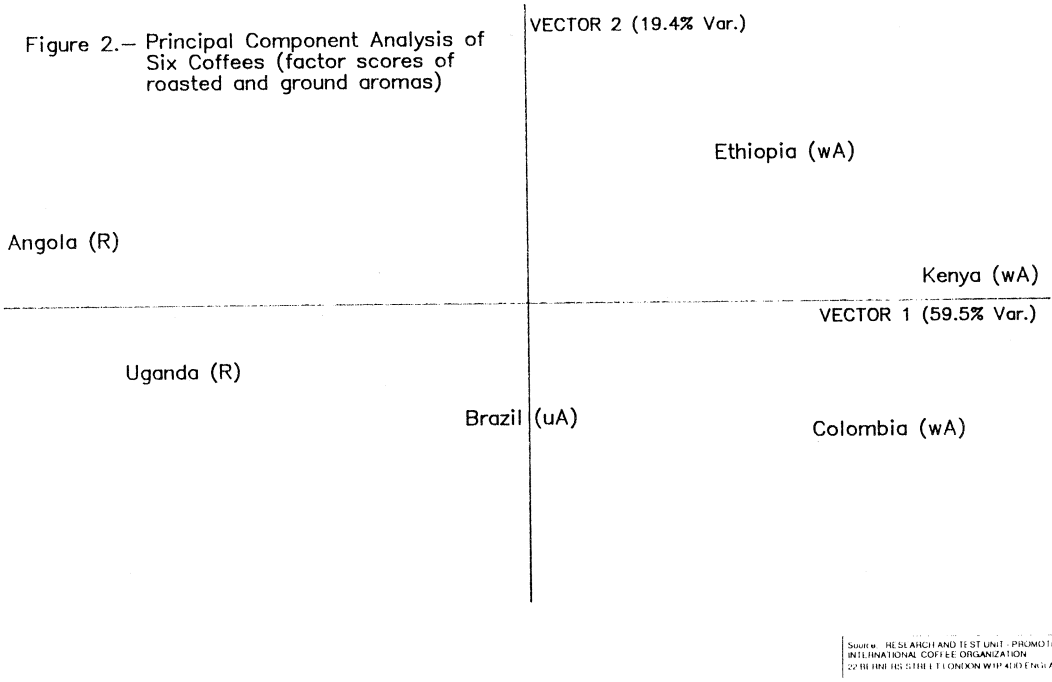
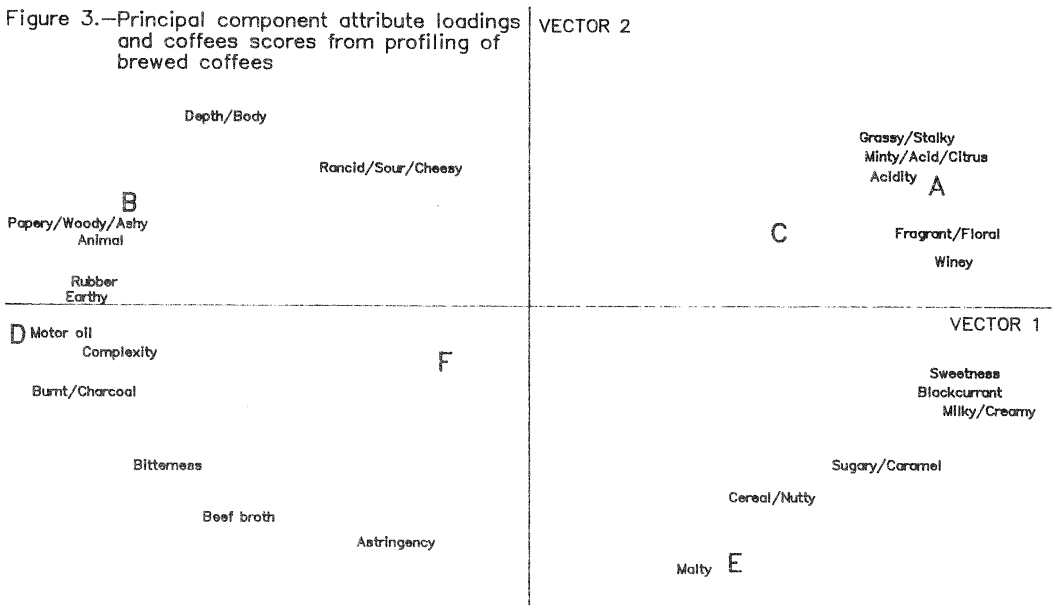


Figure 2.– Principal Component Analysis of Six Coffees (factor scores of roasted and ground aromas)

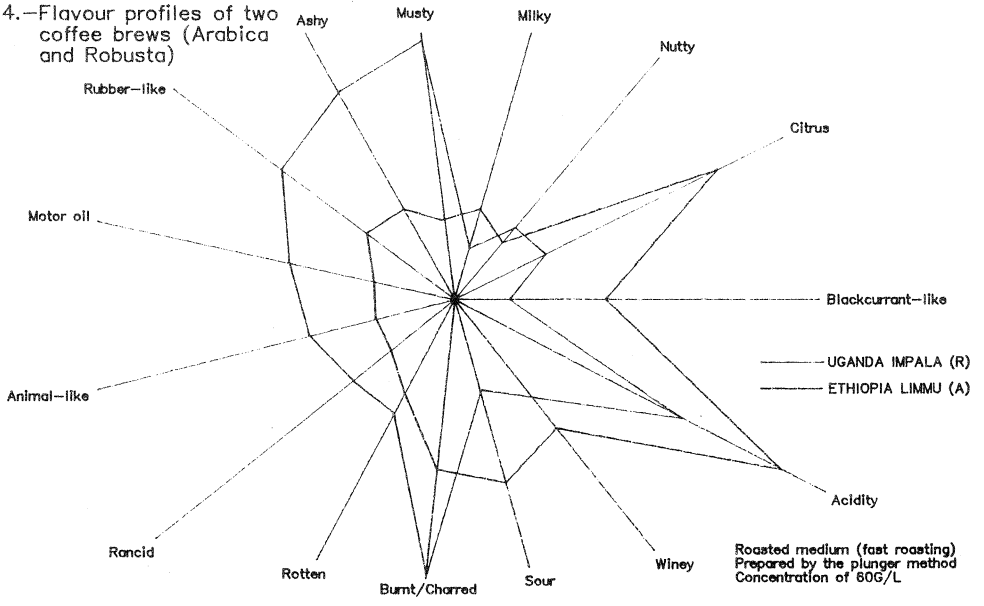
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION 22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 3.—Principal component attribute loadings and coffees scores from profiling of brewed coffees



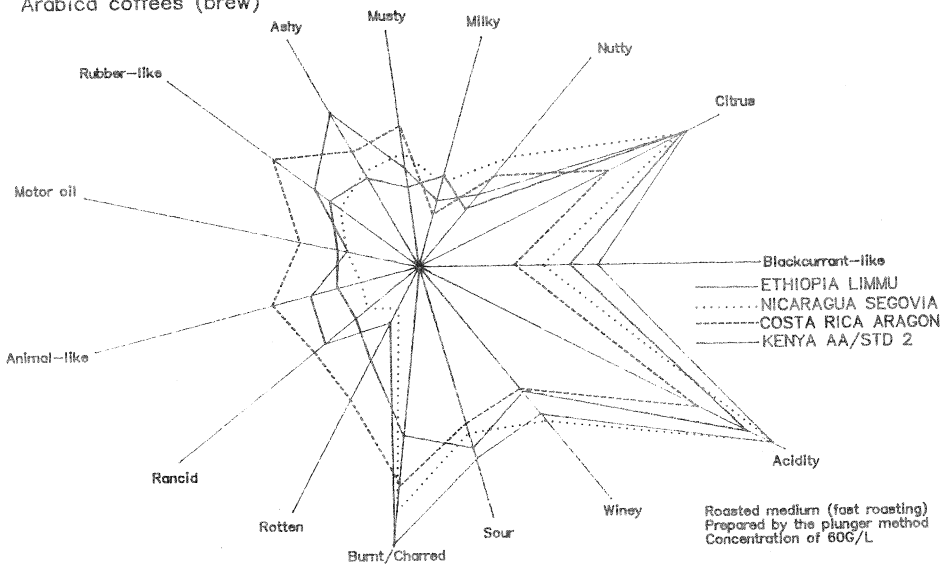
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 4.—Flavour profiles of two coffee brews (Arabica and Robusta)



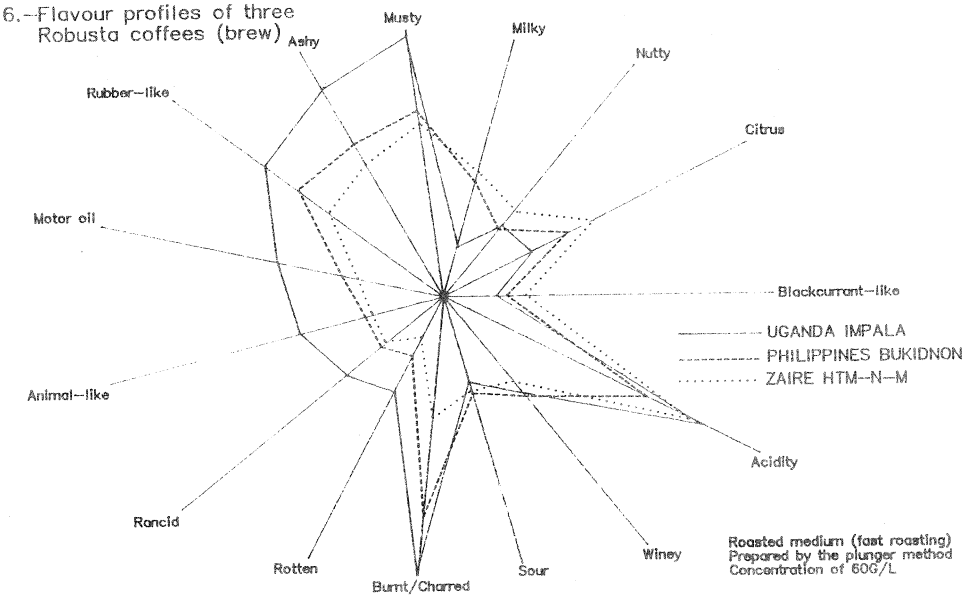
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 5.– Flavour profiles of four Arabica coffees (brew)



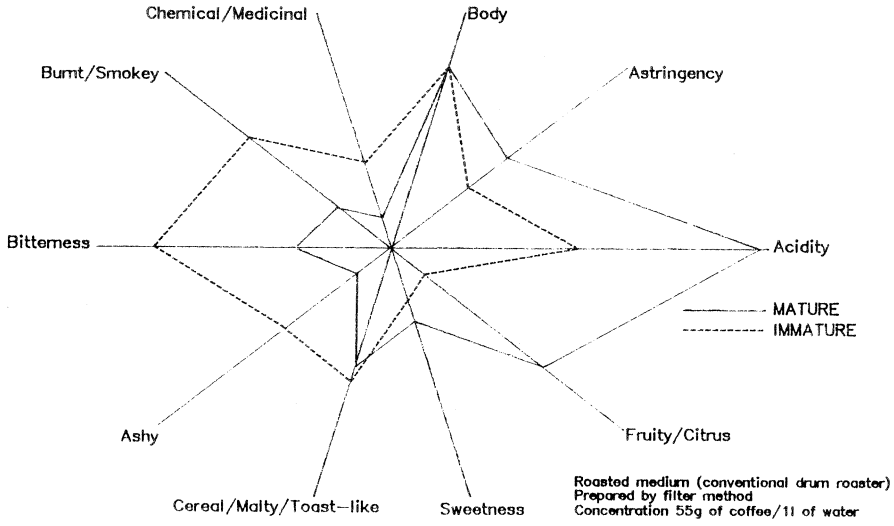
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 6.–Flavour profiles of three Robusta coffees (brew)



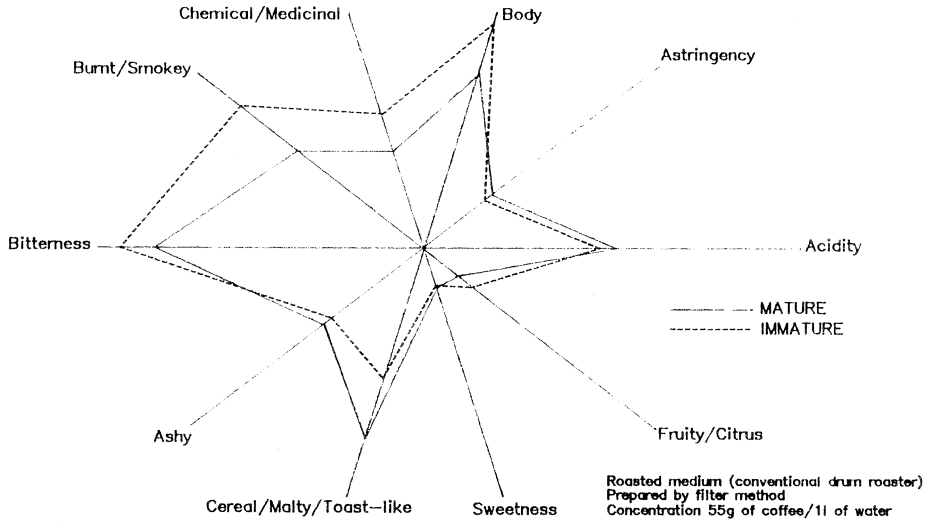
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 7.– Quantitative Descriptive Profiles
(Mature and immature unwashed Arabica coffees from Brazil)



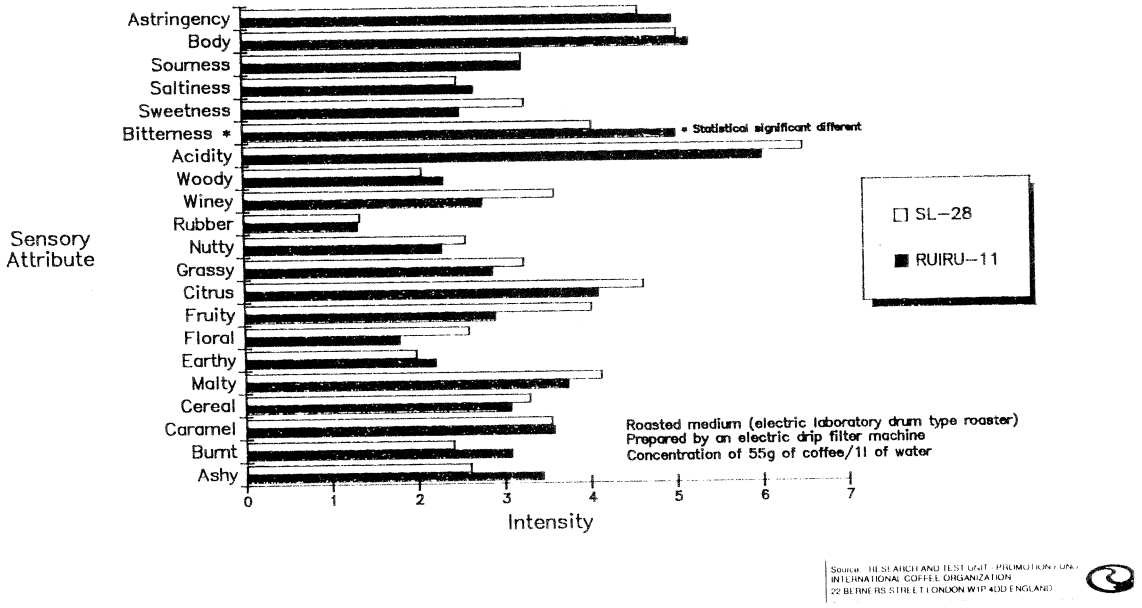
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 8.– Quantitative Descriptive Profiles
(Mature and immature Robusta coffees from Cote d'Ivoire)



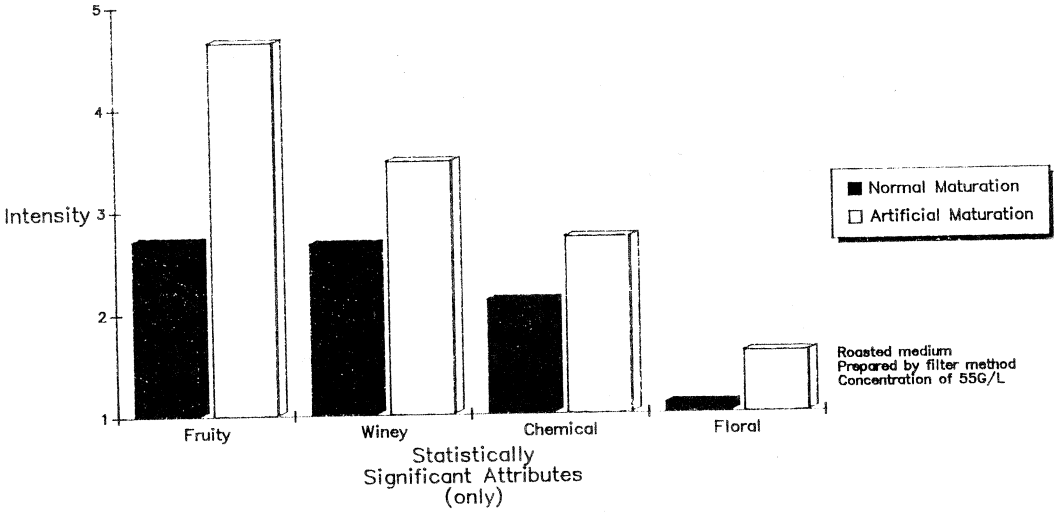
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 9.– Quantitative descriptive flavour profiles of two Kenyan coffee cultivars (brew)



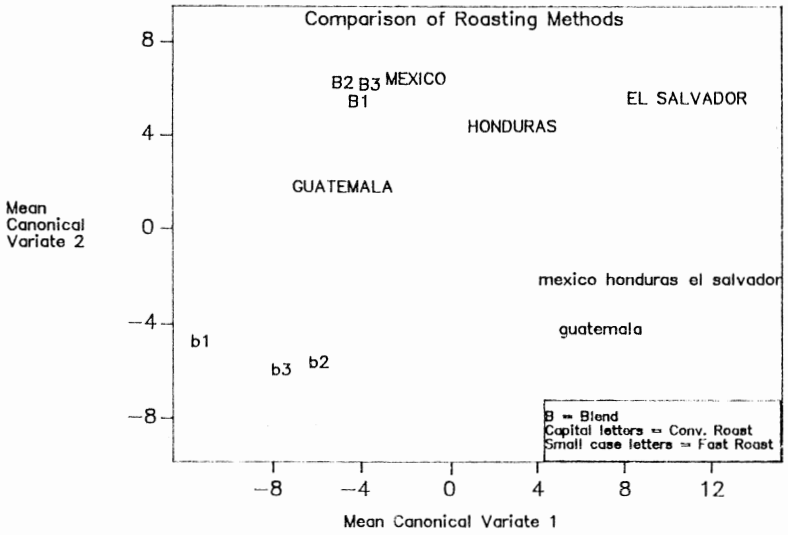
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 10.–Quantitative descriptive flavour profile: Artificial and normal matured unwashed Arabica coffees from same plantation in Brazil (brew)



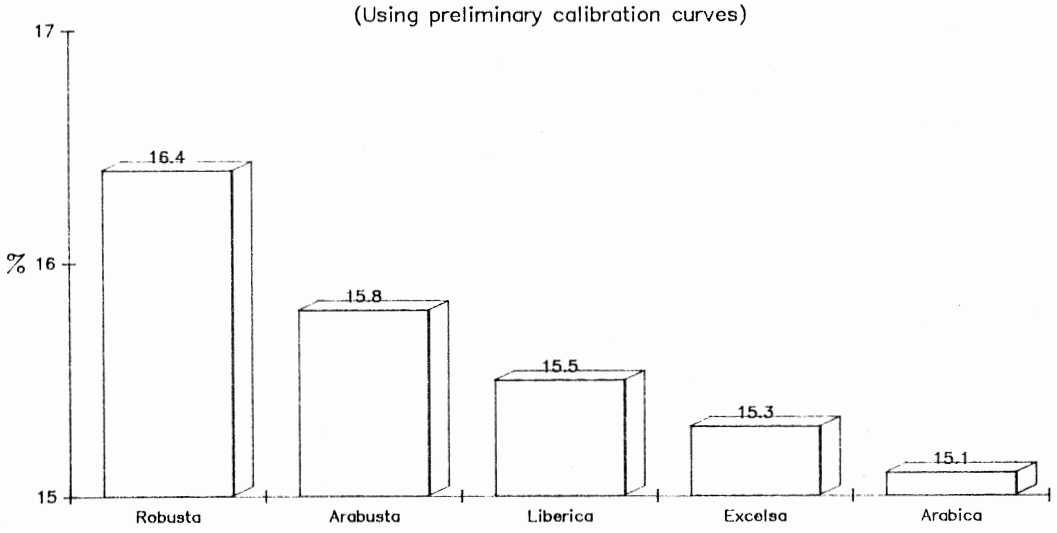
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 15.– CANONICAL ANALYSIS OF PYROLYSIS–MASS SPECTROMETRY
COFFEES FROM SINGLE ORIGIN AND BLENDED COFFEES (BREW)



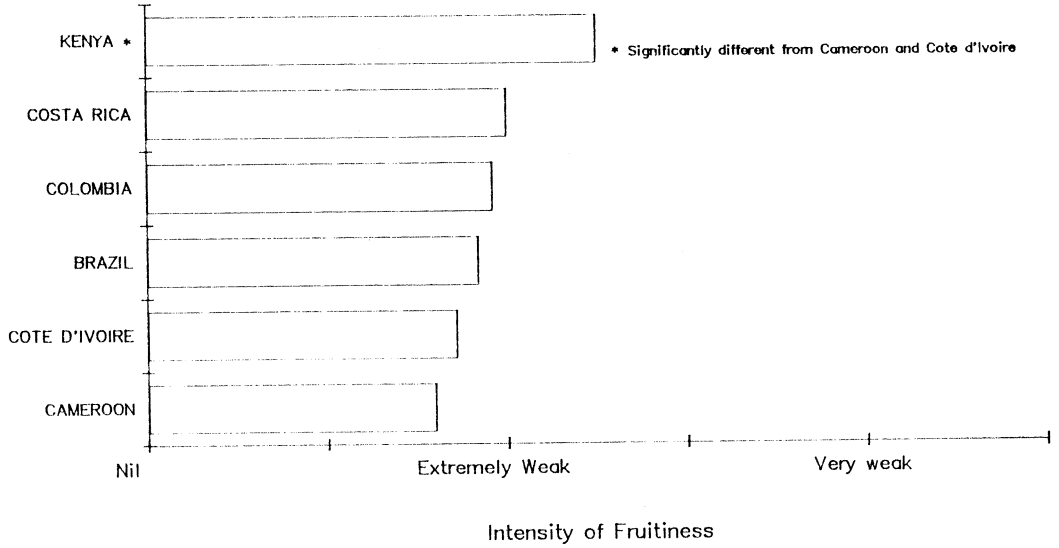
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 16.– PROTEIN CONTENT OF GREEN COFFEE DETERMINED
BY NEAR INFRARED SPECTROSCOPY
(Using preliminary calibration curves)



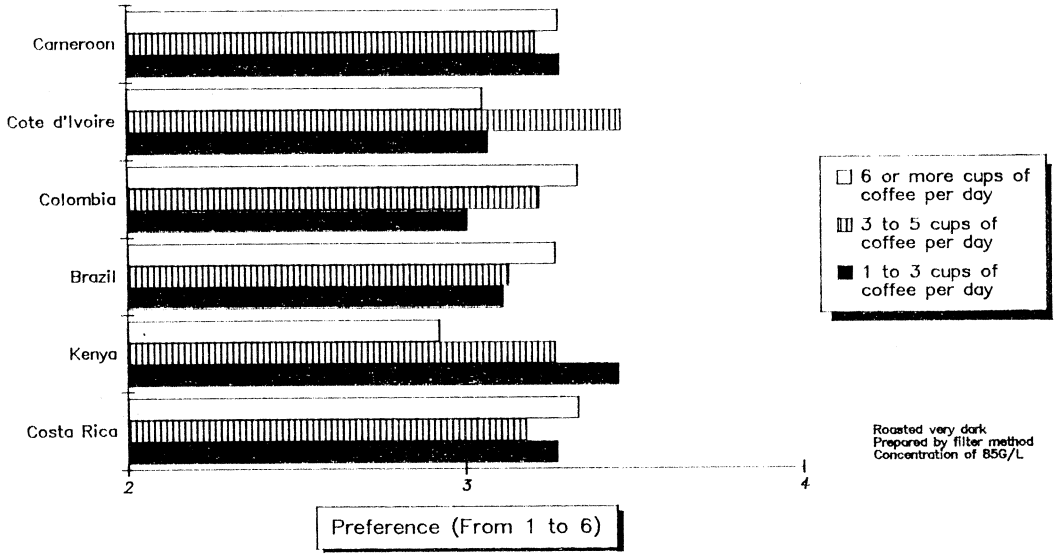
Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 17.– Consumer field test : Assessment of fruitiness by consumers on six different individual coffees in Paris, France



Source : RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

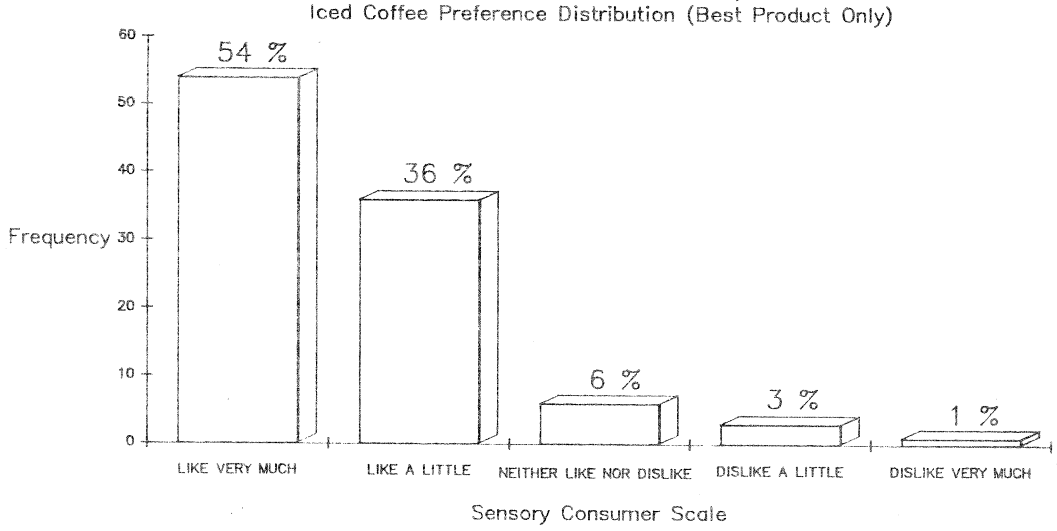
Figure 18.– CONSUMER FIELD TEST – PARIS, FRANCE
(Preference by coffee consumption of participants)



Source : RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

Figure 19.– CONSUMER FIELD TEST – BOGNOR REGIS, GOSPORT, BIRMINGHAM AND STOURBRIDGE, ENGLAND

Iced Coffee Preference Distribution (Best Product Only)



Source: RESEARCH AND TEST UNIT - PROMOTION FUND
INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION
22 BERNERS STREET LONDON W1P 4DD ENGLAND

OBJECTIVE EVALUATION OF COFFEE AROMA BY MULTIVARIATE ANALYSIS

K. WADA, K. OHTA *, Y. OSAJIMA
Department of Food Science and Technology,
Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812, Japan
* Key Coffee Co., Tokyo 105, Japan

Introduction

In general, there are three broad types of sensory evaluation techniques:difference testing, quantity/quality tests and consumer surveys[1]. However, it is impossible that every flavor attributes are described by numerical value precisely and objectively, because the information obtained by these techniques is given as category data that have no criterion variable. Multivariate analysis has been used to show the interrelationships between samples assesed by conventional profile procedure. We summarized the aroma profiles of 39 coffee samples by coupling of a cup test and multivariate analysis.

A great deal of effort has been devoted to the objective characterization of coffee flavor[2-4]. With recent developments in analytical instruments, more than 600 compounds have been identified by gas chromatograph-mass spectrometry etc., but no character-impact compound has been discovered or is likely to be. We applied multivariate analysis to gas chromatographic(GC) data of brewed coffee and compared the results with the classification on the basis of the cup test.

Materials and Methods

Materials. The 39 coffee samples used are listed below. The coffee samples were classified on the basis of the International Coffee Agreement in 1976. The differences in lots are designated by the numbers in parentheses. These coffee samples were extracted from arbitrary lots.

(1) Arabica coffee

Colombia mild coffees(A1-A6):Colombia Ex.(1),Colombia Ex.(2),Colombia Supremo,Kenya, Tanzania AA(1),Tanzania AA(2).

Other mild coffees(B1-B17):Guatemala SHB(1),Guatemala SHB(2),New Guinea(1), New Guinea(2),Honduras HG(1),Honduras HG(2),Honduras HG(3),South Africa, Costa Rica SHB(1),Costa Rica SHB(2),Mexico Altura,Mexico P.W.,Jamaica H.M., Guatemala EPW,Toraja A,Toraja HGP,Toraja HGM.

Unwashed arabica coffees(C1-C9):Mocha Mattari No.7,Mandheling(1),Mandheling(2), Brazil No.4/5(1),Brazil No.4/5(2),Brazil No.2,Ethiopian Type Key(1), Ethiopian Type Key(2),Hawaiian Cona.

(2) Robusta coffee

Robusta coffees(D1-D7):Indonesia AP-1(1),Indonesia AP-1(2),Madagascar Robusta, Java WIB-1,Indian Cherry AB,Indian Cherry Robusta,Brazil Conilon Robusta.

Three hundred grams of coffee beans was roasted for 10-12 min with a gas flame

sample roaster by a professional expert. The roasted beans were ground with an electrical Burr Grinder just before each experiment.

Cup test. A cup test was done by a professional cup tester of Key Coffee Co.,Ltd. Five to ten cups for each sample were tested as follow. Coffee ground(10g) was put into a glass and 100ml of boiling water was poured in. The coffee aroma and odor were tested when the temperature of the brew was 75℃. Table I shows the terms and scales used in the cup test. Acidic, sweetish, grassy aroma and total amount of aroma were evaluated on a 5-point scale, and earthy, robusta odor and off-flavor 3-point scale.

Table I Terms and scales used in profiling of 39 coffee samples

Terms	Terms
Acidic aroma	Robusta odor
Sweetish aroma	Earthy odor
Grassy aroma	Off-flavor
Total amount of aroma	
Scales	**Scales**
1.Very strong	1.None
2.Strong	2.Noticed faintly
3.Moderate	3.Noticed
4.Weak	
5.Very Weak	

Headspace gas analysis. Figure 1 shows the dynamyic headspace apparatus. Ten grams of each sample was put into a 300ml glass vessel. One hundred ml of boiling water was poured into this vessel and *p*-anisaldehyde as the internal standard was added. the trapping of volatiles in the headspace gas was carried out 75℃ while stirring the sample solution at a constant rate. The temperature of the environment above the water bath influenced the quanttative trapping of the volatiles. The environmental temperature was maintained at 40± 0.3℃[5]. Firstly, the vessel was purged by nitrogen gas at a constant rate of 110ml/min for 2 minutes. Then, the flow rate was reduced down to 40ml/min and the precolumn was attached to the ground glass joint. The volatilesin 800ml of headspace vapor were collected in the precolumn. After trapping the volatiles, the precolumn was inlaid tightly on the injection block of GC and heated at 190℃ to desorp the volatiles. GC analysis was done on Shimadzu GC-6APTF gas chromatograph with FID and

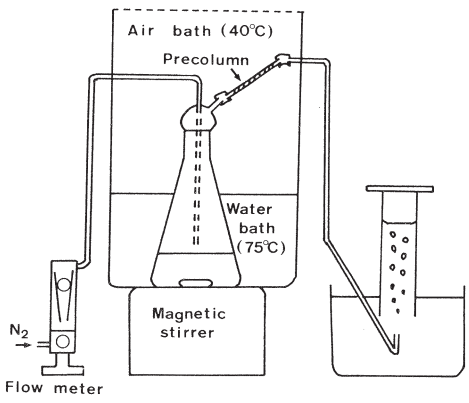


Fig.1. Apparatus for trapping headspace gas. Precolumn was packed with Tenax-GC.

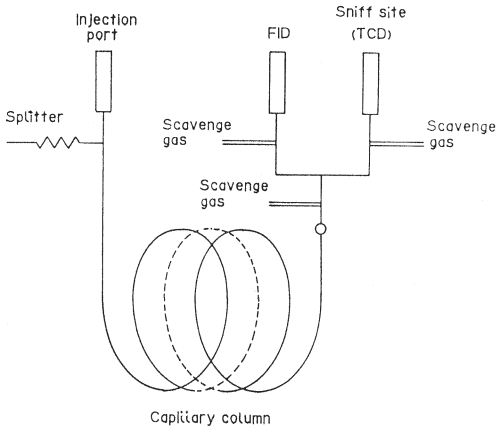


Fig.2. Sniff-GC system.

TCD. The column was a flexible fused silica capillary column(ϕ 0.24mm × 50m) coated with PEG-20M;column temp.,50-160℃ at a rate of 3℃/min;injection port and detector temp., 190℃;carrier gas,helium at 0.9ml/min;sensitivity × range, $10^3 \times 4 (4 \times 10^{-11}$ ampere in full scale);split ratio,1:50. The peak area was measured with Shimadzu Chromatopack C-R3A integrator and transformed to a peak area ratio to the internal standard.

Sensory analysis of GC effluent (Sniff-GC). The aroma of volatile components was judged by sniffing the GC effluents. The sniff-GC system was constructed as shown in Fig.2. The sniffing site(TCD outlet) was kept at 190℃. The GC effluent was split in a ratio of 1:1 for sniffing and FID monitoring, respectively. The sniff-GC was done by three members of our laboratory.

Statistical analysis. Quantification Theory 3 and principal component analysis(PCA) were done with FACOM OSIV ANALYST using FACOM M-380S computer system[6,7]. Cluster analysis was done with FACOM OSIV CLUSTER using FACOM M-380S computer system[6,8]. In cluster analysis, the distance was calculated by a Euclidian formula and the clusters were fused the Ward method[9].

Results and discussion

Analysis of sensory data on 39 coffee samples by Quantification Theory 3.

Table II shows the ratings for each category of seven terms in the cup test. No criterion exists in the ratings in Table II and therefore these were quantified by using Quantification Theory 3. Figure 3 shows the scattergram of 39 coffee samples. The first and second axis contained 23.4% and 16.4% of the information of the sensory data, respectively. Robusta coffees(D1-D7) with a characteristic robusta odor had higher scores on the first axis than arabica coffees(A1-A6,B1-B17,C1-C9), so the aroma profiles of robusta coffees were very different from those of arabica coffees. Furthermore, the scattergram was suggested that sample D3 among robusta coffees had the strongest robusta and earthy odor and that the aroma profile of coffee sample D6 was similar to

Table II Sensory scores on the basis of sensory evaluation by cup test

Coffee bean	Terms*							Coffee bean	Terms*						
	a	b	c	d	e	f	g		a	b	c	d	e	f	g
A1	2	1	2	1	1	1	1	B15	2	2	2	1	1	1	2
A2	2	1	2	1	1	1	2	B16	2	2	2	1	1	1	2
A3	1	1	2	1	1	1	1	B17	3	3	3	1	1	1	3
A4	1	1	2	1	1	1	1	C1	3	2	2	2	2	1	3
A5	2	1	2	1	1	1	2	C2	4	3	2	2	1	1	2
A6	2	2	2	1	1	1	2	C3	2	3	2	2	1	1	2
B1	2	2	1	1	1	1	3	C4	4	3	3	2	2	1	3
B2	2	1	2	1	1	1	2	C5	4	3	4	2	2	1	3
B3	2	2	1	1	1	1	2	C6	3	3	3	2	1	1	3
B4	2	1	2	1	1	1	2	C7	2	1	3	1	1	1	1
B5	3	2	1	1	1	1	3	C8	2	2	3	1	1	1	2
B6	2	1	2	1	1	1	2	C9	3	2	3	2	1	1	2
B7	3	2	3	1	1	1	3	D1	5	4	5	2	1	2	2
B8	1	2	2	1	1	1	2	D2	5	4	5	2	1	2	4
B9	2	1	2	1	1	1	1	D3	5	5	5	3	3	2	3
B10	1	1	2	1	1	1	1	D4	5	2	4	1	1	2	4
B11	2	2	2	1	1	1	2	D5	3	4	5	2	1	2	3
B12	3	2	2	1	1	1	3	D6	4	2	4	2	2	2	2
B13	2	2	2	1	1	1	2	D7	5	3	5	2	1	2	2
B14	3	2	3	1	1	1	3								

* a;acidic aroma,b;sweetish aroma,c;grassy aroma,d;earthy odor,e;off-flavor, f;robusta odor,g;total amount of aroma.

those of the unwashed arabica coffees C4 and C5. However, it was impossible to characterize the aroma profiles of 32 arabica coffee samples in Fig.3.

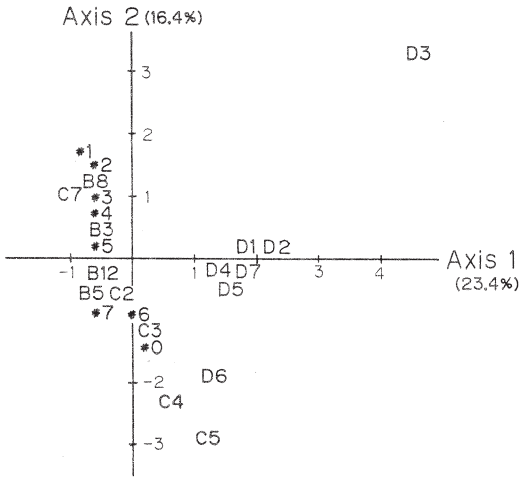


Fig.3. Scattergram of 39 coffee samples on axis 1 and 2 obtained by Quantification Theory 3. Overlapping plot:#0;C1,C6, #1;A3,A4,B10, #2;A1,B9, #3;A2,A5,B2,B4,B6, #4;A6,B11,B13,B15,B16, #5;B1,C8, #6;B7,C9, #7;B14,B17.

Analysis of sensory data on 32 arabica coffee samples by Quantification Theory 3.

To characterize the aroma profiles of 32 arabica coffee samples, the ratings of six terms(acidic, sweetish and grassy aroma, earthy odor, off-flavor, and total amount of aroma) not including robusta odor were quantified by Quantification Theory 3. Figure 4 shows the scattergram of 32 arabica coffee samples. The first and second axis contained

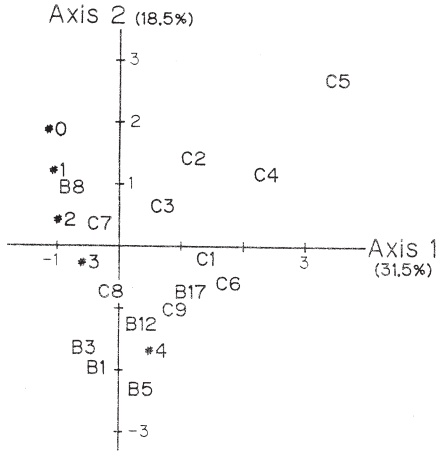


Fig.4. Scattergram of 32 arabica coffee samples on axis 1 and 2 obtained by Quantification Theory 3. #0;A3,A4,B10, #1;A1,B9, #2;A2,A5,B2,B4,B6, #3;A6,B11,B13,B15,B16, #4;B7,B14.

31.5% and 18.5% of the information, respectively. Coffee samples, C2, C3, C4 and C5 with the earthy odor peculiar to unwashed arabica coffee, had the highest scores on the first and second axis, but coffee samples, A1, A3, A4, B8, B9, B10 and C7 rich in acidic and sweetish aroma, had lower scores on the first axis and higher scores on the second axis; the scores on the first axis increased as acidic and sweetish aroma became weaker. Furthermore, the positions of the unwashed arabica coffees C1 and C6 were similar to those of the washed arabica coffee B17. Coffee samples, B1, B3 and B5 with a very strong grassy aroma, had the middle scores and were lower on the first and second axis, respectively. We concluded that the differences in the aroma profiles of 32 arabica coffee samples could be demonstrated by the position of each coffee on the first and second axis in Fig.4.

Cluster analysis of 32 arabica coffee samples and classification of 39 coffee samples on the basis of sensory data.

To classify 32 arabica coffee samples objectively, cluster analysis was done on the scores of the first, second, third and forth axis obtained by Quantification theory 3. About 74% of the total information in the cup test was contracted into the four axes. AS shown in Fig.5, the 32 arabica coffee samples were divided into seven clusters by the level distance on the dendrogram. Consequently, the 39 coffee samples could be classfied into eight groups shown in Fig.6. The beans of group 1 were very rich in sweetish, acidic and grassy aroma;group 2 slightly lacked sweetish and acidic aroma compared with group 1 but had a well-balanced aroma;group 3 had moderate aroma qualities in arabica coffees;group 4 had a very characteristic strong grassy aroma;group 5 were lacking in sweetish, acidic and grassy aroma;group 6 were out of balance in aroma;group 7 had the stronger earthy odor typical of unwashed arabica coffees, and group 8 had the robusta odor peculiar to robusta coffees.

The results described suggest that various trade varieties of coffee can be clearly characterized and classified objectively by this method.

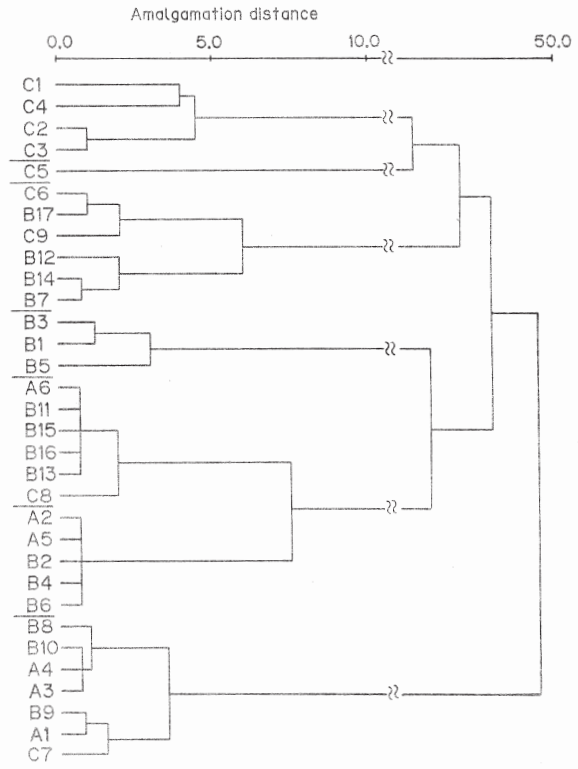


Fig.5. Dendrogram of 32 arabica coffee samples.

Group 1 ; A1,A3,A4,B8,B9.B10,C7
Group 2 ; A2,A5,B2,B4,B6
Group 3 ; A6,B11,B13,B15,B16,C8
Group 4 ; B1,B3,B5
Group 5 ; B7,B12,B14,B17,C6,C9
Group 6 ; C5
Group 7 ; C1,C2,C3,C4
Group 8 ; D1,D2,D3,D4,D5,D6,D7

Fig.6. Grouping of 39 coffee samples on the basis of sensory evaluation by cup testers.

GC analysis and sniff-GC.

Figure 7 shows a representative gas chromatogram of brewed coffee. About 150 peaks and shoulders were obtained and the main peaks were numbered. The peak numbers refer to the peak codes used throughout this paper. The aroma of volatile components was judged by sniff-GC and are listed in Table III. In Table III, no one single aroma was responsible for coffee aroma. The earthy odor and grassy aroma among seven terms used in a cup test were noticed independently, whereas acidic, sweetish aroma and robusta odor were not noticed in a single peak alone. Consequently, it was assumed that acidic, sweetish aroma and robusta odor were noticed due to the integrated effects of some aroma such as "aldehydic","musty","rubber-like","fragrant" etc. as in Table III.

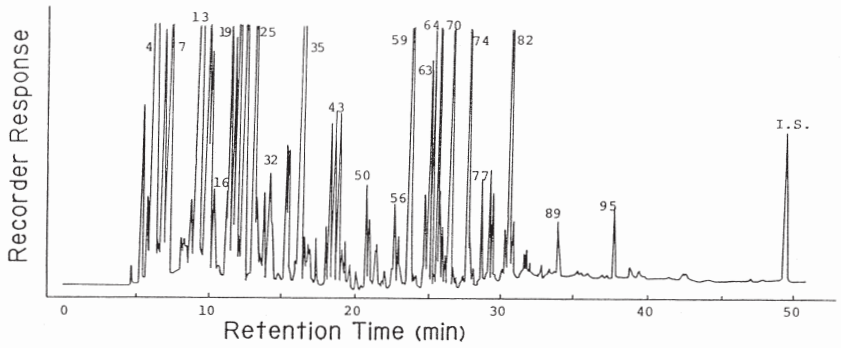


Fig.7. Representative gas chromatogram of headspace volatiles of brewed coffee.

Table III Aroma characteristic of volatile components of brewed coffee

Peak No.	Aroma characteristic	Peak No.	Aroma characteristic
2	Aldehydic	57	Fragrant & Burnt
4	Aldehydic	58	Soy sauce-like
7	Musty	59	Soy sauce-like & Burnt
8	Musty	60	Earthy
13	Earthy & Musty	61	Earthy
15	Aldehydic	64	Earthy
16	Rubber-like	65	Aldehydic
17	Rubber-like	67	Grassy
22	Aldehydic	68	Heavy grassy-like
25	Musty	69	Heavy grassy-like
27	Aldehydic	70	Grassy & Burnt
35	Aldehydic	71	Pepper-like
38	Rancid	73	Earthy
42	Earthy	76	Earthy
45	Earthy	80	Earthy
50	Musty & Rancid	82	Earthy
53	Earthy	83	Butter-like
55	Earthy	84	Peanut-like
56	Fragrant	88	Earthy

PCA of 39 coffee samples.

To clarify the aroma profiles of 39 coffee samples, PCA was applied to the GC data. The average and coefficient of variation (C.V.) of 32 peaks used in PCA are listed in Table III. Each aroma of 16 peak components among the 32 peaks was judged by the sniff-GC. PCA was done on a correlation matrix of the 32 peaks. The eigen values sur-

passed 1.0 up to the sixth principal component and the cumlative percentage up to the sixth principal component was 84.9%. Figure 7 shows the scattergram of 39 coffee samples on the first and second principal component. In Fig.7, 42.0% and 18.8% of the information of the 32 peaks were contracted into the first and second principal component, respectively. Robusta coffees(D1-D7) with robusta odor, that is, earthy odor and burnt soybean-like aroma had a lower score on the second principal component than the others and could be separated from arabica coffees, but one of the unwashed arabica coffee, C1, was plotted nearer to robusta coffees. The location of C1 appeared to contribute to the earthy odor peculiar to unwashed arabica coffees. However, because the aroma of arabica coffees is very different from that of robusta coffees, it was impossible to characterize the aroma profiles of 32 arabica coffee samples when analyzing the data on arabica and robusta coffees together. The second principal component largely contained the information for differentiation between robusta and arabica coffees but contained little information about the aroma profiles of 32 arabica coffee samples.

Table IV Average and C.V. of selected peaks from GC profiles of 39 coffee samples

Peak No.	Average*	C.V.(%)	Peak No.	Average*	C.V.(%)
13	10.47	34.2	57	0.33	48.5
15	1.75	36.0	60	5.55	34.1
16	0.52	50.0	62	0.35	45.7
19	1.01	30.7	64	0.40	32.5
21	3.67	41.4	65	0.66	27.2
23	0.97	34.0	66	1.09	62.4
29	0.96	38.5	67	0.28	74.5
33	0.70	25.7	69	0.10	44.9
35	4.33	24.7	70	2.72	40.4
41	0.20	65.0	72	0.10	74.0
42	0.83	42.2	73	2.32	28.0
43	0.80	37.5	77	0.29	82.8
44	0.66	39.4	78	0.28	50.0
50	0.55	70.2	79	0.30	63.3
52	0.39	43.6	82	1.73	48.0
56	0.42	33.3	95	0.24	27.3

* Average of peak area ratio to I.S..
** C.V.=(standard deviation)/(average)×100.

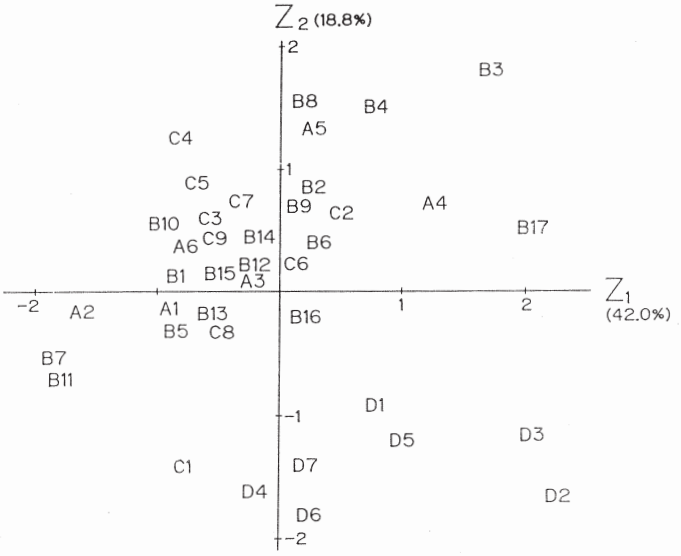


Fig.7. Scattergram of 39 coffee samples on the first and second principal component.

PCA of 32 arabica coffee samples.

The aroma profiles of 32 arabica coffee samples were characterized by PCA of the data obtained by GC analysis. The same 32 peaks as PCA of 39 coffee samples were used for the PCA. Figure 8 shows the scattergram of the factor loadings of the 32 peaks obtained by PCA. The peaks 67, 69 and 70 reported as "grassy" and peak 13, 60, 64 and 73 as "earthy" by sniff-GC were more positively loaded on the first and second principal component, respectively, while the peaks assumed to contribute to acidic and sweetish aroma by sniff-GC were positively loaded on the first principal component. Figure 9 shows the scattergram of 32 arabica coffee samples. In fig.9, 54.2% and 10.5% of the

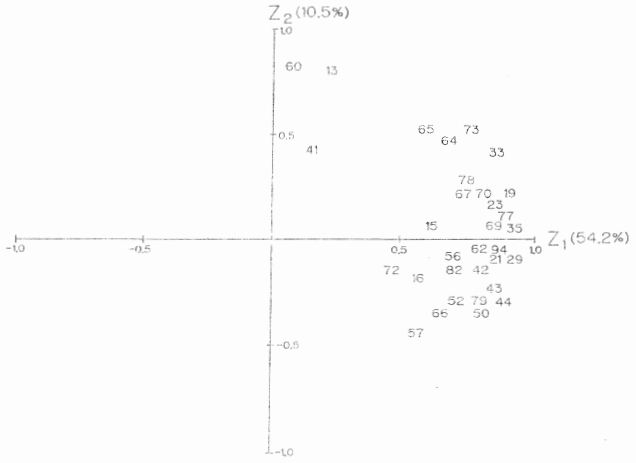


Fig.8. Scattergram of factor loadings for GC peaks on the first and second principal component.

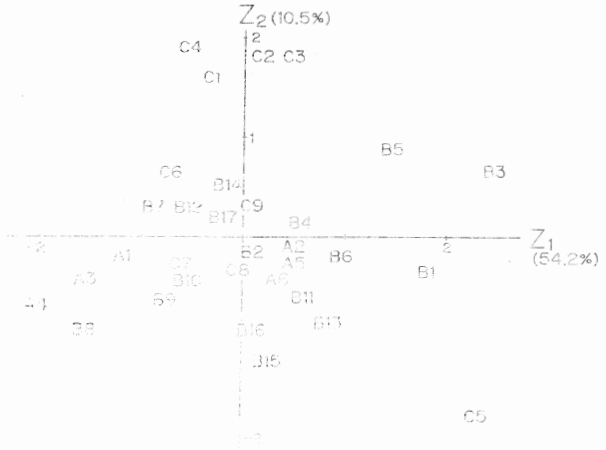


Fig.9. Scattergram of 32 arabica coffee samples on the first and second principal component.

information of the 32 peaks were contracted into the first and second principal component, respectively. In a cup test, the coffee samples B1, B3 and B5 ,which were evaluated with a strong grassy aroma, had the higher scores on the first principal component, whereas the coffee samples, C1, C2, C3 and C4, with an earthy odor peculior to unwashed arabica coffee, had the higher scores on the second principal component. It can be concluded that peaks 67, 69 and 70 are responsible for the grassy aroma of the coffee samples B1, B3 and B5 and peaks 13, 60, 64 and 73 are responsible for the earthy odor of C1, C2, C3 and C4. However, the coffee samples A1, A3, A4, B8, B9 and B10, which

were evaluated as coffees rich in acidic and sweetish aroma, had the lower scores on the first principal component. Since no peak was negatively loaded on the first principal component, we suggest that the lower first principal component scores are responsible for the low content of the volatiles in brewed coffee whose factor loadings were positively loaded on the first principal component. This finding leads to the notion that the mechanisms of producing acidic and sweetish aroma are different from those of producing earthy odor and grassy aroma. Consequently, acidic, sweetish and grassy aroma were summarized on the first principal component and earthy odor on the second principal component. It was possible to concluded that the differences in the aroma profiles of 32 arabica coffee samples could be demonstrated by beans of the first and second principal component(Fig.9).

Cluster analysis of 32 arabica coffee samples and classification of 39 coffee samples.

To classify 32 arabica coffee samples on the basis of their aroma profiles, cluster analysis was done on the first and second principal component scores obtained by PCA. As shown in Fig.10, the 32 arabica coffee samples were divided into seven clusters. Consequently, the 39 coffee samples containing robusta coffees could be divided into eight groups on the basis of Figs.7, 9 and 10. Figure 11 shows the comparison of the classification of 39 coffee samples on the basis of sensory data and GC data. Two coffees A6 and C8 showed anamalous connections, but the other coffees assembled in

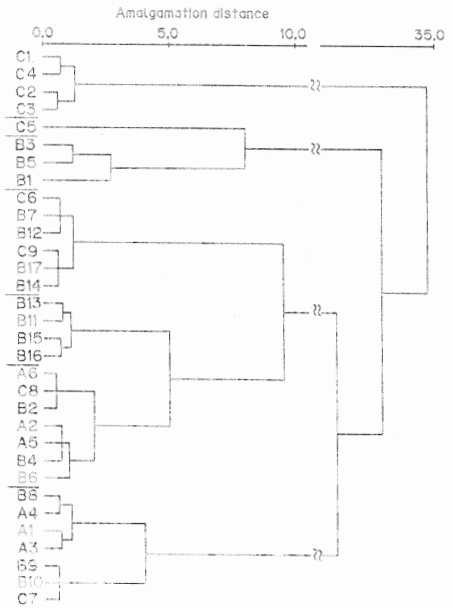


Fig.10. Dendrogram of 32 arabica coffee samples.

(a)
Group 1 ; A1,A3,A4,B8,B9,B10,C7
Group 2 ; A2,A5,B2,B4,B6
Group 3 ; A6,B11,B13,B15,B16,C8
Group 4 ; B1,B3,B5
Group 5 ; B7,B12,B14,B17,C6,C9
Group 6 ; C5
Group 7 ; C1,C2,C3,C4
Group 8 ; D1,D2,D3,D4,D5,D6,D7

(b)
Group 1 ; A1,A3,A4,B8,B9,B10,C7
Group 2 ; A2,A5,A6,B2,B4,B6,C8
Group 3 ; B11,B13,B15,B16
Group 4 ; B1,B3,B5
Group 5 ; B7,B12,B14,B17,C6,C9
Group 6 ; C5
Group 7 ; C1,C2,C3,C4
Group 8 ; D1,D2,D3,D4,D5,D6,D7

Fig.11. Grouping of 39 coffee samples on the basis of sensory evaluation(a) and GC analysis.

The results described lead to the conclusion that the aroma profiles of coffees can be evaluated by the coupling of multivariate analysis and GC analysis and this method is comparable to a sensory evaluation of brewed coffee by cup testers.

Reference

1.M.A.Amerine,R.M.Pangboourn and E.B.Roesslar,"Principles of Sensory Evaluation of Foods",Academic Press,Inc.,New York,1965.
2.O.G.Vitzthum and P.Werkhoff,J.Agr.Food Chem.,**23**,510(1975).
3.R.Tressel,D.Bahri,H.Koppler and A.Jansen,Z.Lebensm.u.-Forsch.,**167**,111(1978).
4.W.Baltes and G.Bochmann,Z.Lebensm.u.-Forsch.,**184**,485(1987).
5.M.Shimoda,K.Wada and Y.Osajima,Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi,31,805(1984).
6.B.F.Manly,"Multivariate Statistical Methods",Chapman and Hall,London,1986.
7.K.Wada,S.Ohgama,H.Sasaki,M.Shimoda and Y.Osajima,Agr.Biol.Chem.,**51**,1745(1987).
8.K.Wada,H.Sasaki,M.Shimoda and Y.Osajima,Agr.Biol.Chem.,**51**,1753(1987).
9.J.H.Ward,Jr.,J.Am.Statist.Assoc.,**58**,236(1963).

Summary. Thirty-nine coffee samples were classified objectively by two kinds of multivariate analysis of sensory data. A cup test was done with respect to seven terms. Robusta coffees were separated from arabica coffees by Quantification Theory 3 and cluster analysis of 39 coffee samples. The aroma profiles of 32 arabica coffee samples were also characterized by Quantification Theory 3. By cluster analysis of the scores of four axes obtained by Quantification Theory 3, the 32 arabica coffee samples were divided into seven clusters. Consequently, the 39 coffee samples were classified into eight groups reflecting the information from the cup test. The same 39 coffee samples were evaluated objectively by the coupling of gas chromatographic analysis and multivariate analysis. Robusta coffees were separated from arabica coffees by principal component analysis(PCA) and cluster analysis. Using PCA only 32 arabica coffee samples, their aroma profiles could be characterized on the first and second principal component. The 32 arabica coffee samples were divided into seven clusters by cluster analysis of the first and second principal component. Consequently, 39 coffee samples were classified into eight groups and the result was consistent with the classification on the basis of sensory evaluation except for two samples.

Resumen. 39 muestras de café fueron clasificadas objetivamente por 2 clases de multivariables y diferentes tipos de análisis organolépticos. Una tasa de muestra fué hecha con respecto a 7 terminos. Las muestras de café robusta fueron separadas de las muestras de café arabica, por Quantification Theory 3 y se agruparon los análisis de 39 muestras de café. La aroma de 32 muestras de café arabica fueron también caracterizadas por Quantification Theory 3. La puntuación de los análisis se agruparon en los cuatro cuadrantes de absisas y ordendas por la Quantification Theory 3, las 39 muestra de café fueron divididas dentro de 7 grupos. Consecuentemente las 39 muestras de café fueron claificadas basicamente dentro de 8 grupos, con la información de los datos de las muestras analizaddas. Las mismas 39 muestras de café fueron evaluadas objetivamente por la unión del análisis de comatografia y difereutr tipor análisis senroialer. Café robusta fueron separados de café arabica por el análisis de componentes principales(ACP) solamente 32 de las muestras de café arabica y con sus perfiles aromáticos de sus pricipales componentes podrian ser clasificados en base a las caracteristicas de primiera y segunda. Las 32 muestras de café arabica fueron divididas dentro de 7 grupos pora análisis por agrupación de primera y segunda en base a sus principa len componentes. Consecuentemente,lar 39 muestras de cafe fueron clasificadas en 8 gropos, los resoltados fueron consistentes y basados clasificación de la evaluación o sensorial, excepto para 2 muestras.

Résumé

Evaluation objective de l'arôme du café par analyse multivariable.

Trente-neuf échantillons de café ont été classés objectivement à l'aide de deux types d'analyses multivariables des données sensorielles. Une dégustation a été réalisée avec sept termes. Les cafés Robusta ont été séparés des cafés Arabica par la théorie de quantification 3 et l'analyse de groupes de 39 échantillons de café. Les profils aromatiques de 32 échantillons de café Arabica ont également été caractérisés par la théorie de quantification 3. Par analyse de groupes des résultats des quatre axes obtenus par la théorie de quantification 3, les 32 échantillons d'Arabica ont été répartis en sept groupes. Conséquemment, les 39 échantillons de café ont été classés en huit groupes reflétant les résultats de la dégustation. Ces mêmes 39 échantillons ont été analysés objectivement par couplage de la chromatographie en phase gazeuse et de l'analyse multivariable. Les cafés Robusta ont été séparés des cafés Arabica par analyse du composant principal (PCA) et analyse de groupes.

IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF A NEW CARBOHYDRATE IN COFFEE CHEMISTRY

M. BLANC, J. M. PARCHET
LINOR, Centre de développement alimentaire, NESTEC
CH-1350 Orbe (Suisse)

Analytical techniques applied to date were not sentisitive enough to quantify traces of minor sugars in coffee. The present work describes an HPLC method to identify and quantify psicose. It is shown that the amounts of this sugar present gives an additional indication of the adulteration of certain soluble coffees.

Methods and materials.

HPLC of sugars. The method is described in detail in a recent publication. (Blanc & al., 1989).

Identification of sugars. After semipreparative separation by HPLC of the peak corresponding the psicose, a methoxime peracetate derivative was prepared (Neeser & Schweizer, 1984. Neeser, 1985). GC separation was achieved on a Hewlett-Packard HP 5890 equipped with a 25 M Carbowax 20M column. This was directly coupled to a Finnigan MAT 8430 mass spectrometer for identification.

Materials. Columbia NY 4 Coffee and robusta coffee husks at different degrees of roasting were analysed. Soluble coffees also analysed were commercial samples from Australia,Brazil,Canada,Ecuador,Germany,Hungary,Japan,Mexico,Switzerland,United Kingdom, and the United States. The reference sugars were obtained from Merck (Merck, Darmstadt, RFA).

Results and discussions.

Identification of psicose. Figure 1 shows free sugar HPLC profiles for two different commercial soluble coffees compared to reference sugars. Sample B, in addition to the unusual levels of several sugars explained in a recent publication (Blanc & al, 1989), shows traces of new sugars.

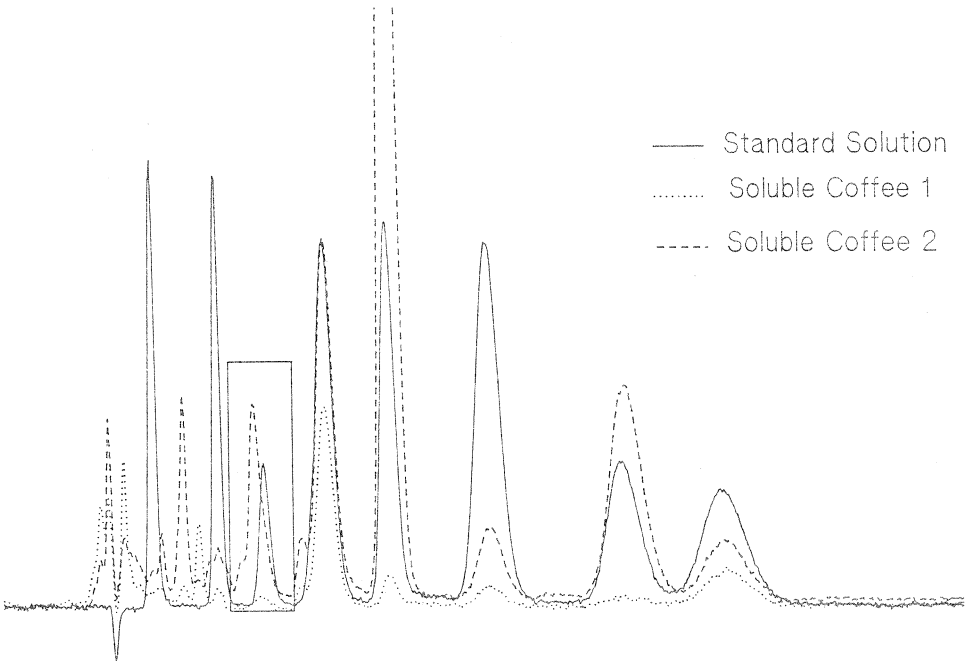


Fig.1 : HPLC free sugar profiles

In certain samples, a careful examination of the xylose peak revealed either a shoulder on the peak, or even a shift in the retention time, suggesting the presence of an additional sugar. On screening several possible sugars, psicose exhibited a retention time very close to the unknown compound. Separation trials of xylose/psicose reported in Fig.2 show the evolution of the shift in retention time as a function of the ratio of the two sugars.

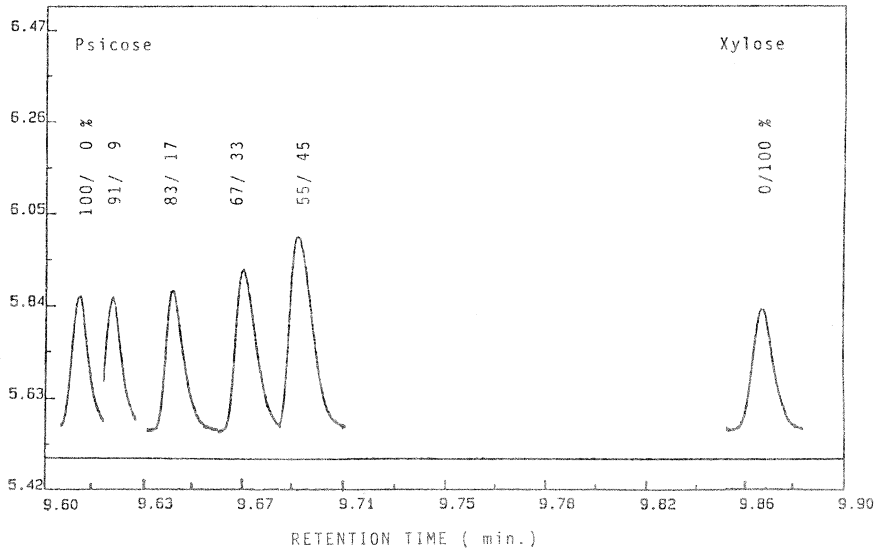


Fig.2 : HPLC retention time of mixtures psicose/xylose.

Starting from a soluble coffee containing the largest quantity of this new peak, we isolated this product by a semipreparative procedure. After derivatization to give the methoxime peracetate, the GC retention times and mass spectra of the derivative were identified to those from the psicose reference.

The mass spectral peaks identifying this product to a ketose are all present (m/z 101,142,197,257) along with peaks common to aldoses and ketoses (m/z 115,155), but peaks characteristic of aldoses are absent (m/z 131,187).

Evolution of psicose during coffee roasting. Samples were taken at different stages during roasting. After extraction with water under reflux, free sugars profiles were established by HPLC and quantitative values reported relative to degree of roasting as reported in Fig.3.

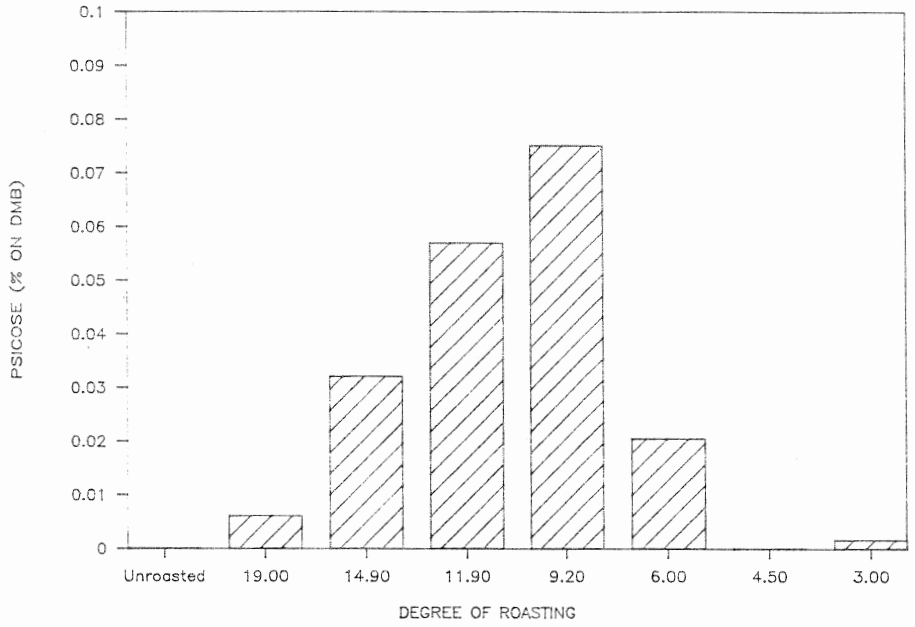


Fig.3 : Roasting of coffee. Evolution of psicose.

Psicose is virtually absent in the green coffee bean. Its content increase during roasting, reaching a maximum well before the coffee can be considered as roasted. Only traces are detected in commercially roasted pure coffee.

Evolution of psicose during thermal treatment of coffee husks. Coffee husks were thermally treated in conditons comparable to those used for roasting coffee beans. As observed for the coffee bean, the psicose content increases to a maximum. For a thermal treatment corresponding to the commercial roasting of coffee beans, the psicose level is significantly higher in husks than in bean (Fig.4).

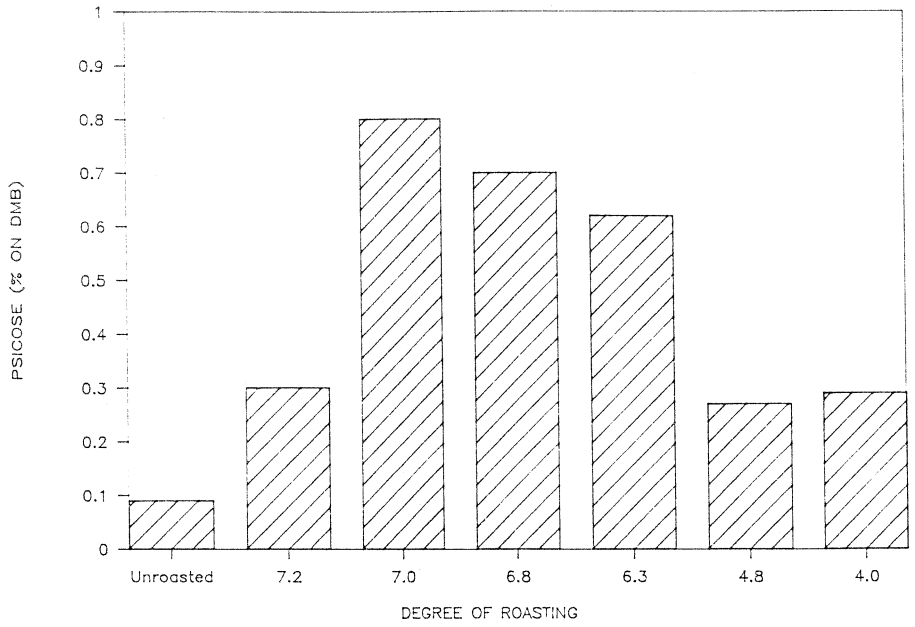


Fig.4 : Thermal treatment of husks. Evolution of psicose.

Determination of psicose in commercial soluble coffee samples. 122 commercial soluble coffee samples, all sold as pure soluble coffee, were analysed for their psicose content. In the majority, the content is well under the limit of quantification for our analytical technique. However, as illustrated in Table 1, some samples contain a relatively high proportion of psicose.

Table 1 : Psicose content in some soluble coffee samples.

Sample code	Psicose content (% dry matter)
1	0.260
2	0.094
3	0.210
4	0.130
5	0.307
6	0.227
7	0.256

The levels reported here for these particular samples cannot be explained by the psicose present in roasted and ground pure coffee (Fig.3). A maximum level of 0.002% in roasted coffee should lead to a maximum percentage of 0.005 in soluble coffee. The presence of a certain quantity of thermally treated husks along with the coffee used for extraction is a likely explanation. This hypothesis of the coextraction of husks finds support in recent publications (Blanc & al., 1989; Davis & al., in print).

Acknowledgement.

The authors wish to thank Messrs. R.Viani for useful discussions during the work, J.R.Neeser and U.Richli for GC and GC-MS analyses, and I.Horman for help in writing the text.

Literature cited.

Blanc, M.B.; et al. Chromatographic profile of carbohydrates in commercial soluble coffees. J. Agric. Food Chem. **1989**, 37, 926-930.

Davis, G.E.; et al. Chromatographic profile of carbohydrates in commercial soluble coffees. II. Identification of mannitol. J. Agric. Food Chem. In print.

Neeser, J-R.; GLC of O-Methyloximes and alditols acetates derivatives of neutral sugars, hexoamines and sialicacids. Carbohydr. Research **1985**, 138, 189-198.

Neeser, J-R.: Schweizer, T. Quantitative determination by cappilary GLC of neutral and amino sugars. Anal.Biochem. **1984**, 142, 58-67.

Summary

The application of a sensitive HPLC technique gave us the opportunity to identify and quantify a new sugar for the coffee chemistry : psicose.

This sugar has been observed at the beginning of roasting and during thermal treatment of coffee husks; it has been observed in some commercial soluble coffees.

Résumé

Identification et quantification d'un nouveau glucide dans les constituants chimiques du café.

L'application d'une technique HPLC sensible nous a permis d'identifier et de quantifier un nouveau sucre dans les constituants chimiques du café : le psicose.

Ce sucre a été observé au début de la torréfaction et au cours du traitement thermique des parches de café ; il a été observé dans quelques cafés solubles du commerce.

ACIDOS FENÓLICOS EN PULPA DE CAFÉ

J. R. RAMIREZ-MARTINEZ
Núcleo de Investigaciones Fitoquímicas
Universidad Nacional Experimental del Táchira
San Cristóbal, Venezuela

M. N. CLIFFORD
Department of Biochemistry
University of Surrey
Guildford GU2 5XH
Surrey, England

Introducción

Los desechos resultantes de la separación de la pulpa del grano y del lavado de éste en el proceso del beneficiado del café por vía húmeda son una fuente de contaminación de los cursos de agua de las áreas cafetaleras tanto de Venezuela como de otras partes del mundo. La pulpa de café constituye el desecho más abundante y puede considerarse como el material contaminante principal de los ríos y lagos localizados cerca de los sitios donde se beneficia el café.

La idea del aprovechamiento de la pulpa de café como alimento animal se ha venido manejando desde mediados de este siglo (7). Sin embargo, su utilización está limitada por la presencia de factores antifisiológicos presentes naturalmente o formados en la pulpa durante su manejo y procesamiento (1). Entre los presuntos factores antifisiológicos se han señalado a los compuestos fenólicos, pero no existe aún evidencia concluyente al respecto y, especialmente, sobre su identidad.

La información disponible sobre los compuestos fenólicos de la pulpa de café es escasa e inconsistente, siendo en su mayoría más cualitativa que cuantitativa y obtenida mayormente a partir de material fresco (10,12). De ahí que se haga necesario realizar estudios más detallados para conocer la naturaleza y contenido de dichos compuestos en pulpas de diferentes especies y cultivares sometidas a diversos tratamientos.

En este trabajo se presenta un estudio comparativo de la naturaleza y contenido de los ácidos fenólicos extraibles con algunos solventes orgánicos de la pulpa secada al sol de dos especies comerciales de cafeto y algunos de sus híbridos.

Materiales

Muestras de pulpa de café de los cultivares Robusta (*Coffea canephora*), Bourbón y Caturra Rojos (*Coffea arabica*), Híbrido de Timor (*C. canephora* X *C. arabica*) y Catimor (Híbrido de Timor X Caturra Rojo) se obtuvieron de las parcelas experimentales de la Estación Experimental de Café de Bramón, Estado Táchira.

La pulpa fué secada al sol por cinco días, molida y cernida a través de un tamiz de 20 mallas y mantenida a temperatura ambiental. Los análisis se realizaron seis meses después de la cosecha.

Muestras de referencia de ácidos 5-cafeoilquínico (5-CQA) y protocatéquico y otros reactivos y solventes fueron materiales de buena calidad obtenidos de las fuentes comerciales acostumbradas.

Métodos

Los contenidos de humedad se determinaron por duplicado mediante el secado de muestras de pulpa de 1 g en una estufa a 105°C hasta alcanzar peso constante. Para los análisis de ácidos protocatéquico y clorogénicos se prepararon extractos por triplicado mediante reflujo con 50 ml de metanol al 70% de muestras de pulpa de 1 g en un aparato de extracción Técator Soxtec HT1043. Cada muestra fué extraída cinco veces consecutivamente por 30 min a 120°C. Los extractos combinados para cada muestra fueron tratados con el reactivo de Carrez (1 ml de A y 1 ml de B), diluídos a 250 ml con metanol al 70% y filtrados a través de papel Whatman No. 4. Para el aislamiento del ácido protocatéquico de la pulpa de Híbrido de Timor mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) preparativa el extracto fué preparado similarmente utilizando acetona al 80% y a partir de 6 porciones de 2 g de pulpa. Los extractos combinados (~ 1,5 l) fueron sometidos a rotaevaporación a presión reducida y a 40°C para remover la acetona y la solución acuosa resultante (~ 25 ml) filtrada a través de papel Whatman No. 4.

Todos los extractos metanólicos fueron examinados mediante HPLC de fase inversa utilizando una columna Hichrom ODS1 de 15 cm X 4 mm empacada con Spherisorb C18 de 3µ. La fase móvil fué ácido fórmico al 0,5% (Solvente A) y acetonitrilo al 50% en ácido fórmico al 0,5% (Solvente B) con un flujo de 1 ml/min. La elución se hizo mediante un gradiente de 12% B a 70% B en 30 minutos.

El extracto acetónico fué sometido a HPLC preparativa de fase inversa utilizando una columna Hichrom S50DS1 de 25 cm X 8 mm empacada con Spherisorb C18 de 5µ. La fase móvil fué idéntica a la utilizada en el procedimiento analítico antes descrito, pero con un flujo de 2,5 ml/min. La elución fué isocrática a 15% de B durante los primeros 10 minutos, seguida por un gradiente de 15% B a 70% B en 15 minutos. El líquido que fluyó de las columnas fué monitoreado a 280 nm para el ácido protocatéquico y a 313 nm para los ácidos clorogénicos.

Se hicieron 48 corridas de cromatografía preparativa y en cada una de ellas se recolectó manualmente la fracción correspondiente al compuesto que se estaba aíslando. Las fracciones así obtenidas se juntaron y fueron sometidas primero a rotaevaporación a presión reducida y a 40°C, hasta que su volumen se redujo a 10 ml, y después a liofilización hasta completa sequedad. El espectro de resonancia magnética nuclear del polvo resultante fué obtenido en un espectrómetro de NMR marca Brucker AC 300. La muestra a ser analizada fué disuelta en CD_3OD y examinada a temperatura ambiental utilizando tetrametil silano como compuesto de referencia.

Resultados y Discusión

En el presente trabajo se utiliza el sistema de numeración para alcoholes cíclicos recomendado por el IUPAC (6) y el sistema de abreviaturas propuesto por Clifford (2) para los ácidos clorogénicos (CGA).

En el cuadro Nº 1 se presenta el contenido (en términos de % de materia seca) de ácidos fenólicos extraidos con metanol al 70% de la pulpa de café secada al sol. El ácido 5-cafeoil quínico (5-CQA) es el ácido fenólico más abundante en todos los cultivares examinados. En el grano de café de todas las especies de Coffea predomina también el 5-CQA (2). El contenido de 5-CQA es más o menos igual en las especies C. canephora y C. arabica, mientras que en sus híbridos este valor se reduce a menos de la mitad. Los ácidos 3-cafeolquínico (3-CQA) y 4-cafeoilquínico (4-CQA) estan presentes a niveles casi iguales en cada uno de los cultivares estudiados, pero en cantidades significativas sólamente en el cultivar Robusta y ésto hace que su contenido total de ácidos monocafeoilquínicos sea mayor que en los cultivares de C. arabica. El ácido 5-feruloilquínico (5-FQA) está presente en todos los cultivares en cantidades mínimas y en algunos casos sólo trazas.

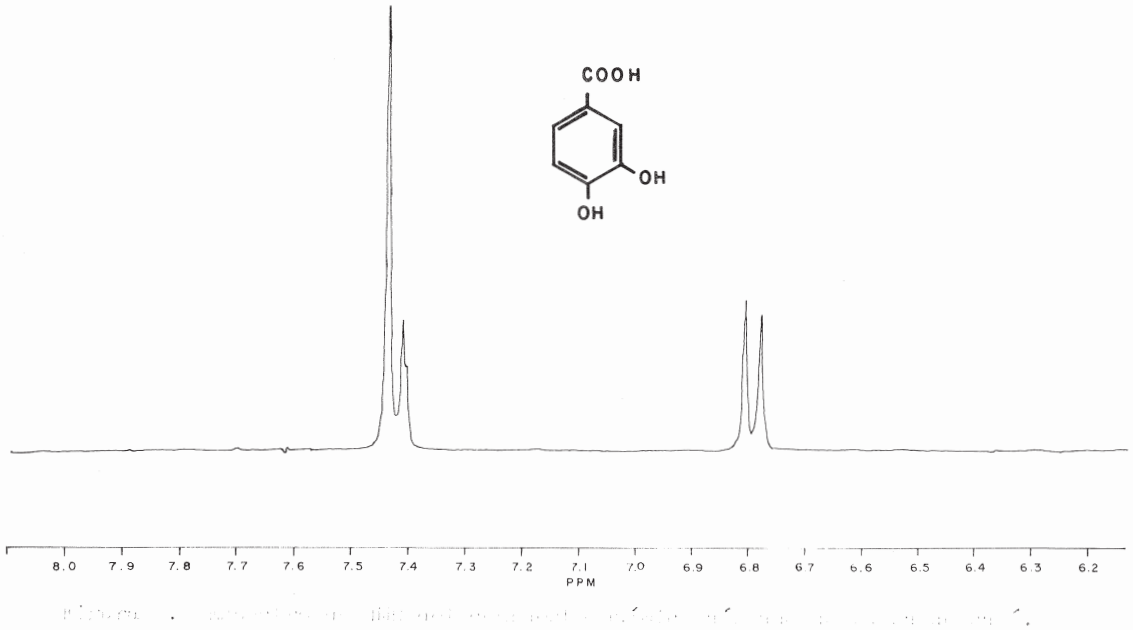
En cuanto a los ácidos dicafeoilquínicos (di CQA) el 3,5-dicafeoilquínico (3,5-diCQA) es el más abundante en la pulpa seca de todos los cultivares bajo estudio, siendo su contedo con relación a Robusta alrededor de 1/3 en Caturra y Bourbon Rojos y de 1/7 en Híbrido de Timor y Catimor. Los ácidos 3,4-dicafeoilquínico (3,4-diCQA) y 4,5-dicafeoilquínico (4,5 - di CQA) están presentes también en todos los cultivares pero sólo en cantidades significativas en Robusta. En granos de café del mismo origen de la pulpa utilizada en este estudio se encontró mayor abundancia y casi una equivalencia del contenido de los ácidos 3,4-diCQA y 3,5-diCQA en C. canephora y de los ácidos 3,5-diCQA y 4,5-diCQA en C. arabica (Ramírez-Martínez y Clifford, resultados sin publicar), mientras que en la pulpa fresca (13) y la secada al sol hay un predominio del ácido 3,5-diCQA. El contenido total de ácidos diCQA en la pulpa secada al sol de C. canephora es 3 veces mayor que en C. arabica y 8 veces mayor que en los correspondientes híbrido y sub-híbrido. Asimismo, la diferencia en el contenido total de ácidos clorogénicos (CGA total) de las dos especies se debe mayormente al aporte de los áci

Cuadro No. 1

CONTENIDO DE ACIDOS FENOLICOS EN PULPA DE CAFE SECADA AL SOL
(% de Materia Seca)

CULTIVAR	3-CQA	4-CQA	5-CQA	CQA Total	5-FQA	3,4-diCQA	3,5-diCQA	4,5-diCQA	diCQA Total	CGA Total	3,4-DHBA
ROBUSTA	0,13	0,14	0,83	1,10	0,02	0,10	0,34	0,06	0,49	1,61	0,10
HIBRIDO DE TIMOR	0,01	0,02	0,36	0,39	0,02	0,01	0,05	tr	0,06	0,47	0,71
CATIMOR	0,01	0,01	0,34	0,36	tr	0,01	0,05	tr	0,06	0,42	0,51
CATURRA ROJO	0,02	0,03	0,92	0,97	0,03	0,03	0,14	tr	0,17	1,16	0,17
BOURBON ROJO	0,02	0,03	0,82	0,87	tr	0,02	0,12	tr	0,14	1,01	0,47

tr = trazas



dos diCQA. Es interesante señalar aquí que en la pulpa seca de los híbridos el contenido total de CGA es alrededor de un 27 y 42% de el de las especies C. canephora y C. arabica, respectivamente.

Finalmente en la última columna del Cuadro 1 aparecen los valores correspondientes al contenido del ácido 3,4-dihidroxibenzoico (DHBA), conocido como ácido protocatéquico. Puede observarse que este valor es relativamente alto en la pulpa secada al sol del Híbrido de Timor (0,7%), bajo en Robusta (0,1%) y Caturra Rojo (0,2%) e intermedio en Catimor y Bourbón Rojo (0,5%). En pulpa fresca de Caturra y Bourbón Rojos se reportaron previamente valores de 0,02% (13). Aunque el procedimiento para su extracción de la pulpa fresca fué algo diferente (12), no hay duda que en la pulpa secada al sol ha ocurrido una acumulación de DHBA. Aún más, es posible que los valores de DHBA encontrados para la pulpa secada al sol estén sub-estimados, pues para su extracción acetona al 80% demostró ser un poco más efectiva que metanol al 70%. Sin embargo, respecto a la extracción de los CGA ocurrió todo lo contrario.

En el proceso de desarrollar un procedimiento efectivo para aíslar proantocianidinas de pulpa de café utilizando acetona al 80%, se observó un compuesto con un tiempo de retención de 7,9 min en HPLC analítica y con una gran absorbancia a 280 nm que coincidía con DHBA. Se procedió a aíslarlo de la pulpa de café seca de Híbrido de Timor mediante HPLC preparativa y se obtuvieron alrededor de 30 mg de este compuesto, el cuál al analizarlo mediante resonancia magnética nuclear (NMR) ofreció el espectro que se muestra en la Figura 1. Este es un espectro típico de DHBA que muestra un doblete a 6,79 PPM (J=8Hz) correspondiente al protón H5 del anillo bencénico, otro doblete a 7,42 PPM (J=8Hz) correspondiente al protón H6 y un singlete a 7,44 PPM correspondiente al protón H2.

Aunque los ácidos benzoicos libres no han demostrado potencial inhibitorio de la digestión de paredes celulares in vitro (8), existe evidencia de que sus ésteres son capaces de inhibir la degradación microbiana de carbohidratos estructurales (9). Sin embargo, nada se sabe de otros efectos posibles en animales de la finca. El contenido relativamente alto de DHBA en la pulpa de café seca hace conjeturar que este compuesto pudiera tener efectos antifisiológicos en los animales que la consumen.

Se ha sugerido que la astringencia de la infusión del café está asociada con un alto contenido de CGA(3). De ahí que el bajo consumo de las raciones que contienen pulpa de café por parte de animales bajo experimentación (4) pudiera deberse tanto a la presencia de taninos y cafeina como a la de CGA. Los ácidos CQA pueden ocurrir en la pulpa y en el grano de café en forma polimerizada o de complejos, posiblemente con proteína (5). Existe la posibilidad de que los CGA interactúen con las proteínas y de esta manera interfieran con su actividad y/o aprovechamiento.

La pulpa de café continúa siendo objeto de estudios (4,11) a fin de lograr una amplia e intensiva utilización en la nutrición animal. Sin embargo, se requiere un mayor y mejor conocimiento de la dinámica de sus componentes químicos, especialmente de aquellos que se suponе interfieren con este propósito. Al respecto se sugiere el uso de métodos analíticos actualizados que tengan una mayor precisión y especificidad que los métodos tradicionales ya prácticamente en desuso.

Referencias

1. Bressani, R. (1979). Antiphysiological factors in coffee pulp. In: Coffee Pulp: Composition, Technology, and Utilization. (Braham, J.E. and Bressani, R. (Eds)), IDRC Publication 108e. Ottawa, 83-88.

2. Clifford, M.N. (1985). Chlorogenic acids. In: Coffee 1- Chemistry. (Clarke, R.J. and Mc Rae, R. (Eds)), Elsevier Applied Science Publishers, London, 153-202.

3. Clifford, M.N. (1985) Chemical and physical aspects of green coffe and coffee products. In: Coffee; botany, bio-chemistry and production of beans and beverage. (Clifford, M.N. and Wilson, K.C. (Eds)), Croom Helm Ltd., London, 305-374.

4. Gómez-Brenes, R., Bendaña, G., González, J.M., Jarquín, R., Braham, J.E. y Bressani, R. (1988). Efectos del tratamiento de la pulpa de café, fresca o ensilada, con hidróxido de calcio, sobre su valor nutritivo. Arch. Lat. Nutr. 31: 173-187.

5. Griffin, B. and Stonier, T. (1975). Studies on auxin protectors. XII. Auxin protectors and polyphenol oxidase in developing coffee fruit. Physiol. Plant. 33: 157-160.

6. IUPAC (1976). Nomenclature of cyclitols. Biochem. J. 153: 23-31.

7. Jaffe, W. y Ortiz, D.S. (1952). Notas sobre el valor alimenticio de la pulpa de café. Agro (Venezuela) 23: 31-37.

8. Jung, H.G. (1985). Inhibition of structural carbohydrate fermentation by forage phenolics. J. Sci. Food Agric. 36: 74-80.

9. Jung, H.G. (1988). Inhibitory potential of phenolic-carbohydrate complexes released during ruminal fermentation. J. Agric. Food Chem. 36: 782-788.

10. Lopes-Longo, C.R. (1972). Estudo dos pigmentos flavonoides e sua contribuicao a filogenia do genero Coffea. Tese de doutoramento. Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz" da Universidade de Sao Paulo (Brasil), 110 p.

11. Peñaloza, W., Molina, M.R., Gómez-Brenes, R. y Bressani, R. (1985). Solid state fermentation: an alternative to improve the nutritive value of coffee pulp. Appl. Envir. Microbiol. 49: 388-393.

12. Ramírez, J. (1987). Compuestos fenólicos en pulpa de café. Cromatografía de papel de pulpa fresca de doce cultivares de Coffea arabica L. Turrialba 37:317-323.

13. Ramírez-Martínez, J.R. (1988). Phenolic compounds in coffee pulp: Quantitative determination by HPLC. J. Sci. Food Agric. 43: 135-144.

Resumen

Se estableció una comparación de la composición de los ácidos fenólicos extraíbles con metanol al 70% en caliente de la pulpa de café seca de los cultivares Robusta (Coffea canephora), Bourbon y Caturra Rojos (Coffea arabica), Híbrido de Timor (C. canephora X C. arabica) y Catimor (Híbrido de Timor X Caturra Rojo). Los ácidos clorogénicos totales fueron cuatro veces más altos en el cultivar Robusta (1,6%) que en los cultivares Híbrido de Timor y Catimor, mientras que en los cultivares de la especie C. arabica se encontraron valores intermedios. El contenido de ácido protocatéquico fué alto en el Híbrido de Timor (0,7%) y bajo en Robusta (0,1%) y en Caturra Rojo (0,2%) con valores intermedios en Bourbon Rojo y Catimor (alrededor de 0,5%). El ácido protocatéquico se aisló en forma relativamente pura de la pulpa seca de Híbrido de Timor mediante HPLC preparativa y su identificación se verificó por resonancia magnética nuclear (NMR).

Summary

A comparison was made among Robusta (Coffea canephora), Red Bourbon and Caturra (Coffea arabica), Timor Hybrid (C. canephora X C. arabica) and Catimor (Timor Hybrid X Red Caturra) cultivars with regard to the nature and content of phenolic acids extracted with hot 70% methanol from sun-dried coffee pulp. Total chlorogenic acids content was four times higher in Robusta (1.6%) than in Timor Hybrid and Catimor, whereas in C. arabica cultivars it had intermediate values. Protocatechuic acid content was high in Timor Hybrid (0.7%) and low in Robusta (0.1%) and Red Caturra (0.2%), with intermediate values in Red Bourbon and Catimor (around 0.5%). Protocatechuic acid was isolated in a relatively pure form from Timor Hybrid dried pulp by means of preparative HPLC and its identification verified by nuclear magnetic resonance (NMR).

Résumé

Acides phénoliques de la pulpe de café.

Une comparaison a été effectuée entre des cultivars Robusta (Coffea canephora), Bourbon rouge et Caturra rouge (Coffea arabica), Hybride de Timor (C. canephora x C. arabica) et Catimor (Hybride de Timor x Caturra rouge) en ce qui concerne la nature et la teneur en acides phénoliques extraits de la pulpe de café séchée au soleil par du méthanol à 70 % à chaud. La teneur en acides chlorogéniques totaux était quatre fois plus élevée pour le Robusta (1,6 %) que pour l'Hybride de Timor et le Catimor, alors que les valeurs étaient intermédiaires pour les cultivars de C. arabica. La teneur en acide protocatéchique était élevée pour l'Hybride de Timor (0,7 %) et faible pour le Robusta (0,1 %) et le Caturra rouge (0,2 %) avec des valeurs intermédiaires pour le Bourbon rouge et le Catimor (environ 0,5 %). L'acide protocatéchique a été isolé sous forme relativement pure à partir de la pulpe séchée d'Hybrides de Timor par HPLC préparative et son identification a été vérifiée par résonnance magnétique nucléaire (RMN).

CONSÉQUENCES DES VARIATIONS BIOLOGIQUES DE LA TENEUR EN CAFÉINE DU CAFÉ VERT SUR LE CHOIX D'UNE MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE POUR SON DOSAGE

D. LE PIERRES *, J.-C. VINCENT **, B. GUYOT **

*** ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex (France).**
**** I.R.C.C./C.I.R.A.D., B.P. 5035, Montpellier Cedex 1 (France).**

INTRODUCTION.

La validité d'un dosage de la caféine est très difficile à apprécier. Comme pour d'autres dosages, on lui demande d'être juste, répétable, et reproductible. Les erreurs de justesse sont estimées par rapport aux résultats d'une méthode de référence, tandis que les erreurs de répétabilité (obtenues dans des conditions identiques d'analyse) et les erreurs de reproductibilité (résultant de conditions différentes d'analyse), s'évaluent d'une manière statistique par la variance à partir des chiffres de plusieurs dosages.

L'estimation de la précision d'un dosage repose sur le calcul de l'erreur totale qui comprend l'erreur expérimentale et l'erreur d'échantillonnage. L'erreur expérimentale est constituée de l'ensemble des erreurs inhérentes aux manipulations des solutions, du matériel et des appareils de mesure. Selon Sloman (1) et Kazy (2), elles n'entraînent que de faibles écarts sur une mesure avec les procédés actuels d'analyse. Les intervalles de confiance ont été chiffrés inférieurs à +/- 5,8 %. Ces erreurs faussent très peu la validité des analyses. L'erreur d'échantillonnage, par contre, est imputable à l'hétérogénéité biologique du lot à analyser, tel le café vert qui provient le plus souvent de mélange de graines d'arbres distincts, de branches situées à des endroits différents, et parfois de plusieurs récoltes.

Le dosage donne en réalité la moyenne des teneurs en caféine de chaque grain de l'échantillon. Tous les grains d'un même lot n'ont pas à *priori* des teneurs identiques. Il est donc normal de détecter une fluctuation d'échantillonnage qui influe avec un risque statistique sur les résultats du dosage de la caféine.

Comme il n'est pas toujours envisageable de broyer entièrement une quantité importante d'un lot de café, ni ensuite de bien mélanger la poudre avant de prélever un échantillon parfaitement représentatif du lot, il nous a paru fondamental de préciser les fluctuations d'échantillonnage sur le café vert en grains. Ceci constituera l'objet de cette communication pour rechercher des méthodes pratiques, afin de standardiser et normaliser les échantillons, pour une meilleure fiabilité des analyses de la caféine.

LES FACTEURS RESPONSABLES DES FLUCTUATIONS D'ECHANTILLONNAGE.

Depuis que l'on a signalé la présence de caféine par analyse chimique dans presque toutes les parties du caféier par Navelier (3), des chercheurs ont étudié son métabolisme et ses formes de stockage. On peut citer les travaux de plusieurs équipes : Poisson (4-5), d'Ornano (6), Wanner (7), Baumann (8), Clifford (9), Amorim (10), Suzuki (11), et Dentan (12). On sait maintenant que la caféine est le produit d'une chaîne métabolique où interviennent de nombreux enzymes. Ces derniers possèdent des activités spécifiques qui dépendent à la fois du génome du grain et du milieu (lumière, température, durée de fructification, maturation, actions microbiennes pendant la préparation technologique...). Parmi ces facteurs, on peut citer :

1) L'origine génétique du pied.

Charrier et Berthaud (13) ont montré que la teneur en caféine est un caractère génétique très variable suivant les espèces, les populations, les individus. Le contrôle génétique est sous la dépendance de plusieurs gènes. Sa transmission héréditaire est de type additif et son héritabilité est forte : 74 % au sens large (14).

2) Le génome de l'albumen.

Au dernier A.S.I.C., j'ai montré que la teneur en caféine n'est pas seulement une donnée maternelle, mais qu'elle dépend aussi du pollinisateur (14). En règle générale, il n'y a que des effets spécifiques entre les gènes apportés par la mère et le père au niveau de l'albumen triploïde du grain. L'originalité des interaction génétiques au niveau de chaque grain font que les grains descendants de géniteurs hétérozygotes sont génétiquement différents. Il s'en suit une fluctuation des teneurs des grains d'un arbre donné en fonction de la composition pollinique du pollen fécondant.

3) Le degré de maturité des fruits.

Le graphique de Guyot et al. (15) illustre une diminution de la teneur en caféine au cours de la véraison.

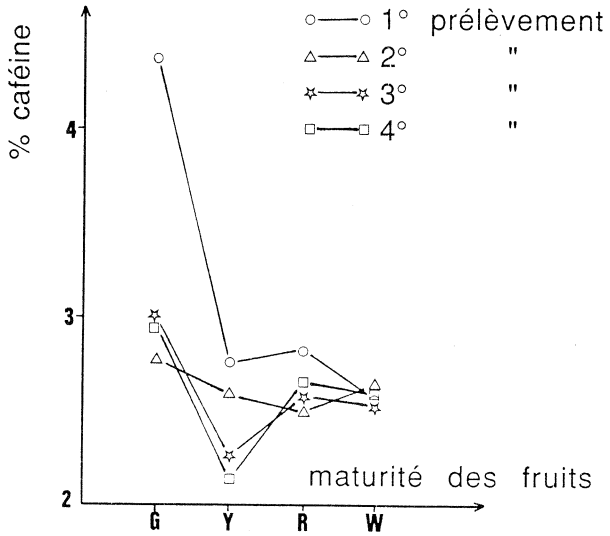


Figure 1 : Teneur en caféine en fonction de la maturité des fèves de café Robusta.

G = green (vert)
Y = yellow (jaune)
R = red (rouge)
W = wine-colored

Des teneurs très fortes sont enregistrées dans les graines issues de fruits verts. Selon ces auteurs, il y aurait transformation progressive de la caféine en théobromine et théophylline pendant la maturation.

4) La dimension des fèves.

Il n'existe pas à notre connaissance de références témoignant, au niveau du grain de café, de rapports directs entre sa teneur en caféine et son poids à maturité. Généralement chez les espèces cultivées, on ne trouve pas de corrélations significatives entre les deux caractères. Cependant, nos études sur plusieurs populations de caféiers ont montré, par groupe isogénomique d'espèce ou bien hybride, que le signe de ces coefficients de corrélation étaient toujours négatifs. Par génotype donné, les plus petites fèves contiendraient vraisemblablement une plus grande teneur en caféine.

5) La précocité de maturation des fruits.

Pour une même nature de matériel (combinaison génétique ou provenance), les grains issus des fruits ayant mûri en premier, renferment un plus fort taux de caféine. Nous l'avons mis en évidence sur du Robusta, pour un même degré de maturation des fruits, en constatant que les arbres ayant les durées de fructification les plus courtes, produisent statistiquement du café plus riche en caféine que les individus à maturation plus longue.

6) Le milieu.

Il agit sur tous les facteurs que l'on vient de mentionner. Ses effets ont été relatés par Charrier et Berthaud (13). La teneur en caféine ne serait que le reflet de divers fonctionnements physiologiques de caféiers. Ceci entraîne une instabilité des résultats de dosage suivant les milieux.

7) Le traitement technologique.

Vincent et al. (16) ont constaté que les pourcentages de perte de la caféine peuvent atteindre 40 % au cours du trempage. Il y aurait diffusion progressive de la caféine dans l'eau de fermentation. Ces auteurs recommandent de préparer les échantillons dans les mêmes conditions.

Les effets séparés de tous ces facteurs, et de leurs interactions, créent un polymorphisme entre les grains produits par un arbre. Il en découle une fluctuation d'échantillonnage dans les résultats du dosage.

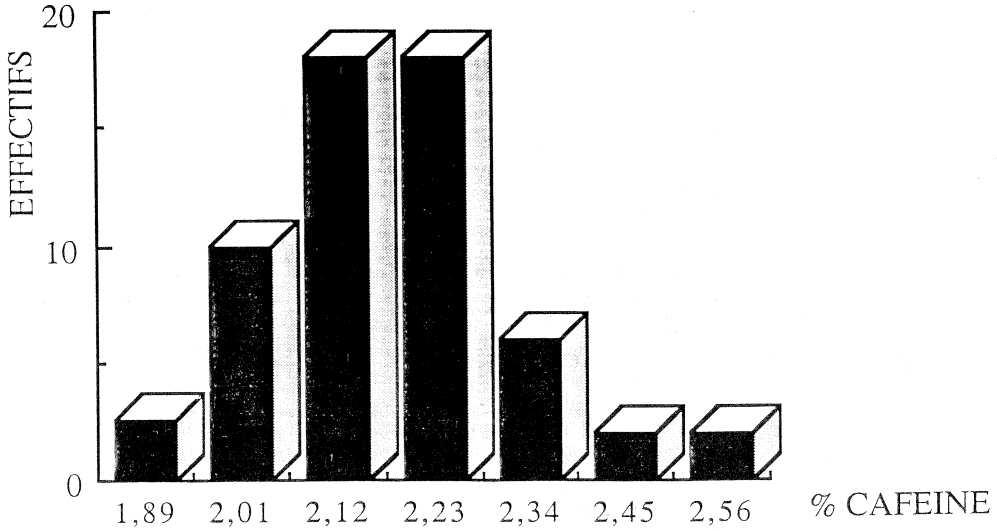
ETUDE DE LA FLUCTUATION D'ECHANTILLONNAGE.

L'étude a porté sur des dosages individuels de grains, ou des mélanges composites qui ont été réalisés au Laboratoire de Chimie et Technologie de l'I.R.C.C. (C.I.R.A.D.) de Montpellier en France. Les échantillons ont été confectionnés à l'I.R.C.C. de Divo en Côte d'Ivoire à partir des essais et collections de l'Opération Conjointe ORSTOM/I.R.C.C..

1) L'influence seule du milieu a été démontrée sur des grains identiques possédant la même composition génétique de leur albumen. Pour ce faire, on a analysé une par une 30 graines de *Coffea arabica* issues d'une autofécondation de Caturra qui est homozygote. Le coefficient de variation (C.V.) enregistré : 9,3 %, est loin d'être négligeable. Il correspond au seuil de variation minimum.

2) Dans un croisement contrôlé entre deux Robusta (*C. canephora*), le dosage grain par grain d'un effectif de 60 grains a permis de tracer l'histogramme suivant :

Figure 2 : Histogramme de distribution des teneurs individuelles (dosage grain par grain) dans un lot de 60 grains "frères" de Robusta.



Il y a des différences entre les teneurs des 60 grains frères. La courbe de distribution de la teneur est gaussienne.

3) **Sur des mélanges composites de plusieurs grains**, où la précision du résultat est identique en analysant les grains un par un, ou en effectuant un seul dosage des grains réunis, nous avons fait les dosages de deux types d'échantillons composites formés d'au moins 30 graines :
- soit d'un même génotype pour l'étude de la répétabilité et de la reproductibilité;
- soit de plusieurs génotypes pour comparer des groupes taxonomiques.

Les résultats recueillis sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Paramètres statistiques de quelques caféiers (teneurs en caféine en %).

groupes	subdivisions taxonomiques	génotypes étudiés	moyennes x (%)	coefficients de variation
espèces	*C. arabica*	130	1,2	**16** %
	C. canephora	163	2,5	**16** %
	C congensis	361	1.4	**16** %
	C. eugenioides	139	0,6	**18** %
	C liberica	101	1,4	**25** %
populations	caf.de la Nana	96	2,3	**14** %
	Rob.Centrafrique	72	2,6	**15** %
descendance	1 comb.Robusta	58	1,7	**24** %
hybrides inter-spécifiques	Arabusta	72	2,1	**14** %
	Kawisari *	140	1,2	**18** %
	3 voies **	30	1,4	**18** %

* Arabusta faits *C. liberica* ; ** Arabusta faits par Congusta

Toutes les distributions sont gaussiennes.

Dans la colonne des paramètres statistiques, on constate que les coefficients de variation sont en général du même ordre de grandeur : entre 15 et 18 %, quelque soit la combinaison génétique, ou la provenance. Cependant des éclatements de la variabilité sont possibles, comme on le voit ici dans une combinaison de *C. canephora* (C.V. = 24 %). L'hétérozygotie des arbres explique cette diversité des taux de caféine dans le.café.

A partir de ces données, on a cherché à calculer le nombre de grains nécessaires pour avoir une précision valable des dosages. Nous l'avons illustrée sur les figures 3a et 3b ci-après.

Quatre courbes y sont tracées : A, B, C, et D. Elles ont été obtenues en tenant compte du nombre de grains qui composaient le échantillons analysés.

La fiabilité des résultats dépend du nombre de grains dans l'échantillon. La transformation logarithmique est présentée dans la figure 3b : on obtient des droites parallèles. Nous remarquons que les erreurs de reproductibilité (courbe C) sonbt de 2 à 3 fois plus grandes que celles de répétabilité (courbe B), et presque équivalente à celles lues sur échantillons d'arbres distincts d'une espèce (courbe D). Il est normal de voir que les échantillons de la lignée "Caturra" sont les plus homogènes.

Comme le carré de l'erreur est une fonction inverse du nombre de grains formant un échantillon, la lecture des graphiques (ou le calcul) indique qu'il faudra, par exemple au seuil de précision de +/- 5 % d'erreur sur la moyenne au risque de première espèce de 5 % :
- une vingtaine de grains pour le seuil minimal
- 50 grains pour la répétabilité
- environ 400 grains pour la reproductibilité sur un ou plusieurs génotypes.

Figures 3a et 3b : Précision des dosages : % d'erreur sur la moyenne en fonction du nombre de grains / échantillon (risque = 0,05).

Fig. 3a

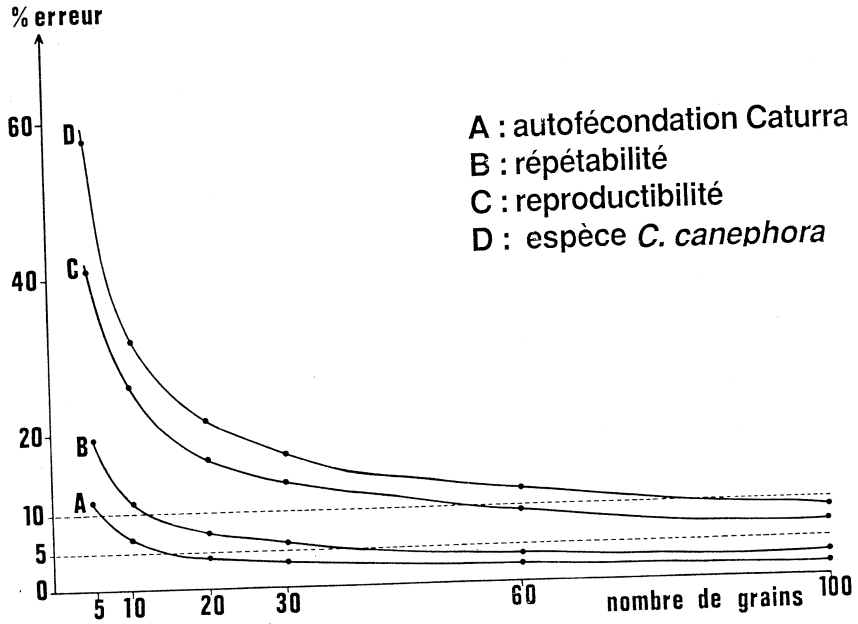
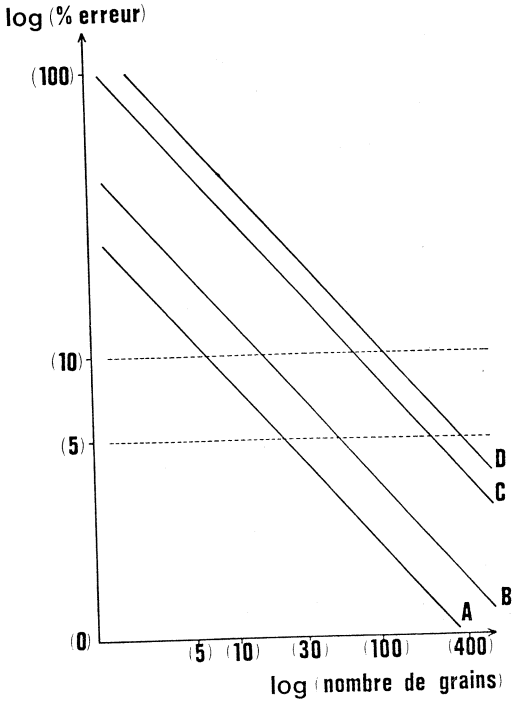


Fig. 3b



L'incidence de cette étude implique qu'on n'augmente pas plus la précision d'un résultat en multipliant les dosages sur des échantillons de faibles effectifs qu'en faisant une seule analyse sur un unique échantillon de taille convenable en nombre de grains. Pour des raisons pratiques et économiques, il est préférable de limiter les dosages à des échantillons contenant un nombre minimum de grains pour avoir une précision donnée, plutôt que de les répéter sur des petits échantillons

CONCLUSION.

Cette étude fait apparaître l'existence inévitable de fluctuation d'échantillonnage dans les résultats de la teneur en caféine du café, même si les techniques d'analyse liées aux appareillages sont parfaitement au point.

La caféine est un produit biologique de fin de chaîne métabolique tout au long de laquelle interagissent plusieurs enzymes spécifiques. Ceux-ci sont sous la dépendance à la fois de facteurs variables,tels que le génome de l'arbre, le génotype de l'albumen et aussi du milieu.

Les grains de café sont hétérogènes au point de vue biologie.et écologie Leurs teneurs en caféine sont variables L'étude statistique montre que toutes les distributions obéissent à la loi normale

Compte tenu des trop grandes différences de dimensions de grains entre les cafés, où selon les espèces 1 gramme de café peut contenir de 3 à 50 grains, il est plus raisonnable de prendre un nombre de grains fixé pour tous les cafés plutôt qu'un poids pour avoir la même précision sur un dosage.

L'erreur est fonction du coefficient de variation, donc du nombre de grains formant l'échantillon. A nombre de grains égal, les plus petites erreurs sont obtenues sur les grains de l'autofécondation de Caturra, puis viennent les erreurs de répétabilité, qui sont deux à trois fois moins grandes que celles de reproductibilité.

Une fiabilité des résultats à 95 %, au risque de première espèce de 5 %, sera obtenue en broyant des échantillons de 400 grains. Nous recommandons cette quantité de grains pour les industriels et les sélectionneurs pour s'assurer d'une bonne reproductibilité de leurs résultats. Par contre, les généticiens, qui ont quelquefois des difficultés à trouver suffisamment de fruits sur certains génotypes, devront se contenter d'un degré de précision de 90 % avec 15 graines.

L'échantillonnage des grains peut-être également considéré pour d'autres critères du café. Multon (17) dans une étude similaire a proposé une méthode de référence pour le dosage de l'eau. Il serait normal aussi d'envisager de redéfinir la taille des échantillons, pour de nombreux caractères d'appréciation de la qualité du café (compositions chimiques, goûts, arômes...).

Cette communication a fait l'objet d' une présentation sous forme d'affiche (poster).

BIBLIOGRAPHIE.

1 SLOMAN (K.G.)- 1980. La détermination de la caféine du café et des mélanges de café. Café Cacao Thé, 7, 223-230.

2 KAZY (T.)- 1987. Rapid quality control method for the determination of caffeine in coffee products. A.S.I.C., 12ème Coll., Montreux, 216-220.

3 NAVELIER (P.)- 1959. Chimie du café : *in* : Les caféiers et les cafés dans le monde (par R. COSTE). Edit. Larose (Paris), tome II : Les cafés, vol. I (372 p.), 163-256.

4 POISSON (J.)- 1965. Méthodes d'étude de la caféinogénèse. I.F.C.C., 2ème Coll. Int. sur la chimie des cafés verts torréfiés et de leurs dérivés, 121-130.

5 POISSON (J.)- 1977. Aspects chimiques et biologiques de la composition du café vert. A.S.I.C., 8ème Coll., Abidjan, 33-57.

6 ORNANO (M.d'), CHASSEVENT (P.), POUGNEAUD (S.)- 1968. Composition et caractéristiques chimiques des *Coffea* sauvages de Madagascar. V- Caféine et autres méthylxanthines présentes dans les feuilles de vingt-quatre caféiers sauvages avant et après greffage sur caféiers cultivés. Café Cacao Thé, 12, 144-156.

7 BAUMANN (T.W.), WANNER (H.)- 1977. Tracer studies on biosynthesis of caffeine in *Coffea* arabica. A.S.I.C., 8ème Coll., Abidjan, 135-137.

8 BAUMANN (T.W.)- 1985. Biotechnology, its potential for growth and manufacture of coffee. A.S.I.C., 11ème Coll., Lomé, 55-68.

9 CLIFFORD (M.N.), KAZY (T.), CROWFORD (S.)-1987. The content and washout kinetics of chlorogenic acids in normal and abnormal green coffee beans. A.S.I.C., 8ème Coll., Montreux, 221-228.

10 AMORIM (H.V.), CRUZ (A.R.), St ANGELO (A.J.), DIAS (R.M.), MELO (M.), TEXEIRAS (A.A.), GUTIERREZ (L.E.), ORY (R.L.)- 1977. Biochemical physical and organoleptical changes during raw coffee quality deterioration. A.S.I.C., 8ème Coll., Abidjan, 183-186.

11 SUZUKI (T.), WALLER (G.R.)- 1982. Metabolism of caffeine in sterile culture of *Coffea* arabica. Int. Ass. for Plant Tissue Culture, 5ème Congrès, Tokyo, 365-386.

12 DENTAN (E.)- 1977. Structure fine du grain de café vert. A.S.I.C.,8ème Coll., Abidjan, 59-64

13 CHARRIER (A.), BERTHAUD (J.)-1975. Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. Café Cacao Thé, 19, 251-264.

14 LE PIERRES (D.)-1987. Influence des facteurs génétiques sur le contrôle de la teneur en caféine du café. A.S.I.C., 12ème Coll., Montreux, 335-352.

15 GUYOT (B.), PETINGA (E.), VINCENT (J.C.)- 1988. Analyse qualitative d'un *Coffea canephora* var. Robusta en fonction de la maturité. Partie I Evolution des caractéristiques physiques et organoleptiques. Café Cacao Thé, 32, 127-140.

16 VINCENT (J.C.), GUENOT (M.C.), PERRIOT (J.J.), GUEULE (D.)-1977. Influence de différents traitements technologiques sur les caractéristiques chimiques et organoleptiques des cafés Robusta et Arabusta. A.S.I.C., 8ème Coll., Abidjan, 271-284.

17 MULTON (J.L.)- 1977. Distribution statistique des teneurs en eau entre les grains de café. Incidence sur la répétabilité de la méthode de référence pratique du dosage de l'eau. A.S.I.C., 8ème Coll., Abidjan, 65-72.

RESUME. Les dosages classiques de la caféine effectués généralement sur des échantillons faisant 1 gramme de café vert contiennent un nombre variable de grains. L'hétérogénéité des teneurs des grains composant un lot de café entraîne une fluctuation d'échantillonnage qui oblige à multiplier les analyses pour obtenir un dosage valable.

De nombreux facteurs sont responsables de la variation de la teneur en caféine entre les grains, dont la distribution statistique du caractère est gaussienne.

L'études statistique permet de redéfinir la taille de l'échantillon pour une meilleure conformité des résultats du dosage de la caféine. Un effectif de 400 grains par échantillon est recommandé pour avoir 95 % de précision sur la moyenne.

Influences of natural variations on the level of caffeine in green coffee (beans) on the choice of sampling method to measure it.

SUMMARY. Standard measures of caffeine levels, generally derived from 1 gram samples of green coffee, are made of a variable number of beans. The variation in caffeine levels within a sample of coffee beans involves a sampling fluctuation, that means that a number of analyses have to be made to obtain reliable estimates.

Several factors are responsable for the variation in caffeine levels, which statistically follow gaussian distributions.

Statistical analyses are provided which determine the size of the samples required to give a more accurate measure of caffeine levels. 400 beans are needed by sample to have 95 % of precision on the mean.

PROCESSING OF INSTANT COFFEE

K. F. SYLLA
D 2800 Bremen 33 Ohmstr. 5

The economical background of instant coffee and its importance can be seen when comparing some ICO data (1) on the coffee world consumption in 1986: From a total of 5,400,000 tons the 5 greatest manufactures: Nestlé, General Foods, Jacobs Suchard, Procter & Gamble and Douwe-Egberts used up 1,700,000 tons in a ratio of 60:40 for R/G and soluble coffee. That means 680,000 tons of green coffe were converted to instant coffee by these 5 manufacturers.
The "World of Coffee" reports the soluble coffee figures for 1987 in an overview, where the home consumption adds up to 217,350 tons. It can be stated, that the share of soluble coffee in 4 of the mentioned 10 countries is near or above 90% (2).

The chemical composition of instant coffee is known from many studies. The knowledge about it will be helpful when followed up in the different steps of manufacturing. The optimization of the instant coffee technology will to a very high degree benefit from good know-how of the nature and influence on taste of all the different constituents in coffee.
There are a great number of publications about this field, and O. G. Vitzthum (3) gave a valuable grouping of the single components in 1976. In my paper about "Processing of Instant Coffee" at the ASIC´77 in Abidjan (4) one can already find some examples for a comparison of the chemical composition of instant coffee.
Up to 25 % of the dry matter of roast and ground coffee is soluble in boiling water. About 1/3 of theese components are known as defined chemical substances, 1/3 can be classified and the rest consists of components which are not exactly known.
For better stability, aroma recovery and also for economical reasons an industrial infusion takes advantage of the hydrolysis effect: at higher temperature and pressure at least an equally high amount of coffee material is soluble. The exact chemical structure of these compounds is mainly unknown. They can only be described as groups.
R. J. Clarke and R. Macrae (5) give a comparison of the composition of home brew solubles and instant coffee where the portion of carbohydrates and brown polymers are higher in instant coffee because of this so-called hydrolysis effect.
Soluble coffee consists of: different groups of carbohydrates, brown polymers, acids, lipids, nitrogen compounds, volatile aroma compounds, minerals and water.

The percentage of each group varies according to origin, and during manufacturing and storing some changes of the composition can occur. A typical profile of sugars in instant coffee is given by R. Viani (6).
A comparison of data from J. W. Rhoades (in 5), albeit from 1960, illustrates the very low concentration of some of the volatiles of roast and of instant coffee.
H. G. Maier has recently published (7) that since 1981 additionally 151 new volatile aroma compounds in roasted coffee have been identified. That adds up to a total of 730 known aroma compounds. 1 kg of roast coffee has 700-800 mg of volatile aroma. From 730 known compounds, 240 account for 85% of this figure.
In my ASIC´77 publication (4) I gave a rather conservative estimation about the use of analytical help for process development. So I proposed comparisons of the different fractions of carbohydrates, the chlorogenic acids and the ash components.
At that time the use of volatile aroma comparison for technical research was not common. This seems to have changed in the meantime, as can be seen from claims made by Procter & Gamble in a european patent application dated 1985 (8). There a high quality of soluble coffe is characterized by a "high pyrazines derivative content and a low content of furfural."

It is the endeavour of the manufacturing companies to develop improved instant products, which are even more stable and have more acceptance in good taste and flavour when making a beverage with hot or cold water without a brewing machine and disposal of spent grounds.
World wide there is a busy run for better quality and closer similarity to roast and ground coffee.
The main steps in making soluble coffee are: taking freshly roast and ground coffee and subjecting it to a counter-current extraction with hot water at 100- 180°C under pressure. After removing the fines the brew is concentrated and dried.
This is a rather naive definition, and in practice many details have to be considered, details which often are neglected and there is therefore a lot of instant coffee on the market which does not come up to the consumers´ expectations.
R. J. Clarke has characterized the background of instant-coffe manufacturing in his book "Coffee", edited in 1987 (5):
"The extraction of roast and ground coffee is, in fact, a highly complex operation, the scientific fundamentals of which are very difficult to unravel," and he continues:" It is not surprising that the extraction .. in practice has many elements of craft, skill and experience."

The technical way of making high quality soluble coffee can be split up into a number of different unit operations. As many faults during each step of the preparation can impair the quality of the final product, every part has to be performed with high care and attention.
The single steps are as follows:

1) The raw bean handling from purchase of suitable material, cleaning, storing, possibly pretreatment such as steaming and decaffeination.
2) Roasting and grinding, eventually prewetting, grinder-gas gaining, removing of chaff, intermediate storing.
3) Water extracting at different temperatures, aroma stripping.
4) Concentrating, filtering, seperating, cooling and storing.
5) Drying in a spray or freeze drier and agglomerating.
6) Packing.

Many publications about instant coffee are available, but where to commence?
The best way to start, is to read the following overviews:
R. Viani´s "Coffee" in Ullmann´s Encyclopedia of Industrial Chemistry from 1986 (6) gives detailed process information and it contains a long list of references.

Also the two volumes of "Coffee" edited by R.J. Clarke and R. Macrae from the Elsevier Applied Science Publishers LTD (5) will inform you about the background and performance in the great coffee field refering to the original authors.
The books consist of Volume 1: Chemistry from 1985 and
Volume 2: Technology from 1987.
Both areas are updated by H. G. Maier in an article about "The Status of Coffee Research" in the periodical Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie Vol. 43/2 in March 1989 (7).
By commencing with the mentioned addresses you will be able to find practically all necessary scientific publications about coffee and instant coffee. You will receive additional patent literature from common data banks under the respective key words.

The single steps of manufacturing will now be illustrated with some examples and comments.

The raw bean handling is not only the first step but also the key to improved quality. The raw material must be clean, fresh and of optimal blend if a high-class soluble coffee in a modern plant is to be produced. The operation starts with the right blend, which has to be selected and compared with proven blends in an expert pannel.
There is equipment for bean cleaning available. Vibrostoners and classifiers perform the necessary work of separating clean beans from fine vegetable material, coarse particles, metallic discords, stones and dust. Bühler in Switzerland, is one of the well versed suppliers of equipment (9) for cleaning, conveying, storing and grinding of material like coffee.
It must be mentioned that care has to be taken to retain the moisture content of the beans. Too dry coffee will break into small pieces in the conveying system and too wet beans will get mould when stored. The optimal moisture content is 10%.
Also polishing of green beans in special agitators, where some water will bind dust and chaff, is of benefit, as it reduces some off-flavour in the later extraction.
Roasting of coffee seems to be easy to perform. There was a lot of technical development during the last decade. It is not easy to decide, which roasting equipment is optimal for the manufacturing of soluble coffee.
There are batch and continuous roasters of different working principles. Both have advantages. So a continuous machine is suitable for great capacities in long-time runs under constant conditions without blend changing. Batch roasters can with ease vary their programs periodically and so use different roasting conditions for the single types of raw material.
As in soluble coffee normally some amounts of robustas as well as different arabicas are used, an optimal result in colour and taste can well be achieved by separate roasting. A treatment of the whole blend to a "medium" batch of roast coffee must be inferior.
To continue this idea of individual treatment: even in the later stage of grinding, when preparing the grinder-gas aroma a separate handling of only the arabicas will be advantageous.
As normally a percolator column runs automatically, it is not difficult to feed the percolators differently with the separate parts of the blend. In this way aroma stripping can be improved when treating the "more valuable" columns only.
But back to the roasters: The necessary heat transfer to the beans happens via thermal conduction from the roaster walls and heat convection from the roaster gases. The latter leads to a more uniform browning of the bean material.
Taste tests have shown improved results of coffee brews from batches being roasted under a high part of heat convection. In this way the well-known drum roaster, which works with a high portion of thermal conduction has to give way to modern equipment.

So the centrifugal roaster of PROBAT (10) acts on the beans with shorter contacts to the hot roaster walls and allows a more intensive turbulent influence of hot gases.
Modern roasters have also equipment for gas recirculation, thermal precleaning, heat recovery and catalytic oxidation of the spent gases installed. It should be emphasized that leading equipment manufacturers have endeavoured to make use of low energy and air pollution manufacturing processes.
Within the last 10 to 15 years the energy for roasting, calculated in kWh/100 kg green coffee could be reduced from about 68 to 28.
The roaster-gas emission in mg C/m^3n could be minimized from 250 to 50, and also the roaster-gas volume by 40% under a reduction of gas temperature from 550 to 140°C. Energy consumption and pollution control play an important roll in many countries now. Among the different roaster constructions wih a high convection rate the NEUHAUS NEOTEC fluidized-bed roaster (11) claims to be optimal, as here near to 100% of the heat comes from the hot air stream, and the influence of the walls is neglectable. NEUHAUS-NEOTEC calls this a "forced convection". This is due to the action of a high air-volume/coffee ratio and high air velocities.
In this principle it is possible to operate with even better results at hot-air temperatures which are about 100°C lower than in other roasters.
The company offers batch equipment in different sizes, the smallest is a lab roaster for batches of 100-500 g where evaluation samples for the purchase of raw material can be made.
In the fully automatic shop roaster up to 60 kg/h roast coffee for pilot plant extraction can be prepared. The full-scale roaster allows batch sizes of 15-150 kg. At roasting cycles of 1.5-8 minutes, capacities range from 300 to 2,000 kg/h.
Following this principle, NEUHAUS NEOTEC continuous roasters in 5 sizes are available with capacities from 400 to 3,200 kg/h.
The uniformity of this roasting principle can be followed up in measuring the colour difference between the bean surface and the ground particles. With their laser colorimeter the surface colour of whole beans and the colour of ground samples were examined and the differences were plotted to curves, which show a convincing advantage of the fluidizedbed roaster.
The principle of fluidized-bed roasters is not new but the modification and performance of the NEOTEC equipment is original. Their laser colour-testing equipment is also available for continuous on-line monitoring.

Grinding of roast coffee for the manufacturing of instant powder is different from that of coffee which is for home-brew use. Relatively coarse particles with a minimum of fines will be preferred for optimal percolation in batteries. Slurry processes, which are not so common, need small uniform particles.
PROBAT offer a so-called "reflex-braker mill" specially for the cutting of roast coffee into coarse particles for percolation, with a capacity of up to 2.7 t/h. A low fines fraction is claimed to be achieved, which will lead to high yields at diminished risks for plugging of the percolators. Additionally their "Controx System" is of great interest for the manufacturing of high quality instant coffee.
It consits of a combination of milling, conveying and storing of roast coffee under the protection of carbon dioxide. There is less than 1% of oxygen in the system, ideal conditions for the development and retention of the valid coffee-aroma components.
The system works with a low consumption of carbon dioxide, which is only needed at the start. Then the necessary gas will be completely gained from the coffee beans themselves, which during the steps of grinding and storing produce more than 2 l gas/kg coffee.
In many cases, and more because of practical reasons, coffee extraction is processed shortly after roasting.
Every coffee taster knows that a brew of a too fresh coffee does not have the optimal taste. The best aroma is found a day after roasting.
So it is benefitial to leave the roasted beans stored some hours before percolating, to improve the quality of instant coffee.

Extraction is by far the most complex part in this field. R. Viani gives an overview in his article (6) stating, that: .."coarsly ground coffee (average diameter 1.5 mm-bean halves) is extracted with softened water in a battery of five to eight percolation columns, with cell capacity from a few kg up to 1 t.
The process operates semicontinously, with water at 160-180°C passing as a countercurrent to the coffee from the most extracted cell to the one just filled with freshly ground, roasted coffee. The cells are devided into two groups:
the hot cells at a temperature of 140-180°C under a pressure of 14-16 bar, and
the cold cells at a temperature of ca. 100°C. In the hot cells, the extraction of difficult material, carbohydrates in particular, takes place; in the cold cells, the most flavorful material is extracted.
Extract is withdrawn from the fresh cell, cooled to 4-5°C in a heat exchanger, and then sent into a scale in amounts that depend on the desired yield (35-55%) from the roast and ground coffee and on the concentration of the extract. At the end of the withdrawal period, a fresh cell enters the circuit, while the spent grounds are evacuated from the bottom of the most extracted cell."

NIRO (12) offer extraction units of this type in different sizes as complete units, including equipment for concentration and spray drying. The available capacities range from 135 to 2,380 kg/h green coffee or an annual production of 325 to 6,500 t. NIRO claims prewetting the roasted coffee to 6% moisture.
Many variations of available standard equipment and additional installations exist in factories of the great manufacturers. The wide margin of them is due to these variations.
This was and is possible due to a very careful study of patents, own experience and intensive technical development. To give a few examples of the aroma recovery via gaseous carbon dioxide or nitrogen:
different variations under atmospheric pressure are claimed in the Swiss patent No 253 701 in 1949.
Gaseous carbon dioxide at pressures above 5 bar is claimed in the Swiss patent 525 621 from 1970 and aroma extraction with liquid carbon dioxide in the British patent 1 106 468 from 1968.
The patent literature in the field of aroma extraction or stripping is very extensive. One has already been mentioned here: Procter & Gamble´s European patent application 85 200 565.1 from 15.4.1985. It starts with providing a patent survey of important variations of the percolator method including evaporation and aroma stripping.
Then it files an own new way: it states, that during the step of hydrolyzing undesired furfurals develop, giving a typical "instant" flavour.
The fresh coffee contains the valuable aroma, mainly pyrazines. Their process consists therefore of the following steps:
1) forming a hydrolyzed roast and ground coffee extract;
2) multistage or countercurrently steam-stripping the hydrolysis volatiles (which will be distorted) ; and
3) passing the stripped hydrolysis extract through roast and ground coffee at temperatures of 138°C-21°C to produce the final extract.

The patent application gives a detailed description of the different stripping steps and the analytical aroma evaluation, claiming that the desirable volatiles must have a high ratio of pyrazines to a low amount of furfural. It gives a list of the pyrazine derivatives. The paper describes exactly the analytical method.

This was one example for varying the percolator method. Additional alternatives can be found. It is workable to erect one´s own percolator system with pressure vessels, ball valves, heating and cooling systems, strippers and evaporators. In catalogues like the ACHEMA Yearbook 88 (13) one can find good addresses for suppliers of whole plants and single equipment.

The concentration and other valuable treatment steps of the coffee liquid prior to the drying are manyfold and important. The equipment is often very similar to dairy installation.
In this part the crude coffee extract has to be cleaned, defatted, mixed, stabilized and concentrated.
So the Centritherm of ALFA LAVAL (14), a well-known milk concentrator, was one of the first options for evaporating coffee liquid to higher concentrations. Because of its sensitive inserts a Centritherm is difficult to run. So the falling or climbing film evaporators of different suppliers are easier to work with.
As an example, the APV-Company (15) offers flexible systems of plate evaporators. Plates can be added to meet varying duty requirements. They are easy to clean, as any plate can be replaced immediately with minimum loss of production time.
The equipment works in one or multiple effects with thermo compression. So a five-effect plant operates at a steam consumption as low as 0.14 kg/kg of water evaporated. The size of units varies up to 5 t/h water evaporation.
The evaporators have a very low product retention-time, which is a benefit for heat sensitive products. When working with direct water, cooling of the condensate, the gaining of valuable aroma components is not possible. Then aroma fractions have to be stripped prior to the evaporation.
The so-called APV Paraflash is specially designed for highly viscous media. So it can be used as the last step of evaporating the coffee liquid. There is an indirect cooler in this unit, which allows the collection of the not diluted condensate.
APV offer also aroma recovery systems on special request. To my regret I could not receive a brochure. Also NIRO is working on aroma systems for coffee, as I was told.
It is likely that in the near future more information about commercial coffee-aroma recovery-systems can be gained.
Concerning freeze concentration, there will be a detailed lecture in the "coffea technica".
Drying in a spray or freeze drier is already a common operation. As good know-how and skillness is necessary to construct and install equipment for intsant-coffee drying, I would not recommend starting one´s own technical development.
In the ACHEMA Yearbook one can find suppliers for spray driers and also addresses for manufacturers of freeze driers, where ATLAS (16), one of the greatest can´t be found.
Spray drying has enjoyed a great comeback since the invention of agglomeration and a better knowledge of evaporating and aroma handling.
NIRO works on combined systems of drying and agglomerating in one unit and still the idea of drying in an inert gas-stream is followed up there.
AEROMATIC (17) is well experienced with fluidized-bed agglomerators.
As far as freeze driers are concerned, there is ATLAS with the CONRAD system, which offers high automation.
Also the well-known LEYBOLD (18) tunnel is working in many places, the equipment is available for varying demands.
Detailed information for comparing the principles can be received directly from the single manufacturers, with all data concerning costs, capacities etc., as many units have already been built with very good results.
Also packaging equipment is offered from many sources with a high respect to local manufacturers.

Literature

1) ICO, "QSB 41-43-Exports, Imports, Supply", ICO London 1988
2) R. Viani, "Coffee", Nestec Ltd. CH-1800 Vevey (Switzerland)
3) O. Vitzthum, "Kaffee u. Coffein", O. Eichler ed., Springer Berlin 1976
4) K. F. Sylla, Proc. 8th ASIC 1977, 203
5) R. G. Clarke, R, Macrae, "Coffee Vol. 1 Chemistry, Vol. 2 Technology, Elsevier Appl. Sci., London 1985/1987
6) R. Viani, "Ullmann´s Encyclopedia of Industrial Chemistry", VCH. Weinheim 1986, A7, 315
7) H. G. Maier, Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem. 43, 25-33, 1989
8) L. R. Morrison jr. et al., Europ. Pat. Appl. 0159754, 1985
9) Gebr. Bühler AG, CH-9240 Utzwil/Switzerland
10) Probat-Werke, D-4240 Emmerich 1/Fed. Rep. of Germany
11) Neuhaus Neotec GmbH, D2000 Norderstedt/Fed. Rep. of Germany
12) Niro Atomizer A/S, DK-2860 Soeborg/Denmark
13) ACHEMA Jahrbuch 1988, Vol. 3 Chem. Eng., Dechema Frankfurt/M, 1987
14) Alfa-Laval AB, S-221 03 Lund 1/Sweden
15) APV Rosita GmbH, D-4750 Unna-Königsborn/Fed. Rep. of Germany
16) Atlas Industries A/S, DK-2750 Ballerup/Denmark
17) Aeromatic AG, CH-4416 Bubendorf/Switzerland
18) Leybold-Heraeus GmbH, D-6450 Hanau 1/Fed. Rep. of Germany

Summary

A survey is given of the processing of instant coffee. The paper starts with a description of the very complex chemical composition of coffee and its extracts.

An overview of recent literature covering chemistry, technology and patents leads to the different unit operations of the manufacturing of this very important product.

The paper continues with the representation of the necessary equipment for the single unit operations with a special interest in the commercial availability, reporting on all steps of the manufacturing of instant coffee.

This will cover practical applications from raw bean-cleaning, roasting and grinding, extraction and concentration including aroma recovery up to the different drying methods and the practice of agglomeration.

A number of examples will illustrate the great variety of available equipment and its use.

Résumé

Fabrication du café soluble.

Un aperçu de la fabrication du café soluble est présenté. L'introduction décrit la composition chimique très complexe du café et de ses extraits.

Une revue de la littérature récente concernant la chimie, la technologie et les brevets conduit aux différentes opérations unitaires de la fabrication de ce produit très important.

Les équipements nécessaires à toutes les étapes de la fabrication sont ensuite présentés, avec une attention marquée pour la disponibilité commerciale ; ceux-ci vont du nettoyage des grains verts, à la torréfaction, au broyage, à l'extraction et à la concentration avec sauvegarde de l'arôme, jusqu'aux différentes méthodes de séchage et à l'agglomération.

Nombre d'exemples illustrent la grande variété d'équipements disponibles et leur utilisation.

EXTRACTION DE L'ACIDE CHLOROGÉNIQUE DU CAFÉ VERT

CINÉTIQUE, CONDITIONS À L'ÉQUILIBRE ET MODÉLISATION

K. DIBERT *, E. CROS *, J. ANDRIEU **

* Institut de Recherche du Café et du Cacao, CIRAD, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.
** Labo. d'Automatique et de Génie des Procédés, URA CNRS D. 1328,
Université Claude Bernard, Lyon I, 69622 Villeurbanne Cedex, France.

INTRODUCTION

Au cours d'un travail précédent, (1), nous avions montré la faisabilité de l'extraction en ligne, au niveau pilote, de l'huile et des acides chlorogéniques (composés à haute valeur ajoutée utilisables dans diverses industries) ainsi que de la caféine du café vert. Cependant, l'optimisation des rendements d'extraction nécessite de connaître l'influence respective de chacun des paramètres de traitement.

Nous présentons dans ce travail, les résultats concernant l'influence de la température et du rapport massique mouture/solvant sur les conditions à l'équilibre et les cinétiques d'extraction de l'acide chlorogénique du café vert par le méthanol aqueux 70 %.

Nous indiquons que le modèle diffusionnel fondé sur la seconde loi de Fick rend bien compte des résultats obtenus.

MATERIELS ET METHODES

Café vert : un lot de café Robusta Côte d'Ivoire grade 2 est broyé (moulin à céréales SAMAP) et la mouture comprise entre 250 et 1000 um est utilsée pour les extractions.

Cette mouture est caractérisée par :
- nombre de particules/gramme : 3600
- diamètre moyen de la particule : 618 um
- porosité initiale : 0,15 ; après délipidation : 0,33
- teneur en eau : 11 %
- teneur en huile : 7,4 %
- teneur en acide chlorogénique (C-5-Q) : 5,4 %

Extraction : le dispositif d'extraction (fig. 1) est constitué d'un Erlenmeyer de 250 ml à col rodé fermé par un bouchon à jupe, d'un bain thermostaté muni d'un dispositif d'agitation linéaire (fréquence 1,96 Hz, amplitude 4,5cm).
La mouture, préalablement délipidée à l'hexane (Soxhlet 16 h à reflux), est introduite dans le flacon contenant le solvant méthanol/eau (70/30) préalablement équilibré à la

température d'extraction.
Un dispositif de circulation permet des prélèvements au cours du temps (initialement toutes les 5 min, puis toutes les 15 min pendant 4 h).

Les températures sont fixées à 30°C, 40°C et 50°C et les rapports massiques à 0,1 ; 0,2 ; 0,3 et 0,4.
Les conditions d'équilibre sont considérées comme atteintes après 20 h d'extraction.

Analyses : les extraits contenant les acides phénols du café vert sont analysés par CLHP par la méthode de l'étalonage interne (acide p. coumarique placé initialement dans le flacon d'extraction). Seul l'acide chlorogénique qui représente environ 50 % des acides phénols, est dosé systématiquement.

Les conditions d'analyse sont les suivantes :
- chromatographe VARIAN 5000
- colone Lichrosorb RP18 7 um, 250 x 4,6 mm
- solvant A acide o.phosphorique 2mM
- solvant B méthanol
- gradient

	t	0	10	30	40
	% B	5	30	50	100

- débit 1ml/min
- détecteur HP 1040A (210-400nm)

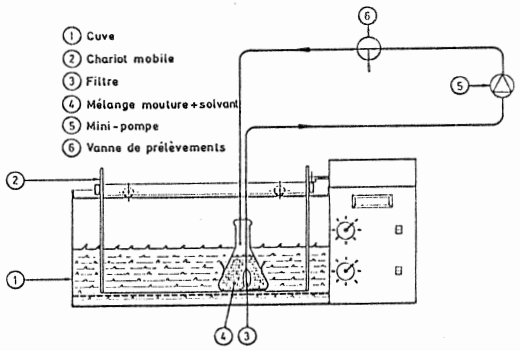


fig. 1 : Dispositif expérimental d'extraction

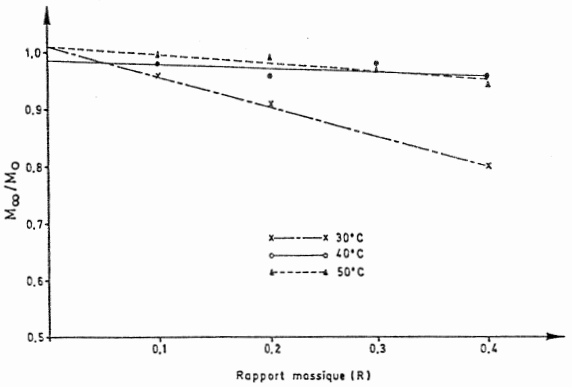


fig. 2 : Influence de la température et du rapport massique sur le rendement d'extraction à l'équilibre.

RESULTATS

I - Conditions à l'équilibre.

I-1 Influence du rapport massique (R) et de la température (T).
Les rendements d'extraction M∞/Mo diminuent quand R augmente, mais augmentent avec la température (fig. 2). L'influence de cette dernière devient d'autant plus faible que R est petit.
Cet effet de la température sur les rendements d'extraction indique qu'il y a adsorption du soluté sur la matrice solide du café vert.
Le calcul de regression linéaire bivariable conduit à l'équation E1 qui decrit l'influence respective de ces deux paramètres.

$$M\infty/Mo = 1{,}015 - (1{,}059 - 0{,}02.T).R \qquad (E1)$$

Les concentrations à l'équilibre $C_{l,\infty}$ augmentent avec T et R, les valeurs calculées par regression sont en bon accord avec les résultats expérimentaux (Tab. 1)

Tab 1 : Valeurs expérimentales et calculées des concentrations à l'équilibre (C_{∞}) de l'acide chlorogénique dans l'extrait.

T	30°C		40°C		50°C	
R	$C_{i,\infty}$ exp	$C_{i,\infty}$ cal	$C_{i,\infty}$ exp	$C_{i,\infty}$ cal	$C_{i,\infty}$ exp	$C_{i,\infty}$ cal
0,1	4,46	4,82	3,71	3,97	5,18	5,15
0,2	9,02	8,11	8,95	8,68	9,20	9,31
0,3	10,7	11,4	13,6	13,4	13,6	13,5
0,4	14,9	14,7	17,8	18,1	17,6	17,6

I-2 Diagramme de solubilité - courbe de sélectivité.

Le système : soluté (a) + solide (b) + solvant (c), peut être représenté (fig. 3) par les coordonnées de JANECKE (2) pour tracer d'une part le diagramme de solubilité c'est à dire Xb = f(Xa) pour le raffinat et Yb = f(Ya) pour l'extrait ; et d'autre part la courbe de sélectivité Xa = f(Ya).

Avec Xa = ma/(ma+mc) Xb = mb/(mb+mc) raffinat (Xa,Xb)

Ya = ma/(ma+mc) Yb = mb/(mb+mc) extrait (Ya,Yb)

où mi est la masse de i à l'équilibre dans la phase correspondante. Un point Xn du raffinat est en équilibre avec le point correspondant Yn dans l'extrait.

La courbe de sélectivité à 30°C indique que la concentration dans le raffinat est supérieure à celle dans le solvant. Ceci s'interprète par l'adsorption du soluté sur la matrice solide. Quand la température augmente, cette courbe se rapproche de la 1 ère bissectrice. L'ensemble des équations Xa = f(Ya) a été déterminé par ailleurs (3).

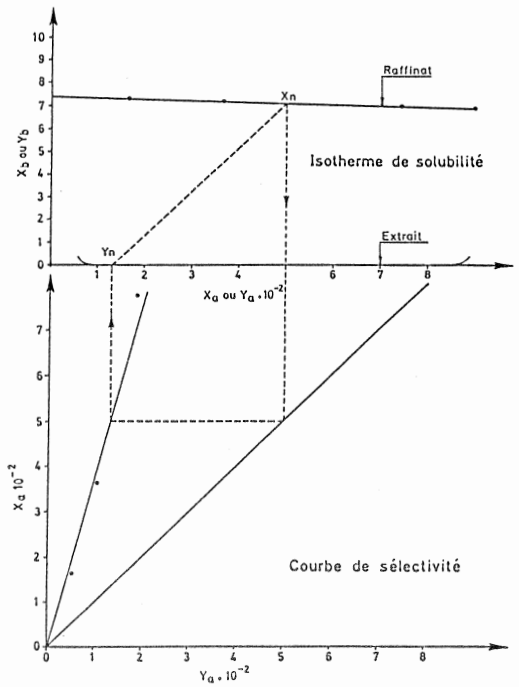


fig. 3 : Données à l'équilibre (T = 30° C) pour acide chlorogénique (a) + café vert (b) + méthanol 70 % (c).

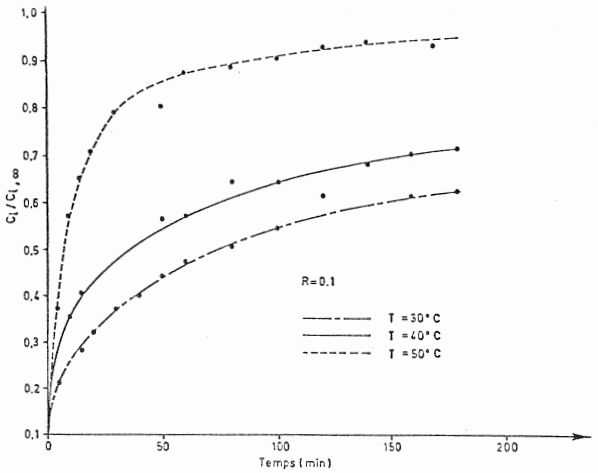


fig. 4 : Influence de la température sur la cinétique d'extraction.

II - Cinétiques d'extraction, modélisation.

II -1 Influence des paramètres d'extraction.

Le rendement Cl/Cl,∞ est une fonction croissante
- de la durée d'extraction, l'influence du temps étant prépondérant les 30 premières minutes ;
- de la température (fig 4),l'influence de cette dernière est d'autant plus faible que le rapport massique est élevé ;
- du rapport massique (fig 5), son influence devient faible quand la température s'élève.

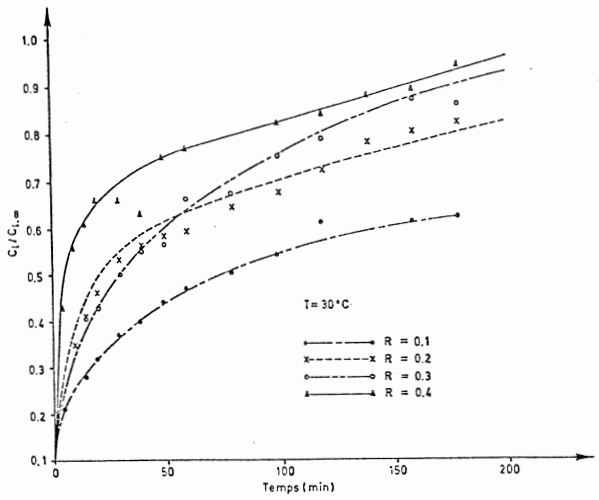


fig. 5 : Influence du rapport massique sur la cinétique d'extraction.

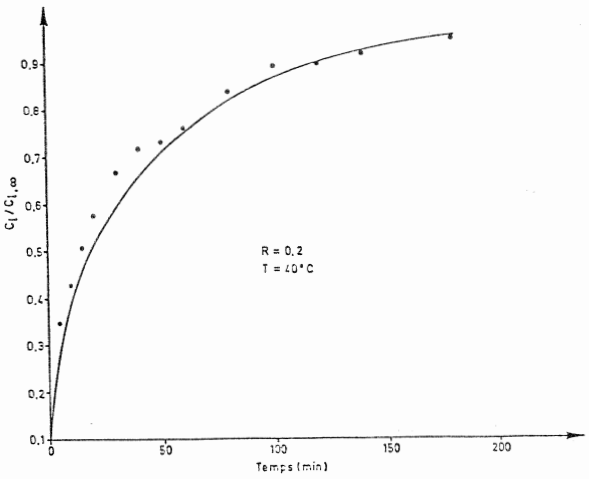


fig. 6 : Valeurs expérimentales (•) et valeurs calculées selon le modèle des rendements d'extraction.

II -2 Modélisation.

Une des solutions du modèle diffusionnel fondé sur la seconde loi de FICK a été proposée par BERTHIER (4), laquelle exprime le rendement d'extraction Cl/Cl,∞ en fonction du temps. L'utilisation d'un tel modèle suppose l'absence d'effet de couche limite, ce que nous avons montré par ailleurs (5).
Le traitement mathématique (5) conduit après approximation à l'équation E2 :

$$\Phi = \frac{Cl,\infty - Cl}{Cl,\infty} = \frac{2(\beta + 3)}{\beta(\beta + 3) + q_1^2} \exp(-q_1^2 \theta) \quad (E2)$$

avec $\theta = t/\tau$ temps réduit

$\tau = \frac{(1 + Ka)Rp^2}{De}$

Ka = constante d'adsorption
De = coefficient de diffusion du soluté dans le solide
Rp = rayon de la particule

q_1 = racine de $tg\ q_1 = \frac{\beta q_1}{\beta + q_1^2}$

$\beta = 3\gamma(1 + Ka)$
$\gamma = Vs / Vl$

Vs = volume de solvant dans les pores
Vl = volume de solvant dans la solution

Le tracé de log Φ donne accès aux coefficients de diffusion De (tab 2). Ceux-ci varient peu en fonction de la température et permettent la détermination d'une valeur moyenne de l'énergie d'activation de la diffusion :

$$De = Do \exp(-Ea/RT) \quad ====== \quad Ea = 9{,}74 \text{ kJ/mole}$$

La constante d'adsorption Ka (Ka = Cad,∞ /Cl,∞) diminue quand la température augmente. Le rendement d'extraction Cl/Cl,∞ est d'autant plus élevé que le phénomène d'adsorption est faible et que la diffusivité De augmente.
Les valeurs calculées par le modèle diffusionnel sont très proches des valeurs expérimentales (fig 6).

Tab 2 : Valeurs estimées des coefficients de diffusion (De) et valeurs calculées des constantes d'adsorption (Ka)

T (°C)	30	40	50
Ka	0,81	0,6	0,33
De (10^{-12} m^2 /s)	4,7	5,5	5,9

CONCLUSIONS

Les cinétiques d'extraction peuvent être interprétées par la seconde loi de FICK avec une diffusivité indépendante de la concentration et légèrement croissante avec la température (Ea = 9,74 kJ/mole)
L'utilisation du modèle rend possible la prédiction des cinétiques d'extraction de l'acide chlorogénique dans des conditions industrielles.

A l'heure de la surproduction mondiale de café et de la quantité sans cesse croissante des refus de triage, l'exploitation de composés à haute valeur ajoutée constituerait une voie supplémentaire de valorisation de cette matière première.

BIBLIOGRAPHIE

1 - CROS E., DIBERT K., VINCENT J-C., HANSSENS A. (1987) Valorisation chimique du café vert et des refus de triage. Premiers résultats. ASIC, 12ème colloque, Montreux, pp 718-723.

2 - TREYBAL R.E. (1968) Leaching. In Mass-Transfert Operations, Ed. Mc Graw Hill, New-York, 2nd edition, pp 628-675.

3 - DIBERT K., CROS E., ANDRIEU J. (1989) Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part I : Equilibrium data. J. Food Engineering, sous presse.

4 - BERTHIER G. (1952) Problèmes théoriques liés à la détermination des coefficients d'autodiffusion dans les solides par la méthode des échanges isotopiques hétérogènes. J. Chem. Phys., 49, pp 527-536.

5 - DIBERT K., CROS E., ANDRIEU J. (1989) Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II : Kinetic data. J. Food Engineering, à paraître.

RESUME: Les conditions à l'équilibre et les cinétiques d'extraction de l'acide chlorogénique du café vert Robusta par le méthanol 70 %, ont été déterminées en fonction du rapport massique mouture/solvant (0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4) et de la température (30°C, 40°C, 50°C).
Les rendements à l'équilibre sont corrélés avec ces paramètres. L'absence d'effet de couche limite permet d'interpréter les cinétiques par un modèle diffusionnel (2 ème loi de FICK) dont la diffusivité apparente est indépendante de la concentration et diminue avec la température.

SUMMARY : Solid-liquid equilibrium data and kinetic data for chlorogenic acid extraction from Robusta green coffee, were obtained as a function of mass ratio of ground coffee to solvent (0.1, 0.2, 0.3, 0.4) and temperature (30°C, 40°C, 50°C), using methanol/water

(70/30 V/V) as solvent.
The equilibrium yield is correlated with these variables. As there is no mass transfert resistance across the boundary layer surrounding the green coffee particules, the kinetic data were interpreted by a diffusional model (Fick's 2nd law). The apparent diffusivity is independent of concentration and decreases with temperature.

DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN DE ACEITE DE CAFÉ POR EXTRUSIÓN

L. FALLA *, J. OSPINA **, E. POSADA *

* Federación Nacional de Cafeteros de Colombia
Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café, LIQC.
** Universidad Nacional de Colombia
Departamento de Ingeniería, Ciudad Universitaria, Bogotá, Colombia.

INTRODUCCION

Entre los programas de investigación que se han venido realizando en el Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café - Federacafé, se encuentra el estudio de la obtención de aceite de café, para ser posteriormente utilizado como aromatizante en diferentes áreas de la industria de alimentos como: productos lácteos, confitería, chocolatería, pastelería e industria farmacéutica. Dentro de los métodos clásicos de extracción de aceites, en el presente trabajo se utilizó el de prensado mediante tornillo sinfín, por obtenerse aceite de mejores características sensoriales a las conseguidas por extracción con solventes (1,2,3).

El presente trabajo tuvo los siguientes objetivos:

- Establecer para la extracción del aceite de café, las condiciones óptimas de operación de una prensa de tornillo sinfín o extrusor, como son: temperatura de alimentación, variación del ángulo de extrusión, diámetro del dado y velocidad de alimentación.

- Determinar la influencia del grado de tostación sobre las condiciones de trabajo del extrusor y la calidad del aceite obtenido.

MATERIALES Y METODOS

La materia prima empleada durante los ensayos fue café verde, tipo exportación.

El tostador utilizado durante la experimentación fue construido en el Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café, Federacafé, en 1984 (4).

Se utilizó una prensa de husillo marca Komet, modelo DD85 como equipo de extracción (5).

METODOLOGIA

Para efectuar la extracción de aceite de café y poder determinar las condiciones de trabajo del equipo, se tomaron en consideración los factores que se detallan a continuación:

- Temperatura de operación.
- Velocidad de alimentación.
- Diámetro del dado de salida de la torta.
- Variación del ángulo de extrusión.
- Grado de tostación del café.

Temperatura de operación del equipo

Se colocaron por diferentes períodos de tiempo sobre la zona de extrusión, dos resistencias eléctricas de 250 W cada una para calentar ésta, obteniéndose temperaturas que oscilaron entre 117 y 170° C (5,6,7).

Las lecturas de temperatura se hicieron cada 5 minutos con ayuda de un termómetro digital, en la parte terminal del sinfín y zona adyacente al dado de salida de la torta. Durante el tiempo de proceso de extracción, se controló continuamente la temperatura en este último punto.

Sistema de alimentación

Se diseñaron embudos recortados de plástico, de diámetro de salida de 13 y 15 mm, situados dentro de la tolva original, que suministran a la máquina la cantidad adecuada de café tostado. Así mismo, se instaló un alambre con una horquilla final, fijada a una palanca ubicada en la parte superior de la tolva de alimentación, y accionado por un mecanismo que suministra un movimiento intermitente al grano de café tostado.

Diámetro del dado de salida de la torta

Se hicieron ensayos de extrusión con dados de diferentes diámetros, obteniéndose los mejores resultados con los de 10 y 12 mm.

Como la presión de trabajo está dada por el dado utilizado y variación del ángulo de extrusión, durante la experimentación se tuvieron en cuenta estos factores.

Grado de tostación del café

Esta etapa del proceso es muy importante, ya que las condiciones de extrusión y las características del aceite de café, están determinadas en gran parte por el grado de tostado del café (5).

Durante la tostación se controlaron los siguientes factores: temperatura del tostador, tiempo después de que empieza la crepitación, tiempo total de tostación, pérdida de peso, color, humedad final y densidad aparente. Para realizar la tostación del café, se hizo la alimentación a una temperatura de 230° C.

Proceso de prensado

Para controlar la elevación de la temperatura durante el proceso de extrusión, se diseñó un serpentín de enfriamiento en tubo de cobre.

La separación de la mezcla de aceite y finos de café, se realizó mediante decantación y posterior centrifugación a 3.000 y 10.000 rpm por quince y diez minutos respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

Con base en experimentación preliminar, y establecidas las condiciones patrón de calentamiento del equipo, modificación del sistema de alimentación, variación del ángulo de extrusión, utilización de dados de salida de diámetro de 10 a 15 mm, como también disminución del grado de tueste del café, se efectuaron en total 31 ensayos de extrusión.

Analizando los ensayos típicos de extrusión, se puede deducir que los mejores resultados en cuanto a comportamiento del equipo y cantidad del aceite extraído, se lograron con las condiciones de trabajo usadas en el ensayo No. 6 (ver tabla 1).

TABLA 1 - PRUEBAS TIPO DE EXTRUSION

CONDICIONES DE TRABAJO	Ensayo					
	1	2	3	4	5	6
Diámetro dado (mm)	10	10	10	12	12	10
Temperatura de alimentación ^{o} C	115	115	115	115	130	130
% pérdida tostación	15	15,4	14,2	16,5	15,2	13,3
Temperatura máxima proceso ^{o} C	162	157	150	150	135*	135*
Tempperatura aceite extraído ^{o} C	120	120	115	113	101	103
% aceite extraído	5,6	5,6	5,4	4,6	4,6	5,6
% pérdida en proceso	2,3	3,5	4	3,9	4,3	4,5

* condiciones controladas con serpentín de enfriamiento

Se efectuaron controles a la materia prima y subproductos, como también análisis a las características físico-químicas del aceite de café extraído en el ensayo antes mencionado. Estas condiciones han sido aplicadas en trabajos posteriores de investigación, encontrándose aceptables las características sensoriales del aceite de café, datos que serán posteriormente publicados (ver tablas 2 y 3).

TABLA 2 - CONTROLES: café verde, café tostado y subproductos de extrusión

PRODUCTO	% humedad	% contenido de aceite *	% pérdida de peso
Café verde	9,7	12,56	
Café tostado	1	14,54	15
Torta	0,88	6,51	
Cuncho (lodo)		48,33	

* En base húmeda

TABLA 3 - ANALISIS FISICO-QUIMICO DE ACEITE DE CAFE *

Indice de acidez, mg de KOH por gramo de muestra	417
Indice de refracción a 20° C	1,479
Indice de saponificación	179,5
Indice de yodo	95
Densidad relativo 20° C/20° C	0,9387

* Análisis efectuados por el Laboratorio Químico Nacional - Ingeominas

CONCLUSIONES

El mejor funcionamiento del equipo y la mayor cantidad de aceite se lograron con las siguientes condiciones promedio de trabajo:

a) El grado de tueste del café; la pérdida de peso en base húmeda debe ser del 13 al 15 %.

b) El embudo de alimentación debe tener un diámetro de salida de 13 a 15 mm, acorde con los diámetros de las boquillas usadas.

c) Para las finalidades de este trabajo, se han de usar los dados de salida de 10 y 12 mm, con una variación del ángulo de extrusión de 6 y 4,5 mm respectivamente.

d) La temperatura inicial de alimentación debe estar comprendida entre 120 y 130° C, condiciones que se deben conservar durante el proceso, para lograr una temperatura promedio en el aceite extraído de 95 a 105° C.

BIBLIOGRAFIA

1. ANDERSON INTERNATIONAL - EXPELLER PRESSES BULLETIN 359 R. USA
2. BAILEY E., ALTON. Aceites y grasas industriales, Editorial Reverté S.A., Barcelona, 1969.
3. BERNARDINI, E. Tecnología de Aceites y Grasas, Editorial Alhambra S.A., 1981.
4. ESPINEL, C.F., POSADA EDUARDO. Diseño y construcción de un torrefactor experimental para la planta piloto de física, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Diseño Industrial, 1984 (Tesis de Grado).
5. FALLA LUIS, POSADA EDUARDO. Determinación de las condiciones de extracción de aceite de café, por extrusión. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café, 1988.
6. GUTIERREZ, M.E., POSADA EDUARDO, Extracción de aceite aromatizado a partir de café tostado, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ingeniería Química, 1987 (Tesis de Grado).
7. MONTES, E.R., POSADA EDUARDO, Recuperación de volátiles de la tostación y extracción para el enriquecimiento del aceite extraído del café, Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ingeniería Química, 1987 (Tesis de Grado).

RESUMEN

El presente trabajo describe un estudio sobre la extracción de aceite de café por extrusión con el fin de utilizarlo como aromatizante.

Para establecer las condiciones óptimas de extracción, se determinó la influencia de factores tales como: grado de tueste, temperatura de alimentación, variación del ángulo de extrusión, diámetro de la boquilla y la velocidad de alimentación, sobre el rendimiento y calidad del aceite de café.

Al analizar los resultados obtenidos durante la realización de este trabajo, puede deducirse que todos los factores antes mencionados inciden marcadamente sobre el buen funcionamiento del equipo y rendimiento en aceite de café, el cual se mejoró con respecto a trabajos anteriores.

Résumé

Détermination des conditions d'extraction de l'huile de café par extrusion.

Le présent travail décrit une étude sur l'extraction de l'huile de café par extrusion dans le but d'utiliser celle-ci comme aromatisant.

Afin d'établir les conditions optimales d'extraction, l'influence des facteurs suivants sur le rendement et la qualité de l'huile de café a été précisée : degré de torréfaction, température d'alimentation, variation de l'angle d'extrusion, diamètre de la buse et vitesse d'alimentation.

L'analyse des résultats obtenus au cours de la réalisation de ce travail permet d'estimer que tous les facteurs ci-dessus mentionnés ont une influence marquée sur le bon fonctionnement du matériel et le rendement en huile de café, dont la qualité est par ailleurs améliorée par rapport aux travaux antérieurs.

DECAFFEINATION OF COFFEE SAMPLES BY CO_2-EXTRACTION

E. LACK, H. SEIDLITZ *, P. TORO **

* Schoeller Bleckmann Gesellschaft mbH, A-2630 Ternitz, Austria.
** Toro & Cia, Bogotá, Colombia.

1) Introduction:

The increasing sensibility of the consumer against chemical solvents in the food-industry has led to the development of solvents which are of natural origin. Water and alcohol as classical solvents in the food industry are not applyable for the extraction of unpolar substances. With the development of high pressure extraction a new solution for such extraction problems was found. From the beginning of this technology, Carbondioxide was found to be an optimal solvent. In connection with CO_2 the decaffeination of green coffee was the first industrial application.

2) CO_2 as a gas and a solvent:

The great potential of supercritical CO_2 as a solvent is derived from the fact that CO_2 is a very selective extraction agent that removes caffeine almost exclusively.

Other advantages for the decaffeination with CO_2 are:

a) critical temperature close to ambient temperature
b) very low loss of weight of the extracted coffee beans
c) non-toxic substances in the process
d) cheap, easily available, non dangerous and not inflammable extraction agent
e) color and odour of the extracted beans remain more natural than with any other extraction process
f) the extracted caffeine is of highest purity and requires only little refining.

3) T-S diagram of CO_2 (Fig. 1):

At ambient pressure and temperature CO_2 is a gas and an integral part of the air. To make the caffeine dissolvable in CO_2, CO_2 needs the density of a liquid. The T-S diagram shows the possible range for the supercritical process in which CO_2 has this extraction behaviour.

Please refer to the area above the critical pressure and the critical temperature.

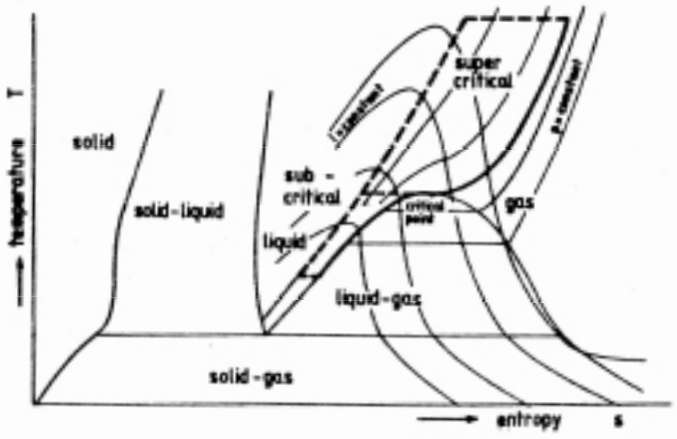


Fig. 1

4) Simplified experimental plant (Fig. 2):

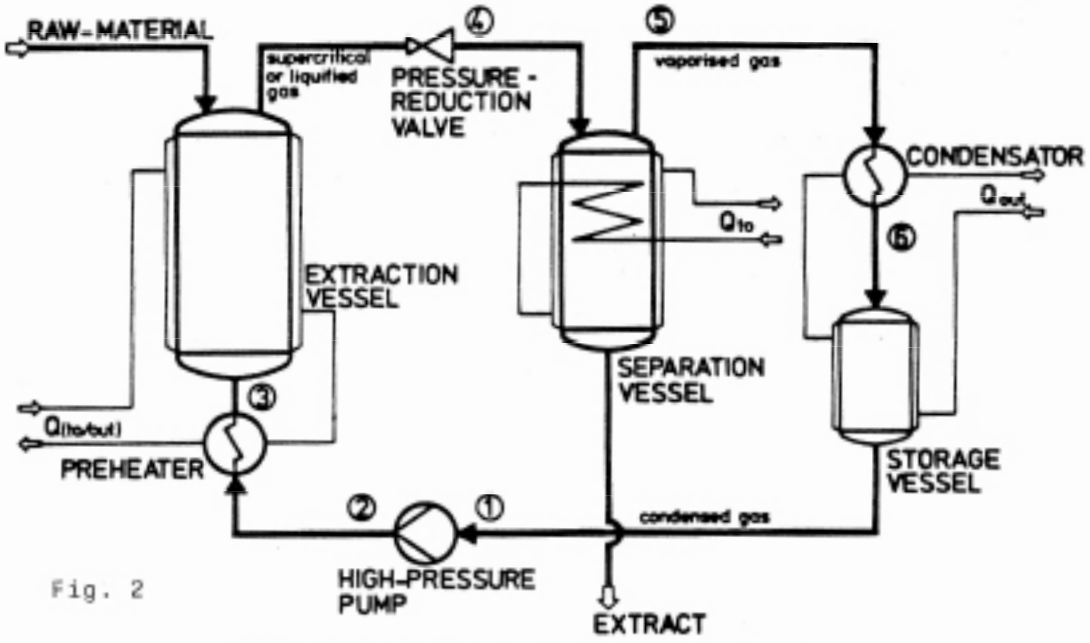


Fig. 2

FLOW-SHEET OF THE EXPERIMENTAL PLANT

The basic equipment for an experimental plant for high pressure extraction consists of the following parts:

One or more extractors, one or more separators, a pump or a compressor for the CO_2 circulation, a storage vessel for CO_2 and heat exchangers. The process operates batchwise in respect to the coffee beans and continuousely in respect to the CO_2 circulation. In small plants, the separation of caffeine from the CO_2 is achieved by means of pressure reduction. In big plants separation is done in an isobaric process. There the separation steps operate on the same thermodynamic conditions as the extraction steps. The caffeine loaded CO_2 is treated in several separation steps, where it is separated from the caffeine.

5) **Design criteria:**

Let us first discuss how to design a production plant based on tests carried out in a laboratory scale plant. In the laboratory extraction testrun, all parameter influencing the extraction process are measured simultanously and recorded. It is useful to measure the main parameters separately to obtain a clear picture of the process. The main parameters can be subdivided into the following groups:

the basic data of the raw material to be extracted
the thermodynamic conditions in extractors and separators
the mass transfer of caffeine into the CO_2
the HPE-process in the TS-diagram
the separation of caffeine from the CO_2.

These basic data inform about the chemical and physical properties of the raw material. With coffee it is necessary to increase the moisture content of the green beans from 8-10 wt % to about 40-45 % before extraction. After the extraction the beans have to be dryed again to the original moisture content of 8 - 10 wt %. Other decaffeination processes work in a similar manner.

6) **Thermodynamic conditions**

One of the greatest advantages of HPE is the possibility to vary the solvent properties of CO_2 by varying pressure and/or temperature. During extraction it is desireable to have a high CO_2 solubility for caffeine, resulting in a low consumption, whereas after separation, a very low caffeine content in the CO_2 is requested.

Recirculating the CO_2 allows for the highest possible decaffeination of the beans. The most economic pressure for the extraction is 240 to 280 bar according to our experience (Fig. 3). The optimal temperature range is from 65 to 90° C. Higher temperatures reduce the quality of the beans. Very good qualities are achieved by increasing the temperature during the extraction period as proposed in the patent. D.E.3445502A1.

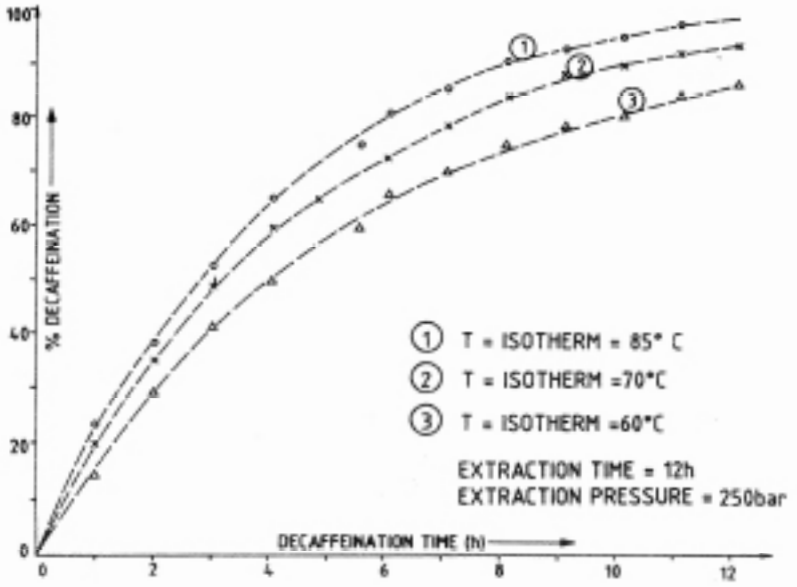


Fig. 3

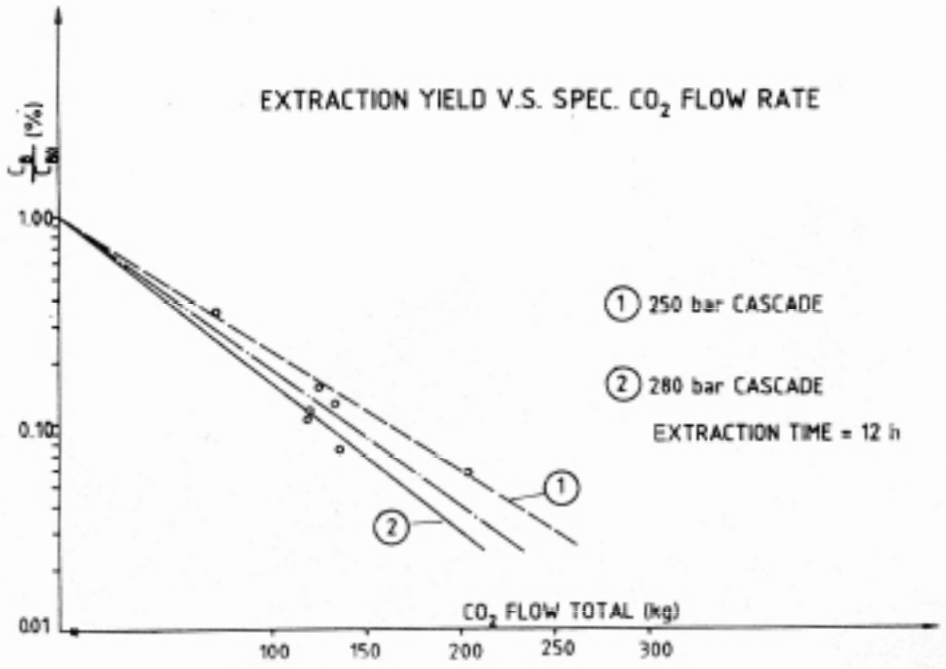
7) Optimization of the Mass-Transfer

The target of mass transfer studies is the determination of the optimum solvent mass flow rate resulting in the highest possible extraction efficiency.

The energy consumption is directly proportianal to the mass flow rate and therefore important for the operating costs. The optimum mass-flow rate is determined with about 10 to 30 kg CO_2 per hour per kg green coffee beans.

(Fig. 4) shows the required CO_2 mass flow for different extraction pressures. Similar to the conventional extraction methods, the diffusion behaviour and the hydrodynamic parameters in the extractor influence the mass transfer. The green coffee beans have a relatively big grain size and a sealing behaviour of their skin. The diffusion coefficient which dominates the velocity of the mass transfer is therefore relatively low. Another important fact for the mass-transfer is the behaviour of the solvent loading in relation to the CO_2 - quantities and the hight of the beans in the extractor.

Fig. 4



(Fig. 5) shows the caffeine concentration in CO_2 and in the washing water as extracted in the pilot plant of SCHOELLER-BLECKMANN incorporating 4 extractors. Each extractor has an extraction volume of 35 l operating either in serie or parallel. Although the caffeine concentration in the CO_2 varies in the test run within a range 150 g per kg CO_2, the caffeine concentration in the washing water is relatively stable. This diagram shows only part of a long time test run, which usually takes about 100 hours non stop.

(Fig. 6) shows the pilot plant at Schoeller-Bleckmann/ Ternitz-Austria

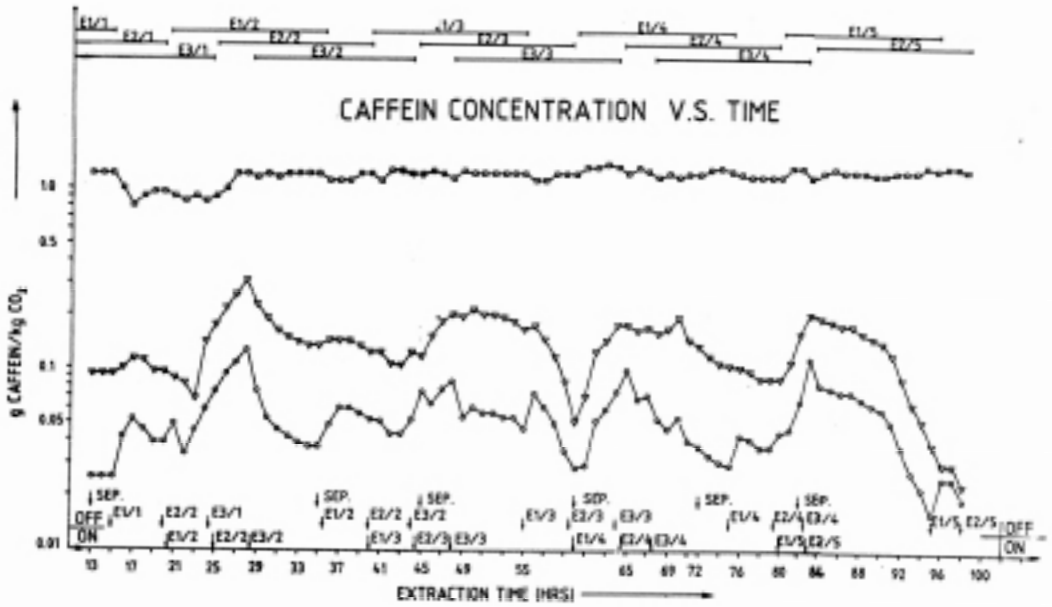

CAFFEIN CONCENTRATION V.S. TIME
g CAFFEIN/kg CO2
EXTRACTION TIME (HRS)

Fig. 5

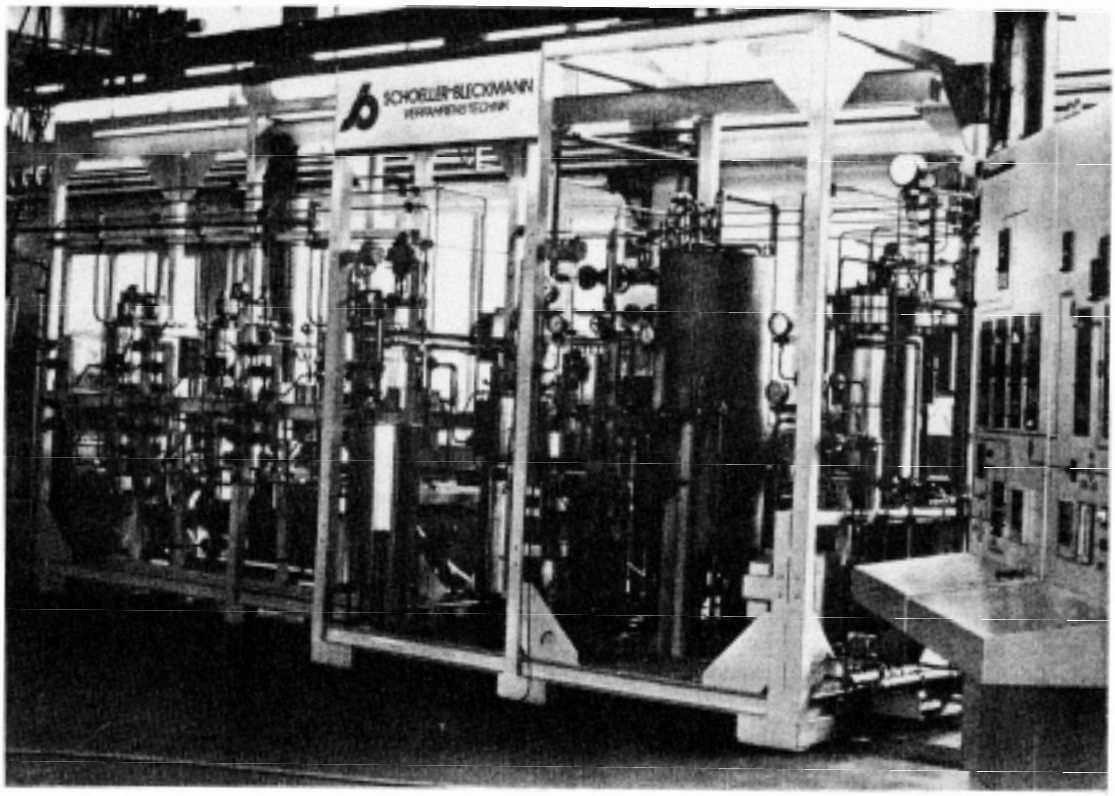

SCHOELLER-BLECKMANN

Fig. 6

8) **Cyclic process in the Temperature - Entropic-Diagram**

Important for the energy costs is the evaluation of a certain cyclic process. There are various possibilities in the supercritical phase to run the process. For determining the best cyclic process a computer programm enabling us to calculate several process variations is being used.

(Fig. 7) shows the flow diagram of the CO_2 cycle of a large scale extraction plant for green coffee beans. This plant is designed with four extractors. The process works isobar and isotherm, which means the same thermodynamic conditions are prevailing. With the circulation pump P 309 the regenerated CO_2 is pumped through three extractors which are connected in series. The caffeine-loaded CO_2 flows through the heat exchanger E 310 into the washing column S 306 and is regenerated by being washed countercurrently with fresh water. For better CO_2 regeneration and therefore less final caffeine concentration in the beans, a final cleaning of CO_2 is necessary.

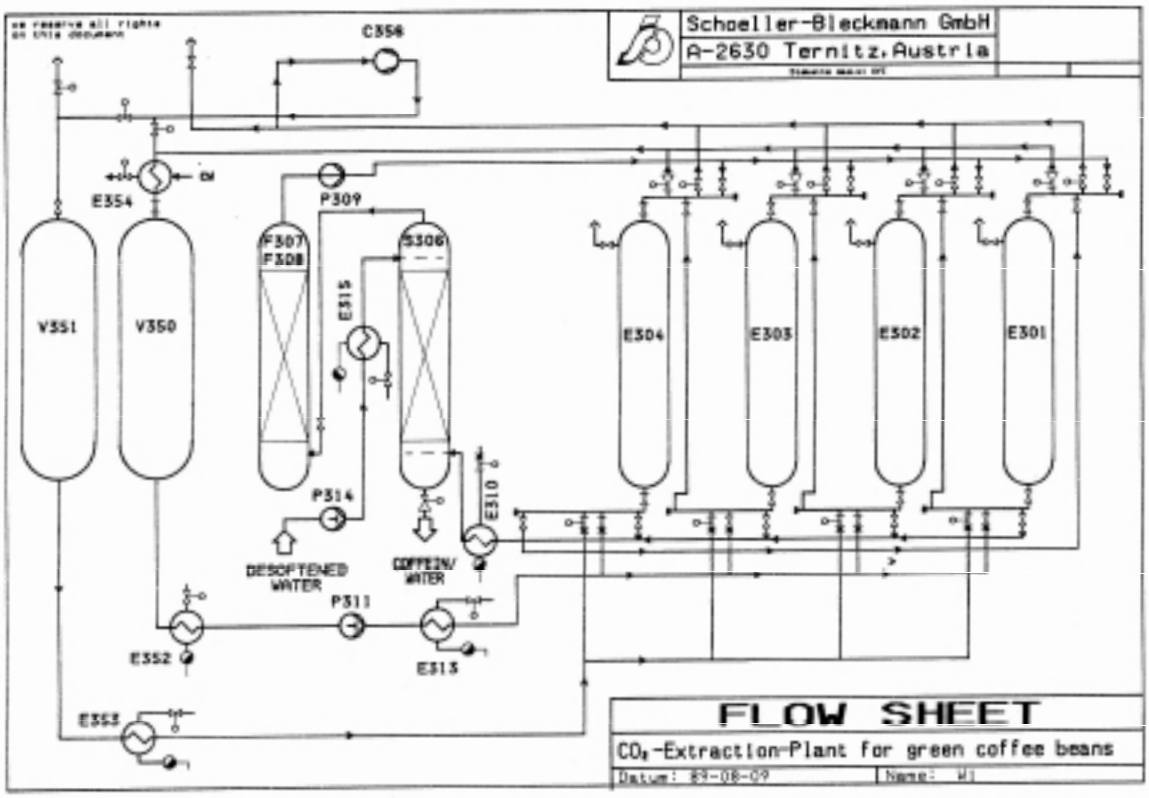


Fig. 7

One of the four extractors is always disconnected, the CO_2 pressure is released, the extractor is discharged and refilled with coffee beans and, eventually, repressurised by means of pump P 311. Then the estractor is reconnected to the CO_2 process and another extractor disconnected.

(Fig. 8) shows the flow diagram for the coffee pretreatment, handling, drying and dispatch of the coffee beans . These steps are the same as in other decaffeination processes. The pretreatment consists mainly of the storage and the moisturizing. After extraction the beans are dryed to 8 to 10 wt % and stored.

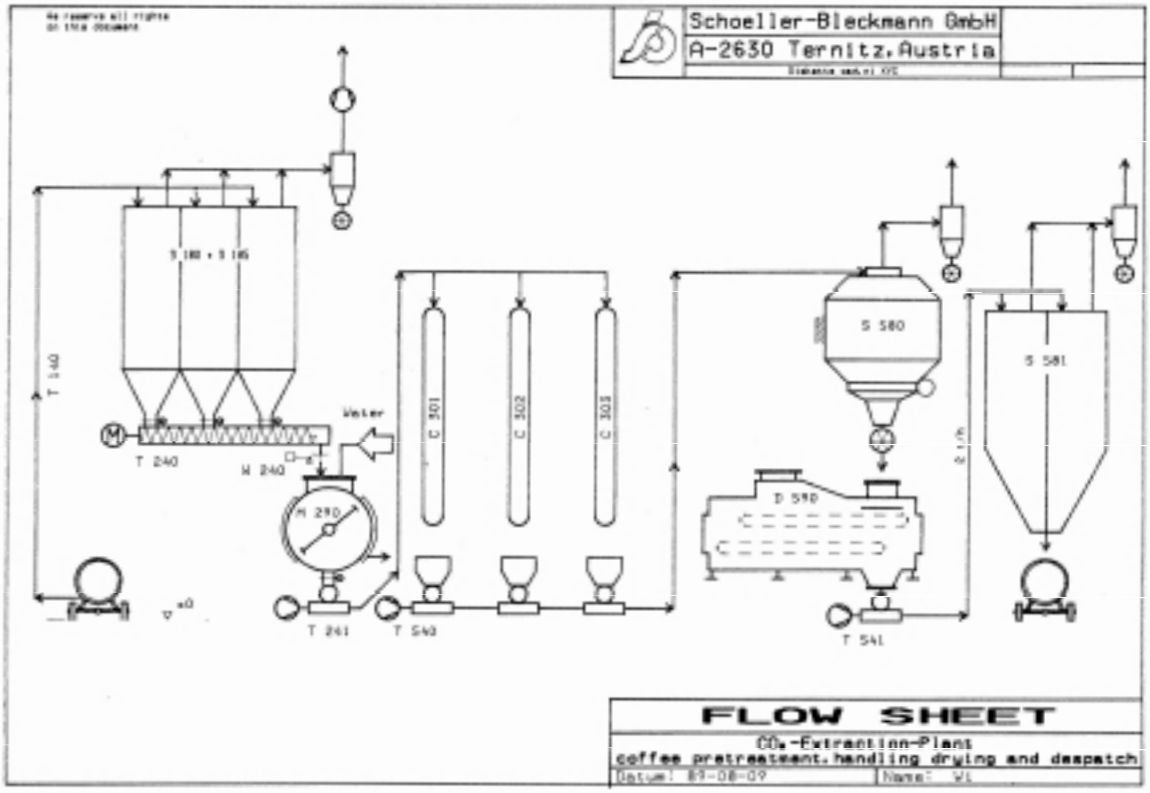


Fig. 8

(Fig. 9) shows the flow diagram for the decaffeination of liquid extract of coffee. The process operates fully continuously. The circulation pump transports the regenerated CO_2 through the extraction column and extracts in countercurrent mode the caffeine from the liquid coffee. The coffeine-loaded CO_2 is regenerated in the same way as described before. The vessels S 470 to S 473 serve to expand the solution. This process is useful for the decaffeination of liquid coffee extract, and for water that extracted green coffee (Zosel Patent DE2905078C2).

(Fig. 10) gives approximate information about the coffee markets and the quantities which are decaffeinated. The quantities of decaffeinated green coffee beans are about 300.000 t per annum and the consumption in US, Europe and Japan are increasing. Extraction with CO_2 and water are being favoured whereas decaffeination with Methylene chloride is decreasing. Decaffeination of instant coffee with CO_2 is also being applied more and more by industrial companies.

The last picture (Fig. 11) shows a comparison between the four most important decaffeination processes. The CO_2 extraction process requires the highest investment costs, however proves superior to the other processes in respect to operating costs, low production losses, quality and health considerations.

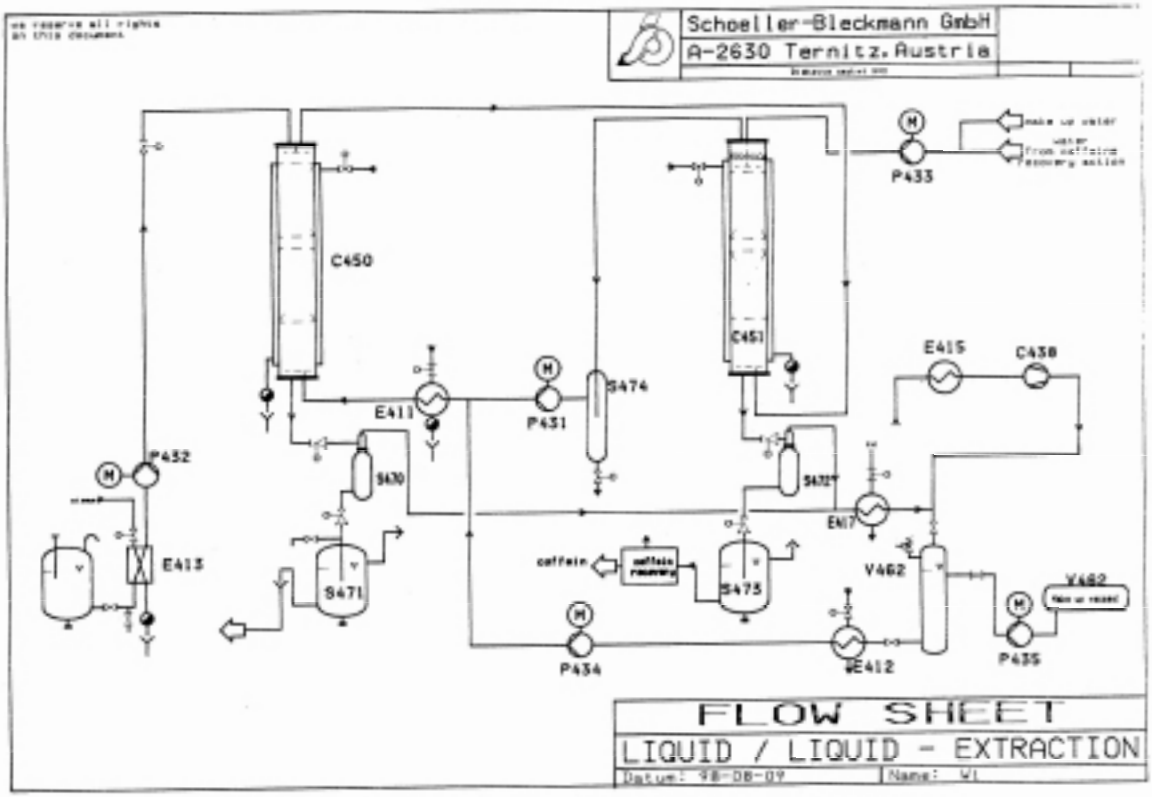

Schoeller-Bleckmann GmbH
A-2630 Ternitz, Austria
C450
C451
P433
E415
C438
E411
P431
S474
P432
S470
S472
E417
E413
S471
coffein
S473
V462
P434
E412
P435
FLOW SHEET
LIQUID / LIQUID - EXTRACTION

Fig. 9

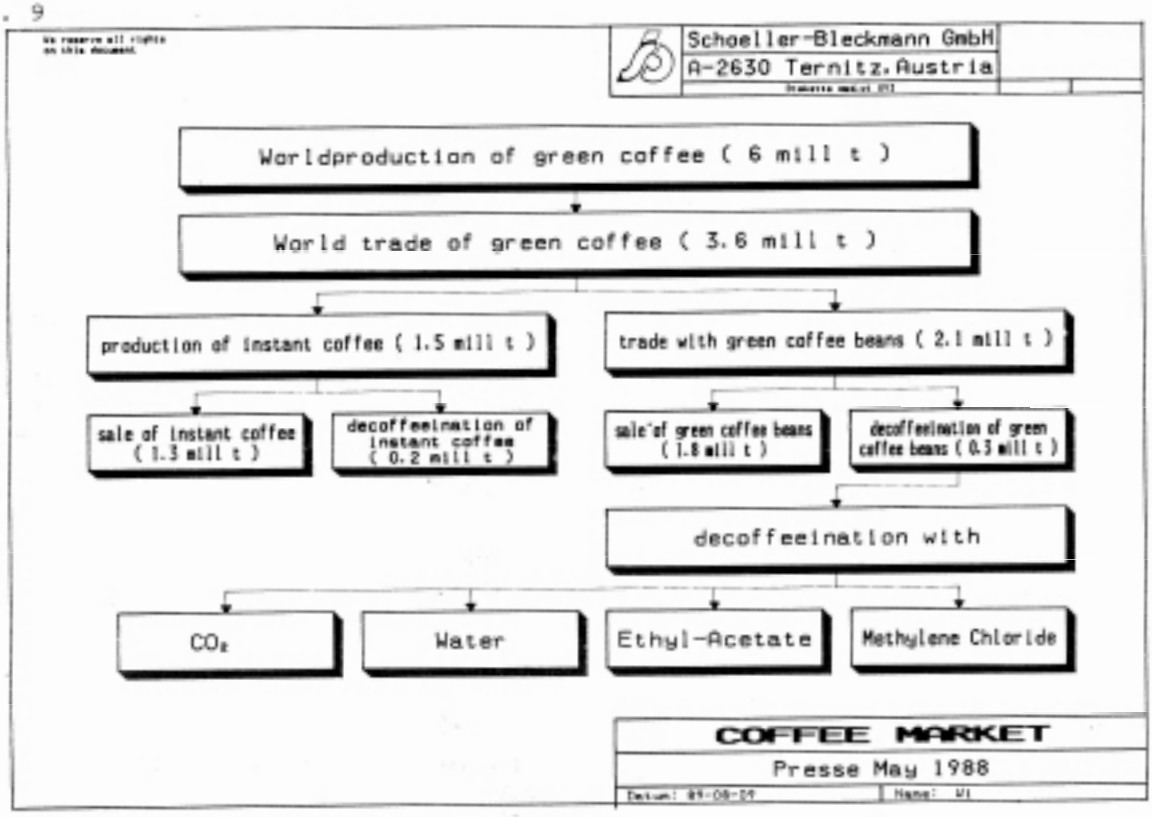

Schoeller-Bleckmann GmbH
A-2630 Ternitz, Austria
Worldproduction of green coffee (6 mill t)
World trade of green coffee (3.6 mill t)
production of instant coffee (1.5 mill t)
trade with green coffee beans (2.1 mill t)
sale of instant coffee (1.3 mill t)
decoffeeination of instant coffee (0.2 mill t)
sale of green coffee beans (1.8 mill t)
decoffeeination of green coffee beans (0.3 mill t)
decoffeeination with
CO2
Water
Ethyl-Acetate
Methylene Chloride
COFFEE MARKET
Presse May 1988

Fig. 10

We reserve all rights on this document

Schoeller-Bleckmann GmbH
A-2630 Ternitz, Austria

Process	Investment 0-100 Scale	Operating costs 0-100 % Scale (1)	Product (2) Losses %	Organoleptic Characteristics 0-100 Scale	Health Considerations	Remarks
Water extraction	80	97	5.0 %	65	Excellent	
Ethyl Acetate	90	100	4.0 %	70	Good	Flamable non-natural taste.
Methylene Chloride	85	75	2.0 %	75	Toxic	Non- natural taste.
Supercritical CO_2	100	70	0.3 %	95	Excellent	

1) Includes cost of product losses.
2) Does not include extracted caffeine.

Fig. 11

Summary

The advantage of high pressure extraction with CO2 - to produce extracts and extracted products without residual solvents - has lead to increasing interest in this technology. The selective extraction of caffeine from green coffee beans and the resulting fine quality of the decaffeinated coffee caused very early the development of an industrial decaffeination process with CO2.

Nowdays the decaffeination of green coffee beans is a fully developed industrial technology and other new decaffeination processes are being developed for industrial production. One of these is the decaffeination of aqueous extracts of roasted and ground coffee. This liquid-supercritical extraction can be performed in a full continuous mode. After the extraction the caffeine loaded CO2 can be regenerated with activated carbon and with a countercurrent washing column by means of hot water. Caffeine can be produced out of this hot water. Another process is the decaffeination of aqueous extracts out of green coffee beans, as this results in the water extraction process. This last process needs further research work.

The economy of these processes is discussed and from the analysis of the investment costs a certain capacity for the plant is selected with an optimum economy.

Résumé

Décaféination d'échantillons de café par extraction au CO_2.

L'avantage que présente l'extraction au CO_2 sous haute pression de fournir des extraits et des produits extraits sans résidus de solvants a entraîné un intérêt grandissant pour cette technologie. L'extraction sélective de la caféine à partir des grains de café vert et la qualité du

café décaféiné obtenue ont très tôt suscité le développement d'un procédé industriel de décaféination par CO_2.

Actuellement la décaféination des grains de café vert est une technologie industrielle tout à fait au point et de nouveaux procédés de décaféination sont mis au point pour la production industrielle. L'un d'eux consiste à décaféiner des extraits aqueux de café torréfié et moulu. Cette extraction par un liquide à l'état supercritique peut être conduite de façon continue. Après extraction, le CO_2 chargé en caféine peut être régénéré par du charbon activé et à contre-courant sur une colonne de lavage avec de l'eau chaude. La caféine peut être récupérée à partir de l'eau chaude. Un autre procédé consiste à décaféiner des extraits aqueux de grains de café vert, comme dans le procédé d'extraction à l'eau. Cette dernière technique nécessite de plus amples recherches.

L'aspect économique de ces procédés est discuté et l'analyse des coûts d'investissement permet de sélectionner une certaine capacité de production avec une économie optimale.

PHYSICO-CHEMICAL AND STRUCTURAL CHARACTERISATION OF "ESPRESSO" COFFEE BREW

M. PETRACCO
Illycaffè
via Flavia, 110, Trieste (Italy)

1. Introduction

In this work we study some physical, chemical and structural properties of the beverage known as "espresso coffee", in order to evaluate the concrete elements that could explain the success met by the "Italian style" brewing method even on markets of different traditions.

It can be seen indeed [1] [2] that the "tazzina" (Italian for small cup) is becoming a wider and wider used way to enjoy the virtues of tastefulness and stimulation of coffee in a dynamic society who is replacing new lively and quicker "rites", compatible with modern life rhythm, to the traditional forms of socialisation before a nervine drink that are typical of more relaxed civilisations.

It has been noticed long since [3] [4] that in nearly all cultures the forms of meeting together at ease, discoursing and digressing with socialisation (briefly: the equivalent of well known "coffee break") are psychological rituals that happen preferably before a cup of hot and fragrant beverage, normally a caffeine containing one: from an economist's point of view the most important one is certainly coffee [5], followed by tea, cocoa, mate and other less widespread ones (guarana, cola, cassina).

These rituals need usually time and comfort that are not always available or enjoyable: more and more infrequently can an Occidental worker devote during his busy working day a half-hour to sit down and sip a fine coffee cup, better if accompanied by a cake !

The need of a rite, or "break" is still existing: let's squeeze it in a shorter time, business-compatible, let's rather repeat it several times during the day, but let it leave a pleasant and protracting memory.

Italian-style "ristretto" espresso cup does fulfil well these needs by means of its characteristics, because:

- it consists of a small volume of beverage, typically not more than 40 ml, which is consumed generally in not more than three draughts
- it is a fast energy carrier, thanks mainly to added sugar, at consumer's wish
- it is an optimal nerve stimulation carrier, thanks to its limited caffeine content
- it keeps all the digestive qualities commonly appreciated in coffee infusions
- it has a sheerly high sensorial impact, because acts in a concentrate way on:
  - smell
  - taste
  - flavour
  - mouthfeel
- it leaves a long memory of the taste (after-taste), which may last even a quarter of an hour.

In the face of these characters, well known by Italian and more and more by European and North-american consumers, we noticed a lack of objective scientifically systematised data trying to explain the reasons.

We engaged therefore in the study of physical, chemical and structural properties of the beverage, focalising at first our efforts in trying to explicate the attribute which most often is related to the espresso image, that is mouthfeel, or body.

2. Review of Previous works

The first obstacle encountered by anyone undertaking the study of the drink "espresso coffee" lies at the very beginning: in order to speak about characterisation, indeed, he must rely upon some kind of definition of the material to be characterised.

This is not so easy as one could think, for we are dealing with a traditional preparation method which has been evolving during decades, thanks to the application of consecutive approximations suggested by the power of observation of people employed in brewing cups: those personages are craftsmen who in Italy have their own professional rank.

Non-commercial literature is meagre even about simple descriptions of espresso brewing procedure: after the historic chronology of Ukers where pioneers Bezzara and Pavoni are cited [6], the most usable information are maybe those reported in the works of Sivetz [7] and Rothfos [8].

Following the most widespread meaning we may speak correctly of espresso only when we examine a freshly brewed cup (compare Italian "espressamente" = on purpose), in single or double dose, by means of a percolation device applying a considerable hydrostatic pressure (compare Latin "ex pressus" = pressed out).

Checking craftsmen's practice, that has settled as a "golden rule" at least in Italy, we can extract the following data:

		min	max
weight of coffee (roasted and ground)	[g/cup]	5	8
beverage volume	[ml/cup]	25	60
extraction time	[s]	15	35
extraction pressure	[bar]	7	12
extraction temperature	[°C]	86	92

Not much about the analysis of the drink has been written either: in spite of the fact that physico-chemical evaluation of raw or roasted coffee has widely been treated in many recommendable publications (see for instance [9] and [10]), the few general short accounts we found, dealing with analytical data of aqueous coffee extracts, are in [11].

Espresso brew has been inspected, limited to some aspects of soluble solids and caffeine extraction kinetics, by Nicoli et al.[12], and relationships between preparation procedure and cup outcome have been investigated by Dalla Rosa et al.[13].
For what's concerning organoleptical definition of the sensorial parameter "mouthfeel" read the several Szczesnjak's works [14] and Bohlin's et al.[15], based on rheometry.

3. Samples preparation

Some beverage samples have been prepared (using Illycaffe' pure Arabica blend, Italian roasting) by means of espresso machines of both professional and home type, varying parameters values: a panel of trained assessors was evaluating its mouthfeel.

A couple of samples, strongly different according to assessor's judgement, has been obtained varying the geometry of the cake made up of ground and compacted coffee until the percolation time was halved. These two cups, that we shall name Hi-body and Lo-body, have been submitted to physical and rheological tests, to chemical proximate analysis by families and to structural inspection under optical and electronic, both scanning and transmission, microscopes.

The observation that mouthfeel increases as total extraction volume decreases generated an interest to analyse the consecutive time fractions of a Hi-body brew as well. At this aim a rack of test tubes has been used, which was shifted at regular time intervals under the percolating beverage gush.
Obviously the multiple iteration of the procedure has been needed, in order to collect a sufficient mean sample quantity for the tests.

4. Hi- / Lo-body comparison

4.1 Physical tests

The following physical properties have been examined:

- refractive index (and its evolution with temperature)
- density
- viscosity (and its evolution with temperature)
- presence and granulometry of dispersed phases
- pH (and its evolution with temperature)
- dry residue

As reported in synoptic table 1, the differences of density, refractive index and pH are not specially meaningful.

More interesting show up those of viscosity (and its dependance from temperature), and further those of presence of particulate matter: both seem to us logically related to the dry matter difference, which may well denote the presence, besides solutes, of a dispersed phase, modifier of rheologic properties. No non-newtonian behaviour has on the other hand been observed.

Such results advised a structural and histochemical microscopical study, hoping to clear up further the essence of this dispersed phase.

1st SYNOPTICAL TABLE (physical data)			Hi-body	% diff. f(T)	Lo-body	% diff. f(T)	% diff.
refr.ind.	Hi temp (45°C)		1,3382	0,3%	1,3370	0,2%	0,1%
	Lo temp (20°C)		1,3417		1,3399		0,1%
density	(20°C)	[kg/l]	1,0084		1,0049		0,3%
viscosity	Hi temp (45°C)	[mPa s]	1,639	22,6%	1,315	14,6%	24,6%
	Lo temp (30°C)		2,009		1,507		33,3%
	mean (45°C)		1,406		1,283		9,6%
pH	Hi temp (45°C)		5,53	0,2%	5,52	0,9%	0,2%
	Lo temp (20°C)		5,52		5,47		0,9%
tot.solids		[g/l]	47,8		39,6		20,7%
granulom.	D50%	[µm]	2,47		4,28		73,3%
	D90%		17,7		35,1		98,3%
	span		6,85		8,05		17,5%

4.2 Structural study

Some drops of freshly brewed beverage have been examined under an optical microscope at various magnifications.

Both Hi- and Lo-body specimens show the presence of a high number of small particles of varied shapes suspended in water (fig.1).
Some of them may be identified as cellular wall fragments of roasted coffee; others, of spherical shape and of varied size, are present in much higher number.

In order to determine the nature of the latter, two histochemical staining techniques have been used: addition of Sudan IV dye and exposure to osmium tetroxide vapours. Both techniques are claimed effective for lipids demonstration.
Almost the totality of the spherical particles has been recognised as lipids droplets, forming emulsion, whereas few have been interpreted as gaseous bubbles surviving the manipulation time which is inevitably not short.

The presence of such structures has been confirmed by scanning electron microscopy (SEM), where both particle types have been put into evidence after removal of the aqueous matrix by ultrafiltration on porous membrane (fig.2).
The fine structure of the particles have been investigated by transmission electron microscopy (TEM), where surface details appear, maybe related to lipid droplet (fig.3) or gaseous bubble (fig.4) nature.

A higher optical magnification (x 1000) shows up the enormous number of very small lipid droplets: down to 1 μm, and an evident difference between Hi- and Lo-body specimens may be appraised, embracing both number and average size (fig.5).

The application of computerised image analysis allowed to quantify those quantities (fig.6), leading to observe how Hi-body specimens have:

- higher number of droplets per unit surface
- smaller mean diameter (about 3 μm)
- narrower dimension distribution.

This result, that seems to us the most important so far, suggests that the rheological properties of the beverage are due mainly to emulsion effects, and are related to both total quantity (see next point) and dimensional characteristic of this dispersed phase.

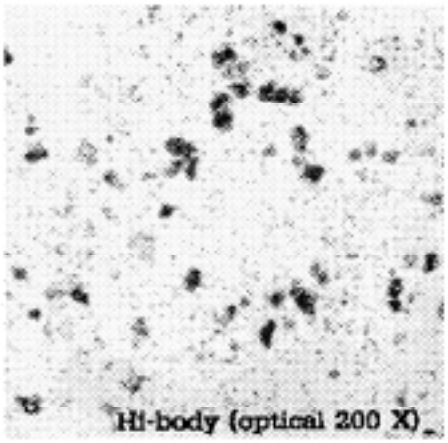


fig.1

fig.2

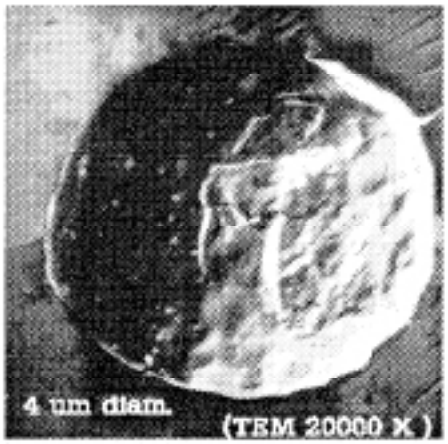


fig.3

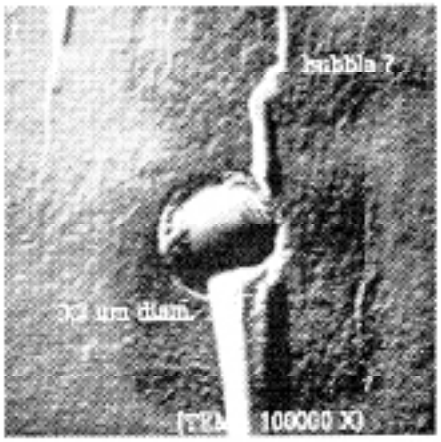


fig.4

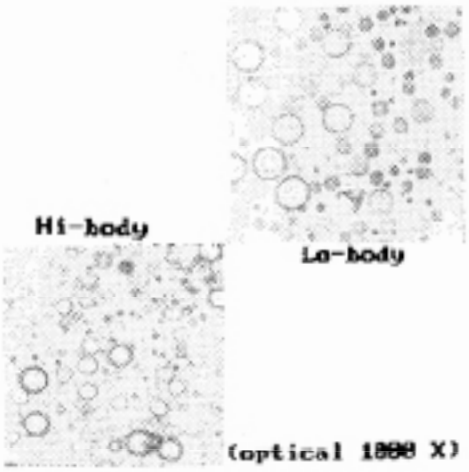


fig.5

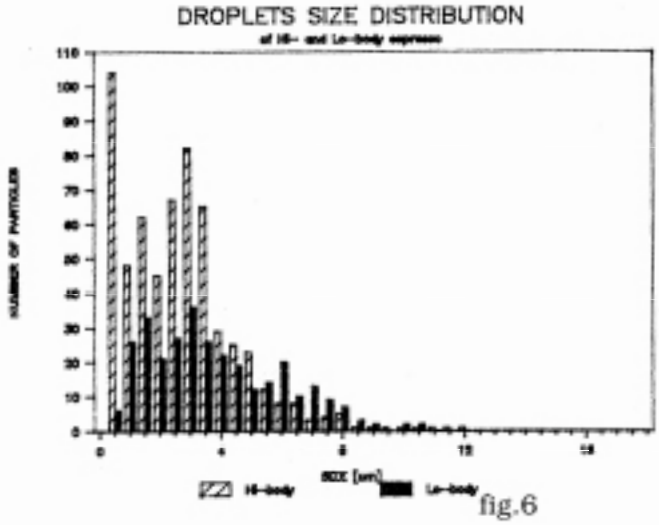


fig.6

4.3 Chemical analysis

The following chemical properties have been investigated:

- UV spectrum
- lipids content
- Kjeldhal nitrogen content
- caffeine content

Lipids content (see synoptic table 2) shows a meaningful difference between Hi- and Lo-body, and that strengthens what recently hypothesised after the microscopical study on emulsion effects.

Neglecting some other logical results (higher UV absorption, higher nitrogen containing substances content, among which caffeine) little further discrimination has been obtained from the rest of this oversimplified analytical session: it proved nevertheless useful in order to programme a fuller survey for the time fraction analysis (see point 5.3).

2nd SYNOPTICAL TABLE (chemical data)		Hi-body	Lo-body	% diff.
lipids	[g/l]	2,62	2,38	10,1%
nitrogen	[g/l]	1,44	1,27	13,4%
caffeine	[g/l]	1,08	1,02	5,9%
UV adsorbance @ 276 nm	[arbitr.]	>200	174	>14,9%
UV adsorbance @ 320 nm		167	126	32,5%

note: 276 nm = ? caffeine peak
320 nm = ? clorogenic acid peak

5. Fractions comparison

5.1 Physical tests

As what's concerning the fractioned extraction, the above mentioned tests have been made on every fraction, with the addition of the dry matter determined on the limpid liquid after supercentrifugation, and obviously of the collected volumes.

The variability of these volumes (fig.7) comes to remember us that the hydraulic process of dynamic extraction under pressure is strongly influenced by coffee cake morphology, and hence by its grinding degree homogeneity and by compaction evenness.

Density and refractive index trends (see synoptic table 3) are quite logical, thinking of the higher dilution of the subsequent fractions, while some perplexity is arising from the increasing viscosity (at room temperature) of the very last fractions: though not dramatic, we might think about a contribution from high molecular mass substances, difficult to be extracted.

Let's note also that the first fraction, after dilution to same dry matter content as the last, shows same viscosity.

While the contribution to refractive index of the insoluble (floating and settled) parts seems negligible, the interesting decreasing trend of truly soluble matter percentage in dry residue as the extraction proceeds might make us think at first about an increase in the emulsified lipids fractions. This hypothesis is yet confuted by the extraction lipids analysis (see following point 5.3), where on the contrary a clear decrease after the very first fractions is evident.
As a possibility remains thence that the increasing insolubles are essentially suspended solids, which are dragged into cup in a fairly constant way.

The granulometrical analysis of the dispersed phase shows a sharp decrease of the median particles (droplets ?) diameter after the second fraction: this seems to be related to the so much sharp decrease in lipids content.

3rd SYNOPTICAL TABLE (physical data)			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	average
rofr.ind. (20°C)	total		1,3534	1,3426	1,3385	1,3367	1,3357	1,3349	1,3347	1,3343	1,3341	1,3340	1,3379
	centril.		1,3523	1,3422	1,3384	1,3362	1,3358	1,3349	1,3347	1,3345	1,3342	1,3340	1,3377
density		[g/ml]	1,05	1,03	1,02	1,02	1,02	1,03	1,03	1,03	1,04	1,03	1,03
viscosity (mean)	(45°C)	[mPa s]	6,23	1,16	0,69	0,7	0,66	0,69	0,8	0,68	0,73	0,71	1,31
	(20°C)		7,46	2,01	1,28	1,20	1,51	1,08	1,46	1,22	1,53	1,60	2,03
total solids		[g/100g]	13,14	5,45	2,95	1,73	1,22	0,90	0,58	0,52	0,36	0,33	2,72
soluble solids			11,24	4,58	2,55	1,46	0,92	0,65	0,45	0,27	0,16	0,15	2,26
sol./tot. solids		[%p.]	86%	84%	86%	84%	75%	72%	78%	52%	44%	45%	83%
insoluble solids		[mg/100g]	1900	870	400	270	300	250	130	250	200	180	455
lipids			1321	691	301	131	91	20	23	17	12	8	261
lip./tot.sol.		[%p.]	10%	13%	10%	8%	7%	2%	4%	3%	3%	2%	10%
lip./ins.sol.			70%	79%	75%	49%	30%	8%	17%	7%	6%	4%	57%
sedimented		[mg/100g]	579	179	99	139	209	230	107	233	188	172	194
granulom.	D50%	[µm]	19,92	19,72	2,29	2,19	2,22	2,24	2,23	2,21	3,14	2,08	5,824
	D90%		64,7	59,44	16,2	12,58	14,4	16,86	12,42	13,11	10	7,43	21,714
	span		2,6	2,9	6,8	5,4	6,2	7,2	5,3	5,5	5	3,2	5,02

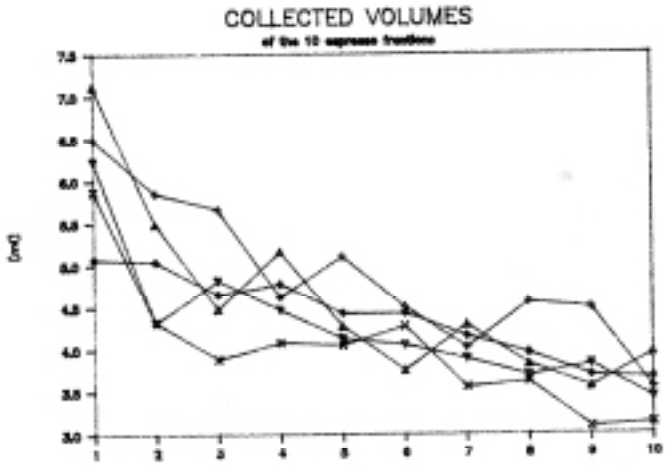


fig.7

5.2 Structural study

The microscopical inspection of fractions has been restricted to the first three, where, as just told, most of the perplexities seemed to converge.
The crowding of droplets in the observation field obliged to dilute the specimens to allow us to resolve and count them (fig.8).

The hypothesis of presence of higher quantity and bigger average size of lipids droplets in the first two fractions is moreover confirmed by the application of image analysis to optical micrographies (fig.9).

A possible interpretation of this fact may lie in a more efficient emulsifying of ground particles surface fats, while in the following fractions only internal fats are extracted, with more difficulty (fig.10).
We cannot yet exclude "a priori" the possibility that a part of measured particles derives from droplets coalescence or suspended solids flocculation (fig.11).

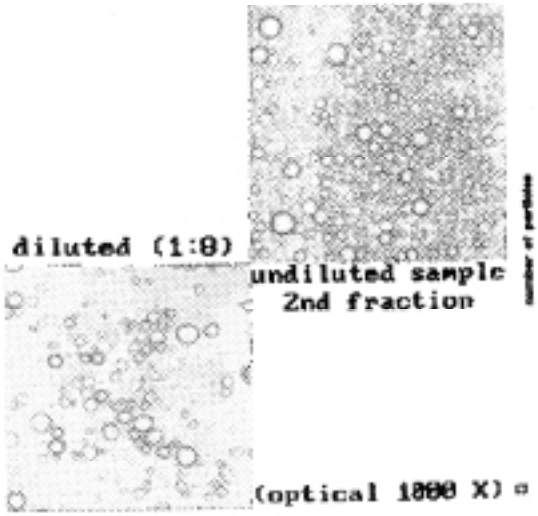


fig.8

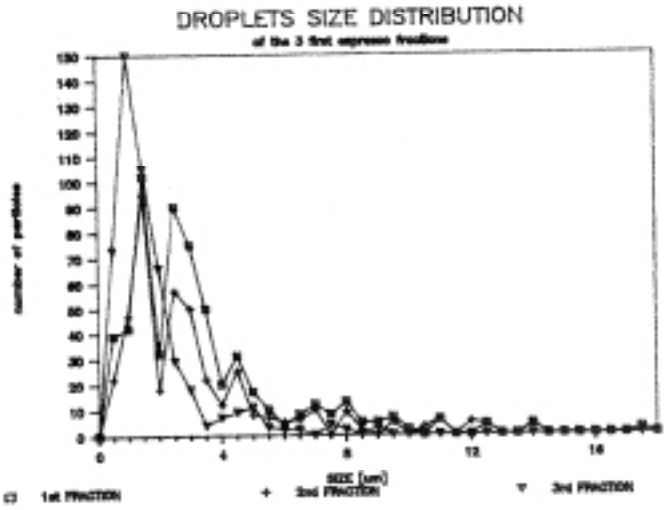


fig.9

fig.10

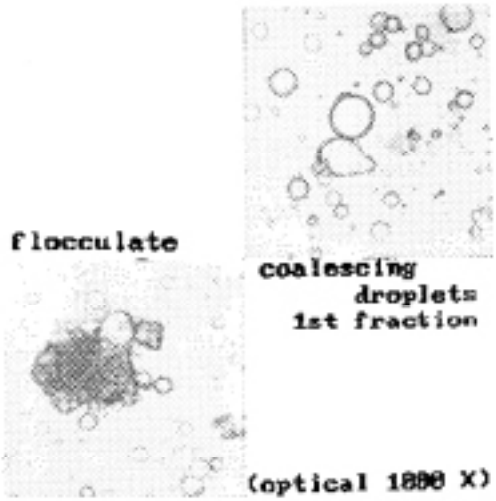


fig.11

5.3 Chemical analysis

As what's concerning the analysis of consecutive time fractions of beverage (see synoptic table 4), the observed trend is a logical one: decreasing concentrations as extraction proceeds (fig.12), but some singularities are present.

4th SYNOPTICAL TABLE (chemical data)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	average
lipids	[g/kg sample]	13,21	6,91	3,01	1,31	0,91	0,20	0,23	0,17	0,12	0,08	2,61
di-glicerides	[mg/	118	140	65	24	20	6	6	4	4	2	39
tri-glicerides	/100g sample]	1164	519	226	101	69	13	16	12	8	6	213
fatty acids		39	32	10	6	2	1	1	1	0	0	9
nitrogen	[g/kg sample]	4,33	2,14	1,18	0,83	0,74	0,50	0,90	0,30	0,25	0,17	1,13
caffeine	[g/kg sample]	6,11	2,92	1,55	1,08	0,84	0,63	0,50	0,40	0,32	0,27	1,46
proteins (calculated)	[g/kg sample]	16,03	8,10	4,58	3,24	3,11	1,99	4,72	1,15	0,99	0,57	4,45
carbohydrates	[g/kg sample]	36,18	17,23	9,33	6,44	4,37	3,30	2,82	2,12	1,87	1,61	8,53
mono-	[g/kg sample]	4,64	1,38	0,82	0,53	0,40	0,29	0,23	0,20	0,17	0,16	0,88
clorogenic di- acids		0,14	0,08	0,04	0,03	0,03						
total		4,79	1,46	0,87	0,57	0,43	0,29	0,23	0,20	0,17	0,16	0,92
total	[g/kg sample]	76,31	36,62	19,34	12,63	9,66	6,40	8,50	4,04	3,47	2,69	17,97

Lipids get in the cup, emulsified, mainly during the very first fractions. A rough splitting into tri- and diglycerides, or better into more and less polar lipids, shows a pretty curious trend, with a lesser percentage of diglycerides only in the first fraction (fig.13).

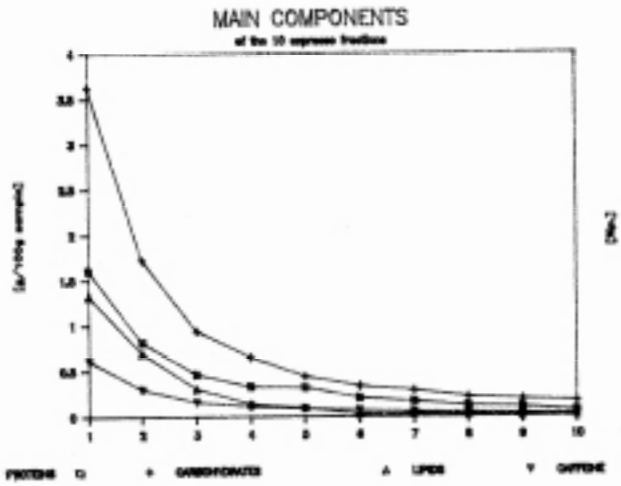


fig.12

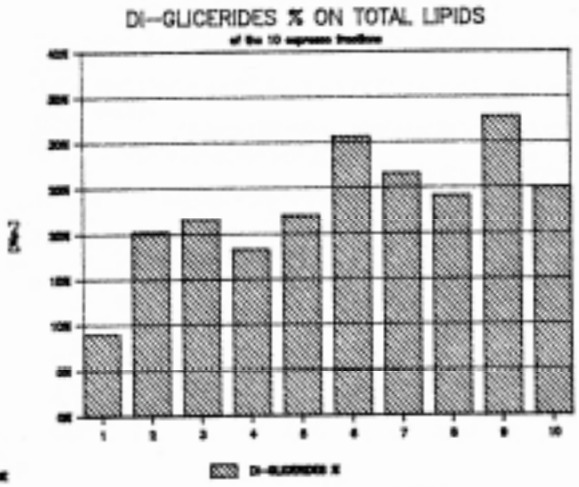


fig.13

Plotting concentrations in the dry residue (which keeps decreasing as extraction proceeds) we can notice the following trends (fig.14):

- carbohydrates are extracted in a quite regular way
- "proteins" obtained by calculation from total nitrogen (corrected because of the presence of caffeine) show a striking increasing, but irregular, trend, while "true" proteins content, determined from complete aminoacids analysis, is only slightly becoming higher, proportionally, as the extraction is pushed (see table 5)
- caffeine goes on being present in the successive fractions with increasing proportion, what seems to conflict with its high solubility in hot water (fig.15)
- clorogenic acids too show a fairly complex extraction trend fundamentally increasing.

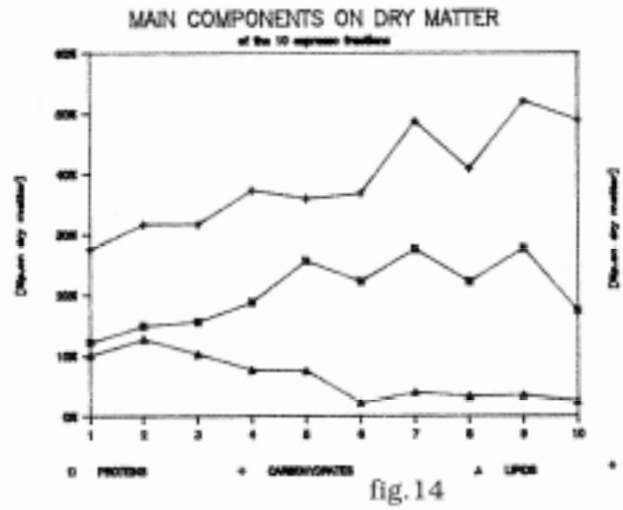


fig.14

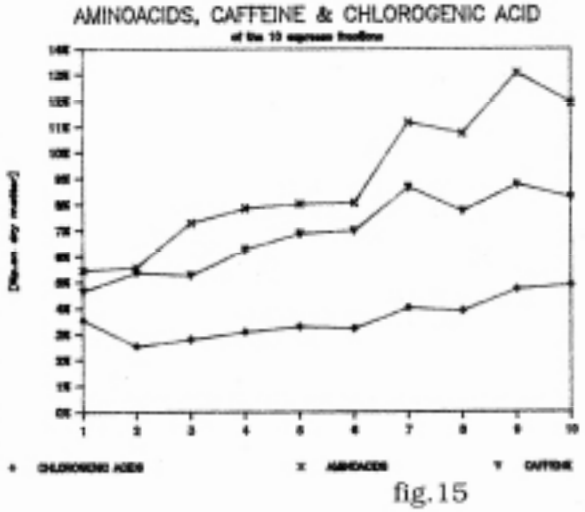


fig.15

5th TABLE: AMINOACIDS ANALYSIS			concentration [mg/100g sample]									
name	abbreviation	formula	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
glutamic acid	GLU	-(CH2)2-COOH	295	131	86	46	32	23	20	17	14	13
proline	PRO	-(CH2)3-...-›-N	49	23	13	10	7	5	4	5	4	3
leucine	LEU	-CH2-CHCH3-CH3	57	32	26	15	10	8	8	5	6	4
aspartic acid	ASP	-CH2-COOH	77	32	18	16	12	9	8	7	6	5
glycine	GLY	-H	55	1	17	11	8	6	5	5	4	3
phenylalanine	PHE	-CH2-<0>	36	17	13	7	6	5	4	3	3	2
alanine	ALA	-CH3	38	17	10	7	5	4	3	3	2	2
valine	VAL	-CHCH3-CH3	31	14	9	6	5	3	3	3	2	2
tyrosine	TYR	-CH2-<0>-OH	28	12	9	6	4	3	3	3	2	1
isoleucine	ILU	-CHCH3-CH2-CH3	17	8	6	4	3	2	2	1	1	1
threonine	THR	-CHOH-CH3	17	10	5	5	3	2	2	2	2	2
serine	SER	-CH2OH	10	4	3	2	2	1	1	1	1	1
arginine	ARG	-(CH2)3-NH-CNH2=NH	6	2	0	1	1	1	1	1	1	0
total (true protein)		[mg/100g sample]	718	303	215	136	98	72	65	56	47	39
on dry matter		[%p.]	5,4%	2,4%	2,9%	2,7%	2,6%	2,5%	3,4%	3,2%	3,9%	3,9%

The tasting evaluation finally, done on previously diluted fractions to same dry matter content, has pointed out the last fractions as particularly unpleasant:

fraction number	dilution ratio	assessment		
1	24	sweet, caramellic		good, coffee-like
2	14	bitter, sl.metallic		
3	7	less bitter		
4	4			
5	3			
6	2.2	"awful"		bad tasting, wet cigarette like
7	1.8			
8	1.5			
9	1.2	worst	metallic	
10	1			

6. Open questions

6.1 Body = droplets or bubbles ?

Even if from what I explained so far it seems that the factor who is likely to be responsible for espresso body is the presence of lipid droplets, not the whole sensation of mouthfeel can be nevertheless explicated by emulsion: it would remain otherwise unexplained the well known body (and foaminess) of espresso brewed from pure Robusta coffee [13].

In a little supplement to this research work we determined the lipids contents in pure Robusta and pure Arabica both roasted ground coffees and their espresso brews. The values we found are the following:

		Arabica	Robusta
lipids in roasted	[%p.]	16,5	8,5
lipids in beverage:			
concentration	[g/l]	1,80	0,55
yield on roasted	[%p.]	0,90	0,28
yield on roasted lipids	[%p.]	5,5	3,3

It is evident the lower quantity of emulsion in Robusta cup.

An improvement of sensorial evaluation technique allowed us to discriminate two different moments, both in mouthfeel sensation and in cup's life:

cup \ feeling	initial (~2 s)		final (~10 s)	
"young" (~10 s)	Ar +++	Ro ++++	Ar ++	Ro ++
"old" (~120 s)	Ar ++	Ro +	Ar ++	Ro +

We feel we can ascribe therefore a great part of asserted Robusta body to the effect of evolving gaseous bubbles, which may act as viscosity improver during the first few seconds after cup brewing, and before endobuccal motion can damp its intensity.

Obviously the overall influence on the rheological properties may well derive from a balance between droplets and bubbles effect, the former prevailing in Arabica and the latter in Robusta.

6.2 Caffeine balance: looping ?

The limited caffeine extraction, in spite of its high solubility in hot water (deriving in a likely way from diffusion kinetics reasons), suggested us to verify the global extraction balance, so that we could corroborate our claim: espresso brewing method is ideal for those who have physiological problems of hypersensitivity to that alkaloid but wish neither shift to solvent-decaffeinated blends nor give up the sensorial bonus of a coffee cup.

Surprisingly we encountered some difficulty to loop the analytical balance of caffeine around the extraction operation: taking into account roasted and ground coffee, brewed beverage and spent grounds.
We have not been able to track down in the literature any reference to this problem, whose influence on the meaningfulness of our results on a standard pure Arabica espresso cup is not anyway determinant:

		min	max
balance looping	[%p.]	85	95
caffeine recovery in cup	[%p.]	73	86
global caffeine in cup	[mg]	54	85
caffeine concentr. in cup	[g/l]	1,5	2,8
resid. caffeine in grounds	[%p.]	0,23	0,35

Further studies are in progress to clear up if:

- caffeine determination analytical methods, in liquids or in spend grounds too, are above all suspicion [16]
- underestimation happens in liquid (due maybe to complexations ? to neutral pH extraction ?) or in spent grounds (due maybe to insufficient extraction of more strongly bound caffeine ?).

7. Conclusions

As a conclusion I would state that brewing according to espresso procedure generates a beverage containing:

- a huge number of lipid droplets of micronic size, which are likely to act as viscosity, aromaticity and taste persistence enhancers

- a limited caffeine content, deriving from incomplete extraction yield and minimised by the short contact time.

These observations, even if incomplete, seem to explicate some of the characteristics that make Italian-style espresso an increasing successful drink.

"Espresso" definition may in our opinion be appropriately perfected with the following assertions:

- "espresso" is a polyphasic system consisting of:

  a) a lower liquid layer made of a turbid aqueous solution, containing small emulsified oil drops (flavour carriers), evolving gas bubbles and solid suspended particles, also of colloidal nature

  b) an upper layer made of a thick, long lasting, brown, fine bubbly foam

- its extracted matter content may range:

as concentration	between	20	and	60	g/l
as extraction yield	between	18	and	26	%p.

This work's aim has been mainly to cast some new light on a "dark and strong" world, where it is now time that beside the concept of "art" be placed more and more that of "science".

A deeper knowledge of what we use to drink should in our wishes induce to a better respect for the "game's rules", and this shall surely develop in a higher and higher chance to succeed in enjoying the good result of a blend of factors, joined during the years in an nearly casual, I would say artistic, way:

- aroma's solubility in the lipidic phase

- oils emulsifying by means of pressure

- volatilising in the cup of the oil dissolved aromas, thanks to temperature and stripping by rising CO2

- building up of foam, which traps the volatilised aromas and doses their emission to the atmosphere

The result of that synergy make possible this wonderful drink which is an espresso cup!

8. Acknowledgements

The author is grateful to Dr. R.Macrae for his precious suggestions, to Dr. J.Heathcock for her beautiful results in microscopy and to Drs. C.Gutteridge, J.Smith, D.Depalo for their accurate management of parts of the analytical work.

9. References

[1] data from A.C.Nielsen Marketing Research, unpublished

[2] J.Bell, Tea & Coffee Tr. Journ. v.158 n.12 Dec.1986 - p.33

[3] G.von Bunge (1894), quoted by L.Valerio: "Caffe' e derivati" - ed. Hoepli/Milano 1927 - p.405

[4] H.E.Jacob: "Sage und Siegeszug des Kaffees" - ed. Rowohlt Verlag/Hamburg 19?? - - p.27

[5] R.M.Gilbert, in G.A.Spiller (ed.): "The Methylxantine Beverages and Foods: Chemistry, Consumption, and Health Effects" - ed. Alan R. Liss /New York 1984 - - p.186

[6] W.H.Ukers: "All about Coffee" - ed. The Tea & Coffee Trade Journal Co./New York 1922 - p.649

[7] M.Sivetz: "Coffee Processing Technology" - ed. The AVI Publishing Co./ Westport, Conn. 1963 - p.231

[8] B.Rothfos: "Kaffee - Der Verbrauch" - ed. Gordian - Max Rieck / Hamburg 1984 - - p.461

[9] R.Clarke - R.Macrae: "Coffee vol.1: Chemistry"- ed.Elsevier/London 1985

[10] M.N.Clifford & K.C.Wilson: "Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage" - ed. The AVI Publishing Co./Westport, Conn. 1985

[11] O.G.Vitzthum, in O.Eichler (ed.): "Kaffee und Caffein" - ed. Springer Verlag/Hamburg 1976 - p.30

[12] M.C.Nicoli et al.: "Caratteristiche chimiche dell'estratto di caffe': Nota 1. Cinetica di estrazione della caffeina e delle sostanze solide" - in Industrie Alimentari 5/87 - - p.467

[13] M.Dalla Rosa et al.: "Caratteristiche qualitative dei caffe' espresso in relazione alle modalita' di preparazione" - in Industrie alimentari 9/86 - p.629

[14] A.S Szczesnjak: " Classification of Mouthfeel Characteristics of Beverages" - in Foods Texture and Rheology Symposium of the FS&T Int.Un. - General Foods Corp.Res.Dep./New York 1979 - p.1

[15] L.Bohlin et al.: "Relationship between Fundamental Rheological Data and Mouthfeel for a Model Hydro-colloid System" - corporate communication of Bohlin Reologi AB/ Science Park Ideon, box 742, Lund (Sweden)

[16] J.J.L.Willems: "Survey of the Results Obtained in the Determination of Caffeine in a Sample of Raw Coffee" - in Second Colloque International sur la chimie des cafes verts, torrefies et leurs derives (2me ASIC) - Institut Francais du Cafe' et du Cacao/Paris 1965 - p.97

Physico-chemical characterisation of espresso coffee brew

In this work some properties of the beverage known as "espresso coffee" are studied, in order to evaluate the objective factors that may explain the success earned by the "Italian style" brew even on foreign markets having dissimilar traditions.

The "tazzina" (= small cup) of "ristretto" espresso coffee does well fulfil with its peculiarities (small volume of beverage, high sensorial impact, long-standing taste) the changing exigencies of nowadays consumers who, busier and busier in their working days, need simplified and sped-up rituals.

The investigation began trying first to explicate the feature that is more often associated with the "espresso" image: that is mouthfeel, or "body".

Some samples of beverage were prepared by means of espresso brewing machines, a trained assessors' panel ranged then them by "body". Two samples that were judged as very different have been submitted to physical and chemical analysis and structural examination by both optical microscopy and electron microscopy.

The most meaningful differences have been found in viscosity and its temperature dependence, and in the presence of dispersed phases (much lipids in emulsion, gases, solids). An interesting correlation has been noticed between "body" and amount and dimensional distribution of this phase.

The analysis of the consecutive time-fractions of the brew has been made as well: the observed trend is a logical one (concentrations decrease as the extraction proceeds), but some interesting peculiarity have been putted into evidence:

- lipids get into the cup, emulsified, mainly in the very first fractions
- proteins increase, in proportion, as extraction is pushed
- caffeine persists to be present in all consecutive fractions in a fairly constant proportion: this fact seems not to agree with its high solubility in hot water.

As a conclusion it seems to us that brewing in conformity with the espresso methodology yields a cup containing:

- an enormous number of micronic lipidic droplets, acting as likely enhancers of viscosity, flavourness and after-taste
- a low caffeine content due to the extraction yield that is not complete, and minimised by the short contact time.

These remarks, even not exhaustive, seem to explain some of the features making Italian-style espresso a beverage of increasing success.

Caratterizzazione chimico-fisica e strutturale del caffè espresso

Nel presente lavoro viene studiata la bevanda conosciuta come "caffe' espresso", al fine di valutare gli elementi obiettivi che possono spiegarne il successo riportato anche su mercati di tradizioni diverse.

La "tazzina" di caffe' espresso ristretto soddisfa bene con le sue caratteristiche (volume di bevanda limitato, impatto sensoriale elevato, ricordo prolungato del sapore) le necessita' dell'utente d'oggigiorno, che a causa del poco tempo disponibile per il relax richiede dei rituali snelliti.

Si e' iniziato lo studio concentrando inizialmente gli sforzi sul tentativo di spiegare la proprieta' piu' spesso legata al concetto di espresso, cioe' la "corposita'" detta anche "body" oppure "mouthfeel".

Alcuni campioni di bevanda sono stati preparati mediante macchine espresso, un panel di esperti degustatori ne ha poi giudicato la corposita'. Due campioni a loro giudizio ben diversi sono stati sottoposti ad analisi fisiche e chimiche e ad esame strutturale al microscopio ottico ed a quello elettronico. Le differenze piu' significative sono state trovate nella viscosita' e nella sua dipendenza dalla temperatura, nonche' nella presenza di fasi disperse (molti lipidi in emulsione, gas, solidi). E' stata riscontrata una interessante correlazione della corposita' con la quantita' e distribuzione dimensionale di tale fase dispersa.

Sono state analizzate anche le frazioni temporali successive di bevanda. Il trend riscontrato e' quello logico di diminuzione delle concentrazioni con il procedere dell'estrazione, ma con qualche particolarita':

- i lipidi passano in tazza, emulsionati, prevalentemente durante le primissime frazioni
- le proteine tendono ad aumentare, in proporzione, man mano che l'estrazione diviene piu' spinta
- la caffeina continua ad essere presente nelle frazioni successive in proporzione pressoche' costante, cio' che sembra contrastare con la sua elevata solubilita' in acqua calda.

Come conclusione appare che la preparazione secondo la metodologia espresso produce una tazza contenente:

- un enorme numero di goccioline lipidiche di dimensioni microniche, che agiscono verosimilmente come enhancers della viscosita', dell' aromaticita' e della persistenza di sapore della bevanda
- un limitato tenore in caffeina derivante dalla resa di estrazione non completa e minimizzato dal breve tempo di contatto.

Tali osservazioni, pur nella loro incompletezza, sembrano spiegare alcune delle caratteristiche che fanno dell'espresso all'italiana una bevanda di crescente successo.

Caractérisation chimico-phisique et structurelle de la boisson "café espresso"

Dans ce travail on a etudié la boisson "café espresso", au bût d'évaluer les éléments objectives qui sont en train d'en déterminer une réussite commerciale de plus en plus forte, aussi bien sur des marchés ayant de traditions bien différentes. Le "tazzina " (= petite tasse) d'espresso, avec ses caractéristiques (faible volume à boire, impact sensorial élevé, after-taste longue) peut bien répondre aux exigences du monde qui travaille d'aujourd'hui, où une manque chronique du temps pour se relaxer impose de rites plus agiles et courts.

L'effort a été initiellement concentré sur le tentative d'expliquer le caractère qui plus souvent est relié à l'espresso, c'est à dire le "body", autrement dit corps: des échantillons de boisson ont été preparés par des machines espresso, et une paire entre eux, que a été jugée bien représentative par de dégusteurs, a été soumise à des analyses physiques, chimiques et à la microscopie, soit optique soit électronique à balayage et à transmission.
Les différences les plus significatives ont été trouvées dans la viscosité et sa dépéndance de la temperature, et dans la présence de phases dispersées (beaucoup de lipides en émulsion, de gaz et de solides). Une intéressante corrélation a été remarquée entre le corps et la quantité et distribution de taille de cette phase dispersée.

On a aussi bien examiné les fractions temporales successives de la boisson. L'évolution observée c'est logique, car les concentrations baissent au fur et à mesure que l'extraction est poussée, mais il y a des particularités:
- les lipides passent dans la tasse, émulsionés, pendant les tout premieres fractions
- les proteines augmentent, en proportion, quand l'extraction
- la caffeine continue à etre presente dans les fractions suivantes en proportion presque constante, ce que parait contraster avec sa solubilité élevée dans l'eau chaude.

En conclusion il parait que la préparation suivant la méthode espresso produit:
- un nombre énorme de gouttelettes lipidiques de dimensions microniques, qui vraisemblablement agissent comme augmentateurs de viscosité, d'aromaticité et de persistence de goût de la boisson
- une teneur en caffeine limitée, provoquée par un rendement en extraction pas complet et minimisée par le court temps de contact.

Ces remarques, quand même incompletes, paraissent expliquer quelques des propriétés qui rendent l'espresso à l'Italienne une boisson d'un succès montant.

Physische, chemische und strukturelle Charakterisierung von Espresso Kaffee Getränk

Diese Arbeit stellt ein Studium des Getränks "Espresso Kaffee", zur Zweck einer Beurteilung der Elemente seines weltweites Erfolgs dar. Die "Tazzina" (das italienische Wort für "kleine Tasse") gut entspricht mit ihren Eigenschaften (geringem Trinkvolumen, hohem Geschmack, langem Nachgeschmack) das heutzutagige Lebensstil, das immer wenigere Zeit zur Entspannung anbietet. Die Forschung fing mit der Versuche an, den Begriff der grundsätzlichen Eigenschaft eines Espressos, den sogenannten "Körper", oder "body", klar zu machen.

Mit einigen geeigneten Espressokaffeemaschinen wurden probeweise einige Tassen zubereitet und ein Team von Kaffeeexperte wurde darin eingesetz, um über den Körper zu beurteilen. Zwei Tassen davon wurden als "sehr unterschiedlich" gezeichnet und unter die Lupe gestellt. Physische und chemische Analyse wurden gemacht, sowie optische und elektronische Mikroskopie.

Die wichtigsten Unterschiede lagen in Viscosität und in ihrer Temperaturabhängigkeit, und in Anwesendheit von zerstreuter Phasen (viele emulsionierte Lipyden, Gase, Partikeln).
Es wurde dazu eine interessante Beziehung zwischen Körper und Quantität und Masseverteilung dieser zerstreuter Phase gefunden.

Die hintereinanderfolgenden Zeitfraktionen des Getränks wurden dazu analysiert. Der bemerkte Trend ist logisch: die konzentration vermindert als die Extraktion fortfährt, mit einigen Besonderheiten:
- die Lipyden überfließen in die Tasse meistens mit den ersten Fraktionen
- die Kohlenhydraten werden regelmäßig herausgezogen
- der Eiweißinhalt erhöht sich proportionell als der Extrakt höher ist
- das Koffein ist auch in den folgenden Fraktionen in fast ständiger Proportion anwesend und es scheint damit im Gegensatz zu seiner hohen Löslbarkeit im warmen Wasser.

Zuletz kann man sagen, daß Espressozubereitungsmethode erzeugt:
- eine große Anzahl von Micromasse Lipydentröpfchen, die sich wesentlich als Viscosität-, Aroma- und Nachgeschmackerhöher des Getränks benehmen
- ein geringes Koffeingehalt, das aus der unvollständigen Extraktion kommt, und ist durch die kurze Kontaktzeit verkleinert.

Aus einem wissenschaftlichen, jedoch nicht kommerziellen Sichtpunkt kann man versuchen, den Erfolg des Espresso-Kaffee damit zu erklären.

Caracterización química-física y de estructura de la bebida café espresso

En este trabajo se estudiaron algunas caracteristicas de la bebida "café espresso", para estimar los elementos objetivos que le están obteniendo un éxito siempre mejor, también en mercados de diferentes tradiciones.

La "tazzina" de café espresso satisface bastante bien, con sus calidades (volumen de tomar poco, impacto sensitivo fuerte, persistencia de sabor duradera) las exigencias de los que trabajan hoy en día, que siempre tienen menos tiempo para relajarse, y piden nuevos mas rapidos rituales.

El estudio empezó concentrando los esfuerzos en el intento de explicar la característica mas frecuentemente junto del concepto de espresso: el "body", o sea cuerpo.

Se prepararon con máquinas espresso algunas muestras de la bebida del café, e se escojió un par de tazitas que a la prueba de degustación parecían bien diferentes de cuerpo; después se determinaron sus calidades físicas, químicas y microscópicas (tanto al microscopio óptico como tambien al electrónico).
Las diferencias mas significativas se encontraron en la viscosidad y en su dependencia de la temperatura, así como en la presencia de fases diseminadas (muchos lipidos en emulsión, gases, sólidos).
Una interesante correlación parece existir entre el cuerpo y la cantidad así como la distribución dimensional de esas fases.

Se analizaron también las fracciones temporales consecutivas de la bebida.
La tendencia observada es lógica: las concentraciones bajan mientras la extracción avanza, pero hay algunas particularidades:
- las lipidos entran en la taza, emulsionados, prevaleciendo durante las primeras fracciones
- las proteinas tenden a aumentar, en proportión, a medida que la extracción avanza
- la cafeina sigue siendo presente en las fracciones sucesivas con proportión casi constante: esto parece estar en contraliseión con su grande solubilidad en el agua caliente.

Parece, en conclusión, que la preparación de tazitas conforme al método espresso produzca:
- un número muy grande de gotitas lipidicas de dimensiones micrónicas, que verosimilmente se comportan como acrecentadores de viscosidad, de aroma y de persistencia de sabor de la bebida
- una proporción médica de cafeina, derivando del rendimiento incompleto de extracción y contenida mínima por el corto tiempo de contacto.

Estas anotaciones, aunque incompletas, parecen explicar algunas de las características que hacen del espresso en estilo Italiano una bebida de éxito creciente.

EVALUACIÓN DE LA PERDIDA DE CALIDAD DE LA SEMILLA DE CAFÉ DURANTE SU BENEFICIO

F. SIERRA GARZÓN *, A. FERNÁNDEZ QUINTERO **, G. ROA MEJÍA ***, J. ARCILA PULGARIN ****

* Asistente de Investigación. FEDEARROZ, Federación Nacional de Arroceros de Colombia, Bogotá. Realizó el presente trabajo en CENICAFE, como tema de tesis en Ingeniería Agrícola de la Universidad del Valle, Cali, Colombia.
** Profesor Titular, Ingeniería Agrícola, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
*** Investigador Principal I, Ingeniería Agrícola, CENICAFE, Chinchiná, Caldas, Colombia.
**** Investigador Principal I, Fitofisiología, CENICAFE, Chinchiná, Caldas, Colombia.

INTRODUCCION

La producción de la semilla de café tradicionalmente ha sido un proceso artesanal ejecutado por el propio caficultor, con resultados satisfactorios, de forma que muy pocas iniciativas han existido para perfeccionar los métodos tradicionalmente usados.

Con la obtención en Colombia de una nueva variedad de café resistente a la roya, la Variedad Colombia, y dado el carácter de cultivar compuesto de ésta, se ha originado la necesidad de un cambio tecnológico en los sistemas de su producción, procesamiento y distribución al agricultor.

Se hace ahora necesario en Colombia producir en muy pocos centros de propagación, grandes cantidades de la semilla de café, para lo cual se requiere, entre otras necesidades, de la utilización de beneficiaderos debidamente diseñados para su procesamiento.

El beneficio de la semilla de café a gran escala se ha venido desarrollando, en estos centros de propagación, mediante la utilización de los principios básicos del beneficio del café comercial para bebida, con algunas variaciones en el diseño de la instalación de beneficio, especialmente orientadas al manejo de las diferentes progenies que conforman la Variedad Colombia. Sin embargo se desconocen los límites del manejo mecánico y las condiciones óptimas de despulpado, lavado mecánico, transporte hidráulico y secado , desde el punto de vista de producción comercial, o sea, en el mínimo tiempo, utilizando en lo posible procedimientos de bajos costos que eviten la pérdida de viabilidad y vigor de las semillas. En consideración a estas razones se plantea el presente trabajo con los siguientes objetivos:

-Objetivo General.

* Establecer las condiciones de proceso industrial del despulpado, lavado y secado de la semilla Variedad Colombia, que garanticen el mantenimiento de su calidad fisiológica.

- Objetivos Específicos.

* Determinar la mejor condición de operación de dos despulpadoras comerciales de cilindro horizontal, para obtener el rendimiento óptimo, sin causar disminución de la calidad de la semilla.

* Estudiar el fenómeno del transporte hidráulico de la semilla del café en tuberías cerradas y el lavado ocasionado en éste proceso, de forma que se pueda disponer de un proceso mecánicamente eficaz, que no comprometa la viabilidad de la semilla.

* Determinar para la semilla de café, a ser secada en un secador de bandejas, los valores más adecuados de la temperatura del aire de secado y el contenido de humedad final del producto, que mantengan su calidad fisiológica.

REVISION BIBLIOGRAFICA

El café está clasificado como una nuez (Croker y Barton, 5), por cuanto su endosperma es semiceluloso. Cualquier pérdida de humedad contrae el embrión y puede estrangularlo.

La semilla que es severamente manejada durante el beneficio sufre daños y disminuciones en su calidad fisiológica. El deterioro biológico puede manifestarse inmediatamente, o posteriormente, durante el almacenamiento.

Una de las etapas más importantes en el beneficio de café es el despulpado, por cuanto de él pueden depender la mayoría de las pérdidas que ocurren en el beneficio. Una despulpadora mal ajustada realiza su trabajo produciendo cantidades no aceptables de granos partidos, mordidos o trillados (ICONTEC, 10). Además, la mala calibración de la despulpadora ocasiona pérdidas de granos que van a la pulpa. También es común encontrar en éstos casos mucha cáscara adherida a los granos, lo cual repercute negativamente en la fermentación y en las operaciones posteriores al despulpado, aumentando además el porcentaje de impurezas en el café pergamino seco.

Las despulpadoras de cilindro horizontal están diseñadas para trabajar a velocidades entre 120 y 200 rpm. Si se aumenta la velocidad por encima de la velocidad crítica, la cantidad de granos trillados, mordidos y la cantidad de pulpa que pasa con el café también aumenta. El café fermentado y que está a punto de ser lavado, debe someterse a una operación que elimine los materiales sueltos y los residuos del proceso de digestión del mucílago, así como las sustancias solubles formadas durante la fermentación.

Las bombas centrífugas sumergibles han ganado recientemente mucha popularidad en nuestro medio para lavar el café, debido a su sencillez, su efectividad y su doble acción simultánea de lavadora y transportadora (Sierra y colaboradores, 14). No obstante, la utilización de las bombas propician la utilización del agua en el beneficio, contribuyendo a su contaminación, técnica que deberá disminuírse o mejor, eliminarse, cuando sea posible. Es pues necesario conocer el desempeño y las características técnicas del lavado y el transporte para disminuir los posibles perjuicios que se pueden ocasionar. Por otro lado, es indispensable investigar otros procedimientos que disminuyan al mínimo la utilización del agua en el beneficio.

En el transporte del café por efecto de la acción de las bombas se originan turbulencias que provocan la fricción grano-grano y grano-partes constitutivas de la bomba, que se consideran suficientes para desprender los residuos de la fermentación. Además, la fricción de la masa en movimiento a través de las tuberías y accesorios de conducción, aumenta el efecto limpiador. Durante la operación del transporte hidráulico es posible ocasionar daños mecánicos a la semilla y ocasionar la pérdida de su capacidad germinativa y su vigor.

Ghosh B.N. (8), reporta un estudio llevado a cabo por el sub-comité de procesamiento de café del "Kenya Coffee Boards Research Comittee", en el cual se evaluó el funcionamiento de doce bombas de diferentes marcas, con tasas de transporte que variaron entre 80 y 200 galones por minuto (0,30 y 0,76 m3/min), trabajando contra una cabeza de descarga de 20 pies (6,09 m). Los resultados obtenidos mostraron que el máximo incremento en el porcentaje en daños (granos trillados y partidos) fue de 5,15%. En los mismos estudios de Ghosh, se determinó el daño físico en los granos de café al ser bombeados bajo diferentes relaciones de mezcla agua-café, variando la cantidad de café desde 166 kilogramos hasta un máximo de 1000 kilogramos por metro cúbico de agua. Los resultados obtenidos mostraron que el daño en los granos (granos trillados y mordidos) fue mínimo.

Según Andrews y Delouche, citados por Baudet y colaboradores (3), los deterioros mecánicos en las semillas, en general, pueden ser causados por choques y/o abrasiones de los granos contra superficies duras o contra otras semillas, lo que provoca semillas mordidas, fragmentadas, amañadas, etc. Las semillas dañadas mecánicamente dificultan las operaciones de beneficio y presentan menor germinación y vigor. Para Mackay, citado por Baudet y colaboradores (3), los daños mecánicos causados al embrión, tales como, fracturamiento y magullamiento solo se notan después de la germinación, en forma de anormalidades en las plantas.

De acuerdo a Delouche, citado por Baudet y colaboradores (3), los efectos de los daños mecánicos en la viabilidad y vigor pueden ser: a) Inmediatos, bajo los cuales las semillas se tornan inmediatamente incapaces de germinar normalmente, b) Latentes, bajo los cuales la germinación no es inmediatamente afectada, pero el vigor o potencial de almacenamiento y el valor de la semilla en el campo es reducida. Estas semillas se deterioran más rápidamente en el almacenamiento o sucumben más fácilmente en condiciones adversas de campo, luego de ser sembradas. Con respecto a lo anterior, Bunch citado por Baudet y colaboradores (3),

confirma que las semillas mecánicamente dañadas no mantienen el vigor y la viabilidad durante el almacenamiento, debido a que los daños intervienen en la tasa de respiración y permiten la entrada de microorganismos por las heridas, impidiéndose así que la semilla conserve su viabilidad en el momento de sembrarla.

Otras de las causas de daño en las semillas es la alta temperatura que estas alcanzan durante el secado y el almacenamiento. Según Harrington (9), el nivel de temperatura en el que se causa daño a las semillas varía con el contenido de humedad de esta. Mientras más alta la humedad de la semilla menor debe ser la temperatura del aire de secado en sistemas estacionarios. Algunos tipos de semillas soportaran mayores temperaturas de secado que otras. Se han encontrado, como recomendación general, las siguientes temperaturas seguras para el secado de las semillas (Tabla 1). Brooker y colaboradores (7), recomiendan en general que la temperatura del grano no debe exceder de 43°C para evitar daños a la semilla. Según Dávila (6), a 52°C el germen de la mayoría de las especies de semillas muere.

White y colaboradores, citados por Rossi (12), observaron que semillas secadas con aire entre 24 y 41°C presentaron una germinación en promedio el doble de aquellas que fueron secadas con aire a 57°C, (80% de germinación contra el 40%).

Tabla 1. Temperaturas del aire recomendadas para el secado de semillas de acuerdo al contenido de humedad.

Humedad de la semilla (%,b.h.)	Temperatura aire (°C)
Superior a un 18%	32
De 10 a 18%	37
Inferior a un 10	43

Aunque se ha sugerido que las semillas de café deben secarse a la sombra, se ha demostrado que es posible secarlas al sol (Bacchi, 2) o artificialmente hasta 45°C (Arcila, 1).

En un estudio conducido por Correa (4) para evaluar un secador de café, intermitente de flujos concurrentes, para café de consumo comercial, se hicieron pruebas de secado desde 54% hasta 12% de humedad (base húmeda) con temperaturas de aire de secado a 96, 71 y 87°C. Se registró la reducción en la germinación de las semillas a lo largo del proceso de secado, hasta que los granos perdieron toda su capacidad germinativa. En una segunda experiencia efectuada en el mismo secador por Sierra (13), se controló la temperatura del grano para que no excediera la temperatura de 43°C y se observó que la germinación de las semillas se redujo a medida que progresaba el secado, desde 95%, al inicio, hasta el 43%, al finalizar el proceso. Según Silveira (15), las causas preponderantes de la pérdida completa del poder germinativo de la semilla de café durante el secado son: una insolación muy prolongada del producto en el terreno o un secamiento mecánico a una temperatura muy elevada.

MATERIALES Y METODOS

Las actividades experimentales correspondientes al beneficio de la semilla del café se realizaron en el Beneficiadero para Experimentación del Centro Nacional de Investigaciones del Café, CENICAFE, Chinchiná, Caldas. Las operaciones de despulpado, lavado mecánico, transporte hidráulico y secado artificial fueron estudiadas en equipos comerciales y en prototipos de laboratorio, según se describe a continuación.

Despulpado.

En las diferentes pruebas se usó café cereza Variedad Caturra, recién cosechado, proveniente de un mismo lote. El café fue clasificado por tamaño en un equipo de doble zaranda cilíndrica, de barras paralelas concentricas, capaz de separar café cereza de manera que la mínima dimensión del fruto estuviera comprendida entre 11 y 13 milímetros.

El café clasificado fue homogeneizado sobre una superficie amplia, mezclado repetidas veces hasta observar una buena distribución de los granos maduros, pintones y pasillas. Las unidades experimentales fueron obtenidas tomando al azar, de toda la masa de granos, pequeñas cantidades de cerezas hasta completar 20kg.

EQUIPO Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

Para la ejecución del experimento se usaron dos despulpadoras de cilindro horizontal:

-Despulpadora Cordillera de tres chorros.
-Despulpadora Comité Caldas N°3.

Las rotaciones de operación de las máquinas fueron

ajustadas usando un motor de velocidad variable y un tacómetro, acoplados al eje de la despulpadora.

El café fue despulpado utilizando diez condiciones diferentes de operación de las máquinas, resultado de la combinación de cinco velocidades del cilindro 120, 140, 160, 180 y 200 r.p.m y dos cantidades de agua, 1 y 2 litros de agua por kilogramo de café cereza. En cada prueba se determinó el rendimiento de la máquina, la calidad del despulpado y la capacidad germinativa de las semillas. De cada una de estas determinaciones se hicieron seis repeticiones.

El rendimiento fue determinado a partir de las medidas de la cantidad del producto despulpado y del tiempo utilizado por la máquina, para cada una de las unidades experimentales.

La calidad del despulpado fue analizada con base en la Norma Icontec para despulpadoras (10), que indica los valores mínimos aceptables de la cantidad de granos en la pulpa; de la pulpa en los granos despulpados; de los granos mordidos y de los granos trillados. Durante el despulpado de cada una de las unidades experimentales se tomaron periódicamente muestras 300g de la pulpa del café proveniente de la máquina.

Capacidad germinativa.

La capacidad germinativa de la semilla fue determinada a partir de las pruebas de germinación, de la siguiente manera. De cada muestra se seleccionaron al azar 200 semillas normales (excluyendo los granos monstruos, caracoles, triángulos, etc.). A éstas semillas se les retiró manualmente el pergamino, con el fin de acelerar la germinación. Para la desinfección, las semillas fueron sumergidas por un tiempo aproximado de 30 minutos en una disolución de Difolatan y Benlate (2.5g de Difolatán y 0.6g de Benlate, en un litro de agua destilada). Transcurridos los 30 minutos, fueron sometidas a tres enjuagues con agua destilada, con el fin de remover cualquier residuo de la solución. Las semillas se sembraron en cajas plásticas colocándolas sobre un papel absorbente que mantuviera una reserva de agua. Los registros de germinación se hicieron durante un mes, a intervalos de cinco días.

Para comparar el efecto relativo de los daños ocasionados por las máquinas despulpadoras, en sus diferentes condiciones de trabajo se escogió, como testigo, semillas de café despulpadas manualmente.

Lavado mecánico.

En las pruebas de lavado mecánico se usó café pergamino fermentado (Variedad Caturra) proveniente de un mismo lote. Las cantidades de granos trillados y mordidos fueron determinadas para cada lote de café previamente de cada prueba.

EQUIPO Y PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

En la Figura 1 se muestra el equipo experimental usado para el estudio del transporte hidráulico de mezclas de agua/café en tuberías cerradas.

Las mezclas agua-café fueron impulsadas, inicialmente por un tramo de tubería vertical de P.V.C. de 3 m de longitud y 7.62 cm de diámetro (3") [8]; posteriormente se sustituyó el tramo de 3 m por otro de 1m de longitud.

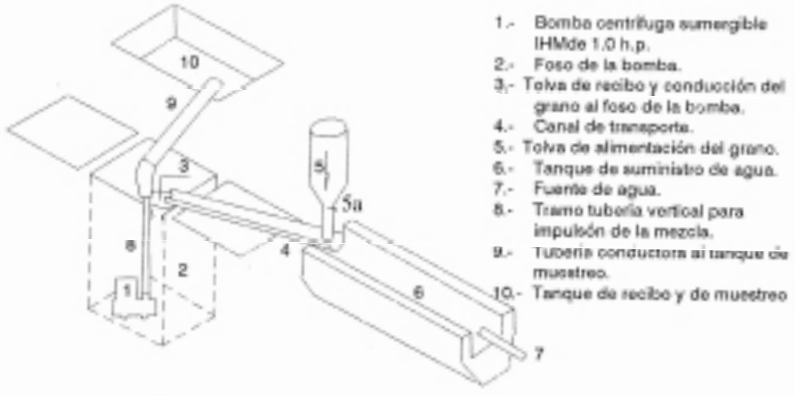


FIGURA 1. EQUIPO EXPERIMENTAL PARA EL ESTUDIO DEL TRANSPORTE HIDRAÚLICO DEL CAFÉ.

Los tramos de tubería vertical se acoplaron, individualmente, a la brida de salida de una motobomba centrífuga sumergible (marca IHM de 1.0 hp). Se usó una tolva de alimentación de grano [5] para suministrar el café controladamente a un canal de transporte [4]. Un tanque [6] alimentado por una fuente de agua suministró el agua necesaria para transportar el café por el canal. En la parte final de este canal se colocó una pequeña tolva con un tramo de tubería de 15.24 cm (6") [3], para conducir la mezcla hasta un sitio cercano a la succión de la bomba [1].

Se realizaron doce tratamientos de bombeo de las mezclas agua-café, como resultado de la combinación de los dos niveles de descarga, tres relaciones de la mezcla agua-café y la variación del número de circulaciones consecutivas por la bomba. Las relaciones agua/café usadas fueron 3/1, 2/1, 1/1 (partes de agua/partes de café, en base a volumen). Los niveles de descarga utilizados fueron 1.0 y 3.0 metros y el café se recirculó por el sistema de transporte una y tres veces.

La proporción de café en la mezcla se controló por medio del cierre o apertura manual de la compuerta de regulación de la tolva de alimentación [5a]. Para cada posición de la compuerta se hizo un aforo volumétrico con el fin de cuantificar los volúmenes de agua y de café transportados y así poder determinar con exactitud la relación de mezcla utilizadas.

Después de cada tratamiento de bombeo se determinó la calidad física de los granos y la capacidad germinativa de la semilla. Las cantidades de granos trillados y mordidos presentes en el café después del bombeo, fueron determinadas mediante la inspección de muestras, separación de los granos con daño y su medición en peso. Con el fin de obtener un dato representativo del daño causado al grano, durante el bombeo, se tomaron seis muestras al azar del café, previamente homogenizado. La capacidad germinativa de la semilla se determinó a partir de las pruebas de germinación.

Secado.

Equipo y procedimiento experimental.

Semilla, Variedad Caturra, fue secada en un secador experimental de bandejas, con flujo de aire en dirección perpendicular y a través de las capas estáticas de café (figura 2). En éste equipo el aire se calienta mediante resistencias eléctricas, en un rango de 25 a 70°C con control de ±1°C. El flujo del aire es controlado por medio del cierre o apertura de una compuerta, en un rango de 15 a 40 $m^3/min.m^2$. Un sistema de compuertas permite hacer una inversión del flujo del aire o recircular el aire de secado. El secador posee cinco niveles, en cada uno de los cuales se coloca una bandeja con un área efectiva de secado de $0.33m^2$.

En cada uno de los cinco niveles se colocó una bandeja con una capa de 10 cm de café recién lavado con una

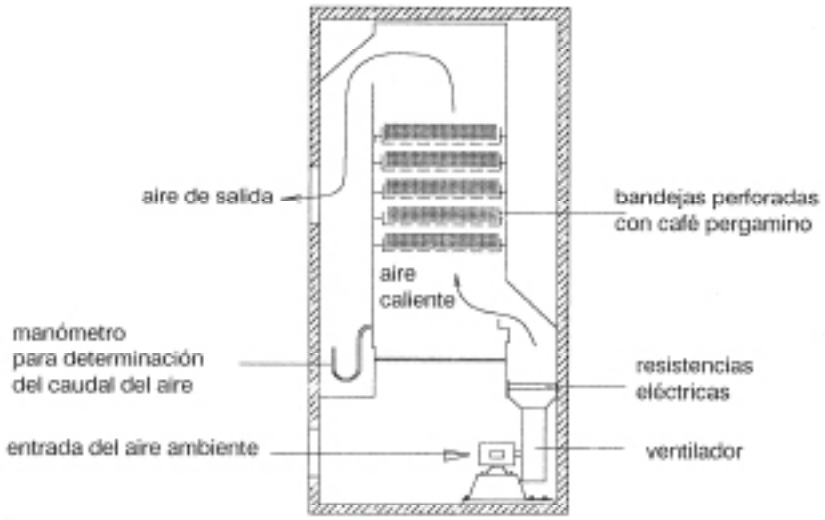
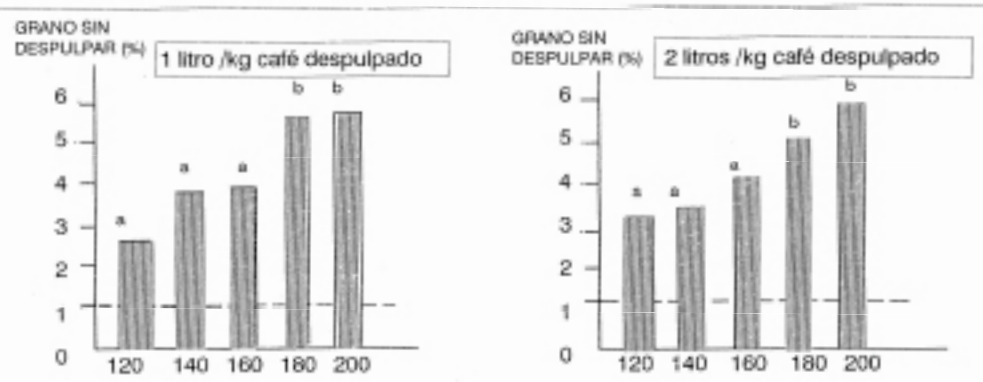


FIGURA 2. EQUIPO EXPERIMENTAL PARA EL ESTUDIO DEL SECADO DE SEMILLAS DE CAFE.



Nota: Las barras con las mismas letras minúsculas no difieren entre sí al nivel del 5% de probabilidad según la prueba de Tukey. (los datos fueron transformados, para el análisis, según la relación $\sqrt{X+0,5}$).

FIGURAS 3 y 4. CANTIDADES DE GRANO SIN DESPULPAR SEGUN LA ROTACION DEL CILINDRO DE LA MAQUINA CORDILLERAS Y DEL CONSUMO DEL AGUA

carga de 69 kg/m^2. El café fue sometido a tres tratamientos de secado usando aire a 30, 45 y 60°C. El flujo de aire se controló de acuerdo a las temperaturas antes mencionadas en 37, 68 y 92 m^3/min, por tonelada de café pergamino seco (c.p.s).

La evolución del secado para cada tratamiento fue determinada con base en muestras tomadas periódicamente durante todo el proceso de secado de los cinco niveles del secador. A estas muestras se les midió su contenido de humedad por método directo de la estufa (25g de café pergamino durante 24 horas a 105°C).

La temperatura del grano, en los niveles inferior, medio y superior del secador fue determinada periódicamente durante todo el proceso de secado, utilizando el método de Sievetz y Desroiser (15). En efecto, las muestras fueron removidas del secador y colocadas rápidamente en un envase relativamente grande, aislado térmicamente. Al termo se le colocó un termómetro y después de 2 a 3 minutos se registró la temperatura de equilibrio de la interfase aire-sólido, que corresponde muy aproximadamente a la temperatura del grano de café.

El flujo del aire se estimó aplicando la ecuación de pérdidas de presión a través de una capa de café pergamino, propuesta por Oliveros y Roa (11). Le caída de presión estática del aire al atravesar la capa de grano fue medida por medio de un manómetro diferencial.

La temperatura del aire fue medida periódicamente, con precisión de ±0.5°C, a la entrada y a la salida de cada uno de los cinco niveles del secador.

La capacidad germinativa de la semilla fue determinada a partir de las pruebas montadas en cajas con lechos de papel húmedo y en cajas con lechos de arena. Las muestras de semillas se retiraban periódicamente durante todo el proceso de secado de las bandejas inferior, media y superior del secador.

RESULTADOS

Resultados del Despulpado.

Los resultados obtenidos para las diferentes pruebas según las condiciones de operación de las máquinas despulpadoras, figuras 3 y 4 indican que la cantidad de granos sin despulpar que pasan con la masa de granos despulpados, se incrementa a medida que se aumenta la velocidad de rotación del cilindro. No obstante, el incremento en la cantidad de granos sin despulpar es significativo solamente cuando la velocidad de rotación del cilindro supera las 160 r.p.m. de las despulpadoras Cordilleras y Comité Caldas.

El incremento de la cantidad de pulpa en el grano despulpado, como resultado del aumento de las rotaciones del cilindro, fue menor que los valores obtenidos del grano sin despulpar. Sin embargo, los resultados muestran que se pueden presentar incrementos considerables de la pulpa en el grano si se utilizan velocidades superiores

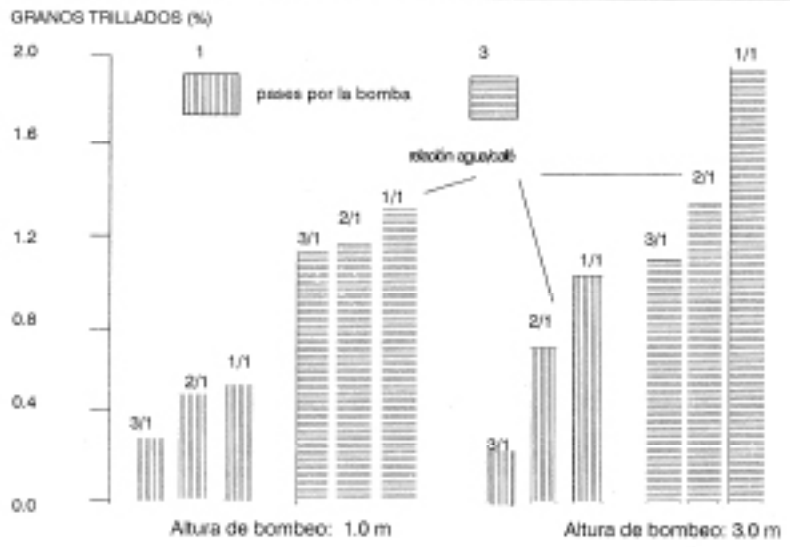


FIGURA 5.- GRANOS TRILLADOS PARA DIFERENTES MEZCLAS DE AGUA/CAFE, A DIFERENTES ALTURAS DE BOMBEO Y DIFERENTE NUMERO DE PASES POR LA BOMBA..

a 180 r.p.m.

De otra parte, para velocidades de rotación del cilindro entre 120 y 200 r.p.m. no se observan diferencias entre las cantidades de granos trillados y/o granos mordidos en los diferentes ensayos efectuados.

En los resultados obtenidos para los tratamientos de despulpado en los que se emplea diferente cantidad de agua para despulpar (1 o 2 litros de agua por kilogramo de café cereza e igual velocidad de rotación del cilindro), se observa que tanto las cantidades de granos trillados, granos mordidos, granos sin despulpar y pulpa en el grano, no difieren significativamente entre sí. (Figuras 3 y 4).

Efecto del daño mecánico sobre la capacidad germinativa de la semilla.

Los resultados de las pruebas de germinación muestran que la semillas despulpadas, tanto en la máquina Cordilleras, como en la Comité Caldas N° 3, mantuvieron una alta capacidad germinativa. Los porcentajes de germinación permanecieron superiores al 93% y la reducción promedia en el porcentaje de germinación con respecto al testigo (muestra despulpada manualmente), para las granos despulpados en las máquinas Cordilleras y Comité de Caldas N° 3 fueron de 3.8% y 2.8%, respectivamente.

En la tabla 1 se observan los resultados de las pruebas da germinación realizadas con muestras de granos escogidos con daños físicos causados en las operaciones de despulpado. Con relación a las muestras sin ningún daño (muestra testigo), las semillas rayadas y mordidas perdieron entre el 45 y 56% de su poder germinativo.

TABLA 1. Capacidad germinativa (%) en muestras de semillas rayadas o mordidas durante el despulpado.

Tipo Daño en Almendra	Promedio de Germinación
Sin daño (testigo)	90
Rayada	50
Mordida	40

Daño mecánico en los granos durante el lavado mecánico.

El lavado del café fermentado, como resultado de la acción del bombeo y del transporte de la mezcla de agua y café, afecta en cierto grado la calidad física del grano.

En la figura 5 se observan los resultados obtenidos del estudio del lavado del café mediante el bombeo hidráulico (lavado mecánico). En el bombeo de las mezclas con menor proporción de agua se obtienen los mayores incrementos de los granos trillados. Este incremento aumentó cuando la mezcla fue reciclada 3 veces a través de la bomba y también, cuando la altura de bombeo se aumentó de 1 a 3 metros.

El incremento mayor en la trilla de los granos obtenido fue del 2%, que correspondió al transportar una mezcla

de agua y café en proporción de 1:1, hasta una altura de tres metros y se recirculó tres veces a través de la bomba. El incremento de los granos mordidos en las diferentes pruebas realizadas fueron inferiores al 0.4%.

En los resultados presentados en la tabla 2, se observa que los porcentajes de germinación de las muestras de semilla, obtenidas después de las diversas pruebas de lavado mecánico, se mantuvieron por encima del 90%. Aparentemente, la semilla resistió adecuadamente los esfuerzos mecánicos ocurridos durante el transporte, para todos los tratamientos.

TABLA 2. Capacidad germinativa de la semilla en muestras procedentes del lavado durante el transporte hidráulico en tubería cerrada.

	ALTURA DE DESCARGA					
	1.0 m			3.0 m		
Número pases por la bomba	Relaciones agua/café (volumen)					
	1/1	2/1	3/1	1/1	2/1	3/1
*	95	96	97	93	90	93
1	94a	97a	93a	92a	92a	93a
3	93a	96a	94a	94a	90a	90a

Valores promedios de seis observaciones
*** Muestra sin bombear (Testigo)**
Los valores medios seguidos de la misma letra minúscula, para cada número de pases, no difieren entre sí, al nivel del 5% de probabilidad, según la prueba de Tukey (datos transformados).

Estudio del secado de la semilla.

Se observó que para las temperaturas de 45°C y 60°C, del aire de secado, la capacidad germinativa de le semilla se redujo gradualmente, a medida que evolucionaba el secado. Esta pérdida de la capacidad germinativa fue más rápida para las semillas secadas con aire a 60°C.

Al analizar la evolución del calentamiento de la semilla durante el secado, se observó que la germinación de las muestras empezaba a reducirse cuando éstas habían alcanzado temperaturas superiores a 40°C. Este fenómeno ocurrió independientemente de la humedad de la semilla que tenían en ese instante. Además, la germinación de las muestras de semilla se redujo más drásticamente cuando éstas se secaron por debajo de 10% (b.h.) de humedad.

Para la prueba de secado con aire a 30°C, en la capa superior e intermedia, con relación a su posición en el secador, la germinación de las muestras de semilla se redujo ligeramente, (Figura 6), pero en ningún instante fue inferior al 87%. En la capa inferior, que corresponde a la capa expuesta directamente al aire entregado por el equipo secador, hubo una reducción apreciable de la germinación en las muestras. Este fenómeno puede ser explicado por el sobresecamiento de dichas muestras (humedades finales inferiores al 10% b.h.), y no debido al daño por altas temperaturas.

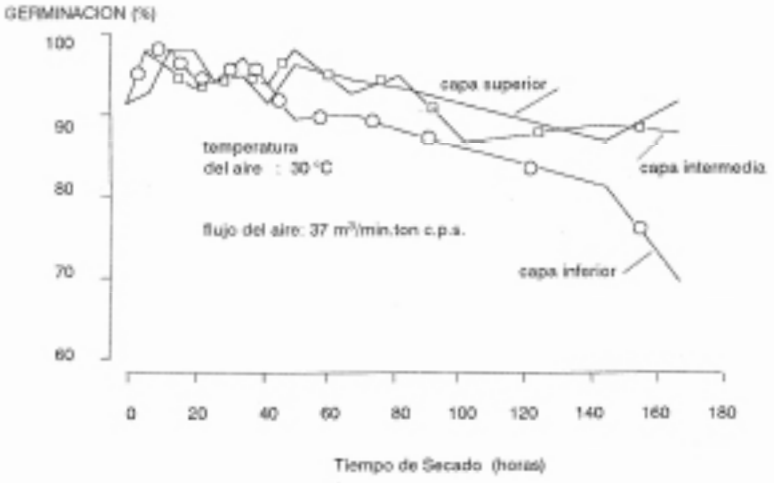


FIGURA 6.- CAPACIDAD GERMINATIVA DE LA SEMILLA DURANTE EL SECADO

CONCLUSIONES.

Del presente estudio, efectuado con el fin de establecer como se afecta la calidad de la semilla de café como resultado de los procesos del despulpado con eje horizontal, del lavado mecánico durante su transporte hidráulico y durante el secado en secador de bandejas, se puede concluir lo siguiente:

Despulpado

-La cantidad de granos trillados y mordidos que se producen durante el despulpado no están relacionados directamente con la velocidad del cilindro de las despulpadoras, cuando éstas trabajan en un rango entre 120 y 200 r.p.m.

-La cantidad de granos sin despulpar se incrementa significativamente cuando le velocidad del cilindro de las despulpadoras sobrepasa las 160 r.p.m.

-La calidad fisiológica de la semilla no es afectada considerablemente por la acción de su paso por la despulpadora. En todos los casos los porcentajes de germinación de las muestras de semillas despulpadas permanecieron superiores al 93%.

-No se observó ningún efecto de la cantidad de agua usada para el despulpado sobre le cantidad de grano trillados, mordidos y en general sobre los aspectos que rigen la calidad del despulpado, dentro del rango de niveles usados en el estudio (1 y 2 litros de agua por kilogramo de café despulpado).

Lavado mecánico.

-La cantidad de granos trillados obtenidos por el lavado mecánico durante el transporte hidráulico de una mezcla agua/café es función del número de pases por la bomba, de la proporción de café en la mezcla y de la altura de bombeo.

-Cuando se bombean repetidas veces mezclas con alta proporción de café, se pueden presentar incrementos en la cantidad de granos trillados muy cercanos al valor máximo permitido para la comercialización de cafés de primera calidad. Por ejemplo una mezcla con relación agua/café de 1/1, bombeada tres veces por un tramo de 3.0m de tubería vertical por una tubería de P.V.C de 3" (7.62 cm de diámetro), presenta incrementos en la cantidad de granos trillados del orden del 2%. Por consiguiente, en estos casos de recirculación del café por la motobomba, es recomendable el uso de una baja proporción de café (relación agua/café de 3/1).

-La calidad fisiológica de la semilla no se afecta considerablemente durante el lavado mecánico (circulación a través de la bomba y tramo de tubería). En todos los casos estudiados los porcentajes de germinación fueron superiores al 90%.

-Secado

-Una semilla de café secada en capas fijas, en un secador de bandejas, bajo la influencia de un aire de secado a baja temperatura (30°C), puede soportar sin perjuicio alguno de su poder germinativo un contenido de humedad mínima del 10%. Por debajo de este nivel, que debe ser considerado el límite crítico de temperatura, su capacidad germinativa es sensiblemente afectada, a punto de tornarse nula.

- Una semilla de café secada en capas fijas, puede soportar sin perjuicio alguno de su capacidad germinativa, temperaturas en el aire de secado por debajo de los 40°C. Por encima de este valor, que debe ser considerado el límite crítico de humedad, su capacidad germinativa es drásticamente afectada.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARCILA P.J. Influencia de la temperatura de secado en la germinación de semillas de café. CENICAFE, Chinchiná. (Colombia) 27: 89-90. 1976.
2. BACCHI, O. Seca de semente de café ao sol. Bragantia 14: 225-236. Sao Paulo, Campinas, Brasil. 1955.
3. BAUDET, L., POPINIGIS, F. y PESKE, S. Danificacoes mecánicas en sementes de soja (Glycine maxL. Merrill), transportadas por un sistema elevador-secador. Rev. Brasilera de Armazenamento (Vicosa), 4:29-38. Dic. 1978.
4. CORREA, P.A. Evaluación del secado del café (Coffea arabica) en un secador intermitente de flujos concurrentes. Tesis de Ingeniería Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia, Medellín 1988.
5. CROKER, W. y BARTON, L. V. Physiology of seeds. Waslthan, Mass. Chronica Botánica Co. 1957. 267p.
6. DAVILA, C.S. Importancia, procedimientos y aspectos prácticos en el secado de semillas. Universidad de Mississipi,. UAAAN.
7. BROOKER, D.B., BAKKER-ARKEMA, F.W. y HALL, C.W. Drying cereal grains. The AVI Publishing Company Inc. Wesport, Connecticut. 1974.265 pp.

8. GHOSH. B.N. Suitibility test of pumps for mechanical transport of coffee in factory. Principal Scientific Officer, East African Industrial Research Organization. Kenya Coffee Boards. 1963. 4p.

9. HARRINGTON J.F. Secado, almacenaje y empaque de semillas para mantener germinación y vigor. Mimeo. Univ. de California, Davis, California.

10. ICONTEC. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Norma No. 2090. Maquinaria Agrícola. Despulpadoras de café, Norma C2.71181. Bogotá.

11. OLIVEROS, T.C.E y ROA, M.G. Pérdidas de presión por el paso del aire a través de café pergamino, variedad Caturra, dispuesto a granel. CENICAFE, 37 (1): 23-37, Chinchiná, Caldas, Colombia. 1986.

12. ROSSI, S.J. Ar natural e bomba de calor na secagem e armazenamento de sementes de soja. Tese de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, S.P. Brasil. 1980. 178p.

13. SIERRA, G.F. Evaluación de la pérdida de calidad de la semilla de café durante su beneficio. Tesis Ingeniería Agrícola. Universidad del Valle. Cali.

14. SIERRA, G.F., ROA,M.G., FERNANDEZ, Q.A., Pérdidas de presión en transporte hidráulico de café. CENICAFE. (en preparición).

15. SILVEIRA, M.P. A vitalidade das sementes do café. Departamento Nacional do Café. (Brasil) 24: 402-501, 601-661. 54.

16. SIEVETZ M.CM., E & DESROISER N.W. Coffee Technology. The Avi publishing Co. Westport, Connecticut 1963 pp. 134-135.

RESUMEN

En atención a la nueva práctica de procesar masivamente la semilla de café, Variedad Colombia, en sólo cuatro beneficiaderos en Colombia, se diseñó un esquema experimental para determinar el efecto deteriorativo de las etapas de despulpado, lavado y transporte hidráulico en tuberías cerradas y el secado del café pergamino, en bandejas. La viabilidad de la semilla, medida por su capacidad germinativa, fué evaluada para calificar el daño ocasionado. En el despulpado se estudió el efecto de las revoluciones del cilindro de dos despulpadoras de eje horizontal y de la cantidad de agua suministrada a las máquinas. En el lavado y transporte hidráulico se estudió la relación de la mezcla agua/café transportado, cabeza hidraúlica y número de recirculaciones en circuito cerrado. En el secado se estudiaron la temperatura y el caudal del aire utilizado. En base a los conclusivos resultados se dan las recomendaciones correspondientes.

SUMMARY

Taking into consideration the new procedures used to process the Colombiam Variety of coffee seed, centralized in only four processing plants, an experimental procedure was designed in order to study the posible causes of damaging the germinative value of the seed. The processes of pulping, transporting and washing in tubes and drying in trays, were studied. Two pulping machines with horizontal edges were evaluated with regard to its rotation velocity and the amount of water used. In the washing and the transportation in tubes, the relation of the fluxes of water and the mass of grains were studied. Diferent hidraulic heads and the number of passes in a closed circuit were considered. The drying of seeds in trays were studied as a function of the temperatures and fluxes of the air. Practical recomendations are given in the light of the new findings.

RESUME

EVALUATION DE LA PERTE DE QUALITE DE LA SEMENCE DE CAFEIER AU COURS DE SON TRAITEMENT

En prévision de la nouvelle méthode de traitement à grande échelle des semences de la variété de caféier Colombia en quatre installations seulement en Colombie, un dispositif expérimental a été mis au point pour déterminer les détériorations que pourraient éventuellement subir les semences au cours des différentes étapes du traitement : dépulpage, lavage et transport hydraulique en cylindres fermés et séchage du café en parche sur plateaux. La viabilité des semences, mesurée par leur capacité germinative, fut évaluée pour classer le dommage observé. Au cours du dépulpage, on a étudié l'effet des révolutions du cylindre de deux dépulpeurs à axe horizontal et celui de la quantité d'eau utilisée. Au cours du lavage et du transport hydraulique, on a étudié le rapport eau/café transporté, la tête hydraulique et le nombre de passages en circuit fermé. Au cours du séchage, on a étudié la température et le débit de l'air utilisé. Des recommandations sont faites en fonction des résultats obtenus.

OPTIMIZACIÓN OPERACIONAL DEL SECADOR INTERMITENTE DE FLUJOS CONCURRENTES PARA CAFÉ PERGAMINO [1]

E. C. MONTOYA R. *, C. E. OLIVEROS T. **, G. ROA M. ***

* Investigador Científico I, CENICAFE, Chinchiná, Caldas. Colombia.
** Investigador Científico II, CENICAFE, Chinchiná, Caldas. Colombia.
*** Investigador Principal I, CENICAFE, Chinchiná, Caldas. Colombia.

(1) Fragmento de la Tesis del mismo nombre presentada por el primer autor a la Universidad Tecnológica de Pereira, como requisito para optar al título de Magister en Investigación Operativa y Estadística. Pereira, Risaralda, Colombia, 1989.

ANTECEDENTES

El secado del café pergamino es la actividad más delicada y costosa del proceso húmedo de beneficio del café. Dicho proceso se realiza por dos métodos: el secado natural y el secado mecánico.

En fincas con producciones anuales mayores de 12,500 kg de café pergamino seco (CPS), se requiere normalmente utilizar el secado mecánico, debido a los altos costos relativos de área para efectuar el secado natural y de la mano de obra requerida para atender esta labor.

Los equipos utilizados en Colombia para el secado mecánico del café pergamino son en general de capa fija. Se construyen en ladrillo y la mayoría de ellos constan de dos cámaras intercomunicadas, denominadas de secado y de presecado, dependiendo del lugar de entrada del aire de secado. En algunos de estos equipos, especialmente el modelo CENICAFE, se puede invertir el sentido del flujo del aire en cada cámara, por medio de compuertas, con lo cual se logra mejorar la uniformidad de la humedad.

Estos secadores ocupan gran espacio en los beneficiaderos, ya que tienen las cámaras de secado y de presecado en un mismo nivel. Por ejemplo ocupan 20 m^2 para el caso de un secador tipo CENICAFE, con capacidad de 2,000 kg de CPS Y 10 m^2 para el caso de los secadores en los cuales las cámaras están dispuestas verticalmente. Esta característica física incrementa los costos de construcción de beneficiaderos en las fincas de gran producción anual.

Con el fin de aportar alternativas para superar las limitaciones observadas en los secadores de capa fija, disponer de una tecnología con mejor desempeño técnico que el secador CENICAFE (menor tiempo de secado, mejor rendimiento térmico (kJ/kg de agua evaporada)), y basado en los trabajos de Soares (15) y de Marçal (13), quienes diseñaron y evaluaron secadores intermitentes de flujos concurrentes de una etapa de secado, para café en fruto y para maíz desgranado, respectivamente, López (12), diseñó y evaluó mecánicamente un prototipo de secador Intermitente de Flujos Concurrentes (IFC) con capacidad para 600 kg de CPS.

El secador IFC, en su estructura básica (Figura 1), está compuesto de dos partes principales: la cámara de secado y la cámara de reposo.

En la cámara de secado, el aire y el grano fluyen en el mismo sentido, de ahí el nombre de concurrente. En esta cámara, el aire más caliente encuentra el grano más húmedo y produce una alta tasa de evaporación, la cual ocasiona su rápido enfriamiento. Esta característica posibilita el uso de temperaturas más elevadas que las utilizadas en otros secadores, por ejemplo, de flujos cruzados y en contracorriente y permite que los secadores concurrentes sean energéticamente más eficientes.

De la etapa de secado, el grano pasa a la de reposo inferior, en la cual el grano no está en contacto con el aire caliente, y ocurre dentro de él la redistribución de humedad, del interior al exterior del grano. El grano se recircula a través del secador hasta obtener el contenido de humedad deseado, en el rango de humedad del 10 - 12% b.h. Por la forma del grano recibir la energía en forma discontinua, el secador recibe el nombre de

intermitente.

En los secadores IFC todos los granos reciben el mismo tratamiento de secado por lo cual el producto final es homogéneo, en lo que se refiere a humedad y temperatura.

El prototipo IFC fue evaluado, por Correa (8), en su desempeño técnico y en la calidad final del café, obteniendo buenos resultados. En éste trabajo se recurre a la simulación matemática del proceso para optimizar los dimensionamientos y el desempeño.

Entre los modelos más utilizados para simular el secado de los granos, están: el Modelo de Huckill, el modelo de Thompson y el modelo de la Universidad del Estado de Michigan. Este último, propuesto por Bakker-Arkema et al. (2), es el más completo por estar basado en balances fundamentales y simultáneos de calor y de masa entre el aire y el grano. Las variables a resolver en el modelo son: contenido de humedad del grano (M), temperatura del grano (Θ), razón de humedad (W) y temperatura del aire (T). Por lo tanto, se plantean cuatro ecuaciones diferenciales para representar los balances de energía y masa del sistema, de acuerdo a la Figura 2.

a. -Entalpía del aire:

Energía que sale del elemento de volumen = (energía que entra) - (energía transferida por convección).
La ecuación resultante es:

$$\frac{\partial T}{\partial x} = \frac{-ha}{GaCa + GaCv\,W}(T - \Theta) \quad <<1>>$$

b. -Entalpía del producto:

Energía transferida por convección = (cambio energía en el interior del producto) - (energía de evaporación)

$$<<2>>$$

$$\frac{\partial \Theta}{\partial t} = \frac{ha}{PpCp + Pp\,(CwM)}(T - \Theta) + \frac{hg + Cv\,(T - \Theta)}{PpCp + Pp\,(CwM)} Ga \frac{\partial W}{\partial x}$$

c. -Humedad del aire:

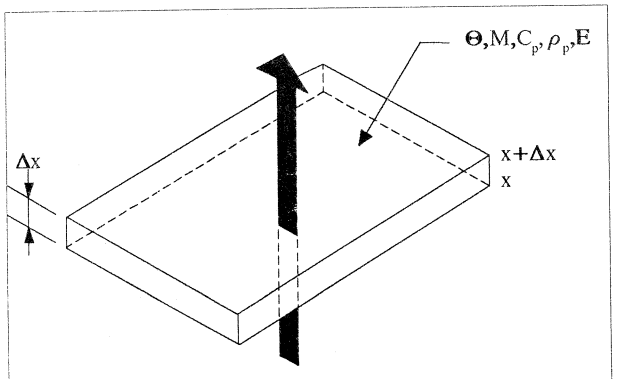


FIGURA 2. Capa Elemental de Control

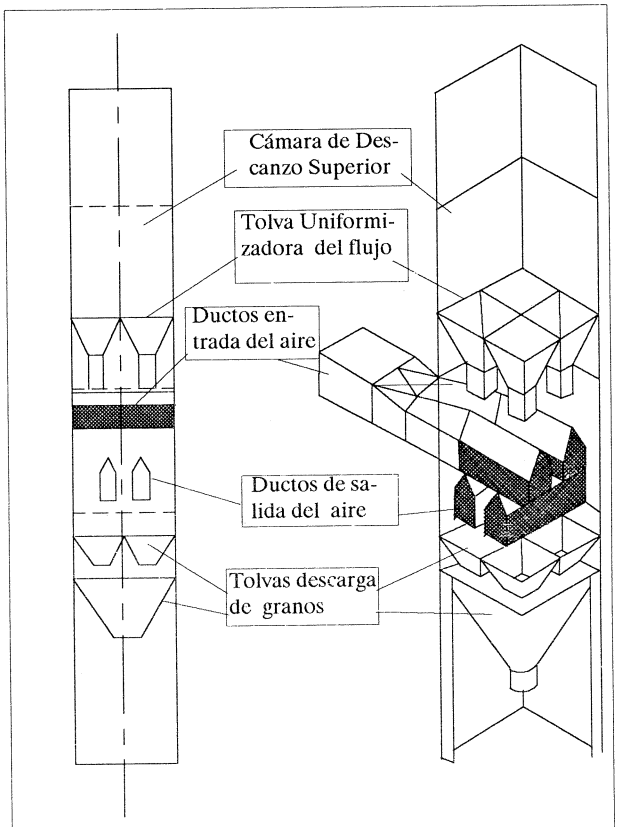


FIGURA 1. Vista Frontal y Plano Isométrico del secador Intermitente de Flujos Concurrentes (IFC).

Humedad transferida = (humedad que entra) - (humedad que sale)

$$\frac{\partial W}{\partial x} = -\frac{Gp}{Ga}\frac{\partial M}{\partial t} \quad <<3>>$$

d. -Contenido de humedad:

$$\frac{\partial M}{\partial t} = \text{Una ecuación de capa delgada o en su defecto una ecuación de difusión.} \quad <<4>>$$

En donde,

T	=	temperatura del aire, °C
x	=	coordenada espacial, m
h	=	coeficiente de transferencia de calor por convección, $kJ.m^{-2}.s^{-1}.°C^{-1}$
a	=	área específica del producto $m^2.m^3$
Ga	=	flujo del aire seco, $kg.s^{-1}.m^2$
Ca	=	entalpía específica del aire seco, $kJ.kg^{-1}.°C^{-1}$
W	=	razón de humedad del aire, $kg.kg^{-1}$
Θ	=	temperatura del producto, °C
Pp	=	masa específica del producto expresado en materia seca, $kg.m^{-3}$
Cp	=	entalpía específica del producto expresado en base a materia seca

kJ.kg^{-1}.°C^{-1}

Cw= entalpía específica del agua, kJ.kg^{-1}.°C^{-1}

hg= entalpía de vaporización, kJ.kg^{-1}

M = contenido de humedad del producto, kg. kg^{-1}, base seca

Gp= flujo del producto, kg.s^{-1}.m^{-2}

t = tiempo de secado, s

Las ecuaciones diferenciales 1, 2, 3 y 4 requieren de una solución numérica, ya que una solución analítica del sistema de ecuaciones no es posible.

Las ecuaciones anteriores constituyen el modelo de simulación de la Universidad de Michigan. Para implementar este modelo de simulación de secado para el café pergamino en el secador IFC se requiere conocer la ecuación de difusión de humedad para el café con el fin de cuantificar los cambios de humedad en el interior de los granos durante los períodos de secado y de reposo, etapa ésta que toma lugar después de pasar el grano por la cámara de secado.

Dentro de los modelos matemáticos propuestos para describir el movimiento de humedad en el interior de una cuerpo, se tiene la expresión propuesta por Fick, (Brooker et al. (4)) :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \qquad <<5>>$$

donde,

C= Concentración de líquido, kg.m^{-3}

t= Tiempo de secado, s

D= Coeficiente de difusión, m^{2}s^{-1}

Considerando la partícula como un medio poroso con contenido de humedad M, la ecuación 5 puede ser escrita de la siguiente manera, según Cranck, citado por Carnaham et al. (5):

$$\frac{\partial M}{\partial t} = D\left(\frac{\partial^2 M}{\partial r^2} + \frac{c}{r}\frac{\partial M}{\partial r}\right) \qquad <<6>>$$

Donde

M= Contenido de humedad, b.s.

r= Coordenada espacial, m

c= 0 para placas planas, 1 para cuerpos cilíndricos y 2 para cuerpos esféricos.

El coeficiente de difusión de humedad de diferentes granos ha sido determinado en función del contenido de humedad y de la temperatura del producto (6,9). Algunos autores como Donzeles, Pabis y Henderson, O'Collanghan et al., citados por Dalpasquale et al. (9), consideran el coeficiente de difusión en función solamente de la temperatura del grano cuando este presenta alto contenido de humedad. La metodología experimental más utilizada para la determinación del coeficiente de difusión es el monitoreo de los fenómenos de absorción o de desorción, que consiste en determinar el cambio de peso, a lo largo del tiempo, de una capa delgada del producto sometida a condiciones controladas de aire (Brooker et al. (4)).

Para implementar el modelo de Michigan para el secado de café pergamino en equipo IFC se requiere además conocer las siguientes propiedades físicas del producto: curvas de humedad de equilibrio, entalpía de vaporización del café, ecuación de difusión de humedad, calor específico, densidad aparente, área específica y radio equivalente.

De las propiedades antes mencionadas, las dos primeras fueron reportadas por Trejos (16). Las restantes se determinaron en el presente estudio.

Los **objetivos** buscados en esta investigación fueron:

-Implementar y validar el modelo de simulación propuesto por la Universidad del Estado de Michigan, para el secado del café pergamino en equipo intermitente de flujos concurrentes.

-Determinar los valores de las variables flujo de granos, temperatura y flujo de aire de secado, para obtener el desempeño óptimo del secador.

-Optimizar el dimensionamiento y la operación del secador IFC para café pergamino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos realizados para obtener los valores que permitieron determinar las propiedades físicas, difusión de humedad, contenido de humedad de equilibrio , entalpía de vaporización, densidad aparente , área superficial y radio equivalente, se llevaron a cabo en el laboratorio para experimentación en beneficio del café del Centro Nacional de Investigaciones de Café - CENICAFE.

DIFUSION DE HUMEDAD

Mediante la metodología propuesta en este trabajo se aprovechó el efecto significativo en la humedad relativa del aire instersticial producido por muy pequeñas pérdidas de la humedad del grano (no determinables por los métodos convencionales de determinación de humedad de los granos), bajo condiciones herméticas y adiabáticas. Para el efecto, se acondicionó una masa de café mediante el secado, a un nivel de humedad y temperatura deseados; se colocó una muestra de 1 kg en una cámara hermética, denominada cámara de trabajo (Figura 3). Por medio de un ventilador se forzó el aire a través de la masa de granos; la cámara de trabajo con la muestra se introdujo a su vez en otra cámara con temperatura controlada y próxima a la del grano, ±1 °C; se permitió, dejando la muestra en condiciones de almacenamiento temporal, que la muestra se reposara, es decir que la humedad en el interior de los granos se redistribuyera, ; durante este período se tomaron lecturas de humedad relativa y de temperatura del aire intersticial, con intervalo de cinco minutos, utilizando un termohigrómetro marca TESTOTERM, con precisión de 0.1% y de 0.1 °C, para la medición de humedad relativa y de temperatura, respectivamente. Se consideró que ocurrió la

redistribución de la humedad en el interior de los granos cuando la lectura de humedad relativa del aire intersticial conservaba su valor durante 30 minutos. Para verificar la hermeticidad de la cámara de trabajo se compararon los pesos de las muestras de café antes y después de cada ensayo, con balanza de precisión ± 0.1 g.

El rango de contenido de humedad y temperatura del grano, para los ensayos fue del 25 al 10% b.s. y de 40 a 55°C, respectivamente. Para valores de humedad de los granos superiores al 25%, se observó que la humedad relativa del aire, presentaba valores superiores a 98%, valor límite de lectura de la instrumentación. Para estos altos valores de humedad, el agua se evapora de acuerdo a la teoría de evaporación libre, mecanismo mucho más sencillo que el proceso de difusión (Brooker et al. (4)), tema de estudio de ésta contribución.

Para estudiar el movimiento de humedad en el interior del grano de café pergamino, durante el reposo, se consideró al grano como un material homogéneo e isotrópico, y se admitió, como se reporta en la literatura para otros granos (Brooker et al. (4)), que puede ser representado por una esfera de radio equivalente, dividido en 10 casquetes. Cada casquete estaba representado por un nodo en su radio medio.

Con base en estos datos experimentales, se plantearon las condiciones iniciales y de contorno apropiadas para resolver la ecuación de Fick, para cuerpos esféricos y homogéneos. Se utilizó el método de las diferencias finitas propuesto por Crank Nicholson y el método de solución propuesto por Carnahan et al. (5) para resolver la ecuación (6).

Las condiciones de contorno utilizadas fueron:

$$M(r,t) = Me \quad \text{para} \quad t = t_f, 0 < r < R \qquad <<7>>$$

$$\partial M(r,t)/\partial r = 0 \quad \text{para} \quad t > 0, \; r = 0 \qquad <<8>>$$

y para el nodo superficial, se tiene:

$$-D \left.\frac{\partial C}{\partial r}\right|_{n-1} A_{cn-1} = \frac{\partial C}{\partial t_n} V_{casquete} + \frac{\Delta Habs \times F}{t \times NG} \qquad <<9>>$$

donde,

r = posición dentro de la esfera, m
f = última observación de la prueba de reposo
R = radio equivalente del grano de café, m
t = tiempo, min
Me = humedad de equilibrio, base seca, decimal
D = coeficiente de difusión, m^2/min
A_{cn-1} = área del casquete correspondiente al nodo n-1, m^2
t = tiempo, min
V = volumen del casquete correspondiente al nodo n, m^3
ΔHabs = incremento de humedad absoluta, kg agua/kg aire seco
NG = número de granos de la muestra
C = concentración de humedad, kg agua/m^3
F = factor de conversión.

Utilizando el método propuesto por Crank-Nicolson se aproximaron las variaciones parciales de contenido de humedad (M) con respecto al espacio (r) y al tiempo (t). La humedad media experimental de la masa de granos, sometida a reposo, se obtuvo aplicando la norma ISO 1678 de 1982 para café. De otro lado, la humedad media del grano fue calculada con base en la media ponderada de la humedad en cada nodo, con relación al volumen representado por él.

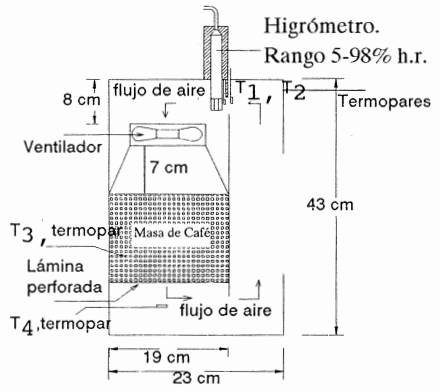


Figura 3. Cámara Experimental para la Determinación de la Difusividad del Café Pergamino

Los coeficientes de difusión de humedad del café pergamino, para diferentes niveles de contenido de humedad y temperatura del grano, se ajustaron a un modelo tipo Arrenhius, utilizando el programa de regresión no lineal NLINA, propuesto por Beck (3). Para inicializar el ajuste, se utilizaron los parámetros del modelo para el coeficiente de Difusión del maíz, propuesto por Chu e Hustrulid (6).

RADIO EQUIVALENTE

Se determinó el radio equivalente del café pergamino y trillado, para diferentes niveles de contenido de humedad. Las muestras provenientes de un mismo lote de café pergamino, variedad Caturra con 53% b.h. de humedad inicial, se acondicionaron mediante el secado en estufa a 55 ± 1°C.

Para cada nivel de contenido de humedad se tomó una submuestra de 30 granos (al azar). Se midió a cada grano, tanto al pergamino como a la almendra, sus dimensiones ortogonales, es decir, largo (l), ancho (a) y espesor (e), con un calibrador pie de rey, con precisión de 0.05 mm, para calcular el diámetro equivalente con la medida geométrica $(l.a.e)^{1/3}$.

Se estimó el radio medio equivalente, para cada uno de los niveles de contenido de humedad observados, tanto

para el café verde como para el pergamino. Además, tanto en el pergamino como en la almendra, se estudiaron las posibles diferencias en cada uno de los radios promedios correspondientes a cada nivel.

Conociendo el radio equivalente promedio de la almendra y del pergamino, considerando al grano como una esfera, y haciendo uso del principio de invarianza, se obtuvo la información del volumen tanto para el café pergamino, como para el café trillado, para diferentes niveles de contenidos de humedad.

AREA ESPECIFICA

Se determinó el número de granos por kg de producto y se midió la densidad aparente. Considerando el grano como una esfera, se calculó su área superficial. A partir de la información anterior se estimó el área específica. Se validó la metodología anterior, midiendo el área del pergamino de 120 granos con un planímetro.

DENSIDAD APARENTE

Para obtener la densidad aparente en función del contenido de humedad, se tomaron cinco muestras de café pergamino de 2 kg cada una, con humedad inicial de 50 - 53% b.h.

Se prepararon sub-muestras a diferentes niveles de contenido de humedad, mediante el secado en estufa a 55 ± 1°C. Se midió la densidad aparente utilizando la metodología consistente en pesar la masa de granos (previamente colocada según procedimiento normalizado), contenida en un volumen de 5,555 cm^3. La relación entre el peso y el volumen corresponde a la densidad aparente del producto.

Los valores de densidad aparente obtenidos para diferentes niveles de contenidos de humedad, se ajustaron mediante regresión lineal.

CALOR ESPECIFICO

El calor específico para el café pergamino se calculó aplicando el balance de calor, usado en el método de las mezclas. Se utilizó como calorímetro un termo recubierto con 5.0 cm de fibra de vidrio en su exterior. El calor específico del fluido calorimétrico (tolueno) y el de materiales como hierro y cobre, se obtuvieron de la literatura consultada.

Los valores del calor específico de café pergamino, obtenidos experimentalmente, a diferentes niveles de humedad, se ajustaron mediante una regresión lineal, obteniéndose una expresión para el calor específico del café pergamino, en función de su contenido de humedad.

MODELO MATEMATICO DE SIMULACION

Una vez obtenido el modelo matemático o la estimación para cada una de las siguientes propiedades físicas del café pergamino: difusión de humedad, contenido de humedad de equilibrio, entalpía de vaporización, calor específico, área específica, densidad aparente y radio equivalente, se implementó el modelo de simulación del secado de granos propuesto por la Universidad de Michigan, para el secado del café pergamino en el secador IFC.

Para la solución numérica del sistema de ecuaciones diferenciales (1,2,3 y 4) y las condiciones iniciales y de contorno correspondiente, (7,8 y 9) se aplicó el método de Adams-Moulton, inicializado por el método de Runge-Kutta de cuarto orden (Carnaham et al. (5)). Para la solución particular de la ecuación de difusión (6) se utilizó el método de diferencias finitas propuesto por Nicholson (3).

Las ecuaciones de las propiedades físicas del café pergamino obtenidas en éste trabajo son válidas en el rango de humedad de 10 a 55% b.s., por lo tanto el modelo matemático solo puede simular el secado para humedades a partir de este valor hasta el contenido de humedad final deseado.

De acuerdo con Brooker et al. (4), la tasa de secado constante que se presenta en productos con alta humedad como el café en el rango de 115% a 55% b.s., está influenciada por las condiciones externas al grano, temperatura y flujo de aire principalmente. Si estos parámetros son constantes, la tasa de secado permanecerá constante.

Para el caso específico de una capa espesa de café, con humedad inicial de 120% b.s. y secado en equipo IFC, en el cual, de acuerdo con datos experimentales reportados por Correa (8), presenta tasas de secado constantes. se asumió, en el rango 120-55%, b.s., una tasa de secado constante.

VALIDACION

Para validar el modelo de Michigan, adaptado al secado del café pergamino, en el secador IFC (Figura 1), se tomó:

-Información experimental obtenida por Correa (8), en las pruebas experimentales en un secador IFC con capacidad estática de 600 kg de CPS.

-Datos experimentales obtenidos en este estudio, en un secador IFC con capacidad para 2.000 kg de café pergamino seco.

Las condiciones generales del aire y del grano utilizados en éste proyecto se presentan en la Tabla 1.

Los valores experimentales fueron comparados con los obtenidos mediante la simulación del secado, para valores de contenido de humedad inferiores a 55%, base seca, utilizando el análisis gráfico de las tasas de secado experimentales y simuladas. Este análisis permite observar gráficamente la precisión del modelo de simulación y además las posibles etapas en las cuales el modelo subestima o sobreestima el proceso de secado. Estadísticamente se compararon las tasas de secado y las temperaturas del grano, mediante una correlación lineal, entre lo experimental y lo simulado.

TABLA 1.- Condiciones iniciales del aire, del grano y de secado en las experiencias realizadas.

Condiciones - Prueba	1	2	3	4	5
Aire Ambiente					
Temperatura, °C	21	21	20	20	20
Razón humedad, kg/kg	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Condiciones de secado:					
Temperatura aire, °C	87	87	82	96.8	70.9
Flujo aire, m^3/m^2-min	48	48	48	49	50.4
Flujo granos húmedos, kg/m2-h	1200	1200	1200	2331	1101
Altura columna de secado, m	0.87	0.87	0.87	0.6	0.6
Altura columna de reposo, m	4.35	4.35	4.35	3.04	3.04
Condiciones iniciales del producto:					
Temperatura, °C	37	30	35	45	45
Contenido hum., %,b.s.	50	110	119	57.2	50
Condiciones del producto después del secado:					
Temperatura, °C	50	52	50	51	51
Contenido hum.,% b.s.	13	13	14	13	16

Adicionalmente se analizaron las diferencias absoiutas medias y máximas simuladas y experimentales, de contenido medio final de humedad, temperatura final del grano y tiempo total de secado.

ALGORITMO DE OPTIMIZACION

Una vez validado el modelo de simulación para el secado del café pergamino, se hizo uso de él para optimizar el secador IFC operacionalmente, con base al mínimo tiempo de secado y al mínimo número de pasadas del grano por etapa de secado (número de vueltas).

Esta última restricción fue necesario tenerla presente para el secado del café con movimiento del grano, ya que el pergamino, envoltura externa del grano, puede ser partido y desprendido de la almendra por causa del accionamiento mecánico del transportador.

Para aplicar un algoritmo clásico de optimización, se hace necesario disponer de una función que exprese el tiempo de secado en función de todos los parámetros que intervienen en este tipo de secador.

Por la inexistencia de la función objetivo, se procedió a utilizar el método de la "fuerza bruta" descrito por Fox (10), que consiste en hacer todas las combinaciones posibles de los parámetros de entrada y luego seleccionar la combinación que presente el mínimo tiempo de secado y/o el mínimo número de recirculaciones del grano por la etapa de secado.

El programa para la optimización del secador IFC, elaborado en BASIC, realiza la prueba de secado para cada combinación, de acuerdo a los parámetros iniciales de secado y a los incrementos en cada uno de ellos, definidos en el programa.

Con base en los resultados suministrados por este modelo de optimización se pudo seleccionar, de acuerdo al mínimo tiempo de secado y el mínimo número de recirculaciones, la mejor operación del secador y la longitud de sección de reposo más adecuada.

Con el fin de optimizar el secador comercial, actualmente disponible en CENICAFE, se ejecutó el algoritmo, obteniéndose un total de 36 pruebas de secado, de las cuales se dedujo la condición para su mejor operación.

RESULTADOS Y DISCUSION

DIFUSION DE HUMEDAD

El modelo obtenido, para el coeficiente de difusión del café pergamino, según ajuste tipo Arrenihus fue:

$$D = 4.1582 \times 10^{-8} \text{Exp}\,[(0.1346\,\Theta + 2.2055)\bar{M} - 1184*(\Theta + 273.16)^{-1}]$$

Donde: <<10>>

D: difusión de humedad, ($m^2.min^{-1}$)

$\bar{M}$: Contenido de humedad media del grano, dec., b.s.

Θ: Temperatura del grano, (°C)

En la Figura 4 se presentan los valores del coeficiente medio de difusión de humedad para el café pergamino, según la ecuación (10). En esta Figura se observa el efecto significativo del contenido de humedad y de la temperatura del grano sobre el valor del coeficiente de difusión. El coeficiente alcanza su mayor valor cuando la humedad y la temperatura son las más altas. Este comportamiento también ha sido reportado en la literatura para la mayoría de los granos (Brooker et al., (4)).

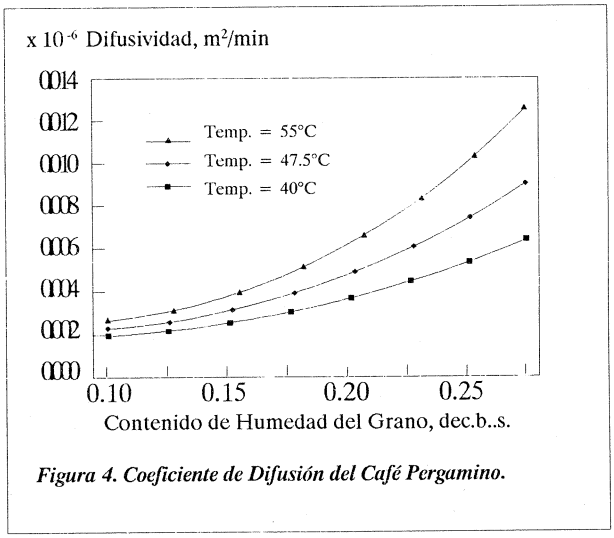


Figura 4. Coeficiente de Difusión del Café Pergamino.

Los radios medios equivalente estimados para los diferentes niveles de contenido de humedad, para café pergamino variaron de 4.04mm para contenidos de humedad de (51 y 47%,b.h.) hasta 3.85mm para contenidos de humedad en el rango (42 a 10.5%,b.h.). Para el grano

verde (en almendra o trillado) el radio equivalente varió desde 3.87mm (51-47%,b.h.), hasta 3.27mm (25.6 a 10.5%,b.h.). Estos valores presentaron un coeficiente de variación entre 3.5% y 6.2%. La prueba de homogeneidad de varianzas tanto para el radio equivalente del pergamino como para el de almendra fue corroborada por el estadístico de prueba JI cuadrado (14.8 y 9.86 al 5% respectivamente). La comparación de promedios se hizo mediante la prueba de Duncan, y se observaron diferencias al 5%. Se observó además que el radio equivalente tanto para café pergamino como para trillado, no cambia en los rangos de humedad del 25.6% b.h. a 10% b.h. y tienen un valor promedio de 3.85 y 3.27 respectivamente, lo que permite inferir que en este rango de humedad se presenta una cámara de aire interna en el grano pergamino, de 0.58 mm de espesor.

Según los valores reportados por Walker (17), para radios del arroz y maíz, 0.098 cm y 0.296 cm, respectivamente, el radio del café pergamino es 3.93 veces más grande que el del arroz y 1.3 más grande que el del maíz.

Sinembargo, de acuerdo con Marçal (13), el radio promedio utilizado para la simulación del secado del maíz es 1.267 más grande que el del café pergamino, obtenido en este estudio.

A partir del análisis de radio equivalente para café pergamino y trillado, y haciendo uso del principio de invarianza, se obtuvo la información del volumen considerando formas esféricas tanto para café pergamino como para trillado, con diferentes niveles de humedad.

Con base en estos análisis se observa que la almendra representa el 87.9% del volumen del café pergamino, en el rango de humedad de 51% a 47% base b.h. En el rango de humedad entre el 25.6% al 10.5%, la almendra representa el 61.3% del volumen del café pergamino.

El café pergamino sufre una reducción de volumen del 13.5%, cuando por secado, su humedad cambia del 51% b.h. al 10.5% b.h. Este valor es superior en un 35% al reportado por Cleves (7).

AREA ESPECIFICA

Considerando el grano de café como una esfera, se obtuvo un área específica de 779.8 m^2/m^3 para café pergamino, en el rango de humedad del 25.6% - 10% b.h.

En la validación de la metodología utilizada para calcular el área superficial del café pergamino, considerando su forma esférica, y mediante la medida del área del pergamino con el planímetro, se observó que dicha información coincide en un 50%.

DENSIDAD APARENTE

Las expresiones obtenidas para la densidad aparente del café pergamino, en función del contenido de humedad son:

$$DA = 323.739 + 5.597\ CH_{bs} \qquad <<11>>$$

$$DA = 365.884 + 2.707\ CH_{bh} \qquad <<12>>$$

Donde el coeficiente de determinación lineal es del 94% y 95% respectivamente y:

DA : Densidad aparente, kg/m^3

CH_{bs} : Contenido de humedad, % b.s.

CH_{bh}: Contenido de humedad, % b.h.

CALOR ESPECIFICO

Las expresiones para el calor específico del café pergamino, obtenidas utilizando el método de las mezclas, son:

$$CP = 1.3536 + 5.7859\ CH_{bs} \qquad <<13>>$$

$$CP = 0.95657 + 9.6425\ CH_{bh} \qquad <<14>>$$

Donde,

CP = Calor específico, $kJ.kg^{-1}.K^{o-1}$

CH_{bs} = Contenido de humedad, decimal, b.s.

CH_{bh} = Contenido de humedad, decimal, b.h.

El coeficiente de determinación obtenido fué de 85.9% respectivamente. Las expresiones anteriores son válidas para contenidos de humedad comprendidos en el rango de 45% b.h. a 11% b.h.

Según Sivets y Foote los sólidos constituyentes del café tienen un calor específico igual a 1.674 kJ/kg, el cual corresponde al intercepto en la expresión dada para el calor específico de café en frutos:

$$CP = 1.674 + 2.51 \times CH_{bh} \qquad <<15>>$$

Como se puede observar, los interceptos de las ecuaciones para CH_{bs} y CH_{bh} son aproximadamente el 81% y el 57% del intercepto de la ecuación (15).

VALIDACION Y SIMULACION

Los valores de los parámetros del aire y del grano utilizados en las evaluaciones del secador IFC, comercial y prototipo, presentados según Tabla 1 corresponden a 5 de 12 pruebas experimentales, con el fin de mostrar la bondad del modelo, por prueba, con base en el hecho de que el proceso de secado bajo las mismas condiciones del aire del grano, se considera determinístico (Brooker et al.(4)).

Los parámetros del modelo validados fueron la temperatura y el contenido de humedad del grano y el tiempo de secado.

Al evaluar la precisión del modelo para describir el proceso de secado, comparando las humedades del grano estimadas con las experimentales, se obtuvo:

-La diferencia absoluta de temperatura final del grano fue la más variable a través de las pruebas, desde 0.7°C hasta 5°C (ver tabla 2.)

-La máxima diferencia entre contenido de humedad final del grano fue de 1% b.s., mientras que Marçal aceptó para este parámetro una diferencia media de 1.5% b.s. y máxima de 3.8% b.s.

-Las diferencias entre tiempo total de secado oscilaron entre 0.12 y 2.17 horas (ver tabla 2).

La tasa de secado para cada prueba simulada estuvo

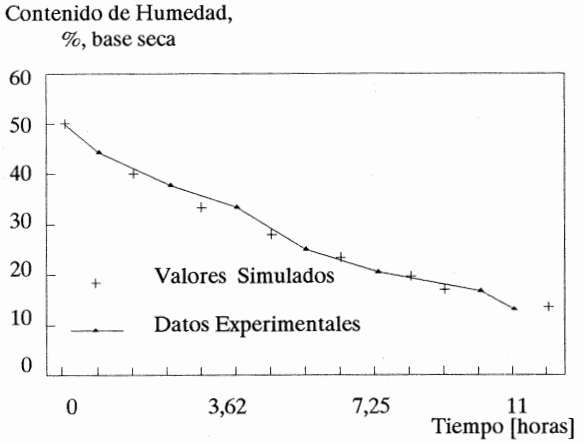


FIGURA 5. Curva de Secado para la Prueba N°5.

muy próxima a la experimental, como lo muestra, representativamente en la Figura 5, para la prueba N°5.

Los coeficientes de correlación, para las tasas de secado y temperaturas del grano, entre valores experimentales y simulados fueron del orden de 0.95 a 0.99 (a través de las pruebas) con un nivel de significación del 1%.

En la validación de la duración del reposo, se tomó la información experimental de la prueba número 5, para utilizar el modelo, fijando un índice de redistribución de humedad de 0.95. Experimentalmente la duración media de reposo para el rango de humedad 18% y 10% b.s., está entre 2.6 y 4.3 horas. La simulación mostró para el mismo rango de humedad una duración del reposo entre 3.7 y 4.3 horas.

TABLA 2. Diferencias absolutas entre valores finales, de los parámetros de secado en la validación del modelo.

Prueba N°	Temperatura del Grano [°C]	Contenido de Humedad [%, b.s.]	Tiempo de Secado [horas]
1	3.0	1.0	2.17
2	4.0	1.0	0.7
3	1.96	0.9	0.2
4	5	0.12	1.33
5	0.7	0.02	0.12

Con base en los excelentes resultados obtenidos de la validación del modelo, se puede afirmar que éste es apropiado para describir el proceso de secado de café pergamino en un secador IFC.

Al utilizar el modelo para realizar un análisis de sensibilidad de los parámetros que intervienen en el proceso de secado, en equipo IFC, se observó lo siguiente:

- La longitud de la cámara de reposo para obtener índices de redistribución superiores a 0.75, es de 3.5 m, valor similar al obtenido por Marçal, quien reporta una longitud, para esta cámara de 4 m, obtenido en la mayoría de los casos con un índice de redistribución de 0.6 a 0.75.

-Cuando fueron simuladas alturas de la columna de secado, superiores a 0.6 m, se observó que ocurría poca variación en el contenido de humedad y en la temperatura final del grano. Similar tendencia fue observada por Marçal.

OPTIMIZACION

De acuerdo a los buenos resultados obtenidos en la validación del modelo, se procedió a optimizar operacionalmente el secador comercial IFC en las variables tiempo de secado y número de pasadas por la etapa de secado.

En total el algoritmo simuló 36 pruebas de secado con un promedio de tiempo de una hora por prueba. Los niveles optimizados de los parámetros de secado obtenidos son: Temperatura de Secado, 83 °C; Flujo café pergamino, 800 kg/h-m^2; Flujo de aire, 50 m^3/m^2; Indice de redistribución, 0.70 ; Longitud sección reposo, 2m.

Se requiere, según estimación del modelo,de 23.7 horas y 12 vueltas de la masa de granos por la etapa de secado, para llevar el café pergamino de 115% b.s. a 13.7% b.s, con temperatura final del grano de 50 °C.

CONCLUSIONES

Se demostró que la metodología propuesta para determinar el coeficiente de difusión de humedad en el café pergamino es válida, y presenta simplificaciones tanto en el equipo experimental requerido como en la brevedad de las experiencias necesarias.

Se desarrollaron además de la ecuación de difusión de humedad, expresiones para el calor específico y densidad aparente, como función del contenido de humedad del café pergamino.

Fué implementado con éxito el modelo de la Universidad de Michigan, para el secado de café pergamino, y en particular para el secador intermitente de flujos concurrentes. Cinco datos experimentales de secado se utilizaron para validar el modelo.

Con base a ensayos de simulación se obtuvieron las dimensiones y condiciones de operación óptima del secador.

BIBLIOGRAFIA

1. AGRAWAL, K. K. Y RAO, H. V. A computer model of psychrometric properties of air. Trans ASAE 17(1):67-69. St. Joseph, Mi. 1974.
2. BAKKER-ARKEMA, T. W.; LEREW, L. E.; DE BOER, S. F. y ROTH, M. C. Grain dryer simulation. Research Report from the Michigan state University East Lansing Michigan. 1974. 80p.
3. BECK, J.V. and ARNOLD, K.J. Parameter Estimation in Engineering and Science. John Wilesy & Sons. New York, N.Y. 1977. 55p.
4. BROKKER, D.B., BAKKER-ARKEMA, F.W., Y HALL, C.W. Drying Cereal Grains. The AVI Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut. 1974. 265.
5. CARNAHAN, C.; LUTHER, H.A.; WILKES O., J. Applied numerical Methods. John Wiley and Sons, Inc. New York. 604 p.
6. CHU, S. T. y HUSTRULID, A. Numerical solution of the diffusion equations. Transactions of the ASAE,11(5):705-710, 715. 1968. St. Joseph, Michigan.
7. CLEVES S., P. El secamiento mecánico del café. Boletín dePromecafé (Costa Rica) 1(24):4-6. Julio-Septiembre de 1984.
8. CORREA P., A. Evaluación del secado del café - Coffea arabica en un secador intermitente de flujos concurrentes. Tesis de Ingeniería agrícola. Medellín, Universidad Nacional, 1987. 258 p.
9. DALPASQUALE, V. A.; QUEIROZ, D. M. de; PEREIRA, J. A. M. y SASSERON, J. L. Curvas de secagem de amendoim, utilizando a teoría de difusao de liquido. Revista Brasilera de Armazenamento. Volumen 9, 10 (1) y (2): 16-19. Vicosa. M.G. 1984-1985.
10. FOX, J. R. Optimization methods for engineering design. Addison Wesley, N.Y. 1971. 270 p.
11. GANGADBOR RAO V. y HARRY B., P. Physical properties related to drying 20 food Grains. Technical Report No. 81-164-A. Department of Grain Science and Industry, Manhattan, Kansas.
12. LOPEZ P., H. Diseño, construcción y evaluación mecánica de un secador Intermitente de Flujos Concurrentes para cafépergamino. Tesis de Ingeniería Mecánica. Cali,Universidad Autónoma de Occidente, 1985. 220 p.
13. MARCAL, D. de Q. Simulacâo de secagem de milho (zea mays 1) em secadores de fluxos concurrentes. Tesis de Magister. Vicosa, Universidad Federal de Vicosa, 1984. 69 p.
14. MONTOYA E.C. Optimización Operacional del Secador Intermitente de Flujos Concurrentes para Café Pergamino. Tesis de Magister. Facultad de Ingeniería Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira. 114p. 1989
15. SOARES A., B. Proyecto e construçâo de um secador intermitente de fluxos concurrentes e sua avaliçâo na secagem de café. Tesis de Magister. Vicosa, M.G., Universidad Federal de Viçosa, 1982, 57 p.
16. TREJOS, R. R. Determinación de las curvas de humedad relativa de equilibrio y de calor latente de vaporización del café pergamino y trillado. Tesis de Ingeniería Agrícola, Universidad del Valle, Cali. 146p. 1986
17. WALKER, L. P. Process analysis of the multistage concurrent rice dryer degree date: 1978. Unpublished Ph.D. thesis. Michigan State University.

RESUMEN

Se optimizó el desempeño de un Secador Intermitente de Flujos Concurrentes, Secador IFC, para el secado del café pergamino utilizando el modelo propuesto por la Universidad del Estado de Michigan.

Para la implementación del modelo de simulación se determinaron las siguientes propiedades físicas del café pergamino, especie Coffea arábiga, variedad Caturra: difusión de humedad en función del contenido de humedad y de la temperatura del grano; contenido de humedad de equilibrio; entalpía de vaporización de humedad del grano; densidad aparente, en función del contenido de humedad; radio equivalente y área específica.

Para la obtención del modelo de difusión de humedad se utilizó una metodología no convencional, la cual consiste en evaluar la difusión de la humedad en el interior de los granos, sometidos previamente a secado, a partir de los cambios en la humedad relativa del aire intersticial bajo condiciones herméticas y adiabáticas. Para el efecto fueron acondicionadas muestras de café, mediante secado, a diferentes contenidos de humedad y de temperatura.

Los valores de humedad absoluta del aire intersticial, contenido de humedad promedio del grano, temperatura y radio equivalente del grano fueron incorporados a las expresiones propuestas en la literatura para la solución numérica de la ecuación de difusión para cuerpos esféricos, para obtener el coeficiente de difusión de humedad respectivo. Estos valores fueron ajustados a una distribución tipo Arrenhius utilizando la técnica de

regresión no-lineal, obteniéndose una expresión de difusión de humedad para café pergamino en función de la humedad y de la temperatura del grano.

El modelo de simulación fue validado comparando sus estimaciones de temperatura y de contenido de humedad, para diferentes niveles de parámetros de secado, con valores experimentales obtenidos en secadores tipo IFC con capacidades de 600 kg y de 2.000 kg de café pergamino seco. Las diferencias máximas de contenido de humedad y de temperatura de grano, entre los valores simulados y los experimentales, fueron del 1,0% b.s. y de 5°C, respectivamente.

Utilizando el método de "Optimización de la Fuerza Bruta", es decir considerando diferentes combinaciones de los parámetros de secado en equipo IFC, se optimizó operacionalmente el secador. Las mejores características físicas del secador y condiciones de operación obtenidas fueron:

Temperatura de secado: 83°C. Flujo de café pergamino: 800 kg/h-m^2. Flujo de aire: 50 m^3/min-m^2. Indice de redistribución: 0.70. Tiempo de secado: 23.7 h. Número de pasadas del grano a través de la etapa de secado: 12. Longitud de la sección de reposo: 2 m. Longitud de la cámara de secado: 0.65 m.

SUMMARY

The performance of an Intermitent, Concurrent Dryer (IFC) for parchment coffee beans was optimized by using a mathematical simulation model based on the Michigan State University drying model.

For the development of the simulation model the following physical properties of the parchment coffee beans, Coffea arabica speciae, Caturra variety, were determined: moisture diffusion as a function of the moisture content and temperature of the grain; especific heat; equilibrium moisture content; entalphy of vaporization of the grain; bulk density as a function of the moisture content; equivalent radius and specific area.

The moisture diffusion data was obtained by a non-conventional methodology consisting in determining the air humidity equilibrium values resulted of the transference of vapor water from the grain to the air, during forced convection flow conditioned experiments. For this purpose , previously dried bean samples, at especific moisture contents levels and air temperatures, subjected to a forced air current flow, were placed inmmediately after drying, on a hermetic and adiabatic chamber. By measuring the values of the moisture of the intersticial air, the average moisture content of the beans, the temperature and the equivalent radii of the beans, a Fick's diffusion expression for spheric bodies was obtained. A non-linear regresion analysis was used to fit the curves to the experimental diffusion data.

The complete simulation algorithm, based on the Michigan drying Model was succesfully validated by comparing the real data with the temperature and moisture content estimations, for a wide range drying parameters levels. The experimental data were obtained using two intermitent, concurrent flow driers with capacity of 600 kg and 2000 kg of dried parchment coffee. Five complete drying experiments were analyzed. The maximum differences in moisture content and grain temperature between simulated and experimental values were 1.0% b.s. and 5°C, respectively.

Using the "Coarse Force" optimization method, considering all possible experimental data, the IFC dryer was opperationally optimized. The best physical dimensions of the IFC dryer and optimum operational conditions obtained, for a redistribution index of 0.7, were: Drying air temperature: 83°C. Parchment coffee grain flow: 800 kg/h-m^2.Air flow: 50 m^3/min-m^2. Drying time: 23.7 h. Number of recirculations throughout the dryer: 12. Lenght of the repose section: 2 m. Lenght of the drying section: 0.65 m

RESUME

OPTIMISATION DES OPERATIONS DU SECHOIR INTERMITTANT A FLUX CONVERGENTS POUR LE CAFE EN PARCHE

La performance d'un séchoir intermittant à flux convergents, séchoir IFC, a été optimisée pour le séchage du café en parche en utilisant le modèle proposé par l'Université de l'Etat du Michigan.

Pour la réalisation du modèle de simulation, certaines propriétés physiques des grains de café en parche, Coffea arabica sp., variété Caturra, ont été déterminées.

Les meilleures caractéristiques physiques du séchoir et les meilleures conditions d'utilisation sont : température de séchage : 83°C. Flux du café en parche : 800 kg/h-m^2. Flux d'air : 50 m^3/min-m^2. Indice de redistribution : 0,70. Durée de séchage 23,7 h. Nombre de cycles au sein du séchoir : 12. Longueur de la section de repos : 2 m. Longueur de la section de séchage : 0,65 m.

ÉTUDE MICROSCOPIQUE DE QUELQUES TYPES DE CAFÉS DÉFECTUEUX : GRAINS NOIRS, BLANCHÂTRES, CIREUX ET "ARDIDOS"

E. DENTAN
Centre de Recherche Nestlé, Nestec S.A.
Vers-chez-les-Blanc, CH-1000 Lausanne 26 (Suisse)

La classification des grains de café s'effectue selon plusieurs critères (4) dont la taille, la densité et la couleur, les lots devant présenter la plus grande homogénéité possible. En principe, les grains noirs ou décolorés sont éliminés dans les lots de bonne qualité, et sont sortis par des trieuses automatiques ou à la main. Cependant, dans les cafés de qualité inférieure, il peut en rester un certain nombre, et ils influencent d'une manière défavorable le goût de ces cafés.

Au cours de ces dernières années, nous avons eu de nombreuses occasions de trouver des grains présentant des altérations de couleur dans des échantillons de café d'origines diverses. Ces grains ont été isolés et examinés séparément par microscopie. Ce travail présente un résumé de nos observations, mais nous ne prétendons nullement avoir trouvé toutes les raisons pour lesquelles ces grains présentent des défauts de coloration.

MATERIEL ET METHODES

Les cafés examinés sont aussi bien des Arabica que des Robusta, et proviennent d'Amérique Latine ou d'Afrique. Certains nous ont été fournis par la maison Illycaffè (Trieste, Italie), d'autres par la Fondation du café à Campinas (Brésil), ou par des spécialistes en café de notre société.

Ils ont été préparés comme précédemment décrit (1, 2) et examinés au microscope électronique à balayage Philips 505, à 20 kv. Le nombre de grains défectueux reçu à chaque fois n'a pas été assez élevé pour permettre une étude plus spécifique en microbiologie par exemple.

RESULTATS

Grains noirs : Trois origines distinctes ont été observées :

Première origine :

Ce sont des grains immatures, maltraités au cours du séchage (5). Nous avons déjà présenté ce cas lors du XIe Colloque de l'ASIC à Lomé (3). Nous rappelons que ces grains sont noirs en surface, et ne présentent pas d'infection microbienne. Le contenu des cellules parenchymateuses est présent, mais coagulé, comme le montrent les figures 1 et 2. Dans la figure 1, on peut voir une coupe transversale partielle; les parois cellulaires sont relativement fines, le contenu cellulaire est coagulé. La figure 2 illustre un détail de la précédente. Les parois cellulaires (PC) sont intactes, mais le contenu cellulaire (CC) forme une masse, telle un pouding, où il n'est plus possible de distinguer les divers constituants.

Deuxième origine :

Ce sont des grains immatures ou matures ayant subi une fermentation excessive par des levures. Ils peuvent devenir rapidement noirs dans toute la masse, et leur structure interne sera plus ou moins altérée, en fonction de la fermentation subie. Les altérations commencent toujours au niveau de l'épiderme et se propagent dans les grains de la périphérie vers le centre. L'épiderme des grains présente en général une multitude de trous microscopiques, dûs à une lyse partielle des constituants cellulosiques. Ces trous sont souvent bordés de microcristaux de sels minéraux ou d'amas amorphes de saccharides qui ont vraisemblablement exsudé au cours du séchage. La figure 3 montre un tapis de levures bourgeonnantes recouvrant la surface d'un épiderme. Dès que la paroi épidermique est suffisamment trouée, les levures pénètrent dans la première couche cellulaire et s'y multiplient, ainsi que l'illustre la figure 4. La paroi épidermique externe (PCE) étant trouée (zones noires), les levures (L) sont entrées dans les cellules épidermiques.

Comme déjà mentionné, la lyse des parois cellulaires commence toujours au niveau de l'épiderme, et s'étend rapidement aux parois voisines (Fig. 5). On remarque que la paroi cellulaire épidermique (PCE) présente de très nombreuses zones noires (trous), ainsi que les parois voisines. Il est à noter que le contenu des cellules épidermiques a disparu. Graduellement cette lyse gagne le centre des grains (Fig. 6, PC : parois cellulaires) et toutes les parois cellulaires présentent un même aspect mité. Le contenu des cellules parenchymateuses a disparu. Ce dernier est plus rapidement affecté par le processus de fermentation que les parois cellulaires. Ce sont tout d'abord les protéines et acides aminés non inclus dans les "protein bodies" qui sont atteints. Puis ce sont les "protein bodies" et les saccharides qui sont détruits et finalement la couche périphérique des lipides. Les figures 7 et 8 montrent précisément des cellules parenchymateuses dont le contenu cellulaire est fortement lysé, alors que les parois cellulaires (PC) paraissent encore intactes. Dans la cellule illustrée par la figure 7, tout le contenu protéinique a disparu. Seuls subsistent quelques résidus saccharidiques (↑), ainsi que la couche lipidique périphérique (L), alors que dans la cellule de la figure 8, seule subsiste la couche lipidique (L). Finalement les grains noirs provenant d'une fermentation trop poussée ne peuvent être plus qu'une coque vide, ce qui explique leur densité inférieure à celle des grains normaux.

Troisième origine :

La moins importante (hors Afrique), ce sont les grains noirs par anthracnose. La surface de ces grains n'est pas toujours d'un noir homogène, ceci dépendant de l'importance de l'infection fongique. Le Colletotrichum gloeosporioides est une des moisissures responsable de l'anthracnose des cerises et des grains de café. En Afrique, une espèce plus virulente :

le C. Coffeanum peut causer des dégats considérables (6). Cependant ces grains présentent souvent des infection fongiques secondaires, de type Aspergillus, Penicillium ou autre. Comme on peut l'observer sur la figure 9, ces moisissures (↑) forment un tapis à la surface du tégument argenté externe (TAE) et de l'épiderme. La première assise de cellules parenchymateuses (P) présente une désorganisation intracellulaire nette. La figure 10 montre un même tapis de moisissures au niveau du tégument argenté central (TAC). Ces moisissures pénètrent également dans le parenchyme des grains, comme l'illustrent les figures 11 et 12. Figure 11 : on observe à nouveau une altération du contenu cellulaire des cellules proches de l'épiderme externe (E). Dans la figure 12, on distingue du mycélium (↑) pénétrant dans les cellules épidermiques centrales (E), à partir du tégument argenté central (TAC).

Grains blanchâtres : (whitish beans)

A part leur décoloration évidente, les grains blanchâtres montrent peu d'altérations morphologiques. Leur surface est libre de moisissures et de levures. Par contre la surface de l'épiderme (Fig. 13) ou/et du tégument argenté (Fig. 14) est parsemée de bactéries de type coccus (streptocoques) formant des petites chaînes ou des petits amas. On peut d'ailleurs totalement décolorer la surface de grains verts en 24 heures, en les incubant avec un tel type de bactéries. Cette décoloration pourrait être due à un changement de pH (acidification) causé par l'activité bactérienne. Si l'épiderme présente des défauts, tels que petits trous ou fissures, les bactéries entrent dans les cellules sous-jacentes et y prolifèrent (Fig. 13 : cellule épidermique envahie par des bactéries, E : épiderme). A la coupe le parenchyme montre peu ou pas d'altération morphologique, ainsi que l'illustre la figure 16. Les parois cellulaires sont intactes (PC). Quant au contenu cellulaire, il reste dense. On distingue toujours la couche périphérique lipidique (L), l'intérieur étant constitué de protéines et de saccharides.

Grains cireux : (waxy beans)

Le nombre de grains cireux que nous avons pu observé était très peu élevé : une dizaine au total. Cependant ils présentaient tous les mêmes caractéristiques, à savoir une surface épidermique totalement recouverte d'une "purée" de bactéries de forme allongée, mais moins grandes que les bacilles. Nous n'avons pas pu effectuer une analyse microbiologique, vu le nombre très restreint des spécimens.

Les figures 17 et 18 illustrent l'aspect de l'épiderme des grains cireux. On distingue des masses compactes de bactéries allongées (Fig. 17). L'épiderme est très souvent troué (Fig. 18), ce qui indique une lyse partielle de ses constituants. A la coupe, les parois cellulaires du parenchyme paraissent intactes, mais le cytosol est fortement dégradé. Comme on peut le constater sur la figure 19, qui montre une fraction de parenchyme coupé transversalement dans une région proche du repli central (TAC : tégument argenté central), les parois cellulaires ne présentent aucune zone noire correspondant à une région lysée. Le cytosol est présent, mais fortement altéré (Fig. 20 : détail). Il n'est plus possible de reconnaître un quelconque constituant. Protéines, lipides et saccharides forment une masse unique, filamenteuse. Tous les éléments figurés tels que les "protein bodies" ont disparu.

Grains "ardidos"

Ces grains provenant du Brésil ont une couleur brun-brique pâle (grains morts), et sont décrits comme des grains présentant un mauvais goût, sans connotation particulière. Mis à part la couleur, leur aspect macroscopique est sans particularité. L'examen microscopique photonique montre qu'il s'agit de grains matures (Présence de sérotonine dans la cuticule de l'épiderme (1)), vraisemblablement "tués" au cours du séchage par un coup de chaleur trop élevée.

L'examen au microscope électronique à balayage montre qu'ils sont tous, sans exception, infectés par des moisissures. L'infection fongique importante s'observe aussi bien au niveau du tégument argenté, que de l'épiderme ou du parenchyme. Ce sont essentiellement des moisissures xérophiles de type Eurotium ou Aspergillus. Un grand nombre de cléistothèques sont logées dans le repli central des grains. Des bactéries, en petit nombre sont également visibles. la figure 21 montre l'aspect général du tégument argenté externe (TA). On distingue de nombreuses spores (S) ainsi que de petits amas de bactéries (B). Le tégument argenté central (Fig. 22, TAC) est souvent complètement envahi par du mycélium et des nuages de spores. Dans les spécimens les moins infectés, les moisissures sont toujours présentes au niveau du tégument argenté central (Fig. 23, TAC) ainsi que quelques bactéries. La figure 24 montre deux cléistothèques (C) reposant sur le tégument argenté central (TAC).

Les coupes transversales des grains montrent (Fig. 25) que les parois cellulaires ne semblent pas modifiées, - pas de zones sombres ni trous - mais que le cytosol est affecté : coagulation et lyse partielle. Les moisissures entrent également dans le parenchyme. On peut distinguer sur la figure 26 du mycélium (↑) ayant envahi les cellules parenchymateuses proches du centre du grain.

Il est à noter que nous n'avons pas pu déceler la présence de levures dans ces grains "ardidos".

CONCLUSIONS

Mis à part les grains noirs immatures, tous les spécimens examinés sont infectés à des degrés divers par par des micro-organismes : levures, bactéries, moisissures, qui paraissent spécifiques à chaque défaut.

Sous l'action des enzymes dont sont pourvus ces micro-organismes, de grandes modifications se produisent à l'intérieur des grains. Les levures (grains noirs) provoquent une lyse partielle des parois cellulaires ainsi qu'une disparition progressive de tous les constituants du cytosol (protéines, polysaccharides, lipides). Les bactéries (grains blanchâtres, cireux) n'ont apparemment aucune action sur les parois cellulaires. Les constituants cellulosiques et pectiques semblent présents. Dans le cas des grains cireux, le cytosol du parenchyme est fortement perturbé et partiellement lysé. Ces modifications structurelles traduisent des modifications chimiques importantes. Tous ces grains présentent des altérations de goût notoires.

Ces grains montrent en général qu'à un moment de leur histoire, une erreur de traitement est intervenue :

- Température de séchage mal adaptée : grains noirs immatures, grains "ardidos" (5).

- Attente avant le séchage, séchage trop lent, permettant la prolifération de levures, bactéries ou moisissures indésirables.

Une grande partie de ces grains défectueux pourrait être éliminée par un meilleur contrôle des diverses opérations effectuées entre la cueillette et le stockage des grains secs.

En ce qui concerne les grains noirs par anthracnose, l'infection fongique dont ils sont l'objet commence sur les caféiers. C'est donc par l'usage de fongicides adéquats qu'on peut en partie éviter ce défaut (6).

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement le Dr E. Illy, Illycaffè, Trieste (Italie), M. J.G. Cortez, Fondaçao do café, Campinas, (Brésil), le Dr R. Viani, Nestlé, (Suisse), pour la fourniture de cafés défectueux, et d'intéressantes discussions, ainsi que Mme M. Weber pour son excellent travail photographique.

RESUME

Grains noirs :

Trois origines ont été trouvées :

- Grains immatures, maltraités durant le séchage. Pas d'infection visible.
- Grains immatures ou matures, ayant subi une fermentation trop poussée, due à des levures.
- Grains noirs par anthracnose, infectés par Colletotrichum, avec généralement une surinfection due à d'autres moisissures.

Dans les trois cas, des altérations caractéristiques du parenchyme sont observées. Les grains les plus altérés sont ceux qui ont subi une fermentation par les levures.

Grains blanchâtres :

Décoloration de la surface, due à la présence de bactéries du genre Coccus (Streptocoques). Pas d'incidence notable sur la structure interne des grains.

Grains cireux :

Décoloration et aspect cireux dûs à la présence en surface d'une épaisse couche de bactéries ayant la forme de petits bâtonnets. Le parenchyme des grains est très altéré.

Grains "ardidos" :

Ils sont des grains matures, probablement "tués" au séchage et infectés ultérieurement par des moisissures de type xérophile. La grande majorité de ces grains défectueux pourrait être évitée avec des soins appropriés entre la cueillette et le séchage.

SUMMARY

Black beans :

Three different origins were observed for black beans :

- Immature beans which did not support the drying process. No infection found.
- Overfermentation of mature or immature beans, due to yeast cells
- Infection by Colletotrichum, responsible for anthracnosis, with secondary infection due to other moulds.

In the three cases, characteristic alterations of the internal parenchyma of the beans were observed, the worst due to overfermentation by yeasts.

Whitish beans :

The decoloration of the surface is due to a fermentation by bacterias, type coccus (Streptococcus), without noticeable alteration of the parenchyma.

Waxy beans :

Decoloration and waxy aspect are due to fermentation by bacterias, type rod-bacterium. Strong modification of the parenchyma.

Ardidos beans :

There are all mature beans, probably killed during drying process, and later on infected by several, mainly xerophilic moulds. It could be possible to avoid an important amount of these defective beans with a better control of all process steps between harvesting and storage of the beans.

LITTERATURE

1. DENTAN, E. (1985) Etude microscopique du développement et de la maturation du grain de café. ASIC: XIe Colloque Scientifique International sur le café. Lomé. 381-398.

2. DENTAN, E. (1985) : Microscopic structure of the coffee bean. In : Coffee : Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage. Ed : M.N. Clifford and K.C. Wilson. Croom Helm. London. 284-304.

3. DENTAN, E. et ILLY, A. (1985) : Etude microscopique de grains de café matures, immatures et immatures fermentés Arabica Santos. ASIC. XIe Colloque Scientifique International sur le café. Lomé. 341-368.

4. SIVETZ, CH.E. and DESROSIER, N.W. (1979) Coffee Technology. AVI Publications Company Inc. Westport. USA. 184-189.

5. TEIXEIRA, A.A. (1982) Effect of temperature during drying process in relation to defects in coffee. ASIC. Xe Colloque Scientifique International sur le café. Salvador - Bahia. 73-80.

6. WALLER, J.M. (1985) Control of coffee diseases. In : Coffee : Botany Biochemistry and Production of Beans and Beverage.
Ed : M.N. Clifford and K.C. Wilson.
Croom Helm. London. 219-229.

REMARQUE

Par convention, la barre située au coin inférieur droit des microphotographies indique la grandeur en μ. Lorsqu'elle ne comporte aucune indication, elle représente 1 μ.

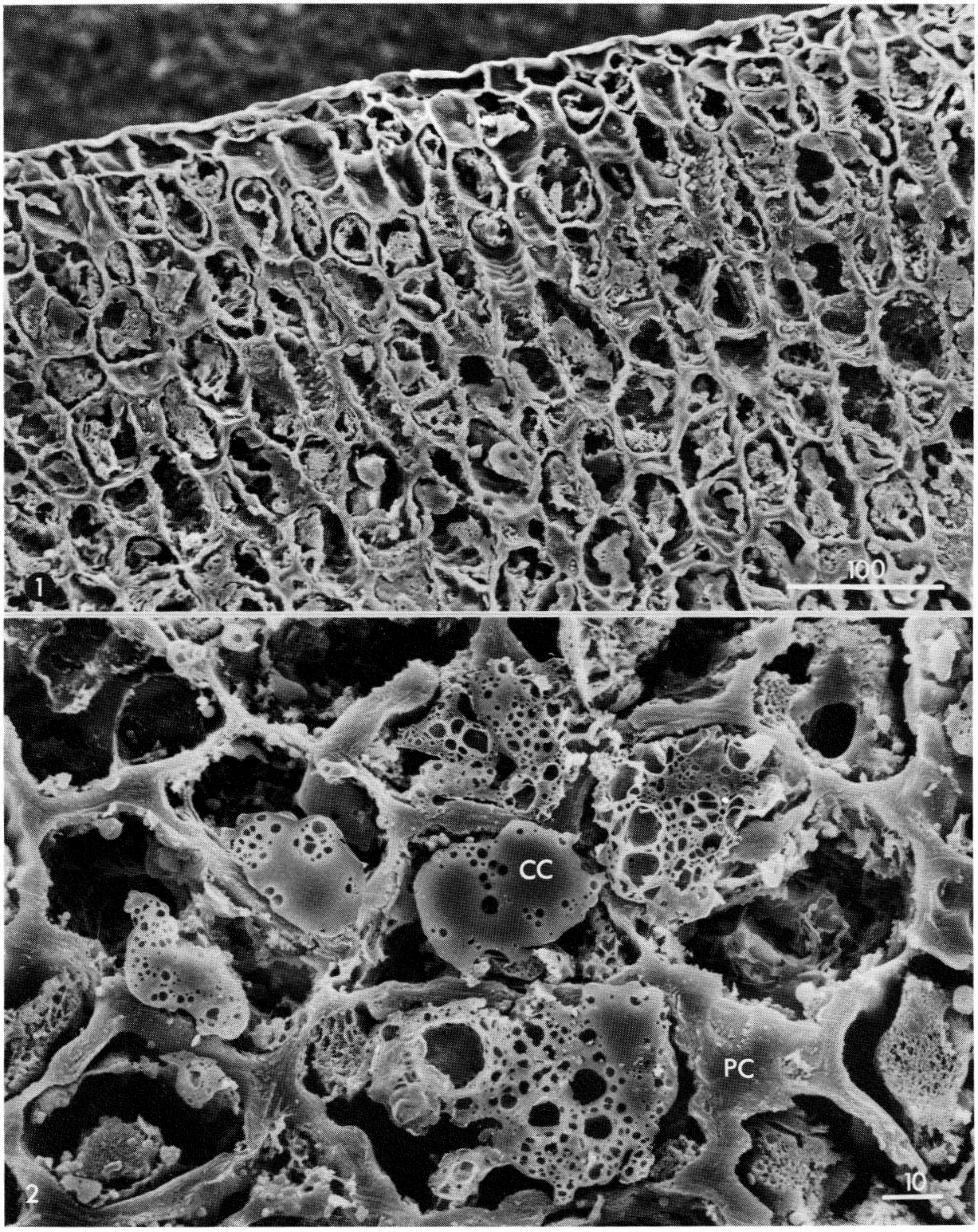
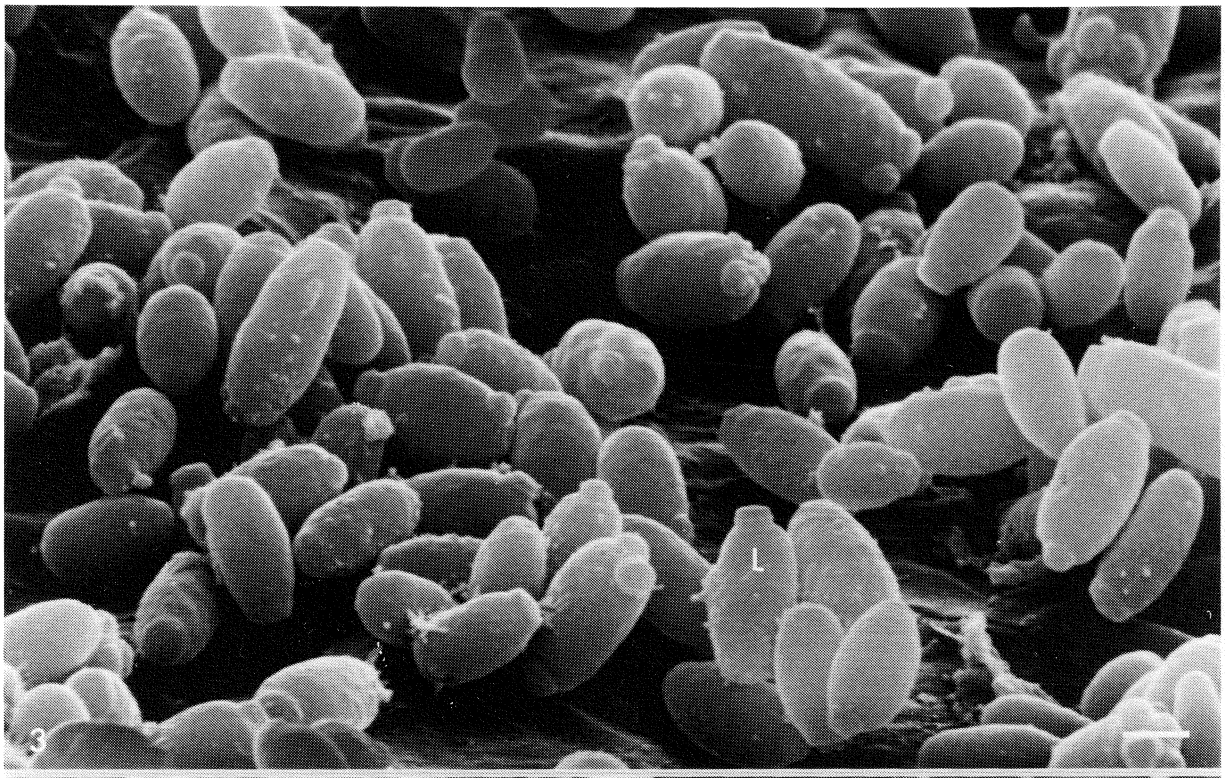


Fig. 1 : Grain noir immature. Coupe transversale.

Fig. 2 : Détail. Contenu cellulaire coagulé (CC) PC : parois cellulaires.



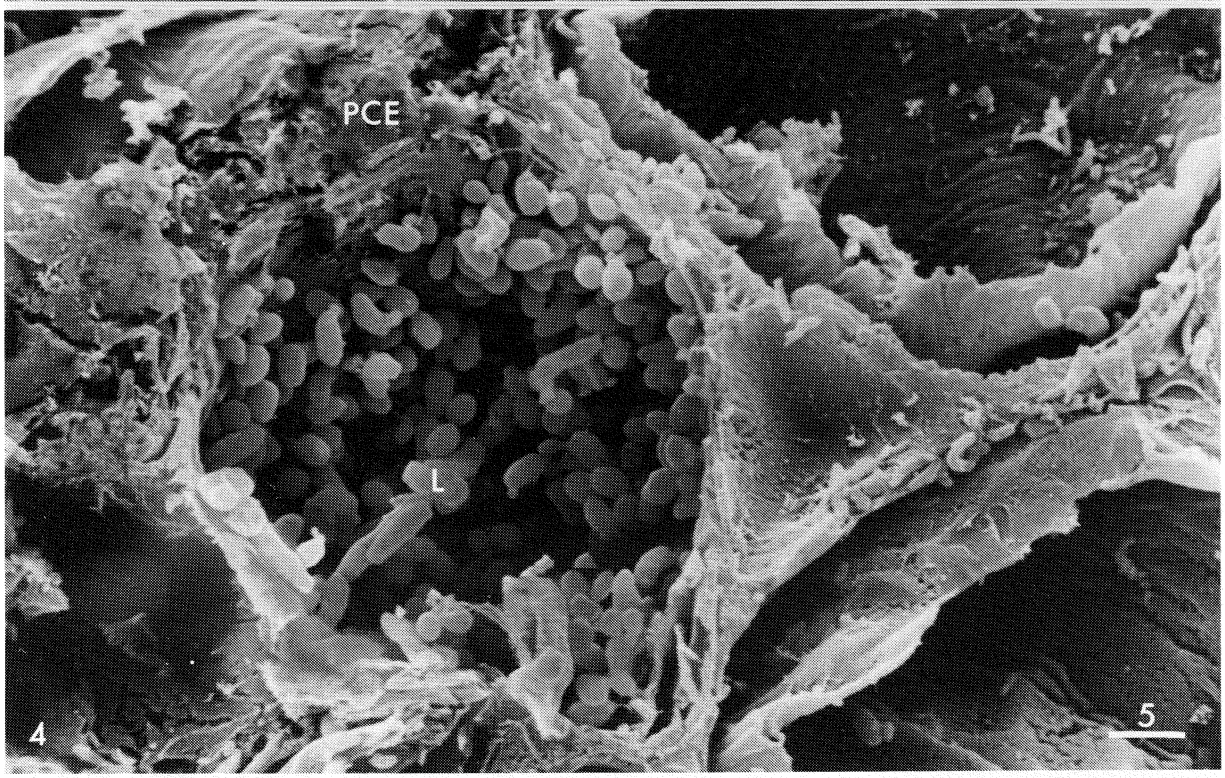


Fig. 3 : Grain noir fermenté. Epiderme. Levures bourgeonnantes.

Fig. 4 : Cellule épidermique. L : levures. PCE : paroi cellulaire épidermique.

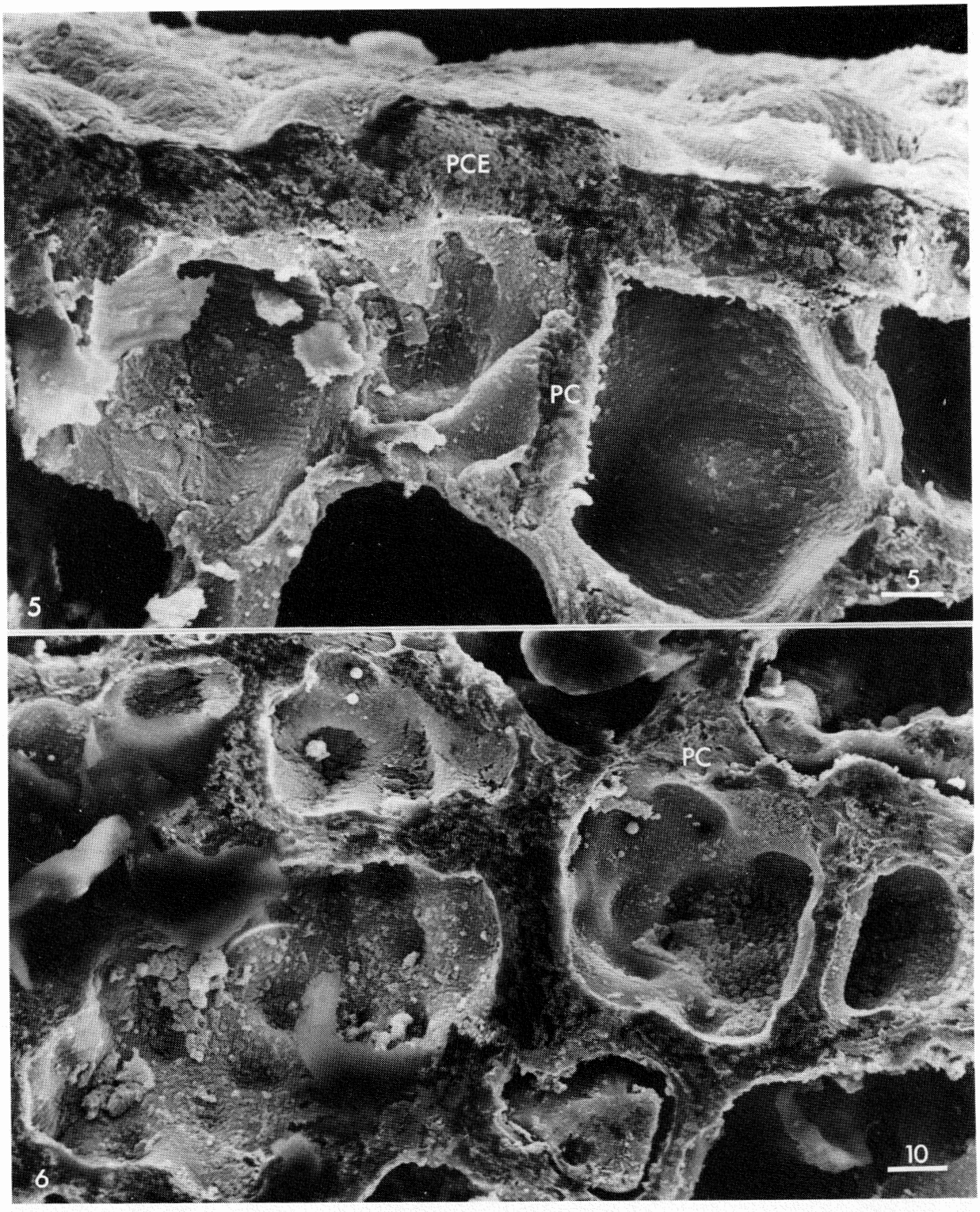


Fig. 5 : Grain noir fermenté. PCE : paroi cellulaire épidermique.

Fig. 6 : Centre du grain. PC : parois cellulaires.

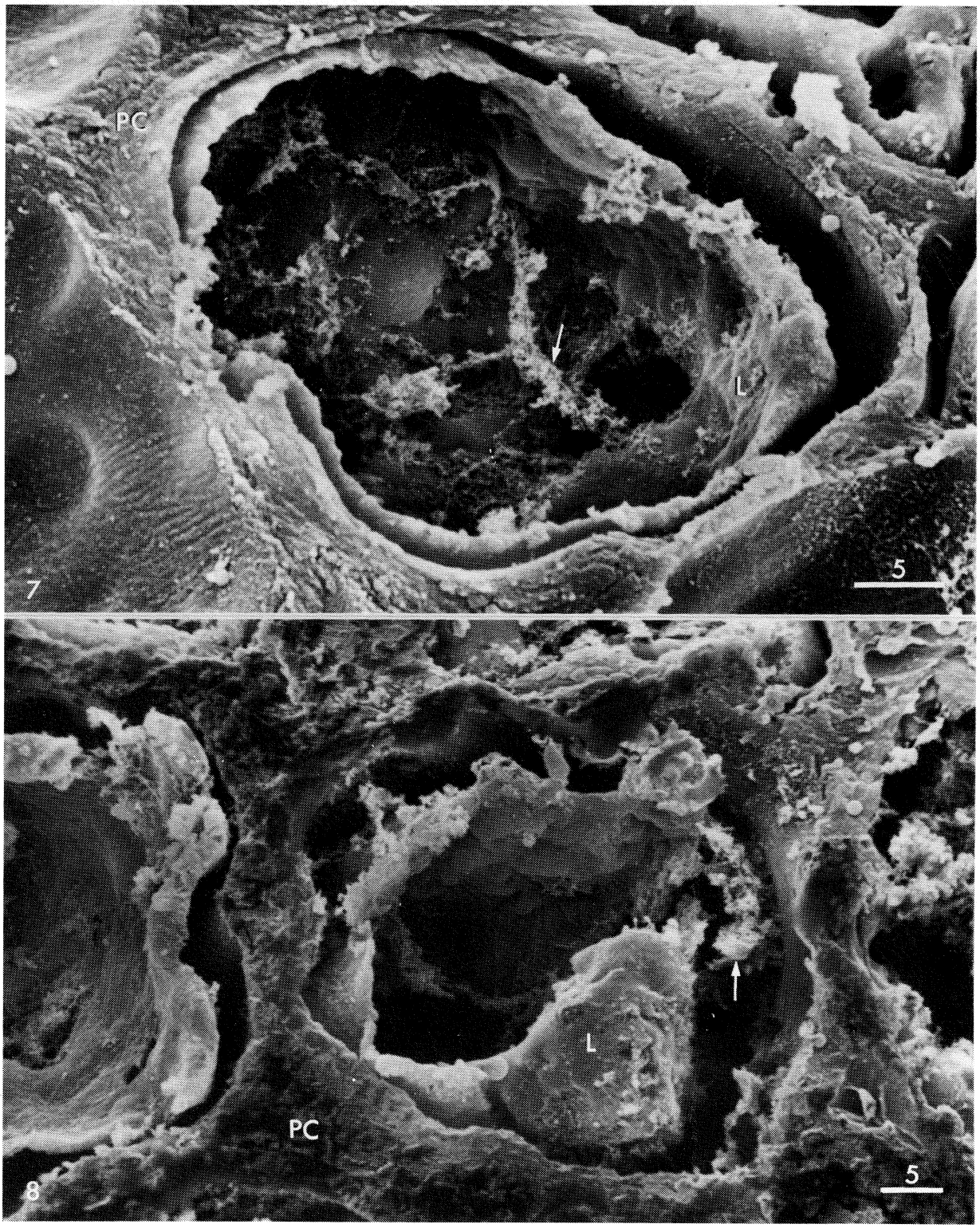


Fig. 7 et 8 : Grain noir fermenté. Cellules du parenchyme. PC : parois cellulaires. L : lipides. Polysaccharides :⟶

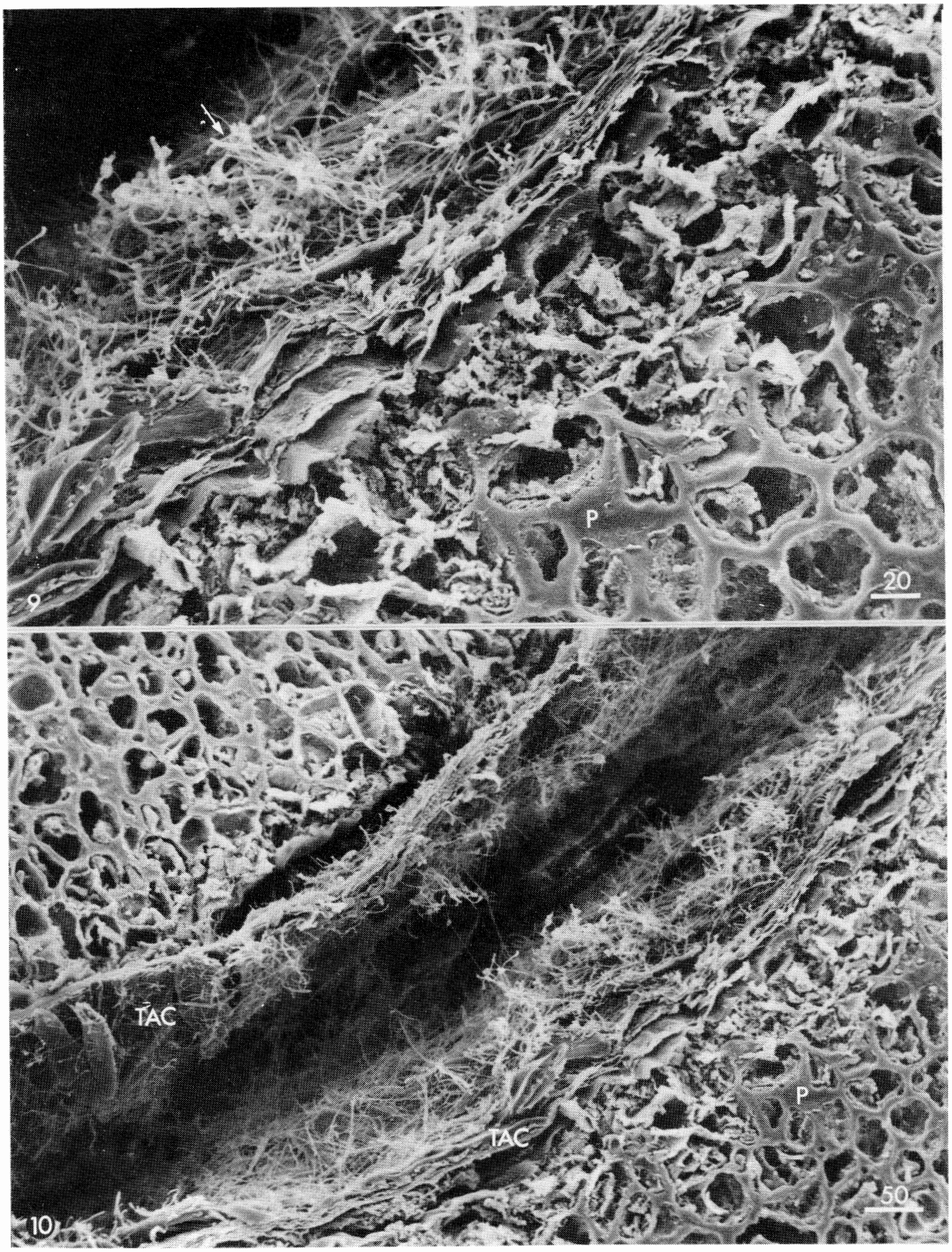
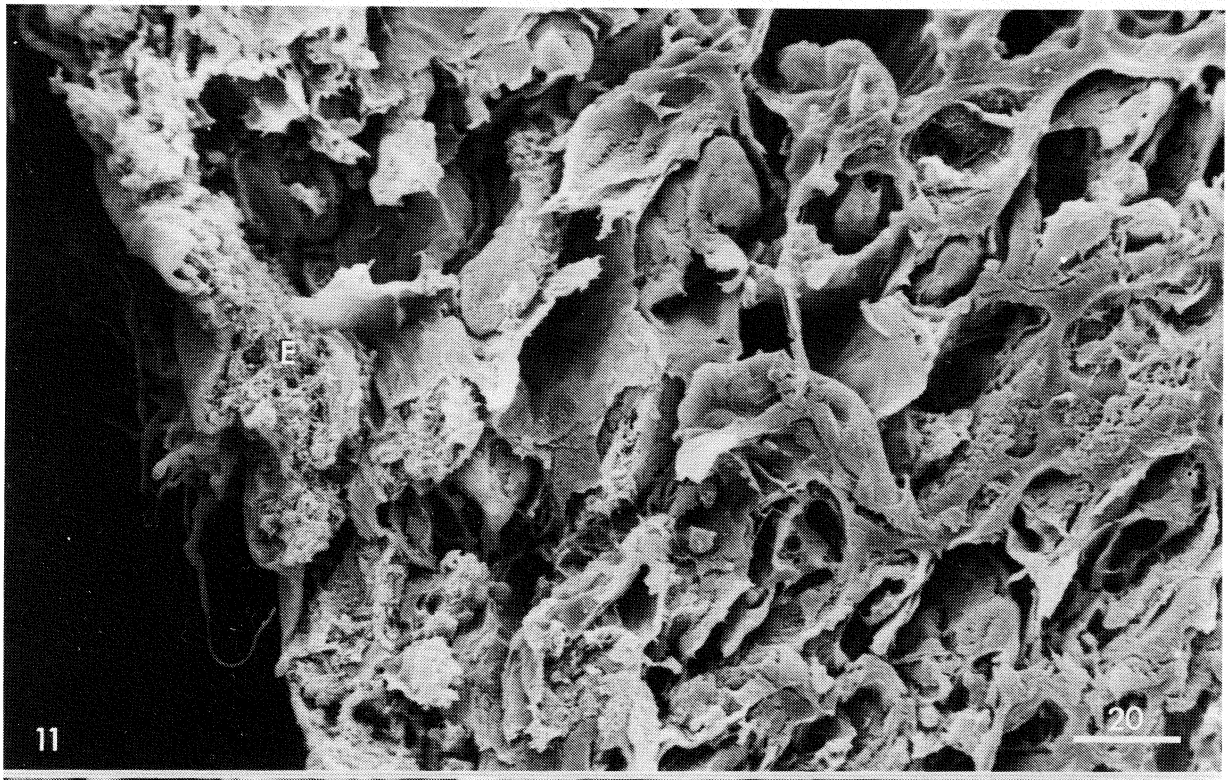


Fig. 9 : Grain noir par anthracnose. TAE : tégument argenté externe. P : parenchyme. Moisissures :⟶

Fig. 10 : TAC : tégument argenté central.



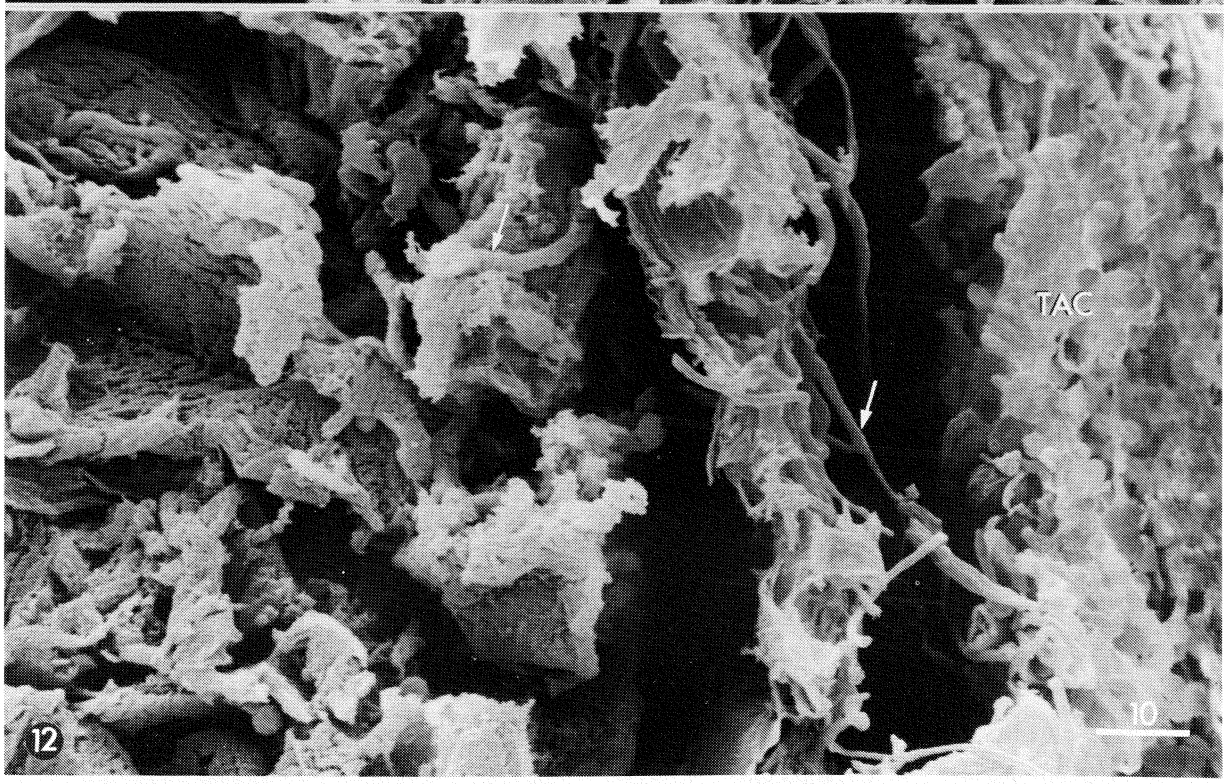


Fig. 11 : Grain noir par anthracnose. E : épiderme externe.

Fig. 12 : TAC : tégument argenté central. E : cellule épidermique. Moisissures : ⟶

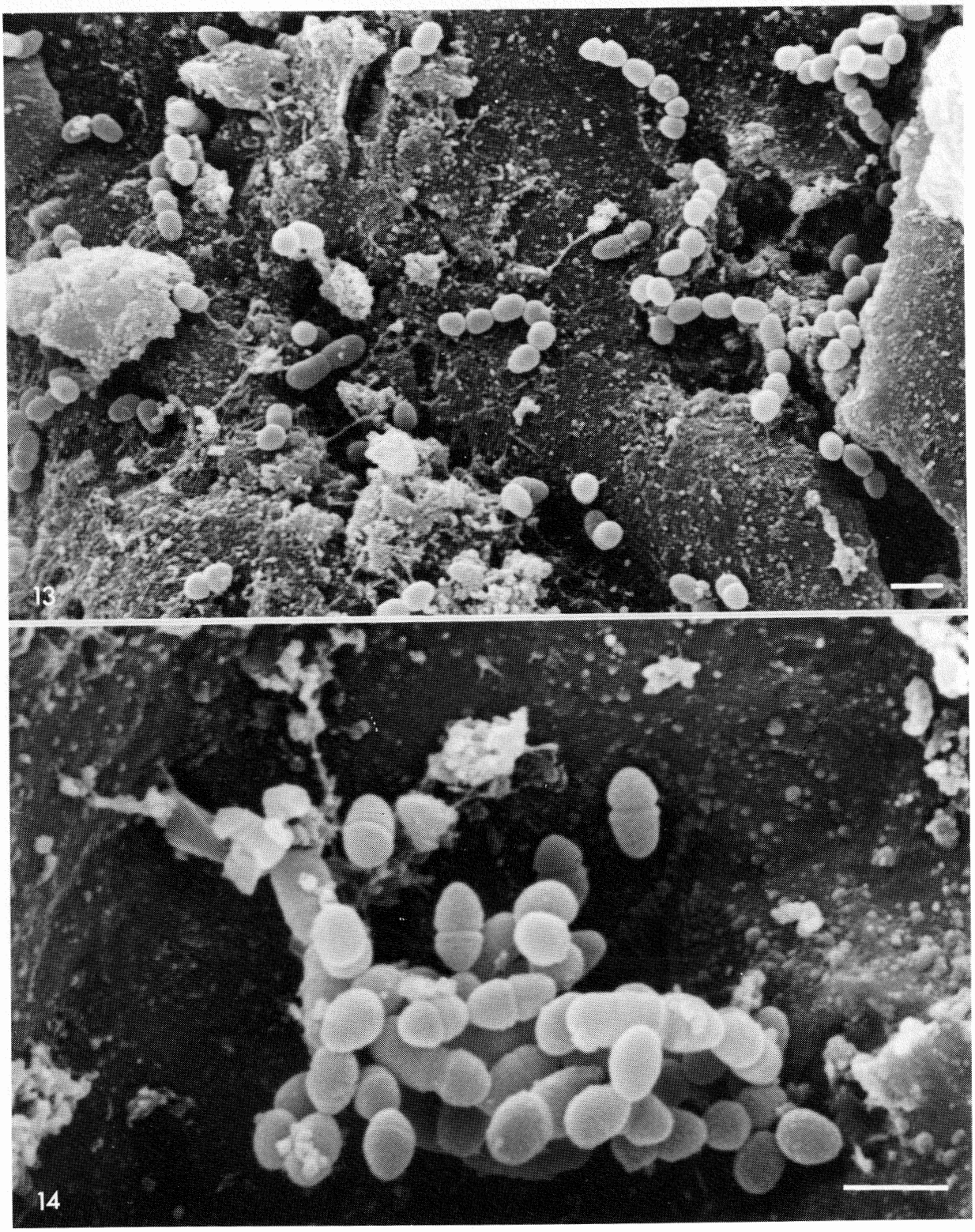


Fig. 13 : Grain blanchâtre. E : surface de l'épiderme extérieur.

Fig. 14 : Surface du tégument argenté central.

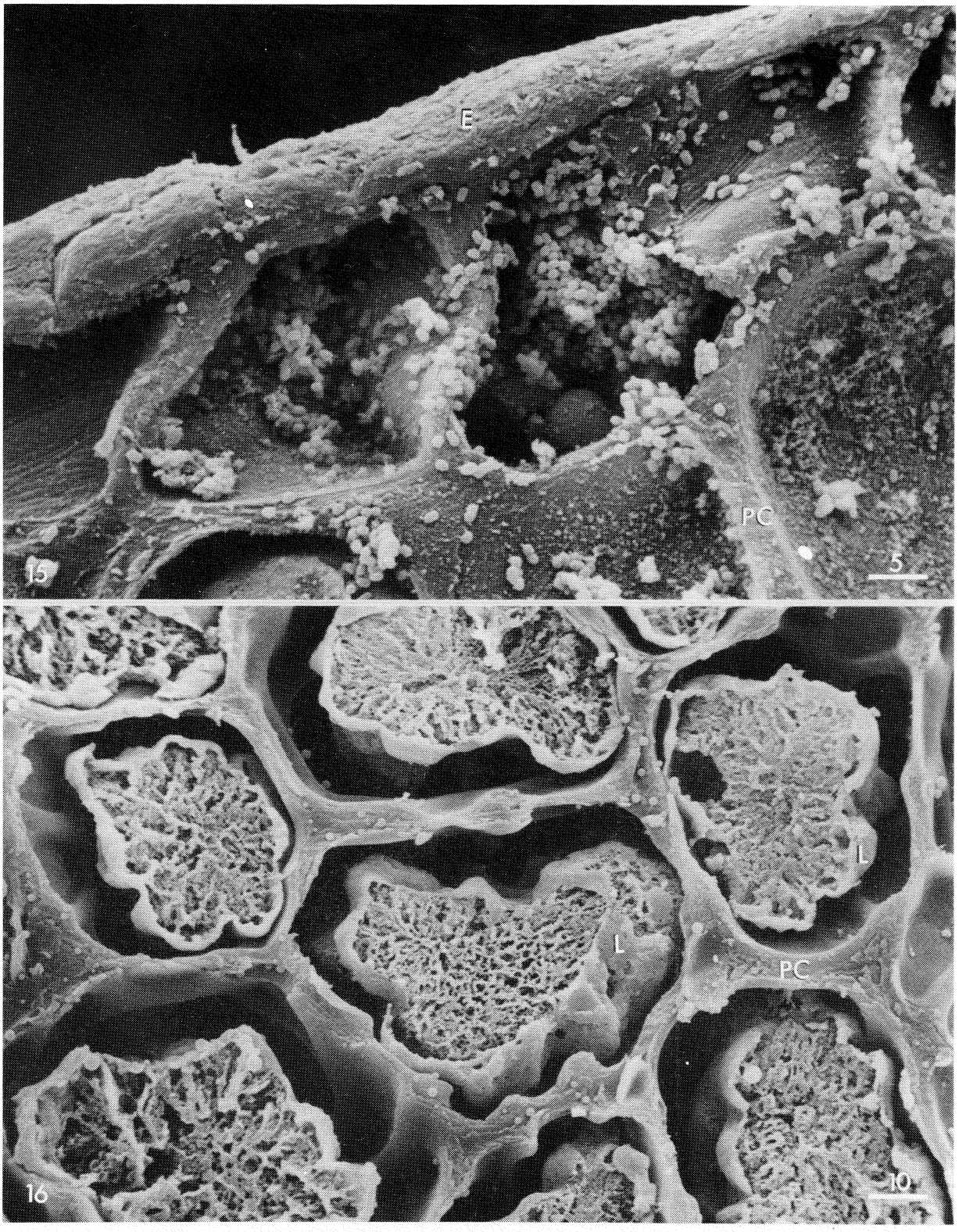


Fig. 15 : Grain blanchâtre. Cellule épidermique. E : épiderme.

Fig. 16 : Coupe transversale du parenchyme. PC : parois cellulaires
L : lipides.

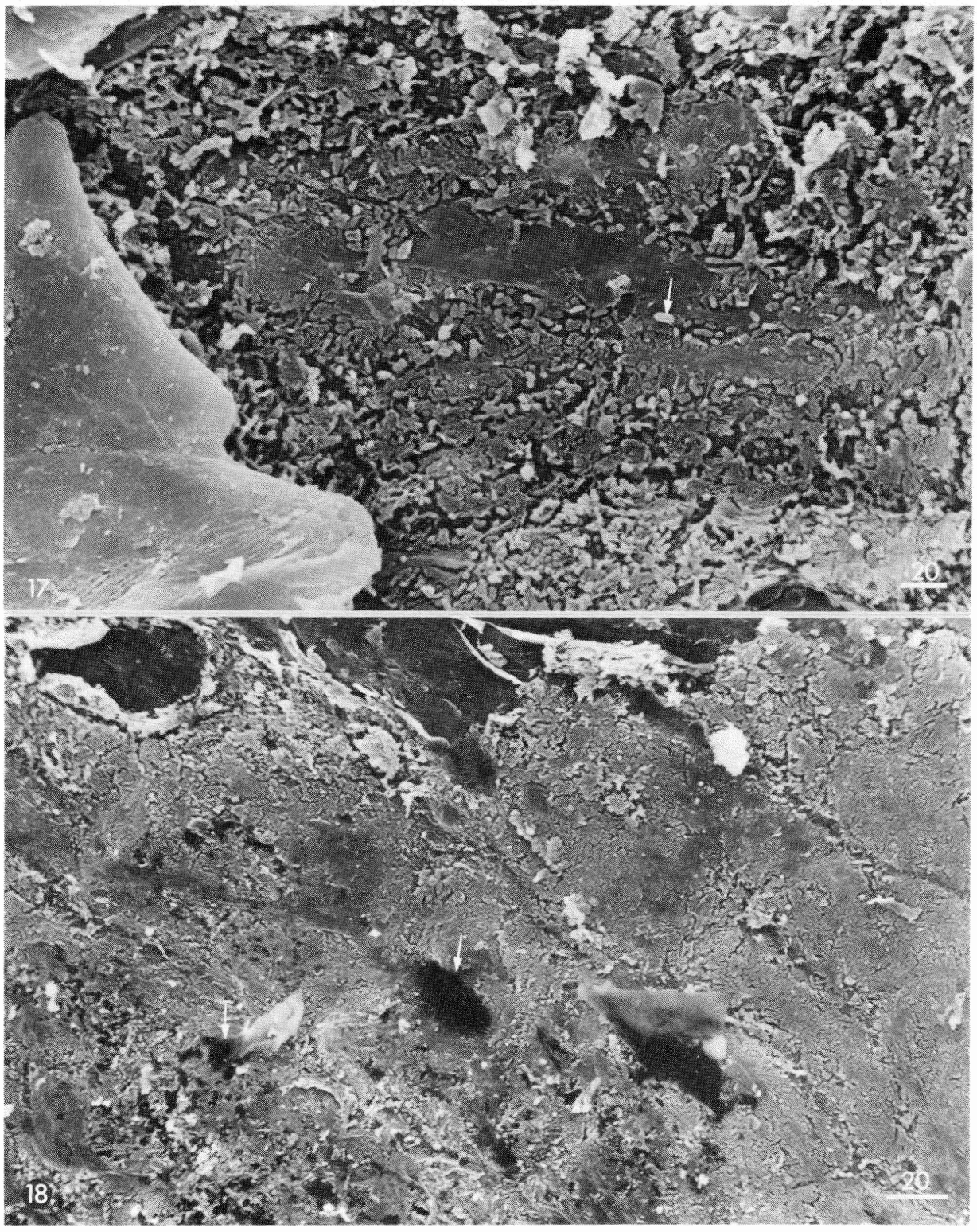
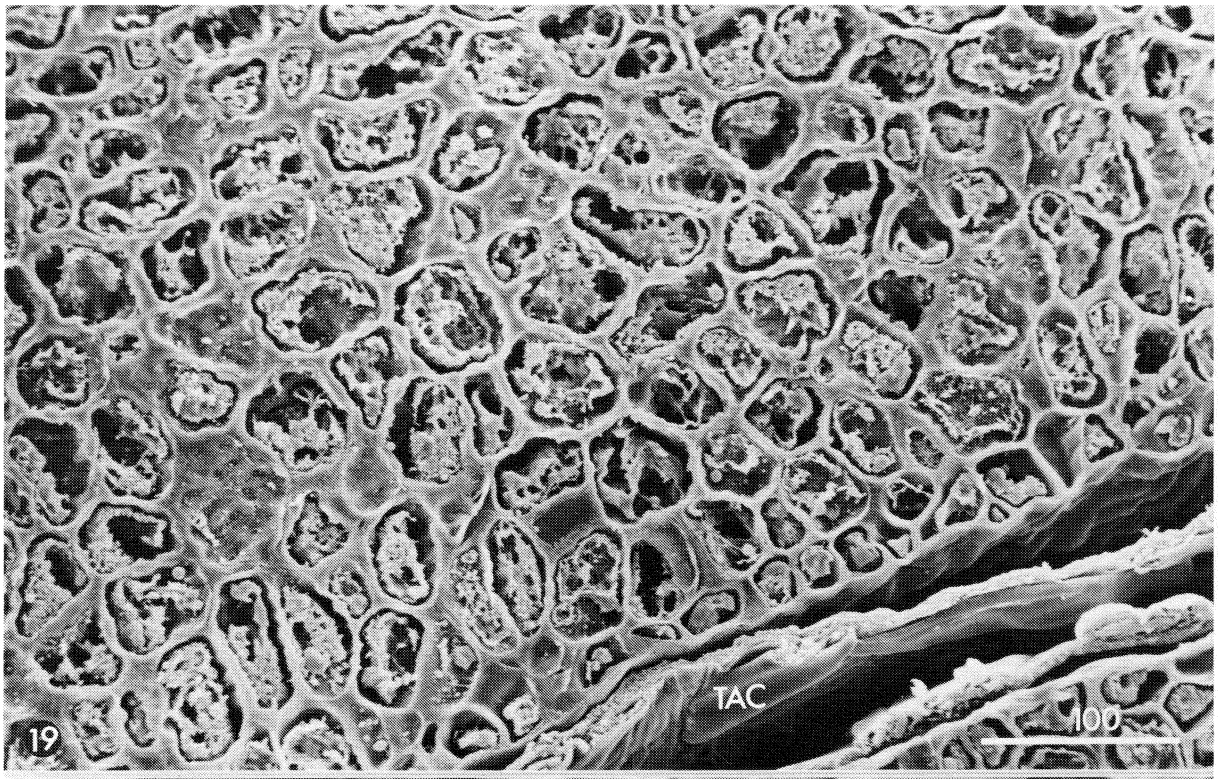


Fig. 17 : Grain cireux. Surface épiderme. Bactéries :⟶

Fig. 18 : Epiderme troué : ⟶ et bactéries.



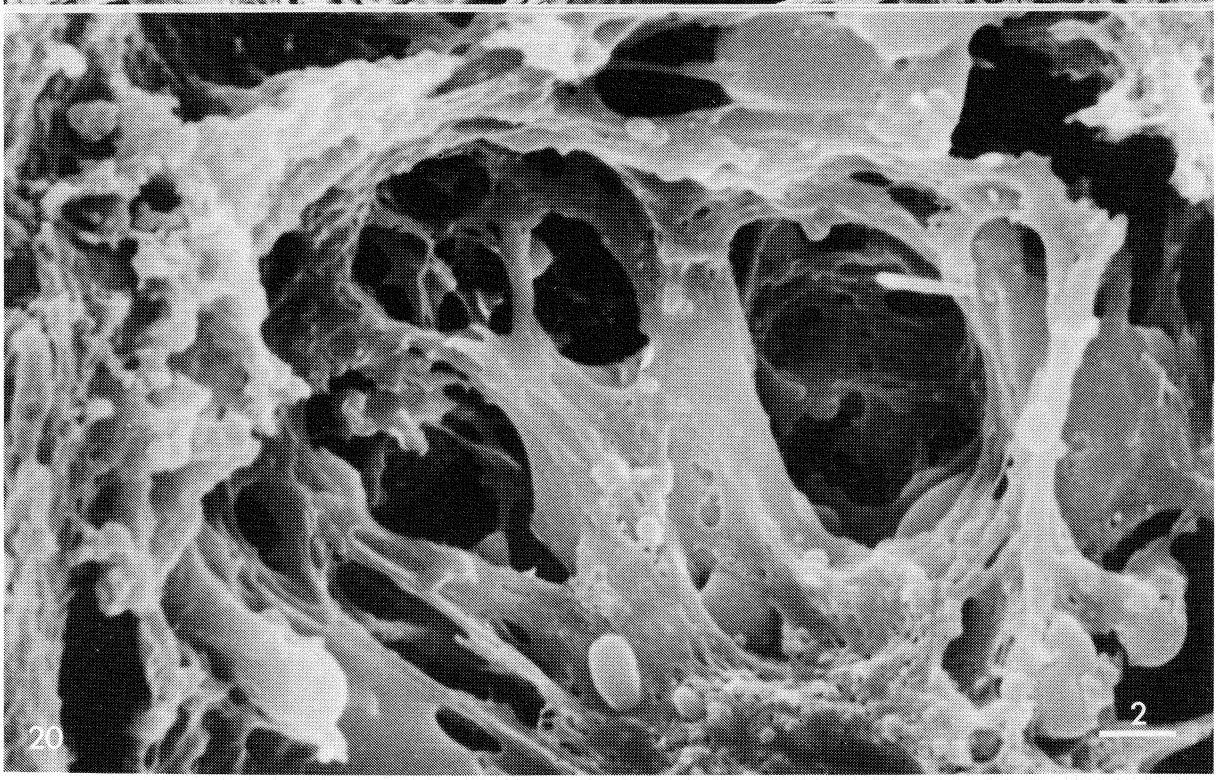


Fig. 19 : Grain cireux. Coupe transversale du grain. TAC : tégument argenté central.

Fig. 20 : Détail d'une cellule parenchymateuse.

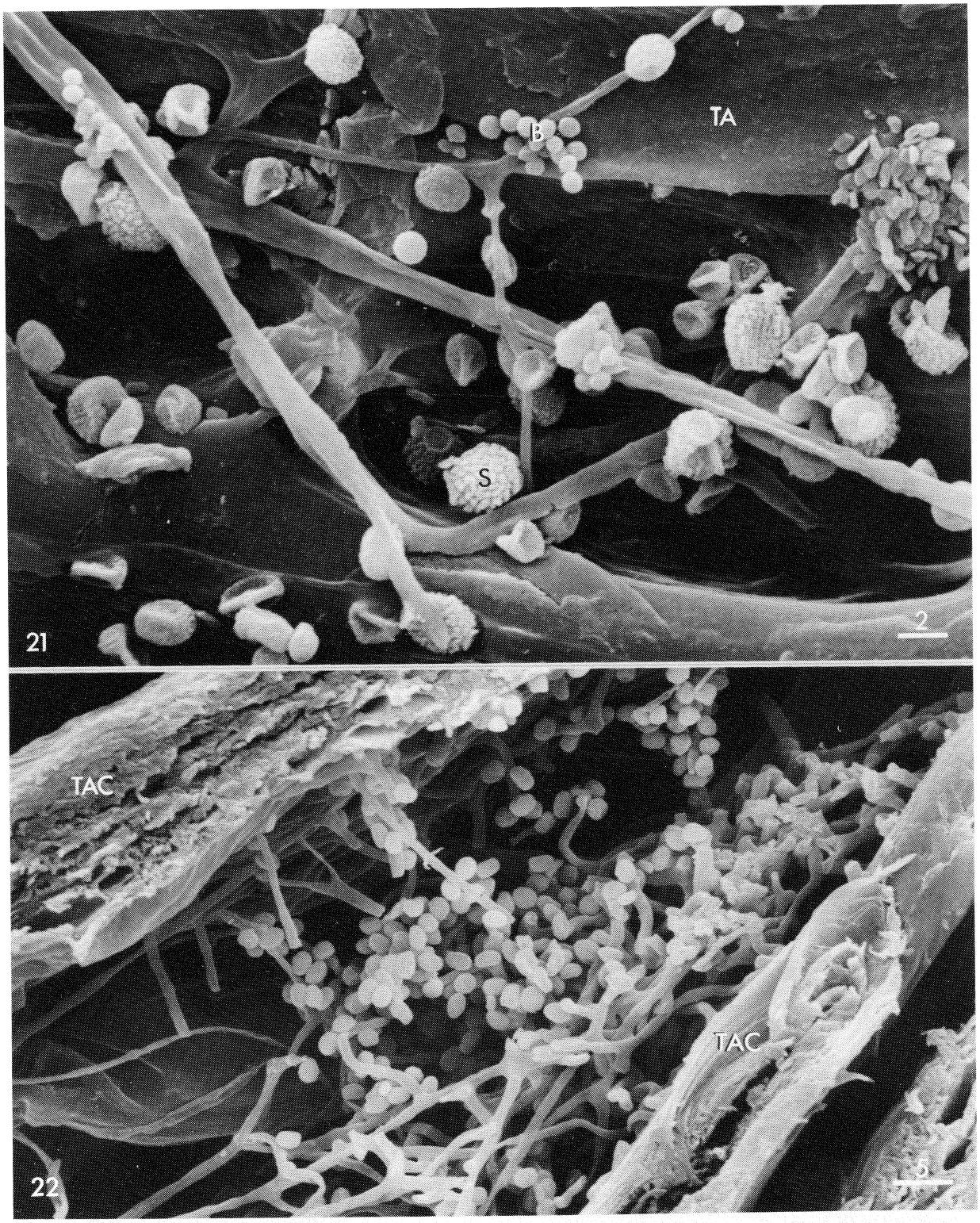


Fig. 21 : Grain "ardido". TA : Tégument argenté externe. S : spores, B : bactéries.

Fig. 22 : TAC : tégument argenté central.

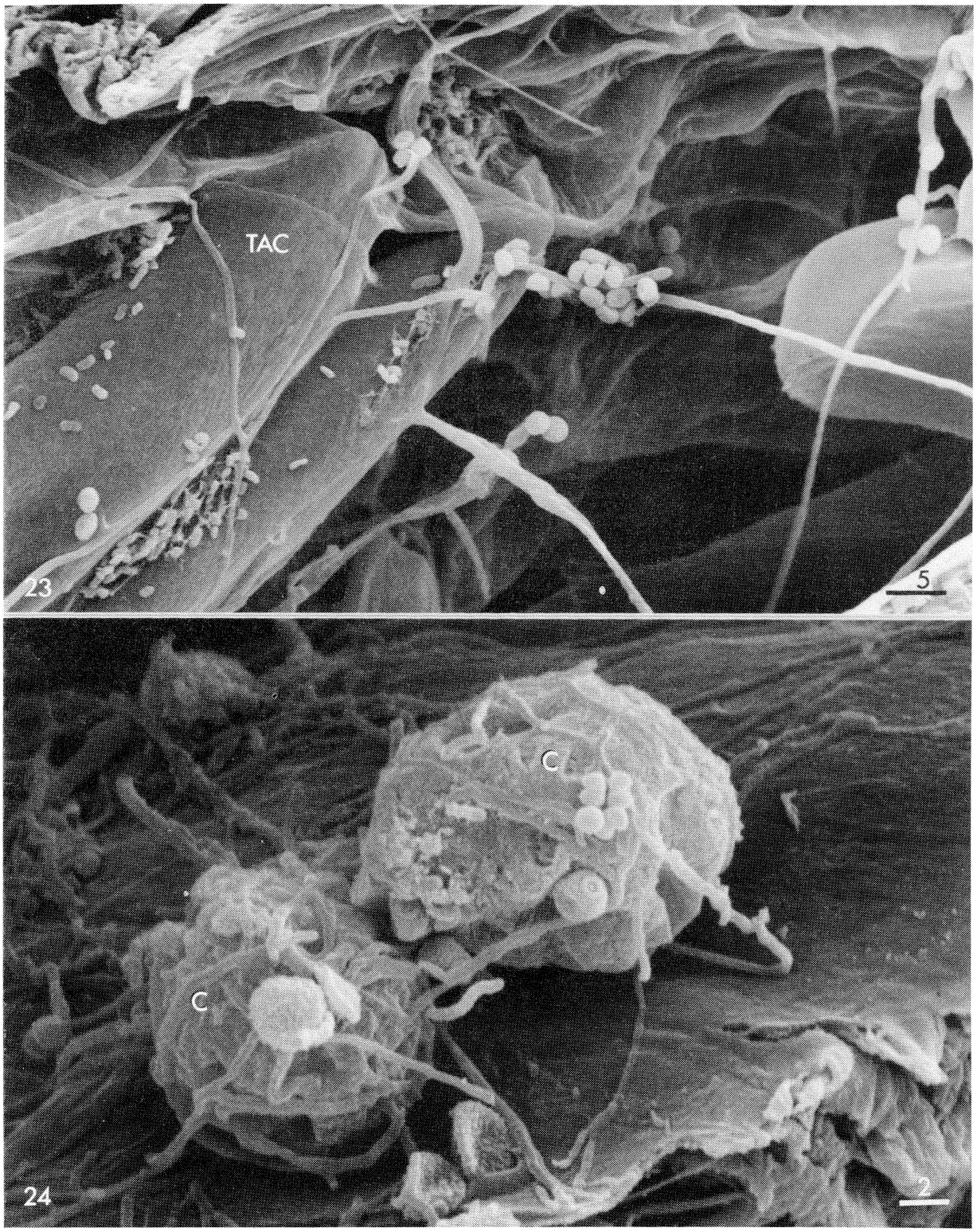


Fig. 23 : Grain "ardido". TAC : tégument argenté central.

Fig. 24 : TAC : tégument argenté central. C : cleistothèques.

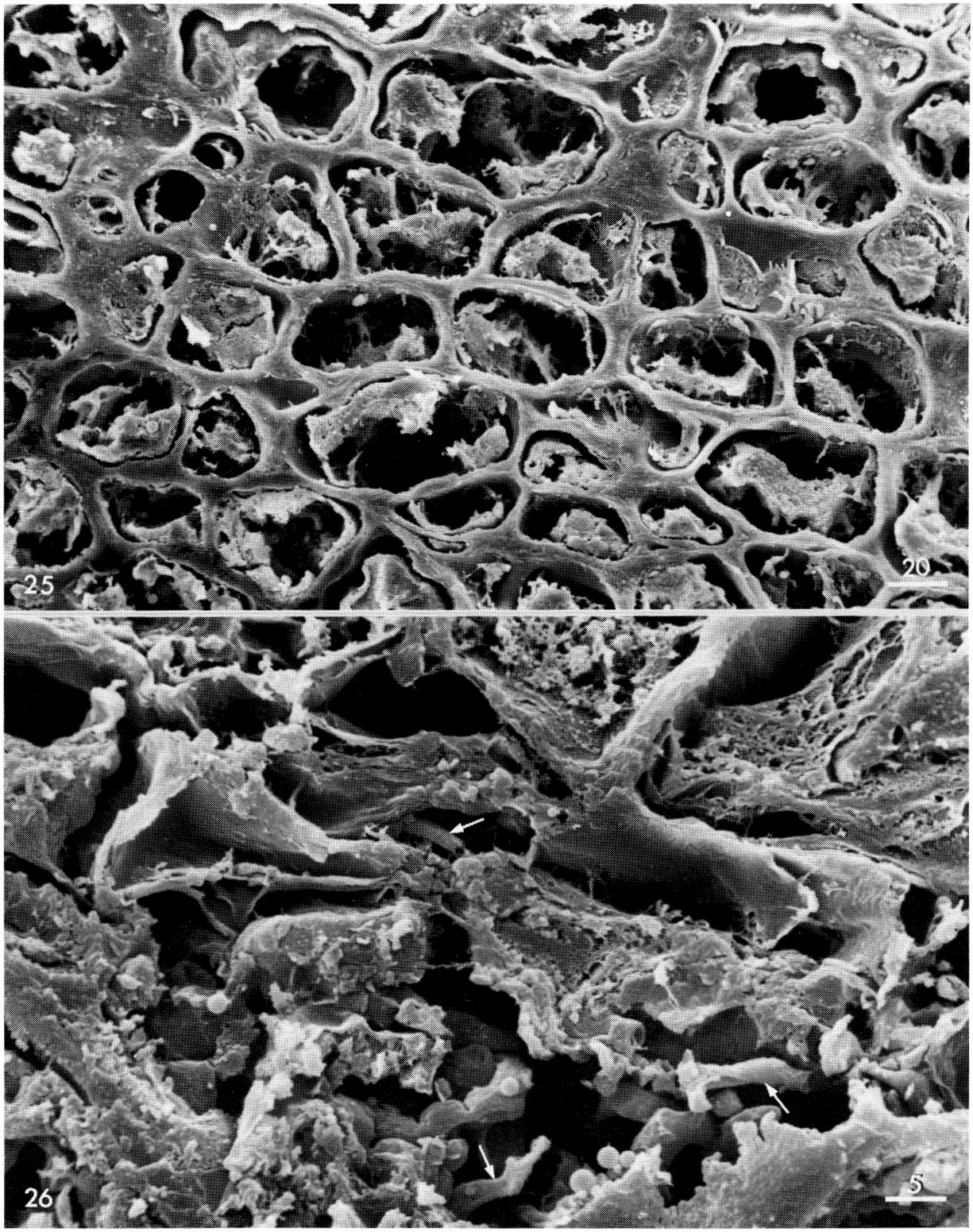


Fig. 25 : Grain "ardido". Coupe transversale du parenchyme.

Fig. 26 : Parenchyme. Hyphes :⟶

EL EXTRACTO DE CAFÉ TORREFACTADO INHIBE EL CRECIMIENTO DE *ESCHERICHIA COLI*

B. CHICA GIRALDO, L. G. CHICA GIRALDO
Laboratorio de biofísica, departamento de física

Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia

INTRODUCCION

El efecto del extracto de café, tanto verde como torrefactado, sobre sistemas biológicos ha sido objeto de estudio en la última década. los efectos encontrados se pueden sintetizar en la siguiente forma: Inhibidor del crecimiento en **Lactobacillus plantarum** (1); mutagénico en: E. coli (2), larvas de **Drosophila melanogaster** (3), linfocitos humanos (4), **Salmonella tiphimurium** (2, 5, 6, 7, 8). La cafeina y otros elementos constitutivos del café tienen efectos biológicos en sistemas de prueba análogos a los anteriormente citados y los resultados se pueden esquematizar así:
- **Cafeina:** Tiene acción letal sobre bacterias **E. coli** (9), células **Hela**(10); inhibe el crecimiento de **Lactobacillus Plantarum** (1), algunas variedades de hongos **Penicillium y Aspergillus** (11); produce mutaciones en larvas de **Drosophila melanogaster** (3), no produce mutaciones en linfocitos humanos (4) ni en **Salmonella tiphimurium** (5), causa daños en el ADN del linfosoma de ratones (12); inhibe la producción de aflotoxina en **Aspergillus** (11). Específicamente, en la bacteria **E. coli** perturba algunos procesos metabolicos (13, 14, 15); inhibe los procesos de reparación cuando esta es irradiada con UV (16); produce sinergismo mutacional cuando esta bacteria se irradia con UV (17).

- **Cumarina:** Inhibe los procesos de reparación en bacterias **E. coli** irradiadas con UV (16).

- **Acidos Fenólicos:** Inhibe el crecimiento de **Lactobacillus plantarum** (1).

- **Peróxido de Hidrógeno:** Que se produce cuando el café instáneo se disuelve en agua, incrementa la mutagénesis ocasionada por el metilglíoxal en Células **Salmonella tiphimurium** (8).

En este trabajo se cuantifica la inhibición de crecimiento de **E. coli** (i.c,E.c.) en función de la concentración de sólidos solubles de los extractos (s.s.e) de café torrefactado a diferentes temperaturas y se determina la influencia de esta temperatura sobre el principio activo del café.

MATERIAL

Granos de café arábico, variedad caturra de Mesitas del Colegio (Colombia). Tostador de café con capacidad máxima de 200 g. de café; temperatura regulada, con precisión de ± 3ºC, agitación excéntrica. Refractómetro de ABBE, marca Aus - Jena. Agar Nutritivo (Nutrient Agar BB_2), Division of Becton Dickson and Company. Caldo Nutritivo (Nutrient Borth BB_2), Division of Becton Dickson and Company. Se empleó la bacteria **Escherichia coli** k12 a 16 ($uvr=phr^+$).

METODO

Extracto de café: Al torrefactor a 180ºC se le introduce 100 g. de café seco por un lapso de 13 minutos. Luego el café es pulverizado y tamizado. Trece gramos de este café se maceran durante 30 minutos con 60 centímetros cúbicos de agua destilada y esterilizada a la temperatura de 70ºC. El macerado es filtrado en ésta forma se obtiene el café calentado a 180ºC (c.c. 180º): Para obtener cafés torrefactados a 200ºC o más (c.t. 200 o m.) se repite el procedimiento del c.c. 180 con el torrefactor a 200ºC, 220ºC, 240ºC, 260ºC y 280ºC. El extracto de c.c. 180 es liofilizado mientras que los c.t. 200 o m. son ajustados, mediante el refractómetro de ABBE, al 5% (peso/volumen) de sólidos solubles. El café verde (c.v.) se procesa como el c.t. sin pasar por el torrefactor.

Medios de Cultivo: Los medios de cultivo fueron preparados con Agar-Triptica se (Bel -1) y la técnica prescrita por el fabricante.
Los medios de cultivo con c.t. 200 o m. fueron obtenidos mezclando alícuotas del extracto de café con agar a la temperatura de 50ºC y agitando hasta lograr lo homogeneidad; las concentraciones de café así obtenidas se indican en la tabla 1. Porciones de café liofililzado, tanto c.v. como c.c. 180, determinadas gravimétricamente, fueron mezcladas con el medio nutritivo como se indicó anteriormente; las concentraciones empleadas se indican en la tabla 2. El mismo procedimiento se aplica a la cafeína y sus concentraciones se indican en la tabla 3.

Microorganismo: La bacteria **E.coli** fue utilizada en su fase exponencial la cual se obteine mediante repiques cada 14 horas, en caldo nutritivo a la temperatura de 37ºC, durante un lapso de 15 días.

Siembra: Los medios de cultivo ya sea con o sin café son distribuídos en cajas de petri, el E.coli **se exparce sobre los medios de cultivo. Cinco cajas como mínimo fueron preparadas de cada medio de cultivo con su respectiva concentración de café.**

Incubación: Los medios de cultivo sembrados con **E.coli** fueron incubados a 37ºC durante un lapso de 48 horas, al cabo de este tiempo se procede a contar el número de colonias formadas.

TEORIA

Clark en 1933 (18) creó la teoría de ocupación, que estudía el mecanismo de acción de las drogas sobre sistemas biólogicos **(19, 20)**,Basada en los siguientes postulados: El receptor biológico y la droga realizan una reacción química bimolecular. En equilibrió químico la reacción droga receptor cumple la ley de acción de las masas. La respuesta de una célula es directamente proporcional a la fracción de receptores ocupados por la droga. Nuestros resultados experimentales de i.c.E.c. producida por c.t. 200 o m. no son regidos por la Teoría de Clark tal como él la planteó, pero si lo son cuando a dicha teoría se le hace la siguiente generalización.
Un receptor (R) realiza una reacción química multimolecular con n moléculas de la droga (C) para formar el complejo droga-receptor ($R\ C_n$)

$$R + C + C + C \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \rightleftharpoons RC_n \qquad (1)$$

En equilibrio esta reacción cumple la ley de las masas, la constante de equlibrio, K, para una reacción de este tipo es conocida como constante de estabilidad (21) y está determinada por:

$$K = \frac{[RC_n]}{[R][C]^n} \qquad (2)$$

$[RC_n]$ es la concentración del complejo RC_n, $[R]$ es la concentración de R, $[C]$ es la concentración de C.

La concentración total de receptores, R_T, es:

$$[R_T] = [R] + [RC] + [RC_2] + \ldots . [RC_n] \qquad (3)$$

Si en el estado de equilibrio el receptor estuviese solo o totalmente ocupado entonces la ecuación (3) se reduce a:

$$[R_T] = [R] + [RC_n] \qquad (4)$$

Eliminando $[R]$ en la ecuación (4) mediante el uso de la ecuación (2) y reorganizando términos da:

$$[R_T] = [RC_n]\left\{1 + \frac{1}{K[C]^n}\right\} \qquad (5)$$

En equilibrio la fracción de receptores totalmente ocupados por la droga, Y, es:

$$Y = \frac{[RC_n]}{[R_T]} = \left\{\frac{1}{1 + \frac{1}{K[C]^n}}\right\} \qquad (6)$$

Cuando en la ecuación (6) n se hace igual a uno, la ecuación encontrada es igual a la propuesta por Clark.
De acuerdo al tercer postulado de Clark la inhibición de crecimiento (I) es:

$$I = \left\{\frac{100\ \%}{1 + \frac{1}{K[C]^n}}\right\} \qquad (7)$$

El ajuste mediante mínimos cuadrados de esta ecuación, en donde n es siempre un número entero, a nuestros datos de i.c.E.c. del gráfico 1 permite obtener valores de n y K indicados en la tabla 4.

RESULTADOS

TABLA No. 1: Recuento de colonias de **E.coli**, que sobreviven en los medios cultivo con diferente concentraciones de sólidos solubles de extractos (s.s.e.) de café tostado a 5 temperaturas diferentes.

Concentración s.s.e. (g/ml) 10^{-4}	200ºC	220ºC	240ºC	260ºC	280ºC
			Recuento de Colonias		
0	180± 2	216± 2	280± 3	192± 3	225± 2
15				117 ± 2	196± 2
20				161 ± 2	176 ± 2
25			181 ± 3	136 ± 2	126 ± 1
30		205 ± 2	148 ± 2	84 ± 2	72 ± 1
35		181 ± 2	123 ± 2		
40	167 ± 2	145 ± 2	73 ± 2	42 ± 1	43 ± 1
50	124 ± 2	91 ± 1	33 ± 1	19 ± 1	14 ± 1
55	95 ± 1	52 ± 1			
60	63 ± 1	22 ± 1			
65	41 ± 1		11 ± 1	11 ± 1	

TABLA NO. 2: Recuento de colonias de **E. coli** en los medios de cultivo con **s.s.e. de c. v. y c. t.** 180 a la misma concentración y empleando el mismo blanco.

Concentración de s.s.e. (mg/ml)	c.v. Recuento de	c.c. 180 Colonias
0	243 ± 3	243 ± 3
260	249 ± 4	245 ± 3

TABLA NO. 3: Recuento de colonias de **E. coli** en los medios de cultivo con tres concentraciones diferentes de cafeína.

Concentración de cafeína (mg/ml)	Recuento de colonias
0	210 ± 2
1	208 ± 3
3	204 ± 5
9	12 ± 4

DISCUSION

I. INHIBICION PRODUCIDA POR EL c.t. 200 o m.

A partir de los datos de sobrevivencia de la tabla 1, se obtienen los porcentajes de **i.c.E.c. (I)** mediante la siguiente ecuación:

$$I = (1 - \frac{S}{S_0}) \ 100\% \quad (8)$$

donde S es el número de sobrevivientes (a la respectiva concentración) y temperatura de torrefacción), S_0 es el número de colonias cuando la concentración de los **s.s.e.** de los cafés es cero (blanco); los valores obtenidos se representan en el gráfico 1. Si en este gráfico se analiza las condiciones que debe tener el café para producir un determinado valor de inhibición de crecimiento se observa que al aumentar la temperatura de torrefacción (T) la concentración de café requerida disminuye, lo que permite afirmar que a medida que T aumenta el efecto inhibidor del café es mayor; este resultado asociado al dato de que la concentración del extracto seco aumenta con T (22) sugieren que en el café existe un principio activo constituído por una o varias sustancias responsables de la inhibición del crecimiento cuya dependencia de T puede ser causada por una o por las dos, de las siguientes posibilidades:

A. Al aumentar T se generan otras sustancias activas las cuales son químicamente diferentes a las que existían a temperaturas menores de torrefacción lo que implica la presencia de un nuevo principio activo.

B. Al aumentar T la concentración del principio activo aumenta en mayor proporción de lo que lo hacen las sustancias no activas; ya sea porque se generan en mayor cantidad o porque parte de las sustancias inactivas se volatilizan.

La teoría droga-receptor, aquí presentada, determinar cual de estas dos posibilidades es la predominante. La tabla 4 muestra que al aumentar T el número de moléculas (n) del principio activo que interactúan con el receptor disminuye linealmente; la ecuación (1) indica que diversos valores de n en reacciones en que interviene el mismo receptor obedece necesariamente a diferentes estructuras químicas de las moléculas que interactúan con él; entonces para cada T el principio activo tiene su propia y característica composición química. La tabla 4 muestra además que al aumentar T la constante de equilibrio (K) cambia tanto de magnitud como de unidades; la ecuación 2 indica que K depende de las concentraciones de las sustancias que conforman el principio activo, pero el cambio de unidades se debe solamente a la dependencia de K con respecto a n; como los cambios en n significan que el receptor reacciona con un principio activo químicamente diferente al que existe a otras temperaturas de torrefacción, entonces el cambio en magnitud y unidades de K con respecto a T significa que el receptor reacciona con un principio activo cuya composición química depende de **T.**

En resumen los resultados mostrados en la tabla 4 indican que de la temperatura de torrefacción dependen la composición y el equilibrio químico del principio activo del café, esta aseveración permite colegir lo siguiente: **1)** La posibilidad A queda plenamente confirmada; **2)** Sobre la posibilidad B no se obtiene ninguna información; **3)** En las reacciones pirolíticas (23) que ocurren durante la torrefacción, se genera una o varias sustancias inhibidoras del crecimiento de **E.coli.**; **4)** En el rango de 200ºC a 280ºC, cada 20ºC de incremento en la temperatura de torrefacción genera al menos una nueva sustancia la cual ocasiona mayor **i.c.E.c.** que las sustancias existentes a temperaturas inferiores de torrefacción.

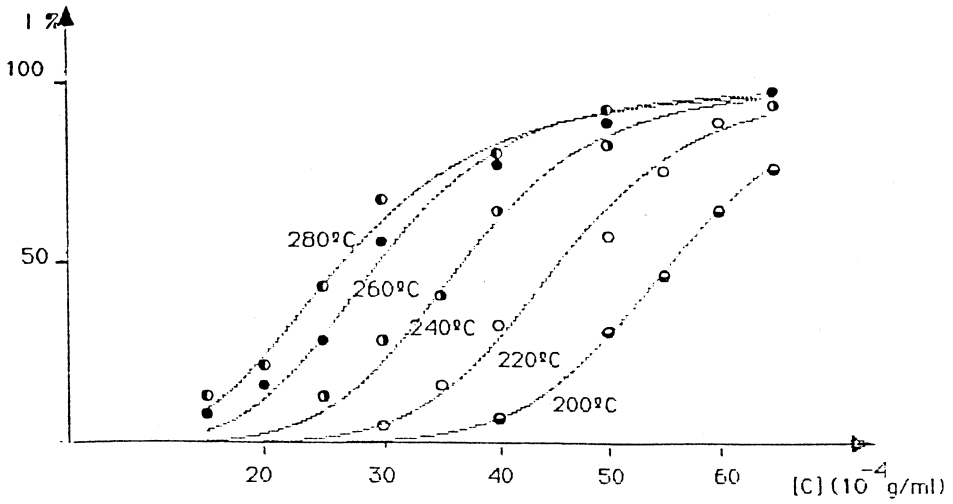


Gráfico 1. Porcentaje de inhibición I de E. Colí en función de la concentración de café (C). Los puntos corresponden a los datos experimentales tomados a las temperaturas de tostado indicadas y las líneas contínuas corresponden al mejor ajuste logrado, utilizando el criterio de mínimos cuadrados, con la ecuación 7, en la cual los valores n y K son los expresados en la tabla 4.

TABLA 4:

	200ºC	220ºC	240ºC	260ºC	280ºC
n	8	7	6	5	4
K	$1.10 \times 10^{18} \frac{ml}{g}^{8}$	$2.50 \times 10^{16} \frac{ml}{g}^{7}$	$4.00 \times 10^{14} \frac{ml}{g}^{6}$	$3.33 \times 10^{12} \frac{ml}{g}^{5}$	$1.66 \times 10^{10} \frac{ml}{g}^{4}$

II. INHIBICION PRODUCIDA POR c.v. Y POR c.c. 180

Todos los c.t. 200 o m. utilizados a concentraciones superiores a 4 mg/ml producen **i.c.E.c.**, mientras que ni el **c.v.** ni el **c.c.** 180 utilizados hasta la concentración de 260 mg/ml producen inhibición en dicha bacteria, como se indica en la tabla 2; lo anterior permite afirmar que, dentro de nuestras condiciones experimentales, estos últimos cafés no tienen sustancias inhibidoras del crecimiento de **E.coli.**

Los excesos de poblaciones, con relación a sus respectivos blancos, que

figuran en la citada tabla, sugieren que estos cafés tienen un efecto estimulante del crecimiento de este microorganismo; pero el análisis estadístico indica que estos incrementos de población no son significativos.

III INHIBICION PRODUCIDA POR LA CAFEINA

Si se acepta el dato de que el c.v. y el c.c. 180 contienen cafeína a la concentración de 1.16%(24) se tendría que la concentración de esta sustancia en los medios de cultivo con los cafés anteriormente mencionados es de 3 mg/ml. En la tabla 3 se observa que esta concentración produce una ligera **i.c.E.c.**, pero si se tiene en cuenta la dispersión se concluye que esta inhibición no es significativa. Los datos de sobrevivencia de **E.coli** reportados en esta tabla son equiparables a los obtenidos bajo condiciones similares en otras variedades de **E.coli** (9,14).

Los c.t. 200 o m. se emplearón en el rango de 1.5 mg/ml a 6.5 mg/ml; en ellos el contenido de cafeína se incrementa con el grado de torrefacción hasta el valor de 1.72% aproximadamente (24); si el contenido de cafeína en estos cafés tuviese el valor mencionado la concentración de cafeína en los medios de cultivo con estos cafés estaría comprendida entre 0.025 mg/ml hasta 0.112 mg/ml, la comparación de estas concentraciones con las presentadas en la tabla 3 permite concluir que ellas son insuficientes para producir efecto inhibidor del crecimiento y en consecuencia la cafeína no es el elemento responsable de la i.c.E.c. producida por c.t. 200 o m.

IV. POSIBLE ACCION INHIBIDORA DE OTRAS SUSTANCIAS DEL CAFE

La confrontación de nuestros resultados con algunos datos bibliográficos sobre: cumarina, ácido fenólico, peróxido de hidrógeno permite colegir la posible contribución de cada uno de ellos en la i.c.E.c. producida por el c.t. 200 o m.

La Cumarina: Está presente en el café verde y en el café torrefactado en la proporción de 0.1 mg/ml (25), si la misma proporción existe en las alícuotas de cafés empleados por nosotros se tendría que la concentración de cumarina para los cafés que ixhiben i.c.E.c. (c.t. 200 o m.) es de 5×10^{-7} mg/ml; los trabajos de Grigg (16) indican que la cumarina a concentraciones de 0.66 mg/ml no produce i.c.E.c., luego la cumarina no puede ser el agente responsable por la i.c.E.c.

Los Acidos Fenólicos: Están en el café verde en una proporción de 4.54% (26), asumiendo que la misma proporción se encuentra en el c.v. empleado por nosotros se tendría una concentración de 11.8 mg/ml de los citados compuestos cuando la concentración del c.v. es de 260 mg/ml; la tabla 2 pone en evidencia que los ácidos fenólicos, a la presunta concentración de 11.8 mg/ml, no son los compuestos responsables por la i.c.E.c.; el argumento anterior adquiere mayor validez si se tiene en cuenta que la i.c.E.c. aumenta con el incremento de la temperatura de torrefacción (gráfico 1), mientras que con el mismo procedimiento la concentración de ácidos fenólicos disminuye (26).

Peróxido de Hidrógeno: Está presente en el café instantáneo disuelto en la proporción de 130 M por 15 mg/ml (8), si la misma proporción existiese en los c.t. 200 o m. se tendría una concentración de 0.002 mg/ml aproximadamente y de acuerdo a los trabajos de Lillard y Thomson (27) esta concentración es insuficiente para inhibir el crecimiento del **E.coli**, luego el peróxido de hidrógeno no es el elemento responsable por la inhibición mostrada en el gráfico 1.

A pesar de que las sustancias analizadas tienen propiedades inhibidoras, sus respectivas concentraciones en los c.t. 200 o m. son insuficientes para producir i.c.E.c.; no obstante no se puede descartar una acción cooperativa entre estas y aun otras sustancias, pero el análisis de esta posibilidad

requiere mejor evidencia.

V. ALGUNOS PARAMETROS QUE INFLUYEN EN LA i.c.E.c.

Nuestros experimentos preliminares, no presentados en este artículo. conducentes a optimizar el efecto inhibidor del extracto de café indican que:

1. El efecto inhibidor del extracto de café torrefactado a 240ºC varía con la temperatura de extracción, presentando a un máximo a 70ºC.
2. La i.c.E.c., producida por el café torrefactado a 240ºC y almacenado a 4ºC durante 11 días,disminuye con el transcurrir del tiempo y es nulo al cabo de este periódo

Los experimentos citados ponen en evidencia que el principio activo es de naturaleza termolabil e hidrolizable, pero no se puede descartar la formación de complejos, por ejemplo dépsidos (28).

En nuestras condiciones de torrefacción la bebida de café tostado a 260ºC tiene sabor de café quemado y la del tostado a 280ºC tiene olor y sabor nauseabundos; sin embargo el estudio de estos cafés, así como el estudio de los cafés tostados a temperaturas menores, puede contribuir a un mejor conocimiento del principio activo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud a:
El Instituto Colombiano para el Fomento de la Educación Superior ICFES por su apoyo financiero para realizar este trabajo.

A la química farmaceútica Elsa Camargo, por su contribución a la realización de algunos de los experimentos aquí descritos.

Al doctor Edgar Moreno por su amable sugerencia en la confección de este manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

1. Vanos, V., Bindschedler, O. The Microbiology of instant coffee Food Microbiol. 1.985, 2, 187-197.
2. Kosugi, A., Nagao, M., Suwa.Y.,Wakabayashi, K., Sugimura, T. Roasting coffee beans produces compounds that induce prophage in E.coli and are mutagenic in E.coli and s. Typhimurium. Mutat. Res. 1.983, 116,179-184
3. Graf, U., Wurgler, F.E. Effects of coffee in Drosophila Melanogaster. ASIC, 1,985, 129-138.
4. Aeschbacher, H.U., Ruch.,E.,Meier, H., Wurzner, H.P., Munoz Box R. Instant and brewed coffees in the in vitro human lymphosyte mutagenicity test. Food and chem. Toxicol. 1.985, 23, 747-752.
5. Nagao, M., Sugimura, T. Suppression and enhacement of the mutagenicity of coffee. Carcinogens and mutagens in the Environs. 2. 1.983, 101-106.
6. Fujita, Y., Wakabayashi, K., Nagao, M., Sugimura, T. Characteristics of mayor mutagenecity of instant coffe. Mutat. Res. 1.985, 142, 145-148.
7. Albertini, S., Friederich, U., Schlatter, C., Wergler, F.E. The influence of roasting procedure on the formation of mutagenetic compound in coffee. Food Chem. Toxicol. 1.985, 23,593-597.
8. Nagao, M., Fujita.Y.,Wakabayashi, K., Nukaya, H., Kosuge, T., Sugimura,

T. Mutagens in coffe and other beverages. Environ. Health Perspect.. 1.986,67, 89-91.

9. Grigg, G.W. Caffeine-death in Escherichia coli, Mol. Gen. Genet. 1.968, 102, 316-335.

10. Beetham, K.L., Tolmach, L.J. The action of caffeine on X irradiated Hela cells. Radiat. Res. 1.982, 91, 199-211.

11. Buchanan, R. L., Hoover, D.G., Jones, S.B. Caffeine inhibition of aflatoxin production: Mode of action. Appl. Environ. Microbiol. 1983, 46, 1193-1199.

12. Lehman, A.R. Effect of caffeine on DNA synthesis in mammaliam cells. Biophys. J. 1.972, 12, 1316-1325.

13. Putrament, A., Baranowsky, H., Bilinsky, T., Prazino, W. On the specificity of caffeine effects: Inhibition by caffeine of RNA and protein sinthesis in yeast and Escherichia coli. Moli. Gen. Genet. 1.972, 118, 373-379.

14. Sandlie, I., Solberg, K., Kleppe, K. The effect of caffeine on cell growth and metabolism of thymidine in Escherichia coli. Mutat. Res. 1.980, 73, 29-41.

15. Solberg, K.A., Oviebo, S., Kleppe, R.K., Kleppe, K. Effect of caffeine on DNA polymerase I from Escherichia coli: Studies in vitro and in vivo. Mutat. Res. 1.978, 51, 1-10.

16. Grigg, G.W. Effects of coumarin, pyronin Y, 6,9 dimethyl 2 methylthiopurine and caffeine on excision repair and recombination repair in Escherichia coli. J. Gen. Microbiol. 1.972, 70, 221 - 230.

17. Shankel, D.M. Mutational Synergism of ultraviolect light and caffeine in Escherichia coli. J. Bacteriol. 1962, 84, 410 - 415.

18. Clark, A.J. The mode of action of drugs on cells, London: Arnold 1.933. p. 147

19. Mackey, D. Review Article. The matematics of drug-receptor interactions. J. Pharm. Pharmacol. 1966, 18, 201-222.

20. Stone, M. The Clark plot: A simi-historical case study. J. Pharm. Pharmacol. 1.980, 32, 81-86.

21. Martin, A.N. Physical Pharmacy. Lea & Febiger. 1.960, p. 216.

22. Guyot, B., Tchana, E., Vincent, J.C. Correlations entre caracteristiques chimiques du café torrefie et paramétres de torrefaction. ASIC. 1.985, 319-331.

23. Sivetz, M. Coffee Processing Technology. The avi publishing company, Inc. 1.963, p. 147

24. Coste, R. Cafetos y cafés en el mundo. Vol. 1. G.P. Maisonneuve & Larose. 1.959, p. 197-200.

25. Poisson, J. Aspects chimiques et biologiques de la composition du café vert. ASIC. 1.977, 33-57.

26. Baltes, W. Rosteffekte auf die Kaffeezusammensetzung. ASIC. 1.977, 85-96.

27. Lillard, H.S. Thomson, J.E. Efficacy of hidrogen peroxide in poultry chiller water. J. Food. Sci. 1.983, 48, 125-126.

28. Colonna, J.P., Gautheret, M.R. Phytochimie, Sur la formation dun complexe "depside-cafei

ne" lors de la conservation, au froid, en milieu hidro-éthanolique, déchantillons pliares de cafeiers. Implications méthodologiques pour lextraction des depsides. C.R. Acad. Sc. París, t. 1.977, 285 Serie D, 253-256.

RESUMEN

Usando la técnica de dilución de la combinación extracto de café torrefactado a: 200º, 220º, 240º, 260º y 280ºC con el medio de cultivo en fase sólida y contando las colonias de bacterias **E.coli**, encontramos que:

1. El extracto de café inhibe el crecimiento de **E.coli**.
2. El efecto de inhibición aumenta con la temperatura de torrefacción.
   Los resultados son interpretados en términos de una generalización de la teoría de ocupación de Clark. La posible acción inhibidora de algunos compuestos del café es discutida.

ABSTRACT

Using the dilution technique of the combination of coffee extract, torrefacted at: 200º, 220º, 240º, 260º y 280ºC, with the culture medium in solid phase and counting the **E.coli** bacteria clones, we have found that:

1. The coffee extract inhibits the growing of the **E.coli**
2. The inhibition efect increases with the torrefaction temperature.
   The results are interpreted in terms a generalization of the Clark's ocup ation theory. The possible inhition action of some compounds of coffee is discussed.

Résumé

L'extrait de café torréfié inhibe le développement d'Escherichia coli.

En utilisant la technique de dilution de la combinaison de l'extrait de café torréfié à 200, 220, 240, 260 et 280°C avec le milieu de culture en phase solide et par dénombrement de colonies de bactéries Escherichia coli nous avons trouvé que :

1. **L'extrait de café inhibe le développement d'E. coli.**
2. **L'effet d'inhibition augmente avec la température de torréfaction. Les résultats sont interprétés en terme d'une généralisation de la théorie d'occupation de Clark. L'action inhibitrice éventuelle de quelques constituants du café est discutée.**

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE CHEMICAL COMPOSITION OF CUTICULAR WAXES IN THE COFFEE WEEVIL *ARAECERUS FASCICULATUS* (DE GEER) (COLEOPTERA : ARTHRIBIDAE)

E. BAUTISTA *, J. C. BIEMONT **, R. JULLIEN *, E. MORENO *, J. POUZAT ****

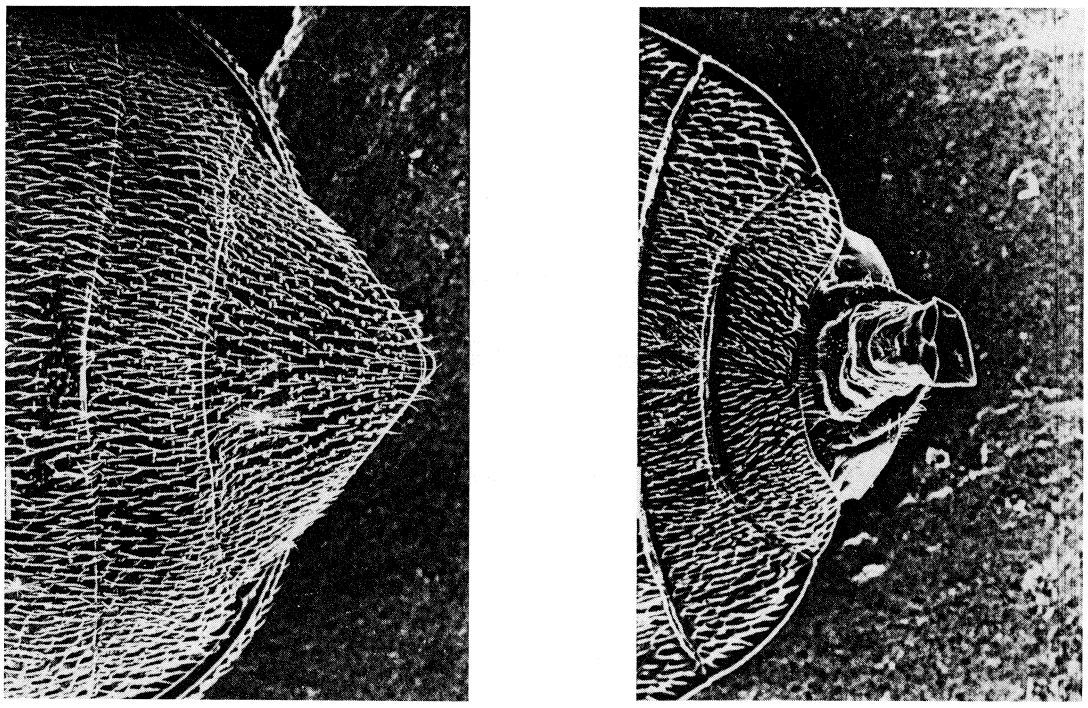
*** LIQC Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café de la Federación Nacional de Cafeteros, Calle 26 A 37-28, Bogotá (Colombia).**
**** Institut de Biocénotique Experimentale des Agrosystèmes. Parc Grandmont, 37200 Tours (France).**
***** Laboratoire de Chimie Structurale Organique, Université Paris-Sud, Bâtiment 410-415, 91405 Orsay Cedex (France).**

1. INTRODUCTION

The environmental conditions in coffee producing countries, all of them located within tropical and subtropical zones, favor the development of the coffee weevil *Araecerus fasciculatus* (1). Although the attacks of this parasite are successfully controled with insecticides, the trend nowadays is to rationalize, while reducing, the use of the later. The knowledge of the chemical communication mecanisms of the insect can provide new possibilities in this field. To show intraspecific communication substances called pheromones, it is necessary to follow a complex analytical approach which encompasses isolation, purification, identification by various methods, and comparative synthesis with biological activity tests.
In certain cases it is possible to examine directly the glandular secretions as in the case of Lepidopters (2). In other cases, the analysis of cuticular waxes can supply useful information in this field (3). Finally the analysis of volatile compounds present in the air that surrounds the insect is sometimes possible thanks to different techniques of concentration (4).
In this article we describe some preliminary results concerning the comparative analysis of cuticular waxes in males and females of *Araecerus fasciculatus*.

2 MATERIALS AND METHODS

Starting from a breeding colony in CENICAFE (Manizales, Colombia) we have established two other colonies. One at the LIQC (Bogota) and the other oneat the LABORATOIRE DE BIOCENETIQUE in Tours (France). The insects are mass bred in coffee beans or in peanuts in the following thermoperiodic conditions: light/dark 13:11 H., 35:25 ^{o}C. (R. H.: 60-70 %). Adults are isolated right after they emerge from the beans and separated according to their sex following the protocol of El Sayed (5): the males have rounded abdomens and the females have elongated abdomens (see electron microscope SEM picture in fig 1). Age is also controlled. The insects are killed by freezing at minus 20 ^{o}C and extracted by shaking in hexane for five minutes. Having evaporated the solvent with the help of a nitrogen stream, the rough residual extract is chromatographed on a 5 cm. column filled with silice (Pasteur pipette). The first eluted hexane fraction contains the



A B

Fig.1 ELECTRON MICROSCOPE SEM PICTURE OF THE FIRST ABDOMINAL SEGMENT OF A FEMALE (A) AND A MALE (B)

lipoid hydrocarbons and the second one, eluted with ethyl acetate, contains the polar products.
Each fraction is analysed later by gas-liquid chromatography alone and also coupled to mass spectrometry.
A NERMAG spectrometer R12-100 linked to a Girdel 31 Chromatograph with a "splitless" injection system and a "Chrompack" Cpsil 5CB column of 25 m. of lengh has been used. The oven was heated from 40 to 300 °C with a program of 5 °C/min.. The integration was done by an HP 3390A integrator linked to a Varian 3700 chromatograph equipped with a column identical to the previous one and an "on column" injector. The esters were also saponified in an excess of 5 % methanolic potassium hydroxide by heating at 60 °C for 60 min. The purification of the alcohols was reached by passage of the reaction mixture through silice and ethyl acetate elution. The acetylation of the alcohols was achieved through contact of the later with a mixture of an excess of acethyc anhydride and pyridine 50/50 for 24 hours, followed by passage on silice and hexane/ethyl acetate elution (96/4).

RESULTS AND DISCUSSION

From analyzing 2465 male and female insects of different ages, the mean results were:

Weight/one insect	µg	%	%
Average	3400.0	100.0	
Rough extract	12.4	0.36	100.0
Hydrocarbons	2.2	0,06	18.0
Polar products	10.2	0.30	82.0

3.1 HYDROCARBONS

They are composed of:

n-alkanes: (55%) From C37 to C25, the nanocosane (C29) and hentriacontane (C31) are the most important.

n-alcenes: (33%) from C33 to C27, those in C31 are the majority.

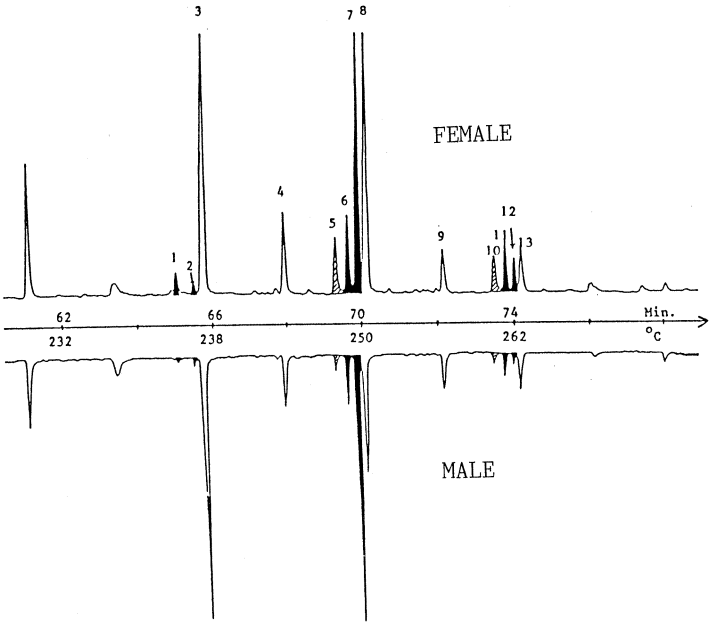
n-alkadienes:.(7%) equally from C33 to C27 with C31 the most important.

substituted alkanes: (2 to 5 %) from C29 to C37 in very low numbers. They have not been separated: the analysis by GC-MS has been performed on the mixture of hydrocarbons and the proportions deducted from the integration of surfaces of the chromatograms and are therefore very approximate. They are constituted mainly by monomethyl alkanes in positions 9, 11, 13, 15 and even 17 for the most condensed and of 7, 11,- 9,13,- 11, 15,- and even 13, 17 dimethyl alkanes. The 3-methyl pentacosane, heptacosane and nonacosane; the 5-methyl pentacosane and heptacosane; the 3, 7 and 3, 9 dimethyl heptacosane and nonacosane and finally the 5, 9 dimethyl heptacosane were also identified, the three last categories only at the level of traces.

Fig. 2 shows that there are no noticeable qualitative or quantitative differences between the cuticular hydrocarbons of one day adult males and females (not bearing in mind the position and stereochemistry of the double bonds not yet determined).

The same observation can be made for the mature non-coupled six day-old adult insects on the chromatographic profiles of Fig. 3, excepting the increase of the peak No. 11 of the females. These intensity variations must be confirmed by a more systematic control on several batches of insects before being discussed.

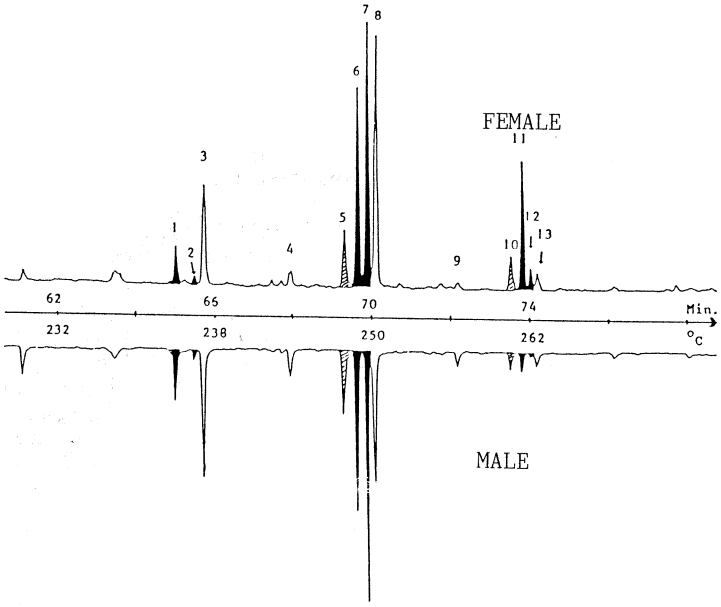
However these initial figures on the cuticular hydrocarbons of *Araecerus fasciculatus* classified in the family of Antribidae, may be compared to the results described for the three species of *Sitophillus* (6) which belong to a familly closely related to Anthribidae: the Curculionidae; besides, these



HYDROCARBONS

1	n-Nonacosene-X	C.29.1
2	n-Nonacosene-X	C.29.1
3	n-Nonacosane	C.29.0
4	n-Triacontane	C.30.0
5	n-Hentriacontadiene-X,Y	C.31.2
6	n-Hentriacontene-X	C.31.1
7	n-Hentriacontene-X	C.31.1
8	n-Hentriacontane	C.31.0
9	n-Tritriacontadiene-X,Y	C.33.2
10	n-Tritriacontadiene-X,Y	C.33.2
11	n-Tritriacontene-X	C.33.1
12	n-Tritriacontene-X	C.33.1
13	n-Tritriacontane	C.33.0

Fig. 2 GAS-LIQUID CHROMATOGRAMS OF THE CUTICULAR HYDROCARBONS FROM *ARAECERUS FASCICULATUS*, ADULTS INMATURES (1 DAY). ▭ ALKANES, ▬ MONOENES, ▨ DIENES.



	HYDROCARBONS	
1	n-Nonacosene-X	C.29.1
2	n-Nonacosene-X	C.29.1
3	n-Nonacosane	C.29.0
4	n-Triacontane	C.30.0
5	n-Hentriacontadiene-X,Y	C.31.2
6	n-Hentriacontene-X	C.31.1
7	n-Hentriacontene-X	C.31.1
8	n-Hentriacontane	C.31.0
9	n-Tritriacontadiene-X,Y	C.33.2
10	n-Tritriacontadiene-X,Y	C.33.2
11	n-Tritriacontene-X	C.33.1
12	n-Tritriacontene-X	C.33.1
13	n-Tritriacontane	C.33.0

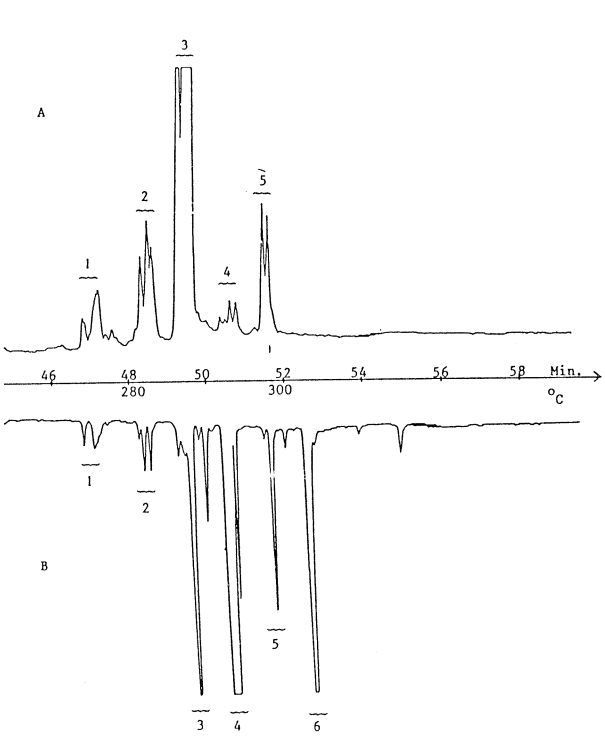
Fig. 3 GAS-LIQUID CHROMATOGRAMS OF THE CUTICULAR HYDROCARBONS FROM *ARAECERUS FASCICULATUS*, ADULTS MATURES (6 DAYS). ▭ ALKANES, ▬ MONOENES, ▨ DIENES.

two families are included in the superfamily of the Curculionoidae. This comparison shows close qualitative characteristics of these two families, that are: the presence in both cases of n-alkanes, n-alcenes and alkadienes in quite an important number and of substituted hydrocarbons structurally very close and in very low proportion for all. On the other hand, the differences in quantity are very sharp: the percentages of dienes are three times higher those of monoenes in *Sitophillus oryzae* and *zeamais*, in equivalent amounts in *Sitophillus granarius* and representing only one fifth of those in monoenes in *Araecerus fasciculatus*. This difference could constitute a taxonomic criterion between the two families (7). Later on another possible difference related to the positions of the double bonds will be discussed.

3.2 POLAR PRODUCTS

The chromatographic profiles of polar fractions of six days old males and females adults are presented on Fig. 4. Unlike hydrocarbons, these polar products are very different according to sex. First of all, a displacement of retention times can be observed notably concerning the most abundant products in Fig. 4. The mass spectrometry analysis of all these composites has confirmed the structural differences: for both sexes and under the extraction conditions described before, they are exclusively esters of ethylenic lipoid alcohols and short range acids (acetic, propionic and butyric); the difference between the sexes stems from the alcohols of the esters. In females, we are dealing in fact with mostly secondary ethylenic alcohols with an odd number of carbons (C29, C31, C33) the position of the hydroxil is generaly at 8, 9 and 10. The isomers 9 being predominant. In males, mostly primary ethylenic alcohols with an even number of carbons (C30, C32, C34) play a role.

The mass spectrometry coupled with gas-liquid chromatography, although it has made possible to suggest the proposed structures, has equally shown the complexity of the chromatographic peaks, where the butyrate of an alcohol



ESTERS IN FEMALES
Chomatogram A

1 { n-HENTRIACONTADIENYL ACETATE
n-HENTRIACONTENYL ACETATE
n-NONACOSENYL BUTYRATE

2 { n-HENTRIACONTADIENYL PROPYONATE
n-HENTRIACONTENYL PROPYONATE
n-TRIACONTENYL BUTYRATE

3 { n-HENTRIACONTADIENYL BUTYRATE
n-HENTRIACONTENYL BUTYRATE (++)
n-TRITRIACONTENYL ACETATE

4 { n-DOTRIACONTADIENYL BUTYRATE
n-DOTRIACONTENYL BUTYRATE
n-TRITRIACONTADIENYL PROPIONATE
n-TRITRIACONTENYL PROPIONATE

5 { n-TRITRIACONTADIENYL BUTYRATE
n-TRITRIACONTENYL BUTYRATE

ESTERS IN MALES
Chomatogram B

?

2 { n-TRIACONTADIENYL BUTYRATE
n-DOTRIACONTADIENYL ACETATE
n-DOTRIACONTENYL ACETATE

3 { n-HENTRIACONTADIENYL BUTYRATE
n-HENTRIACONTENYL BUTYRATE
n-DOTRIACONTADIENYL PROPIONATE (+)

4 { n-DOTRIACONTADIENYL BUTYRATE (++)
n-DOTRIACONTENYL BUTYRATE

5 { n-TRITRIACONTATRIENYL BUTYRATE
n-TRITRIACONTADIENYL BUTYRATE

6 { n-TETRATRIACONTATRIENYL BUTYRATE (+)
n-TETRATRIACONTADIENYL BUTYRATE

Fig 4. GAS-LIQUID CHROMATOGRAMS OF THE POLAR PRODUCTS FROM THE CUTICULAR WAXES OF *ARAECERUS FASCICULATUS* (6 days). The most important product (++); the most intense in the group (+).

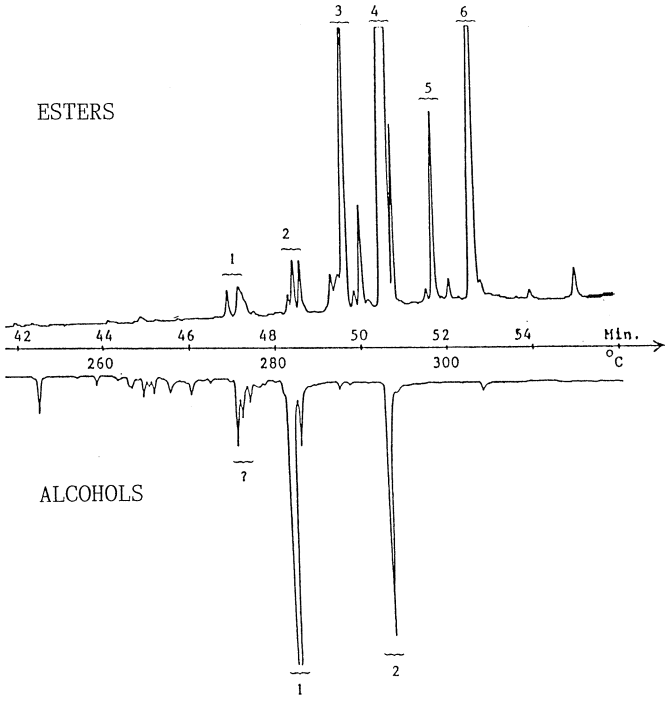


Fig 5. COMPARISON BETWEEN THE ESTERS FROM THE CUTICULAR WAXES OF MALES AND THEIR CORRESPONDING ALCOHOLS

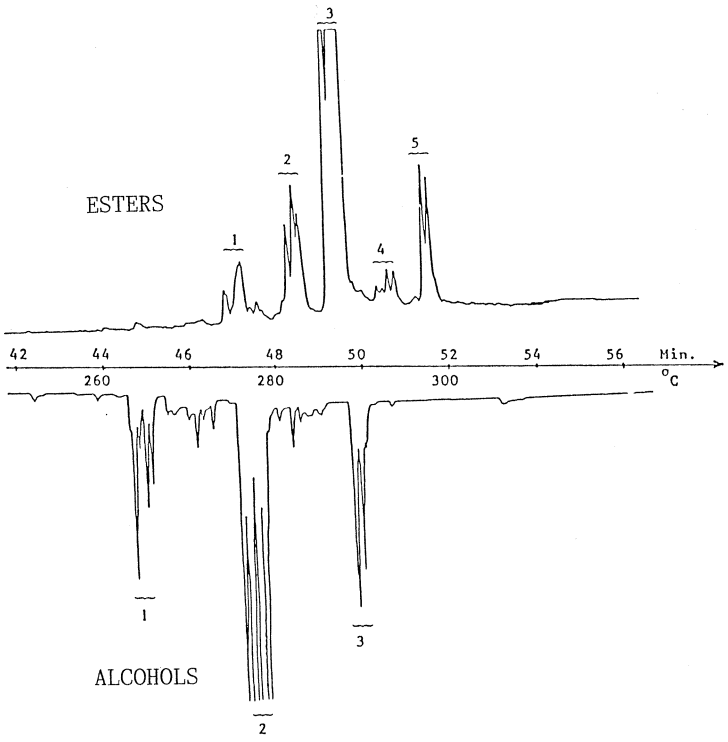


Fig. 6. COMPARISON BETWEEN THE ESTERS FROM THE CUTICULAR WAXES OF FEMALES AND THEIR CORRESPONDING ALCOHOLS

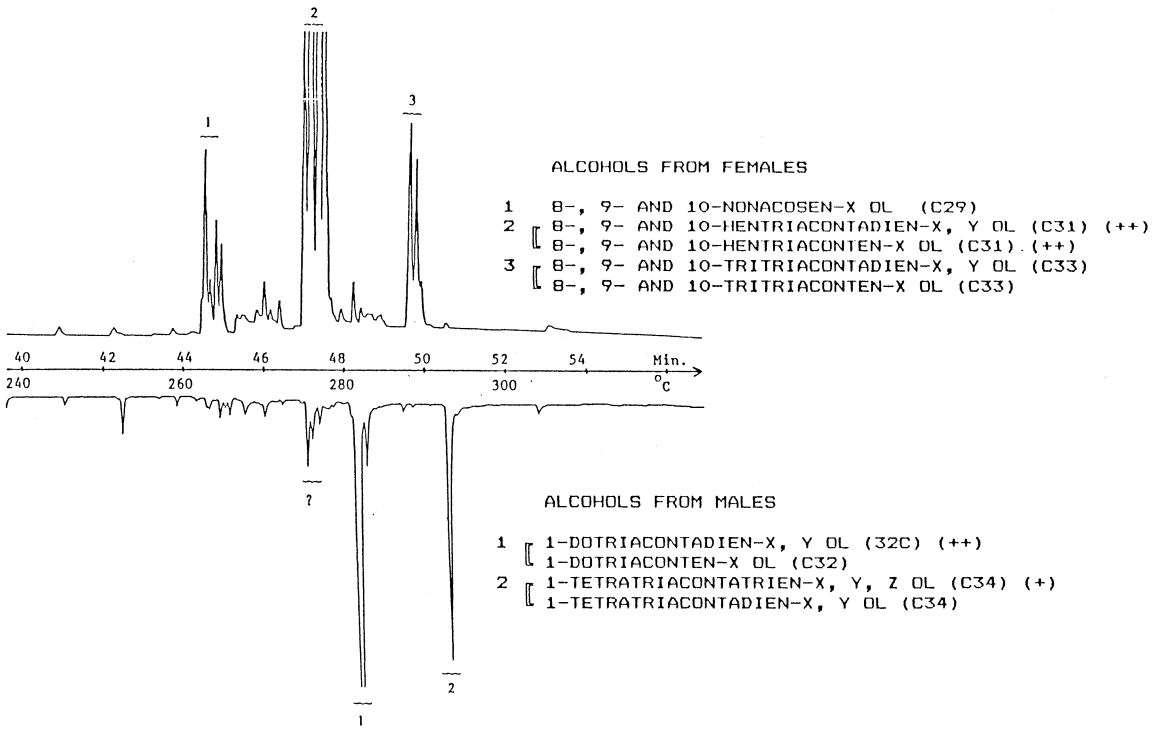


Fig. 7. GAS-LIQUID CHROMATOGRAMS OF THE ALCOHOLS FROM THE SAPONIFICATION OF THE POLAR PRODUCTS FROM THE CUTICULAR WAXES OF FEMALES AND MALES OF *ARAECERUS FASCICULATUS* (6 days). The most important product (++), and relativily important product (+) are indicated.

and the propionate of an alcohol with an additional carbon or the acetate of an alcohol with two carbons over are often superimposed (see Fig. 4). The saponification of these complex mixtures of esters of each sex and later on the acetylation of the alcohols obtained, while simplifying the chromatograms (see Fig. 5, 6 and 7) , have made possible, to confirm the proposed structures, thanks to the mass spectrum of these alcohols and their acetates. Finally, the alcohols of their main esters, except the position and the stereochemistry of double bonds, are decribed in Fig. 7. Fig. 8 shows the electron impact mass spectrum of the mixture of three butyrates of 8-, 9- and 10-n-hentriaconten-X yl of molecular mass 520, principal products of the females. The ions of mass 421, 407 and 393 respectively corresponding to the loss of a saturated chain of 7, 8 and 9 carbons from the molecular ion; the mass ions 71 and 89 are characteristics of the acid part of the butyric esters ($R\text{-}CCO^+$ and $R\text{-}COH2^+$ ions); the mass ion 432 is the result of a loss of a butyric acid molecule always from the molecular ion, which is never present for this type of product, and the remaining spectrum corresponds to that of a diene. On Fig. 9 appears the spectrum of 1-n-dotriacontadien-X, Y -yl butyrate, of molecular mass 532, the most important product in the males. One can see the ions 71 and 89 as previously, the mass ion 444 that corresponds to the loss of a molecule of butyric acid from the molecular ion, which is always present, although at very low intensity, in the case of primary alcohol esters. Evidently, the privileged ruptures of secondary alcohol esters seen in Fig. 8 were not encountered here and the rest of the spectrum corresponds on the whole to that of the triene, which is the result of the elimination of the butyric acid.

The primary and secondary ethylic alcohols of cuticular waxes of *Araecerus fasciculatus* have a number of carbons comparable to or very close to ethylenic hydrocarbons (C29 and above). Blomquist and others have demostrated that the biosynthesis of secondary alcohols is assured in *Melanoplus sanguinipes* by direct incorporation of molecular oxigen on an alkane under the action of an enzime type oxidase ((8) and (9)). On the other hand, Kolattukudy and others, in *Brassica oleracea* (10) and Major and Blomquist in *Periplaneta* (11) have equally demonstrated that the alkanes are formed by decarboxylation of fatty acids. Finally, Lambremont has showed in *Heliothys virescens* the reduction of fatty acids in primary alcohols, as well as the reverse oxydation (12). These results made possible the understanding of the predominance described in certain number of insects, of linear secondary alcohols with an odd number of carbons or their esters (13) and of linear primary alcohols with an even number of carbons or their esters (14). And that is what was found here again. But, as far as we know, never before had such a clear differentiation between the sexes of the very same species of insect been reported, based upon the composition of cuticular waxes. In fact, upon admitting, what appears to be true, that the mechanisms of biosynthesis of alcohols and their esters correspond to those described in the literature, the male and female of *Araecerus fasciculatus* would synthesize their cuticular esters probably from the same ethylic acids, but through different mechanisms. Thus, it will be necessary to determine the position of the double bonds to be able to advance in this area.

The problem is, what is the difference good for? ... maybe for recognition between sexes?. We hope that in our future research, this insect will be willing to deliver some of its chemical communication secrets.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Ministere de la Cooperation Scientifique et Technique Francais for the financial support, Dr M. Benavides, responsible of the Laboratorio de Entomologia in Cenicafe, Chinchina, for having introduced us to the biology and the methods of culture of *Araecerus fasciculatus*, Professor Courtieu, in charge of the Laboratoire de Chimie Structurale Organique, U. P. S. Orsay and Mr. Pechine, in charge of the Mass Spectrometry Service in the Laboratoire de Chemie Structurale Organique, U. P. S. Orsay, for having

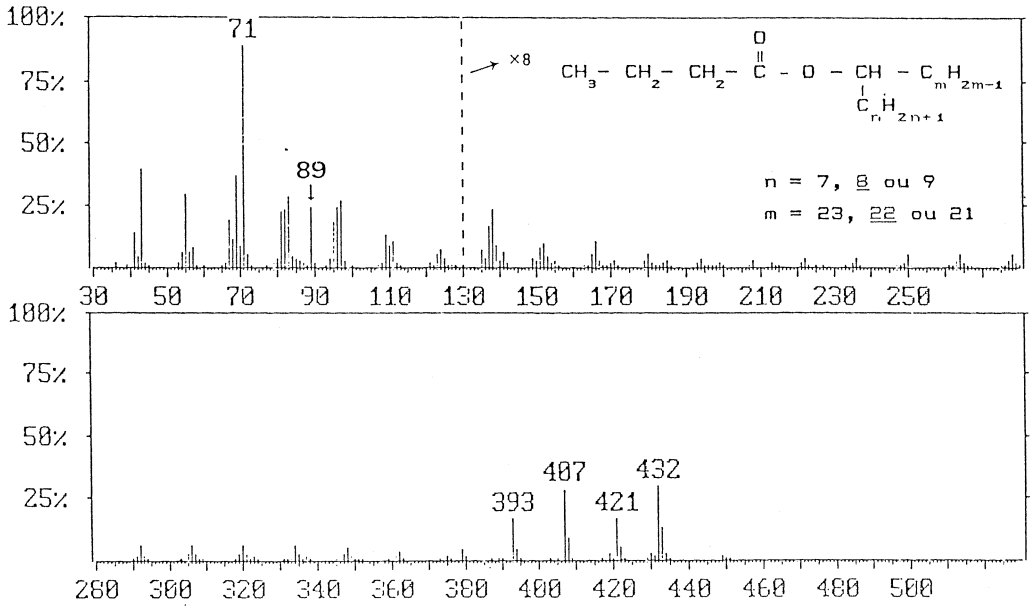


Fig. 8 MASS SPECTRUM OF THE 7-, 8-, and 9- n-HENTRIACONTEN-X YL BUTYRATE

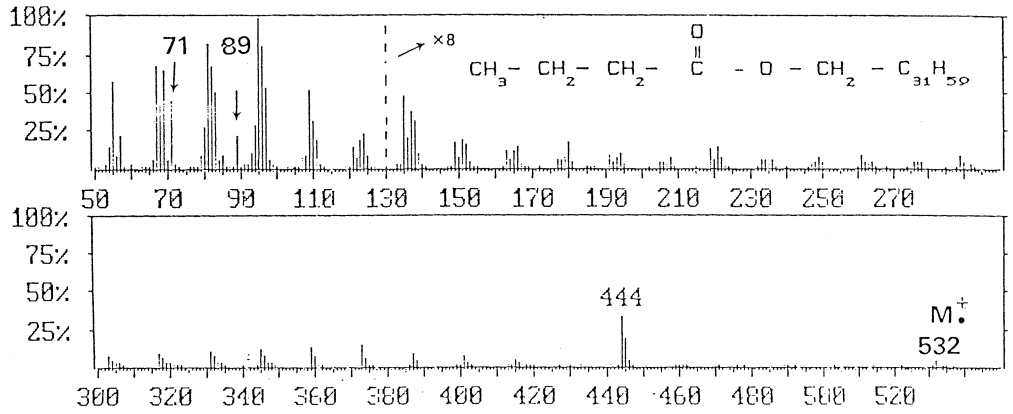


Fig. 9 MASS SPECTRUM OF THE 1-n-DOTRIACONTADIEN-X,Y YL BUTYRATE

welcome one of us at their University.

REFERENCES

1. LAVABRE, E.M. and DECAZY, B.: Contribution a l'etude des problemes poses par le stockage des cafes dans les pays de production. Cafe Cacao The 12, 321-339. (1968)

2. JACOBSON, T. ; REDFERN, R.E. ; JONES, W. A. and ALDRIDGE, M. H.: Sex pheromone of the southern armyworm moth: isolation, identification and synthesis. Science 170, 542, (1970).

3. VEBEL, E. C. ; SONNET, P. E.; and MILLER, R. W.: House flypheromone: Enhancement of mating stryke activity by combination of (z)9-tricosene with branched saturated hydrocarbons. J. Econ. Entomology, 5, 906, (1976)

4. KERKUT, G. A. and GILBERT, L. I.:Comprehensive Biochemestry and Pharmacology; Ed. Pergamon Press; 1984; TAMAKY, Y. : Sex pheromones, 9, 145-149.

5. EL SAYED, M. T. : The morphology, anatomy and biology of *Araecerus fasciculatus* (de Geer). (Coleoptera: Anthribidae). Bull. Soc. Fouadser. Entomol. 24, 82-151, (1940).

6. BAKER, J. E. and WOO, S. M. : Olefines as major components of epicuticular lipids of three *Sitaphillus* weevils. Comp. Biochem. Physiol. 77B, 877-884, (1984)

7. LOCKEY, K. H. : Minireview: Insects Cuticular Lipids. Comp. Biochem. Physiol. 81B, 263-273, (1985)

8.BLOMQUIST, G. J. and JACKSON, L. L.: Hydroxilation of n-alkanes to secondary alcohols an their sterification in the grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. Biochem. and Biophys. Research Comm. 53, 703, (1973)

9. BLOMQUIST, G. J.; McCAIN, D. C. and JACKSON, L. L.: Incorporation of oxigen-18 into secondary alcohols of grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. Lipids 10, 303-306, (1975)

10. KOLATTUKUDY, P. E: BUCKNER, J.S.and BROWN, L.: Direct evidence for a decarboxilation mechanism in the biosynthesis of alkanes in *Brassica oleracea*. Biochem. and Biophys. Research Comm. 47, 1306, (1972)

11. MAJOR, M. A. and BLOMQUIST, G. J. : Biosynthesis of hydrocarbons in insects: Decarboxylation of long chain to n-alkanes in *Periplaneta*. Lipids, 13, 323, (1978)

12. LAMBREMONT, E. N.: Lipid metabolism of insects: interconversion of fatty acids and fatty alcohols. Insect Biochem. 2, 197-202, (1972)

13. BLOMQUIST, G. J.; SOLIDAY, C. L.; BYERS, B. A.; BRAKKE, J. and JACKSO, L.: Cuticular lipids of insects: V. Cuticular wax esters of secondary alcohols from the grasshoppers *Melanoplus packardii* and *Mepanoplus sanguinipes*. Lipids, 7, 356, (1972)

14. WARTEN, C. D. Jr. ; UEBEL, E. C. ; LUSBY, W. B. and ADLER, V. B.: The cuticular lipids of the walkingstick, *Diacheromera ferorata* (Say). Insect Biochem. 11, 457, (1981).

ABSTRACT.- The isolated wax of the adult *Araecerus fasciculatus*, male and female, was analysed using gas chromatography and mass sepectrometry. The cuticular lipids are composed mostly of esters (82 %) and lineal hydrocarbons (17 %). No differences were found in lineal hydrocarbons patterns between males and females. However, significant differences were found in esters: in females, secondary ethylenic alcohols esters with an odd number of carbons (C29, C31, C33); in males, primary ethylenic alcohols with an even number of carbons (C30, C32, C34). The stereochemestry and positions of the double bonds of these compounds is underway.

Résumé

Contribution à l'étude de la composition chimique des cires cuticulaires du charençon du café Araecerus fasciculatus (De Geer) (Coleoptera : Arthribidae).

La cire isolée du mâle et de la femelle adultes d'Araecerus fasciculatus a été analysée par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. Les lipides cuticulaires sont constitués principalement d'esters (82 %) et d'hydrocarbures linéaires (17 %). On n'a pas trouvé de différences en ce qui concerne les hydrocarbures linéaires entre les mâles et les femelles ; mais des différences significatives ont été observées dans les esters : chez les femelles, esters d'alcools éthyléniques secondaires, avec un nombre impair d'atomes de carbone (C_{29}, C_{31}, C_{33}) ; chez les mâles, esters d'alcools éthyléniques primaires avec un nombre pair d'atomes de carbone (C_{30}, C_{32}, C_{34}). L'étude de la stéréochimie de ces composés et de l'emplacement des doubles liaisons est en cours.

BIOCHEMICAL ASPECTS OF COFFEE-COFFEE RUST INTERACTIONS AND PROSPECTS FOR THE GENETIC MANIPULATION OF THE COFFEE PLANT

C. A. OCAMPO *, V. MONTES de GOMEZ **, M. L. ROJAS *,
L. MANZANERA *, M. SARMIENTO *

* Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café, LIQC, Calle 26 A Nr. 37-28, Bogotá, Colombia.
** Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Quimica, Ciudad Universitaria, Bogotá, Colombia.

INTRODUCTION

Elucidating the biochemical reactions associated with the expression of resistance or susceptibility in different coffee-coffee rust combinations (Coffea/Hemileia interactions), is of main importance in the understanding at the molecular level of this plant-pathogen relationship. This understanding also furthers new approaches for the introduction of modern ways to combat the coffee rust fungus Hemileia vastatrix Berk & Br.

The coffee rust disease has spread without halt to virtually all coffee growing zones around the globe, despite the intense use of copper and other types of fungicides combined with breeding for rust resistant varieties. Example of the latter is the development of the variety Colombia (CASTILLO & MORENO, 1988). This variety was developed to possess a superior genetic diversity related to rust resistance, than the most widely used cultivars of Coffea arabica L. (MORENO & CASTILLO, 1987), and its introduction in some coffee growing areas of Colombia is being successful.

Breeding for resistance in coffee has been assessed so far only by classical means of crossing. Novel methods such as somatic cell fusion and recombinant DNA technology still await for research to be done.

Our research efforts are aimed at clarifying the biochemical and molecular biological events that regulate resistance in coffee to the rust pathogen. We are especially interested in the identification of the gene resistance products involved. We are also committed to the development of techniques to genetically transform the coffee plant, making use of the well known soil bacterium Agrobacterium tumefaciens Smith & Townsend, Conn. Having ways to genetically manipulate the coffee plant, will eventually allow us to derive applications from the knowledge gained on the molecular events that direct the outcome of a Coffea/Hemileia interaction.

The hypersensitive reaction (HR), consisting in a rapid necrosis of invaded

cells, is recognized as the most effective means of plant defense against biotrophic fungal parasites, to which the uredinales belong. Biochemically it is characterized by a stimulation of the phenylpropanoid pathway (EBEL, 1986), and a lignification of attacked cells is commonly observed (REISENER et al., 1986). Cytologycally, cells undergoing HR disorganize completly (HARDER et al., 1979), suggesting that cell membranes are being damaged. Our interest is devoted to the study of membrane lipid metabolism during HR. Lipoxygenase (LOX) is an enzyme that catalyses the conversion of unsaturated fatty acids present in membrane phospholipids, to their corresponding hydroperoxy acids. LOX activity over basal levels can be taken as a monitor of membrane damage.

Here we report some preliminary results on the stimulation of LOX activity in coffee leaves under several pathogen and environmental stresses. We also show the ability of A. tumefaciens to incite tumours on coffee tissue.

MATERIALS AND METHODS

Plants

Coffee plants were C. arabica var. caturra and var. Colombia (Hybrid of Timor x C. arabica) L539. Var. caturra is highly susceptible, and var. Colombia highly resistant to the rust race used. This material was kindly provided by Cenicafé (Chinchiná). The plants were maintained in a glasshouse at 2600 m over the sea level. The environment in the glasshouse resembled the conditions in the coffee growing zones of Colombia, namely 28°C and 15°C average temperature correspondingly during day and night, as well as 55% and 70% relative humidity. For all experiments second pair leaves were used in sample preparation.

Pathogens

Coffee rust uredospores were gained from infected foliage by gently scrapping them from the leaves. The material was brought to the laboratory from a coffee plantation located 70 km away. Uredospores collected were used to infect susceptible coffee plants (var. caturra) in the glasshouse from which inoculum for subsequent experiments was harvested. It has been already stated that the coffee rust race normally collected from the fields in Colombia corresponds to race II of H. vastatrix (LEGUIZAMON et al., 1984).

Fusarium oxysporum f.sp. dianthi (Fod), a nonpathogen of coffee was originally isolated from carnations (Dianthus caryophyllus L.) and was obtained from the phytopathology section of Floramérica (Bogotá), a local flower dealing company. Fod was cultured in liquid yeast extract medium.

A. tumefaciens strains were obtained from the culture collection of the Universidad de los Andes, Microbiology Department (Bogotá). These strains were isolated from several local host plants. They were maintained in yeast peptone medium.

Plant inoculation

Plants were inoculated with H. vastatrix by spraying them with a suspension of freshly harvested uredospores (1 mg/ml) in water. Low intensity ultrasound was applied to achieve a homogenous dispersion of spores in the aqueous medium without using any detergent; this spore suspension is stable under agitation (J. Leguizamón, personal communication). After spraying, the plants

were put in a humid chamber. The chamber was saturated with water mist before sealing it tightly to keep high humidity conditions during the initial incubation period of 48h in darkness, after which first samples were made. Control plants were treated the same but they were sprayed with water instead of the spore suspension. After incubation, the plants were taken out of the humid chamber and were left under normal glasshouse conditions.

For agrobacterial inoculation, aseptically germinated seeds of var. caturra were used. Aproximately 0.2 ml of an overnight liquid culture of A. tumefaciens were injected to roots of germinated seeds. The seeds were then incubated in MS (MURASHIGE & SKOOG, 1962) medium without growth hormones added. Controls seeds were treated the same but injected without bacteria. Oncogenicity of strains was tested by inoculating tomato (Lycopersicon esculentum Mill.) plants. Tumours appeared in tomato usually within one month.

L e a f i n f i l t r a t i o n a n d s e n e s c e n c e

Overnight cultures of Fod were used to prepare a sample for infiltration into coffee leaves. Fungal material was pelleted at 28000 g. The pellet obtained from 100 ml of culture was homogenized with a mortar and pestle in 10 ml distilled water, again centrifuged at 28000 g. The resulting supernatant was infiltrated into leaves by using a hypodermic syringe. The leaves were punctured with the needle tip just protruding a cork; on the opposite side, another cork served to make moderate pressure allowing the liquid to distribute between the intercellular spaces of a whole leaf volume. This could be followed visually. Control leaves were infiltrated with H_2O.

Leaves, hereafter designated as senescent, were detached from the plant and incubated in a humid chamber at 28°C in the darkness for several days. Equivalent leaves left on the plant served as controls.

P r e p a r a t i o n o f e n z y m e e x t r a c t s

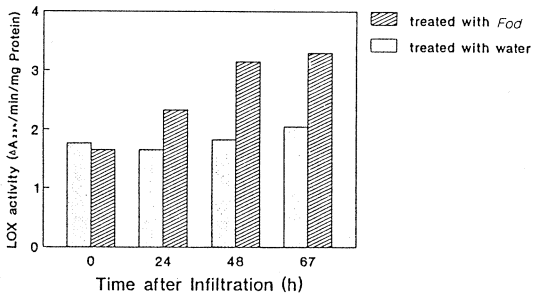
Leaves (uninfected, infected and infiltrated) were cut, weighted and ground in liquid nitrogen (-192°C) to a fine powder. The powder was resuspended for 30 min under agitation in 4 v/w of 0.1M phosphate buffer (1mM EDTA, 0.01M $Na_2S_2O_5$ with 1% polyvinylpolypirrolidone, pH 7.5) at 4°C. The slurry was centrifuged at 22000 g at 4°C for 15 min. Extractable LOX activity was measured in 0.02 ml of the supernatant according to the spectrophotometric method described by GROSSMAN & ZAKUT (1979). Enzyme activity is given as the change in absorbance at 234 nm/min/mg protein. Protein was estimated by using the method of BRADFORD (1976), with bovine serum albumin as the standard. Usually, extracts of three different samples were prepared and measured independently for the calculation of each point in the figures. Bars in the figures represent standard deviation.

R E S U L T S

LOX activity increased in leaves of var. caturra that were infiltrated with a preparation obtained from hyphae of Fod (Fig. 1). The increase was about 40% 24h, and about 100% 48h after treatment. A slight increase (10% by the end of the experiment) could also be observed in control leaves infiltrated with distilled water (Fig. 1).

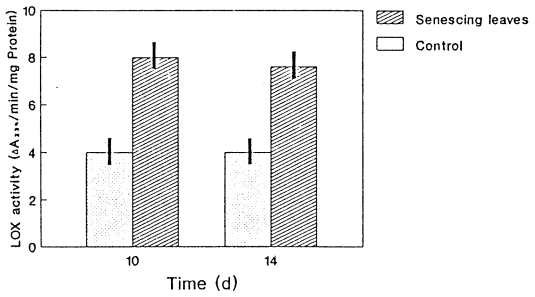
A similar effect was observed in senescing leaves compared to the corresponding controls. A doubling in LOX activity could be detected at the

Fig. 1



Induction of LOX activity in leaves of *C. arabica* var. Caturra after infiltration of a fraction from hyphae of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*

Fig. 2

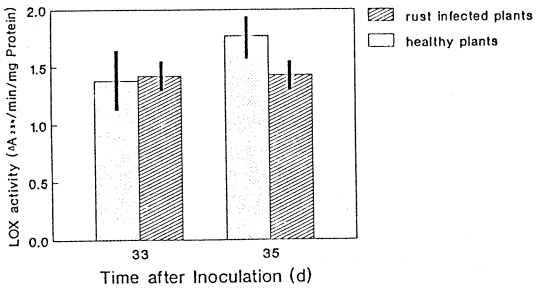


Effect of senescence in the activity of LOX in leaves of var. Colombia

timepoints of measurement (Fig. 2). In this case leaves of var. Colombia were used. A comparable effect should be expected for leaves of var. caturra.

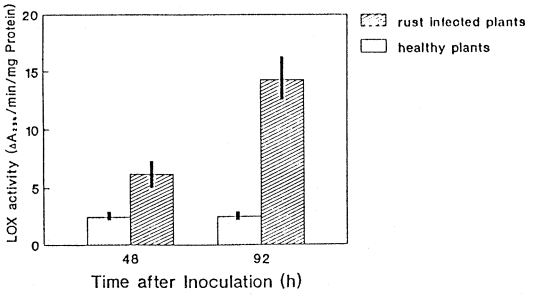
Rust infected tissue behaved differently depending on the kind of interaction under consideration. In the compatible interaction (H. vastatrix/var. caturra), there is no appreciable difference in enzyme activity between healthy compared to rust infected leaves (Fig. 3). It is to note, that the measurements were carried out in heavily infected plants before (33d) and after sporulation was evident (35d). Since infected tissues were invaded by the rust fungus, it is to presume that LOX activity under investigation is not of fungal origin. Measurements remain to be made about the development of the fungus in equivalent material to support this assumption.

Fig. 3



LOX activity in healthy control plants and in coffee rust infected plants of var. Caturra

Fig. 4



LOX activity in healthy control plants and in coffee rust infected plants of var. Colombia

In contrast, LOX activity increased threefold 48h and about sevenfold 92h after inoculation in the incompatible interaction (H. vastatrix/var. Colombia) (Fig. 4). Although no measurements were done on comparable infection times for the compatible interaction, the data suggest that LOX is induced during the expression of incompatibility in coffee against the coffee rust pathogen in the last special case. Measurements following the complete sequence of the infection process in both kinds of interactions are still necessary to substantiate these preliminary observations reported here.

A successful infection of var. caturra roots with A. tumefaciens could be observed (Fig. 5). Tumorous growth appeared in a first experiment in 10 out of 37 inoculated roots. These tumours have survived up to now (more than three months by the time this paper is being finished) in MS medium lacking growth hormones. Control roots necrotize completely in the same culture medium within a week. About 4 tumours have died after a few weeks, implying that there is a degree of instability in the transformation of coffee roots.

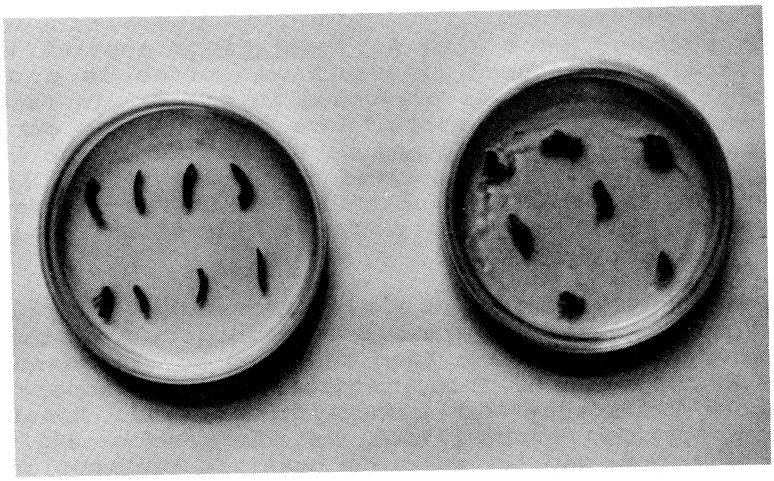


Fig. 5. Infection of coffee roots with A. tumefaciens. Petri dishes contain hormoneless MS medium. Left, necrotized control roots. Right, Agrobacterium infected roots, showing tumorous growth.

D I S C U S S I O N

The results presented here suggest an involvement of LOX activity during the expression of resistance in coffee to the rust fungus. This assumption is supported by the fact, that it is stimulated early in the incompatible interaction (Fig. 4) while there is no observable difference with respect to controls in the compatible interaction (Fig. 3), even at late stages of disease development, where quantitatively the amount of fungal protein in those extracts is high. On the other hand, fungal growth is stopped early in the incompatible combination. This also suggest, that LOX activity measured is not pathogen derived. This observation is again strenghted by the fact that the Fod fraction also stimulates LOX activity (Fig. 1). This fraction has then elicitor activity respective to LOX. The use of elicitors allows the study of HR in complete absence of pathogens. This is particularly important because fungal genetic material would disturb in the analysis of defense gene transcripts expressed during HR (CRAMER et al., 1985).

LOX is an enzyme shown to be involved in senescence (VICK & ZIMMERMAN, 1983; LYNCH & THOMPSON, 1984). This appears also to be the case in coffee (Fig. 2). HR resembles a rapid senescence when looked at biochemically (KUC & PREISIG, 1984).

LOX activity has been previously related to HR in wheat (OCAMPO et al., 1986), tobacco (FOURNIER et al., 1986) and in cucumber (KEPPLER & NOVACKY, 1987). In order to clearly assign a role for LOX in Coffea/Hemileia interactions undergoing HR, we are performing measurements comprising the whole time of the infection process in both types of interactions, since more data is still needed.

Another approach to study defense mechanisms at the molecular level, namely the application of recombinant DNA, requires the use of a genetic transformation system. Genes suspected to play a role in resistance should be cloned, identified and specifically transfered to a susceptible Coffea host. Since in nature there is no detectable infection of the coffee plant by A. tumefaciens, and being this the best known plant transformation system (KLEE & ROGERS, 1989), we pursue to develop transformation methods for coffee by applying Agrobacterium technology.

The infection of coffee tissue with A. tumefaciens appears to be possible (Fig. 5). This should be assumed, inasmuch as coffee is a dicotiledoneous plant. Somehow this interaction is prevented in nature. In fact, attempts to infect coffee tissues other than roots, have failed under our hands so far. Another coffee plant (Coffea arnoldiana De Wild.) could not be successfully infected with A. tumefaciens, as reported in a survey (DE CLEENE & DE LEY, 1976). A drawback remains, since regeneration of coffee plants starting from roots has not been reported. This is matter of investigation in our research center.

We are looking forward to improve the transformation protocol, in order to make use of several A. tumefaciens based transformation plasmid vectors that have been developed, and that have been shown to be active in various plant species (KLEE & ROGERS, 1989). This, together with an understanding of the molecular basis of resistance and susceptibility, will hopefully give the opportunity to apply this powerful tool for the genetic engineering of the coffee plant, opening the way for multiple possible applications.

R E F E R E N C E S

BRADFORD, M.M. **(1976)**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem. 72:248-254.**

CASTILLO-ZAPATA, J. & G. MORENO-RUIZ **(1988)**. La variedad Colombia: Selección de un cultivar compuesto resistente a la roya del cafeto. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Cenicafé, Chinchiná.

CRAMER, C.L., T.B. RYDER, J.N. BELL & C.J. LAMB **(1985)**. Rapid switching of plant gene expression by fungal elicitor. **Science 227:1240-1243.**

DE CLEENE, M. & J. DE LEY **(1976)**. The host range of crown gall. **Bot. Rev. 42:389-466.**

EBEL, J. **(1986)**. Phytoalexin synthesis: the biochemical analysis of the induction process. **Ann. Rev. Phytopathol. 24:235-264.**

FOURNIER, J., B. PELISSIER & M-T. ESQUERRE-TUGAYE **(1986)**. Induction d'une activité lipoxygénase dans les cellules de tabac (Nicotiana tabacum) en culture, par des éliciteurs d'éthylène de Phytophtora parasitica var. nicotianae. **C.R. Acad. Sc. Paris 303:651-654.**

GROSSMAN, S. & R. ZAKUT **(1979)**. Determination of lipoxygenase (lipoxidase). **Meth. Biochem. Anal. 25:303-329.**

KEPPLER, I.D. & A. NOVACKY (**1987**). The initiation of membrane lipid peroxidation during bacteria-induced hypersensitive reaction. **Physiol. Molec. Plant Pathol. 30:233-245.**

KLEE, H.J. & S.G. ROGERS (**1989**). Plant gene vectors and genetic transformation: Plant transformation systems based on the use of Agrobacterium tumefaciens. In: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Ed. I.K. Vasil. Vol. 6, Molecular Biology of Plant Nuclear Genes. Eds. J. Schell & I.K. Vasil. Academic Press, San Diego. pp. **1-23.**

KUC, J. & C. PREISIG (**1984**). Fungal regulation of disease resistance mechanisms in plants. **Mycologia 76:767-784.**

LEGUIZAMON-CAYCEDO, J., C.A. BAEZA-ARAGON, O. FERNANDEZ-BORRERO, G. MORENO-RUIZ, J. CASTILLO-ZAPATA & F.J. OROZCO-CASTAÑO (**1984**). Identificación de la raza II de Hemileia vastatrix Berk. y Br. en Colombia. **Cenicafé 34:26-28.**

LYNCH, D.V. & J.E. THOMPSON (**1984**). Lipoxygenase mediated production of superoxide anion in senescing plant tisuue. **FEBS Lett. 173:251-254.**

MORENO, G. & J. CASTILLO (**1987**). La variété Colombia, un nouveau cultivar de Coffea arabica, de type composite, résistant à Hemileia vastatrix Berk. et Br. **ASIC, 12e Colloque**, Montreux, pp. **657-668.**

MURASHIGE, T. & F. SKOOG (**1962**). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant. 15:473-497.**

OCAMPO, C.A., B. MOERSCHBACHER & H.J. GRAMBOW (**1986**). Increased lipoxygenase activity is involved in the hypersensitive response of wheat leaf cells infected with avirulent rust fungi or treated with fungal elicitor. **Z. Naturforsch. 41c:559-563.**

REISENER, H.J., R. TIBURZY, K.H. KOGEL, B. MOERSCHBACHER & B. HECK (**1986**). Mechanism of resistance of wheat against stem rust in the Sr5/P5 interaction. In: NATO ASI series, Vol H1, Biology and Molecular Biology of Plant Pathogen Interactions. Ed. J. Bailey, Springer Verlag, Berlin.

VICK, B.A. & D.C. ZIMMERMAN (**1983**). The biosynthesis of jasmonic acid: a physiological role for plant lipoxygenase. **Biochem. Biophys. Res. Commun. 111:470-477.**

Summary

Measurements of enzyme activities thought to be involved in resistance reactions of coffee against rust fungi are being made. Phenylalanine-ammonia lyase (PAL) and lipoxygenase (LOX), key enzymes of phenylpropanoid and lipid metabolisms have been related to the biochemical events during the expression of disease resistance characterizing the hypersensitive cell death.

We are currently measuring both enzyme activities in healthy coffee plants. The measurements are extended to different coffee-coffee rust combinations.

Results show a correlation between an enhancement of the enzyme activities (PAL-LOX) with the appearance of resistance reactions in coffee against coffee rust.

Résumé

Aspects biochimiques des interactions caféier-rouille du caféier et perspectives pour les manipulations génétiques du caféier.

Les activités enzymatiques, supposées être impliquées dans les réactions de résistance du caféier à la rouille, ont été mesurées. La phénylalanine-ammoniac lyase (PAL) et la lipoxygénase (LOX), enzymes-clés des métabolismes phénylpropanoïdique et lipidique ont un rapport avec les phénomènes biochimiques qui surviennent au cours de l'expression de la résistance à la maladie qui caractérise la mort de la cellule hypersensible.

Nous effectuons couramment des mesures des deux activités enzymatiques dans des caféiers sains. Les mesures ont été étendues à différentes combinaisons caféier-rouille du caféier.

Les résultats montrent une corrélation entre l'augmentation des activités enzymatiques (PAL, LOX) et l'apparition de réactions de résistance à la rouille chez le caféier.

ÉTUDE D'UNE DÉMUCILAGINATION RAPIDE DU CAFÉ ARABICA PAR TROIS SUBSTANCES ENZYMATIQUES

G. FOURNY, E. TCHANA
Institut de la Recherche Agronomique
Centre de Recherches Agronomiques de Nkolbisson
B.P. 2067, Yaoundé, Cameroun

B. GUYOT, J.-C. VINCENT
Laboratoire de Chimie Technologie de l'IRCC-CIRAD
B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

AVANT - PROPOS

La province de l'Ouest du Cameroun produit chaque année de l'ordre de 17 000 t de café arabica de type "lavé".

La culture du café est conduite dans des petites exploitations de type familial dans lesquelles chaque planteur est chargé des opérations de récolte, dépulpage, fermentation, lavage et séchage du café parche.

Le dépulpage manuel,à l'aide de dépulpeurs à tambour,est suivi d'une "fermentation" des grains en parche dans des paniers en osier et dure généralement 24 heures.

Après séchage, le café parche est collecté par l'Union Centrale des Coopératives Agricoles de l'Ouest (UCCAO) qui regroupe l'ensemble des planteurs.

La coopérative est chargée de transformer le café parche en café marchand en vue de sa commercialisation sur le marché mondial.

Afin de faciliter les opérations de dépulpage, l'UCCAO a mis en place des petits centres de dépulpage villageois dans lesquels les planteurs peuvent venir dépulper leur café après récolte, sous la surveillance d'un encadreur agricole.

La fermentation est toujours assuré par le planteur qui remporte son café dépulpé chez lui.

L'idéal pour ce genre d'installation serait de permettre aux planteurs de retourner chez eux avec le café démucilaginé C'est dans ce but que l'UCCAO a financé la présente étude afin de tester l'influence éventuelle d'un traitement enzymatique de démucilagination rapide du café sur le goût du produit marchand.

INTRODUCTION

Afin de diminuer le temps de traitement du café, l'utilisation de substances chimiques telle que la soude (1,2,3) ou le carbonate de sodium (2) a été envisagée pour hydrolyser le mucilage.

Selon les conditions expérimentales, une démucilagination complète était obtenue après des périodes variant entre 10 et 60 min.

Cependant l'utilisation en milieu rural de telles substances pouvant occasionner des risques d'accident (brûlures) et de pollution, la vulgarisation de ce procédé n'a pas été envisagée.

Une autre possibilité d'hydrolyse rapide du mucilage réside dans l'utilisation de substances enzymatiques. Depuis 1950 , de nombreuses préparations enzymatiques ont été testées, un bon lavage du café était,selon les cas,obtenu au bout de 8 à 16 heures (4,5,6).

Compte tenu du temps encore relativement long, nécessaire à l'obtention d'un lavage efficace, l'avantage de ce procédé par rapport à la fermentation naturelle demeurait relativement limité.

Récemment, de nouvelles préparations à base de pectinases d'Aspergillus carbonarius ont permis de réduire la durée de la démucilagination à 60 minutes (7).

Nous présentons dans ce travail les résultats obtenus avec trois substances enzymatiques (pectinases d'Aspergillus niger et hémicellulase) utilisées pour la clarification et la fabrication de concentrés de jus de fruits.

Deux procédés ont été testés :

- café dépulpé + enzyme à sec
- café dépulpé + enzyme sous eau

L'étude d'un trempage de 24 heures sous eau du café après traitement a été également étudié.

Les différents essais ont été doublés de témoin afin de tester l'impact de chaque procédé sur le goût du café boisson.

Les critères physico-chimiques utilisés pour juger la qualité des différents procédés sont:

- aptitude au lavage au bout de 2 heures de contact café - enzyme
- évolution du pH du mucilage au cours du traitement
- couleur de la parche du café après séchage
- détermination du goût de la boisson par tests organoleptiques.

PARTIE EXPERIMENTALE

TRAITEMENTS DU CAFE

Les essais ont été réalisés à Foumbot (1100 m d'altitude), à partir de café Arabica provenant de la station de Recherches de l'IRA.

Pour chaque essai, trois répétitions ont été effectuées. Le dépulpage a été fait à l'aide d'un dépulpeur à disques Mac Kinnon.

Les échantillons ont ensuite été mélangés et les résultats présentés correspondent donc à un échantillon moyen.

Chaque traitement a été réalisé sur 35 kg de café dépulpé dans des seaux de 50 litres. Cette quantité a été choisie pour se mettre dans des conditions comparables à celles que l'on pourrait rencontrer dans les centres de dépulpage.

Les trois substances enzymatiques utilisées sont commercialement appelées :

- RAPIDASE C 80P (nomenclature E1 dans le texte)
- KLERZYME 40 (nomenclature E2 dans le texte)
- HEMICELLULASE (nomenclature E3 dans le texte).

La dose d'enzyme utilisée est de 5 g / 10 kg de café dépulpé, le contact enzyme - café est de 2 heures.

Les nomenclatures des différents essais sont définies comme suit :

1) Café témoin non fermenté (TNF) : le café est lavé immédiatement après dépulpage et séché.

2) Café témoin fermenté (TF) : le café est lavé et séché après 24 heures de fermentation à sec. C'est la méthode actuellement pratiquée par les planteurs Camerounais.

3) Café témoin trempé (TFT) : le café est lavé après 24 heures de fermentation à sec et mis à tremper pendant 24 heures. C'est la méthode pratiquée dans certains pays de l'est de l'Afrique (Burundi) et qui donne un café communément appelé "Fully Washed".

4) Café traité à sec en présence d'enzymes (ExS) : après dépulpage, le café est minutieusement mélangé avec chacune des enzymes préalablement dissoute dans environ 200 ml d'eau, on lave au bout de 2 heures et on sèche.

5) Café traité sous eau en présence d'enzymes (ExH) : après dépulpage, le café est recouvert d'eau et mélangé avec chacune des enzymes préalablement dissoute dans environ 200 ml d'eau, on lave au bout de 2 heures et on sèche.

6) Café traité en présence d'enzymes, puis trempé (ExST) ou (ExHT) : après 2 heures de traitement enzymatique le café est lavé puis mis à tremper pendant 24 heures avant séchage.

L'ensemble des essais réalisés est regroupé dans le tableau I.

APTITUDE DU CAFE AU LAVAGE

L'aptitude du café au lavage après traitement est jugée manuellement. Le lavage est jugé de bonne qualité lorsque l'on obtient une sensation de "crissement" en frottant les grains les uns contre les autres.

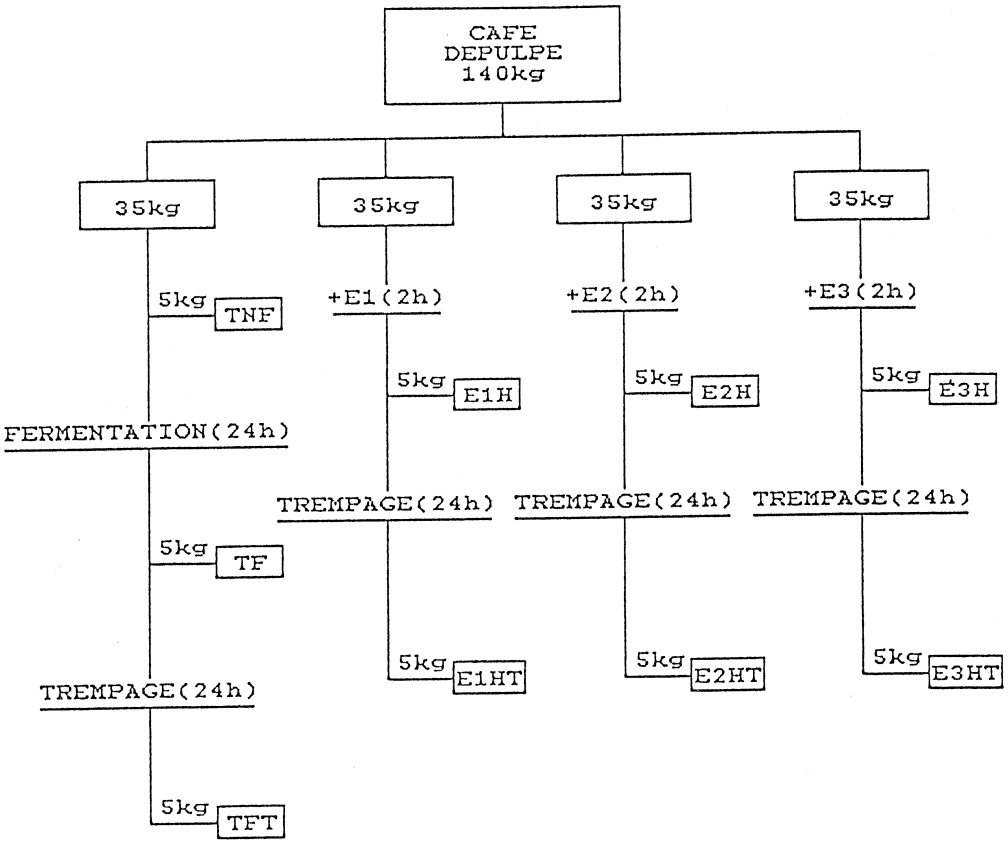
pH DU MILIEU DE TRAITEMENT

L'évolution du pH du mucilage a été suivi au cours du temps :

- pour le traitement sous eau : le pH de l'eau était mesuré toutes les 30 min pendant 2 heures

TABLEAU I

Tableau synoptique des essais



TNF : TEMOIN NON FERMENTE

TF : TEMOIN FERMENTE

TFT : TEMOIN FERMENTE TREMPE

E1H : ENZYME 1 SOUS EAU

E2H : ENZYME 2 SOUS EAU

E3H : ENZYME 3 SOUS EAU

E1HT : ENZYME 1 SOUS EAU + TREMPAGE

E2HT : ENZYME 2 SOUS EAU + TREMPAGE

E2HT : ENZYME 3 SOUS EAU + TREMPAGE

- pour le traitement à sec : 5 g de café étaient agités pendant 5 min dans 200 ml d'eau, le pH de l'eau était ensuite mesuré dans les mêmes conditions que pour le traitement sous eau.

DETERMINATION DE LA COULEUR DE LA PARCHE

Les mesures de couleur ont été effectuées sur café parche avec un analyseur de couleur tristimulus MINOLTA Modèle CR 210, équipé d'un cône de mesure CRA-50 de 50 mm de diamètre.Les résultats sont exprimés dans le système L,a,b (CIE 1976) où L est la variable de clarté,a et b sont les coordonnées de chromaticité.(-a=vert,+b=jaune)
Le résultat des coordonnées L,a,b pour chaque échantillon est la moyenne de 10 mesures.

TESTS ORGANOLEPTIQUES

Les dégustations des échantillons sont faites selon la méthode du test triangulaire (Norme Afnor, V09-013, décembre 1976).

Trois boissons A, B, C sont présentées aux dégustateurs. Parmi ces trois échantillons deux sont identiques. Les dégustateurs répondent obligatoirement aux questions suivantes :

- 1) Quel est l'échantillon unique ?
- 2) Quel(s) est (sont) l'(les) échantillon(s) le(s) plus acide(s) ?
- 3) Quel(s) est (sont) l'(les) échantillon(s) le(s) plus amer(s) ?
- 4) Le(s)quel(s) préférez-vous ?

A la première question nous fixons un seuil d'acceptation de 0,05 ($P > 95$ %).

Les questions 2) et 3) et 4) sont analysées comme un test par paire au seuil d'acceptation de 0,10 ($P > 90$ %) parmi les réponses exactes à la première question.

RESULTATS ET DISCUSSION

INFLUENCE DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE SUR LE LAVAGE

L'aptitude du café au lavage a été le premier critère retenu pour juger l'efficacité de ces différentes préparations.

Au bout de 2 heures de traitement sous eau, tout le mucilage a pratiquement disparu. Le café se lave très aisément (5 à 10 min) alors que le lavage du non fermenté demande une bonne demi-heure.

Les résultats obtenus avec E1 et E3 sont comparables alors que le traitement avec E2 est moins efficace, le lavage étant plus difficile au bout de 2 heures. Cependant le procédé reste intéressant par rapport au traitement naturel.

On note une forte hétérogénéité dans le traitement à sec. Ce problème est lié à la quantité de café utilisé, la répartition de la préparation enzymatique n'étant pas toujours facile à réaliser par brassage.

EVOLUTION DU pH DU MILIEU

La Figure 1 regroupe l'évolution du pH (pH initial - pH au temps de prélévement) en fonction du temps pour les 3 enzymes testées. La pente positive de la courbe indique une augmentation de l'acidité du milieu.

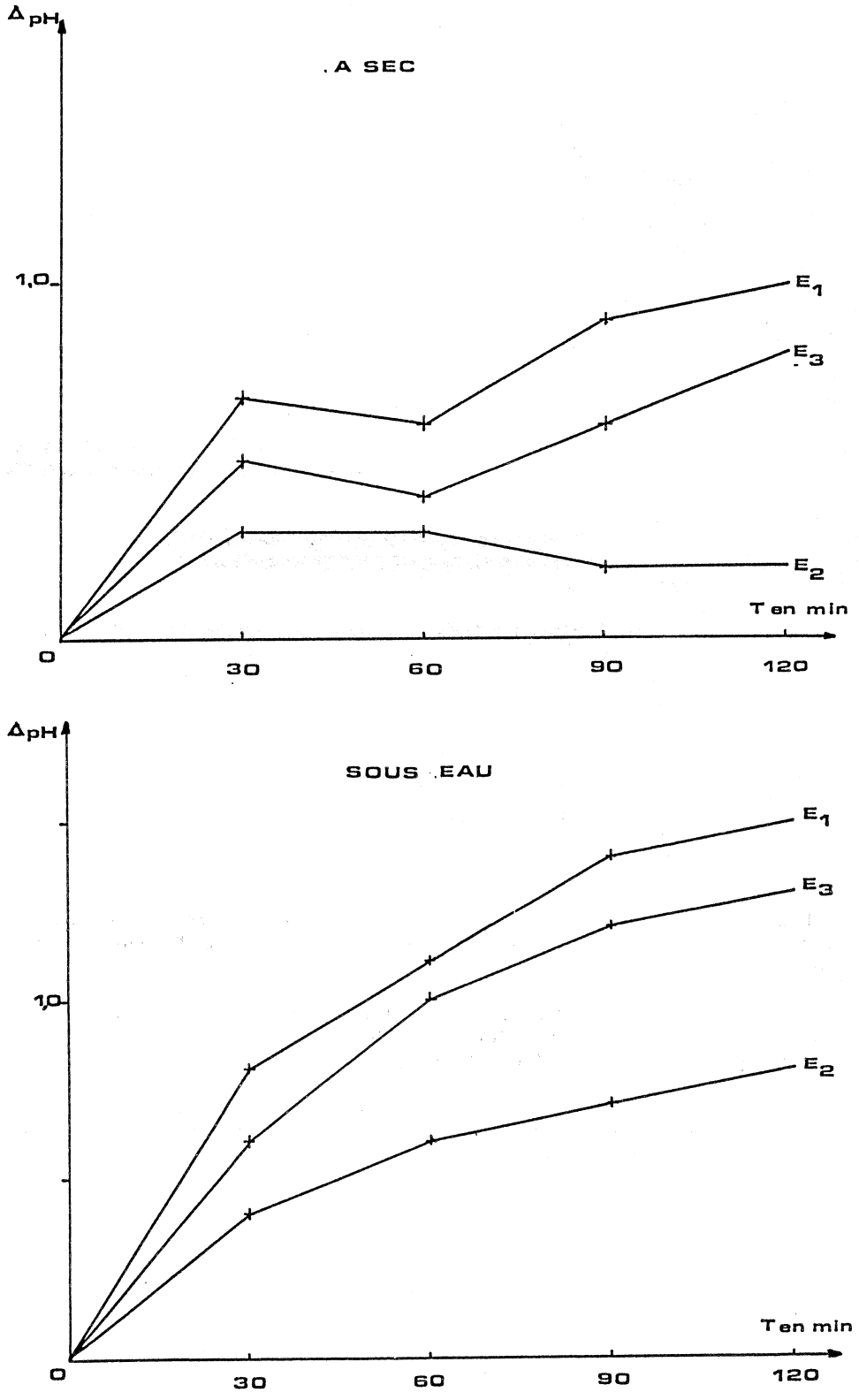


Fig. 1 : Evolution du Δ pH en fonction du temps pour les enzymes testées

Une bonne dégradation du mucilage est en relation avec une variation élevée du pH du milieu.

Le problème d'homogénéité relatif au traitement à sec est mis en évidence sur la courbe de la Figure 1. On constate pour E2 une faible évolution du pH. Nous pensons que le traitement à sec est mal adapté pour les quantités de café que nous avons utilisées et pour cette raison nous ne présentons que les résultats obtenus pour le traitement enzymatique sous eau.

Pour le traitement sous eau, la variation de pH est très importante dès les 30 premières minutes de fermentation, ce qui témoigne de la rapidité d'attaque des enzymes. La variation du pH du milieu obtenue en 120 min de traitement avec E1 et E3 est comparable à celle obtenue après 24 heures pour une fermentation naturelle (Tableau II).

TABLEAU II

VARIATION DU pH AU COURS DU TEMPS

pH	T.NON FER.	E1H	E2H	E3H
30 min	0,0	0,8	0,6	0,4
60 min	0,0	1,1	1,0	0,6
90 min	0,0	1,4	1,2	0,7
120 min	0,0	1,5	1,3	0,8
24 h	1,8	-----	-----	-----

INFLUENCE DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE SUR LA COULEUR DE LA PARCHE

Les résultats de couleur de la parche en fonction du traitement enzymatique (tableau III)nous indiquent qu'il n'y a pas de différence entre les échantillons traités. Les échantillons témoins ont une composante jaune plus élevée.

TABLEAU III

COULEUR DE LA PARCHE POUR TRAITEMENT ENZYME SOUS EAU

	T. NON FER.	E1H	E2H	E3H	T. FER.
LUMINANCE	105,9	104,6	103,7	103,7	104,1
VERT	- 7,59	- 6,66	- 6,87	- 6,95	- 6,81
JAUNE	7,90	4,83	5,47	6,59	7,23

INFLUENCE DU TREMPAGE SUR LA COULEUR

Les résultats colorimétriques de la parche pour les échantillons trempés (T) et non trempés (NT) sont regroupés dans le tableau IV .

TABLEAU IV

COULEUR DE LA PARCHE POUR TRAITEMENT ENZYME SOUS EAU + TREMPAGE

	T. FERMENTE		E1H		E2H		E3H	
	NT	T	NT	T	NT	T	NT	T
LUMINANCE	104,1	104,2	104,6	103,0	103,7	103,3	103,7	104,1
VERT	-6,81	-5,58	-6,66	-5,93	-6,87	-5,88	-6,95	-5,60
JAUNE	7,23	5,45	4,83	4,19	5,47	4,76	6,59	4,48

Les résultats du tableaux IV montre une diminution des composantes verte et jaune sur les échantillons ayant subi un trempage.
Une analyse de variance montre que le trempage n'a aucune influence sur la luminance, par contre l'effet trempage est hautement significatif sur la composante verte (différence significative au seuil de 0,3%) et significatif sur la composante jaune (différence sigificative au seuil de 3%).

INFLUENCE DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE SUR LE GOUT

Les résultats du tableau V nous indiquent qu'il n'y a pas de différence significative due au traitement par rapport au témoin fermenté.

La différence trouvée dans le cas de l'enzyme E2 serait probablement due à un défaut de torréfaction.

TABLEAU V

INFLUENCE DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE SOUS EAU SUR LE GOUT

COUPLE TESTE		E1H	E2H	E3H
TEMOIN FERMENTE	DIFFERENCE	NS	NS	NS
	AMERTUME	----	----	----
	ACIDITE	----	----	----
	PREFERENCE	----	----	----

On constate que le traitement enzymatique n'influe pas de façon négative la qualité de la boisson.

INFLUENCE DU TRAITEMENT ENZYMATIQUE + TREMPAGE SUR LE GOUT

Les résultats du tableau VI nous indiquent que dans tous les cas il y a une différence significative entre les échantillons traités et trempés par rapport au témoin fermenté et trempé.

Les résultats des goûts particuliers indiquent une tendance générale à une plus forte acidité des échantillons traités avec enzyme.

Le couplage des deux procédés aurait donc une influence sur le goût final de la boisson.

TABLEAU VI

INFLUENCE TRAITEMENT ENZYMATIQUE SOUS EAU + TREMPAGE SUR LE GOUT

COUPLE TESTE		E1HT	E2HT	E3HT
TEMOIN FERMENTE + TREMPAGE	DIFFERENCE	S	S	S
	AMERTUME	TFT > E1HT	NS	NS
	ACIDITE	E1HT > TFT	E2HT > TFT	NS
	PREFERENCE	NS	E2HT > TFT	NS

Lorsqu'une préférence a été donnée, c'est l'échantillon traité trempé qui a été trouvé le meilleur.

CONCLUSION

L'étude sur une démucilagination enzymatique rapide du café par trois substances enzymatiques nous a permis de mettre en évidence qu'une démucilagination complète du café peut être obtenue en deux heures de traitement à des concentrations de 5g d'enzyme pour 10 kg de café dépulpé.

L'emploi d'enzymes pour la démucilagination semble plus efficace lorsque le traitement est effectué sous eau.

Les analyses physiques et chimiques ne montrent pas de différence entre les échantillons traités aux enzymes et les témoins.

Les tests organoleptiques indiquent qu'il n'y a pas de différence significative entre les échantillons traités et un témoin fermenté de façon traditionnelle.

Le traitement enzymatique seul ne confère pas au café de goût particulier alors que le traitement enzymatique suivi d'un trempage de 24 heures influence la qualité de la boisson.

Une tendance semble indiquer que ce type de traitement influerait surtout sur l'acidité.

Ces différentes hypothèses seront vérifiées lors de la prochaine campagne par de nouveaux essais en haute et moyenne altitude.

RESUME

L'étude d'une démucilagination rapide du café arabica par trois substances enzymatiques a été effectuée dans l'ouest du Cameroun lors de la campagne caféière 1988/89.

Les trois substances enzymatiques utilisées sont commercialement appelées :

- RAPIDASE C 80P
- KLERZYME 40
- HEMICELLULASE.

Les deux premières sont des pectinases d'Aspergillus niger, l'activité pectinolytique de la première étant le double de la deuxième.

Chaque traitement a été réalisé sur 35 kg de café dépulpé dans des seaux de 50 litres.

La dose d'enzyme utilisée était de 5 g/10 kg de café dépulpé, le contact enzyme - café était de 2 heures.

Les substances enzymatiques ont été testées à sec (mélange direct avec la masse de café dépulpé) ou sous eau (mélange après avoir recouvert le café d'eau).

L'étude d'un trempage de 24 heures sous eau du café après traitement a été également étudiée afin de déterminer l'impact de chaque procédé sur le goût de la boisson finale.

Les critères physico-chimiques utilisés pour juger la qualité des différents procédés ont été :

- aptitude au lavage au bout de 2 heures de contact café-enzyme ;
- évolution du pH du mucilage au cours du traitement ;
- couleur de la parche du café après séchage ;
- détermination du goût de la boisson par tests organoleptiques.

Les résultats obtenus au cours de cette étude nous ont permis de mettre en évidence que :

- une démucilagination complète du café peut être obtenue en deux heures de traitement à des concentrations de 5 g d'enzyme pour 10 kg de café dépulpé;

- la RAPIDASE C 80P et l'HEMICELLULASE donnent de meilleurs résultats que la KLERZYME 40 ;

- l'emploi d'enzymes pour la démucilagination semble plus efficace lorsque le traitement est conduit sous eau. Un traitement à sec pose de gros problèmes pour obtenir une bonne répartition de l'enzyme dans la masse à traiter ;

- le traitement enzymatique seul ne confère pas au café de goût particulier;

- le traitement enzymatique suivi d'un trempage de 24 heures influence le goût du café. Une tendance semble indiquer que ce type de traitement influerait sur l'acidité de la boisson.

Les résultats obtenus prouvent que le traitement n'affecte pas la qualité du café en comparaison avec des témoins préparés de façon traditionnelle.

BIBLIOGRAPHIE

(1) CARBONELL R. and VILANOVA T.- Beneficio rapido y eficiente del café mediante el uso de soda caustica - Centro Nacional de Agronomia - Ministerio de Agricultura y Ganaderia - Boletin Técnico, N° 13, 1952.

(2) SIVETZ M. and FOOTE E.- Coffee Processing Technologie - The avi publishing Co. Inc., Wesport, Conn., 1963, 71 p.

(3) TCHANA E., JACQUET M., GUYOT B., VINCENT J.C.- Etude de l'influence des conditions de fermentation sur les caractéristiques d'un café Arabica. ASIC, 11ème Colloque, Lomé, 1985, p.309 à 318.

(4) JOHNSON W.R. and FOOTE H.E.- Preparation of green coffee - Standard brands incorporated, N.Y., a corporation of Delaware, 1950, p.2 à 4.

(5) CAMBLE F.M. and WOOTTON A.E.- A note on very slow fermentation - Kenya coffee, 1963, P.481 à 483.

(6) MENCHU J.F. and ROLZ C.- Coffee fermentation technology - Café Cacao Thé (Paris) Vol XVII, N° 1, 1973, p.53 à 61.

(7) JALEEL S.A. and SREEKANTIAH K.R.- Application of fungal pectic enzymes in coffee curing - Journal of Food Science and Technology Vol 21, N°1,1984.

Summary

Study of rapid mucilage removal in Arabica coffee with three enzyme preparations.

Three enzyme preparations, marketed under the tradenames Rapidase C80P, Klerzyme 40 and Hemicellulase, were tested for rapid mucilage removal in Arabica coffee in Western Cameroon at 1100 m altitude.

The first two are pectinases from Aspergillus niger with pectinolytic activities of 90 000 AVJP/g and 40 000 AVJP/g respectively.

Each enzyme preparation was used at a dose of 17.5 g per 35 kg of pulped coffee.

Two processes were examined :

- enzyme-induced mucilage removal under water;
- enzyme-induced mucilage removal under dry conditions.

The time of contact of the enzyme preparation and the pulped coffee was fixed at two hours. After washing, the effect of soaking for 24 hours in water in comparison to the unsoaked control was examined.

Coffee aptitude to washing was the primary criterion used to assess the efficacy of the different enzymes.

The results obtained revealed very rapid degradation of the mucilage in samples that had been treated under water with Rapidase C80P and Hemicellulase.

The action of these two enzyme preparations was comparable whereas the treatment with Klerzyme was less effective.

Mucilage removal with enzyme preparations under dry conditions was less effective. This result is linked to the problem of homogeneity that is difficult to achieve with the amount of coffee treated.

SUPEROXIDE DISMUTASES IN COFFEE PLANTS.

PRESENCE OF AN IRON-CONTAINING ISOENZYME

M. C. DAZA **, L. M. SANDALIO *,
L. A. DEL RÍO *, M. QUIJANO-RICO **

* Unity of Plant Biochemistry, Experimental Station of Zaidín, Professor Albareda 1, 18008, Granada, Spain.
** Research Laboratory on Coffee Chemistry of the National Federation of Coffee Growers of Colombia, Calle 26 A No. 37-28, Bogotá.

Introduction

Superoxide dismutases, SODs, (E.C. 1.15.1.1) metalloenzymes are found in all aerobic organism, Fridovich (1986). These enzymes protect living systems against the deleterious effects of O_2 by catalyzing the disproportionation of the superoxide free radical ion to H_2O_2 according to the following equation :

$$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

There are essentially three types of Superoxide dismutases containing either Mn, Fe, or Cu with Zn as prosthetic metals, Fridovich (1986). These isoenzymes has been localized in different plant organelles, Table 1.

Fe-SOD has been detected in a few families of higher plants, Table 2. There is no explanation for the known distribution of Fe-SOD in higher plants, Fridovich (1986).

Superoxide dismutase isoenzymes activities are used for monitoring micronutrient levels in higher plants, Del Río (1983), Del Río (1986), Leidi et al. (1987), Sevilla et al. (1987).

These metalloenzymes could be involved in plant defense mechanism against pathogens. An increase of the of activity Cu,Zn-SOD during the hypersensitive response in leaves of Phaseolus vulgaris infected by a rust (Uromyces phaseoli) has been reported, Buonario et al. (1987).

We observed that isoenzyme patterns of superoxide dismutases of susceptible and resistant varieties: Caturra and Colombia (C. arabica and C. arabica x Timor hybrid) are not identical.

Material and methods

All operations were perfomed at 4°C. Well developed, second pair leaves of both varieties, were washed with destilled water, cutted in short segments and homogenized in a Sorvall Omnimixer at high speed for two minutes. A buffer: Tris-HCl 50mM, pH 7.2, polivinilpolipirrolidone (PVPP) 1%, bovine serum albumine (BSA) 0.5%, dithiothreitol 5mM, sodium metabisulfite 10mM, triton X-100 0.2% and EDTA 1mM were added.

The homogenized material was filtered through two layers of cotton tissue. The filtrate was centrifuged at 14000g in a refrigerated Sorvall centrifuge for five minutes. Supernatant were used for electrophoresis. Superoxide dismutase isoenzymes were separated by polyacrylamide electrophoresis using a vertical cylindrical gel, Davis (1964).

SOD relative activity was detected on the gel using the method of Weissiger and Fridovich, (1973): reduction of nitroblue tetrazolium (NBT) by light generated free radicals (O_2^-) in a solution of riboflavin and tetrametil ethylen diamine (TEMED). SOD isoenzymes were identified by inhibition with KCN 2mM and H_2O_2 5mM, Table 3.

Densitometry was done with a Vernon PHI-6 photometer. Relative SOD activity (%) was calculated from the areas under densitogram peacks.

Table 1. Organellar localization of plant superoxide dismutases, SODs.

Isoenzyme	Organellar localization	Reference
Cu,Zn	Chloroplasts	(1), (2), (3)
	Mitochondria	(2), (4)
	Glyoxisomes	(4), (5), (6), (7)
	Cytosol	(2), (3)
Fe	Chloroplasts	(8), (9)
Mn	Mitochondria	(2)
	Peroxisomes	(5), (6), (7), (10)
	Glyoxisomes	(4), (5), (6), (7)
	Chloroplasts	(11)

(1) Asada et al. (1973), (2) Rabinowitch and Fridovich (1983), (3) Kwiatowski and Kaniuga (1986), (4) Sandalio and Del Río (1987), (5) Sandalio et al. (1988), (6) Sandalio and Del Río (1988), (7) Del Río et al. (1989), (8) Duke and Salin (1985), (9) Kwiatowski and Kaniuga (1984), (10) Sandalio et al. (1987), (11) Hayakawa et al. (1985).

Results and Discussion

It was possible to overcome the enzymatic inactivation through phenolic compounds during superoxide dismutase separation by working near pH 7. The adsortion of phenolic compounds by PVPP is ameliorated in this way, Loomis (1974) and Walker (1980).

Table 2. Reported Fe-SODs distribution in higher plants.

Family	Specie	Reference
Ginkgoacease	Ginkgo biloba	(1)
Nymphaceae	Nuphar luteum L. Sibth y Smith Subsp. macrophylum (Small) Beal	(2)
	Nymphaceae odorata Ait.	(3)
Cruciferae	Brassica campestris L.	(3)
	Brassica rapa L.	(3)
	Brassica oleraceae L.	(3)
	Raphanus sativus L.	(3)
	Rorippa sessiflora (Nutt) Hitchcock	(3)
Rutaceae	Citrus limonum	(4)
Solanaceae	Lycopersicum sculentum	(5)
Leguminosae	Phaseolus vulgaris	(5)

(1) Duke and Salin (1985), (2) Salin and Bridges (1982), (3) Bridges and Salin (1981), (4) Sevilla et al. (1984), (5) Kwiatowski and Kaniuga (1984).

The total SOD activity of crude extracts obtained at 4°C is twice as high of that of extracts prepared at liquid nitrogen tempetature. Proportional differences in the activity of each isoenzymes are observed, table 4.

Crude extracts of the susceptible variety show three activity bands, Fig.1. The band in the neighbor of the anode could be an artifact attributable to the high reduction power of extraction media.

Densitometric scanning of electrophoretograms of the susceptible variety extracts, with and without inhibitors, are shown in Fig.1. The lower intermediate activity band was inhibited by KCN, showing that it can be a Cu,Zn-SOD. The two aditional bands are resistant to cyanide and can be attributed to a Mn/Fe SOD family. The band close to the anode was inhibited by H_2O_2 and could be an Fe-SOD. The band in the neighbor of the catode was not inhibited by $H_2O_2$and is expected to be a Mn-SOD.

It is important to remark that the SOD activity of the susceptible variety is due at 48% Fe-SOD and at 38,6% to a Mn-SOD, while the Cu,Zn-SOD activity is only 13%. Sevilla et al (1984) report that 43% of total SOD activity in lemon leaves (Citrus limonum L.) corresponds to Mn and Fe-SOD together.

The resistant variety, Colombia (C. arabica L. x Timor hybrid) when compared to the susceptible one, Caturra (C. arabica L.) contain five electrophoretically different SOD

isoenzymes, fig. 2. Densitometric scans of gel electrophoretograms of leaf extracts stained for SOD activity in the absence and presence of inhibitors shows three bands that are inhibited by cyanide wich can be atributed to Cu,Zn-SODs and two bands no affected by cyanide. The band in the neighbor of the anode is inhibited by H_2O_2 and can be an Fe-SOD. The band in the neighbor of the catode was not inhibited by H_2O_2 and can be a Mn-SOD.

Table 3. Identifications of SOD-isoenzymes.

Isoenzyme	Inhibitor	
	KCN	H_2O_2
Cu,Zn	Sensible	Sensible
Fe	Insensible	Sensible
Mn	Insensible	Insensible

Fe-SOD metalloenzymes has been isolated from bacteria and are reported to be present only in six families of higher plants : Ginkgoace, Duke and Salin (1985); Nymphaceae, Salin and Bridges (1982), Bridges and Salin (1981); Cruciferae, Bridges and Salin (1981); Rutaceae, Sevilla et al (1984); Solanaceae and Leguminosae, Kwiatowski and Kaniuga (1984). Other fourthy plant families were examined and found not contain detectable Fe-SOD activity, Fridovich (1983).

Gene transfer from bacteria or algae to plants has been proposed to explain the presence of Fe-SOD in higher plants, Sevilla et al. (1984).

Table 4. Effect of the extraction temperature on the SOD relative activity (%) in coffee leaves (C. arabica L.).

Temperature	SOD relative activity (%)		
	Mn-SOD	Cu,Zn-SOD	Fe-SOD
4°C			
Control	38.6 ± 2.5	13.0 ± 5.3	48.4 ± 4.4
CN^- [b]	36.7 ± 3.9	U.D.	30.1 ± 4.4
H_2O_2	36.2 ± 3.9	U.D.	7.4
± -20°C			
Control	26.6 ± 1.5	7.5 ± 0.6	22.0 ± 1.2
CN^- [b]	17.4 ± 1.5	U.D.	15.8 ± 4.4
H_2O_2	18.4 ± 1.5	U.D.	2.9 ± 0.6

a. Mean of three trials standard desviations, b. KCN 2mM, c. H_2O_2 5mM, U.D. Undetected.

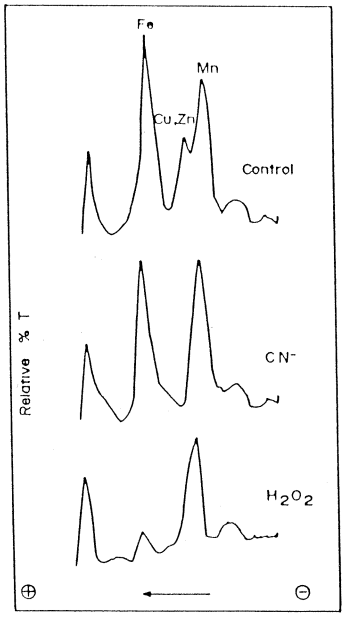


Fig. 1. SOD isoenzyme patterns in crude extracts of coffee leafs, C. arabica L. var. caturra.

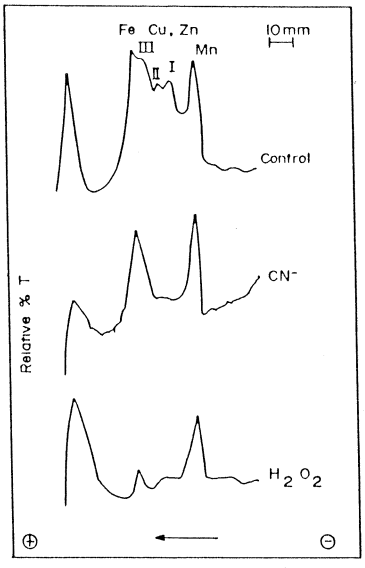


Fig. 2. SOD isoenzyme patterns in crude extracts of coffee leafs, C. arabica L. x Timor hybrid, var. Colombia.

Acknowledgments

One of us (Martha Daza) thanks Dr. Pedro Felipe Valencia delegate of the National Federation of Coffee Growers of Colombia in Spain, Mr. Eduardo López of the Spanish Embassy in Bogotá and the Iberoamerican Institute for Cooperation (ICI), for their financial help.

References

ASADA, K., URANO, N. and TAKAHASHI, M. 1973. "Subcelular localization of superoxide dismutase in spinach leaves and preparation and properties of chrystalline spinach superoxide dismutase". Eur. J. Biochem., 36, 257-266.

BUONARIO, R., DELLA TORRE, G. and MONTALBINI, P. 1987. "Soluble superoxide dismutase (SOD) in susceptible and resistant host-parasite complexes of Phaseolus vulgaris and Uromyces phaseoli". Physiol. amd Mol. Plant Pathol., 31, 173-184.

BRIDGES, S.M. and SALIN, M. 1981. "Distribution of iron-containing superoxide dismutase in vascular plants". Plant Physiol., 68, 275-278.

DAVIES, R.A. 1964 "Disc electroforesis-II. Methods and aplication to human serum proteins". Ann. N.Y. Acad. Sci., 121, 404-427.

DEL RIO, L.A., 1983 "Metalloenzymes as biological markers for the appraisal of micronutrient umbalances in higher plants". Life Chem. Reports, 2, 1-34.

DEL RIO, L.A.1986. "Superóxido dismutasas: propiedades, localización celular y utilidad en estudios nutricionales de oligoelementos". Laboratorio, 81, 329-335.

DEL RIO, L.A., SANDALIO, L.M. and PALMA, J.M. 1989. "Superoxide dismutase and oxygen free radicals in plant peroxisomes". Free Radicals, metal ions and biopolymers. Beaumont, D.J., Parsons, B.J. and Rice-Evans, C. (Eds.) Richelieu Press-London.

DUKE, M. and SALIN, M. 1985. "Purification and characterization of an iron-containing superoxide dismutase from a eukaryote Ginkgo biloba". Arch. Biochem. Biophys., 243, 305-314.

FRIDOVICH, I. 1986. "Superoxide dismutases". Advances in enzymology and related areas of molecular biology, 58, 61-97.

HAYAKAWA, T., KANENATSU, S. and ASADA, K. 1985. "Purification and chracterization of thylakoid-bound Mn-superoxide dismutase in spinach choroplasts". Planta, 166, 111-116.

KWIATOWSKI, J. and KANIUGA, Z. 1984. "Evidence for iron-containing superoxide dismutase in leaves of Lycopersicum sculentum and Phaseolus vulgaris, cultivar Piekny-jas". Acta Physiol. Plant., 6,197-202.

KWIATOWSKI, J. and KANIUGA, Z. 1986 "Isolation and characterization of cytosolic and chloroplast isoenzymes of Cu,Zn-superoxide dismutases from tomato leaves and their relation ships to other Cu,Zn-superoxide dismutases". Biochem. Biophys. Acta 874, 99-115.

LASTRA, O., GOMEZ, J., LOPEZ-GORGE, J. and DEL RIO, L.A. 1982. "Catalase activity and isoenzyme pattern of the metaloenzyme system: superoxide dismutase, as a function of leaf

development during growth of Pisum sativum L. plants". Physiol. plant., 55, 209-213.

LEIDI, E., GOMEZ, M. and DEL RIO, L.A. 1987. "Evaluation of biochemical indicators of Fe and Mn nutrition for soybean plants II. Superoxide dismutases. Chlorophyl contents and photosystem II activity". J. Plant Nutr., 10, 261-271.

LOOMIS, W. 1974. "Overcoming problems of phenolics and quinones in the isolation of plant enzymes and organelles". Methods in Enzymology, 31A, 529-545.

RABINOWITC, H.D. and FRIDOVICH, I. 1983. "Superoxide radicals, superoxide dismutases and oxygen toxicity in plants". Photochem. Photobiol., 37, 679-690.

SALIN, M.L. and BRIDGES, S. 1982. Isolation and characterization of an iron-containing superoxide dismutase from water Lily, Nuphar luteum". Plant Physiol. 69, 161-165.

SANDALIO, L.M., PALMA, J.M. and DEL RIO, L.A. 1987. "Localization of manganese superoxide dismutase in peroxisomes isolated from Pisum sativum L.". Plant Science, 51, 1-8.

SANDALIO, L.M. and DEL RIO, L.A. 1987. "Localization of superoxide dismutase in glyoxysomes from Citrullus vulgaris. Functional implications in celular metabolism". J. Plant Physiol.,127, 395-409.

SANDALIO, L.M., FERNANDEZ, V.M., RUPEREZ, F.L. and DEL RIO, L.A. 1988. "Superoxide free radicals are produced in glyoxysomes". Plant Physiol., 87, 1-4.

SANDALIO, L.M., and DEL RIO, L.A. 1988. "Intraorganellar distribution of superoxide dismutase in plant peroxisomes (glyoxysomes and leaf peroxisomes). Plant Physiol., 88, 1215-1218.

SEVILLA, F., DEL RIO, L.A. and HELLIN, E. 1984. "Superoxide dismutases from a citrus plant presence of two iron-containing isoenzymes in leaves of lemon trees (Citrus limonum L.) J. Plant Physiol., 116, 381-387.

SEVILLA, F., HELLIN, E., ALCARAZ, C. and DEL RIO, L.A. 1987. "Induction of iron and manganese superoxide dismutases in Citrus limonun leaves by iron". Plant Physiol. (Life Sci. Adv.), 6, 133-139.

WALKER, J.R., 1980. "Enzyme isolation from plants and the phenolic problem". What's New in Plant Physiology, 11, 33-36.

WEISIGER, E.A. and FRIDOVICH, I. 1973. "Superoxide Dismutase: organelle specifity". J. Biol. Chem. 248, 3582-3592.

Summary

Superoxide dismutase (E.C. 1.15.1.1.) isoenzyme patterns in coffee plants are reported for the first time. Leaf extracts of Coffea arabica L., var. Caturra and C. arabica x Timor hybrid, var. Colombia, respectively susceptible and resistant to coffee rust (Hemileia vastatrix Berk. and Br.) were used for isoenzyme separation by electrophoresis on polyacrylamide. Enzymatic activities were quantified by densitometry. Obtained results show that relative activities of SOD isoenzymes are different in the two varieties. Leaf extracts of the susceptible variety posses at least three electrophoretically differentiable SOD isoenzymes: one Mn-SOD, one Cu,Zn-SOD and one Fe-SOD. The resistant variety at least five electrophoretically distintict SOD isoenzymes: one MnSOD, three Cu,Zn-SODs and one Fe-SOD.

Resumen

Se realizaron por primera vez los patrones isoenzimáticos de superóxido dismutasas en extractos de hojas de cafeto (Coffea arabica L., var. Caturra y C arabica por Híbrido de Timor, var. Colombia) susceptible y resistente a la roya del cafeto (Hemileia vastatrix Berk.y Br.) respectivamente. Las actividades enzimáticas relativas se cuantificaron densitométricamente. Los extractos de la variedad susceptible presentaron al menos tres isoenzimas diferenciables electroforéticamente: una Mn-SOD, una Cu,Zn-SOD y una Fe-SOD. La variedad resistente presentó al menos cinco isoenzimas SODs distintas: una Mn-SOD, tres Cu,Zn-SODs y una Fe-SOD.

Résumé

Superoxyde dismutases dans des caféiers. Présence d'une isoenzyme contenant du fer.

Des structures d'isoenzyme superoxyde dismutase (E.C. 1.15.1.1.) sont signalées pour la première fois dans des caféiers. Des extraits de feuilles de Coffea arabica L., var. Caturra et de feuilles de C. arabica x Hybride de Timor, var. Colombia, respectivement sensible et résistant à la rouille du caféier (Hemileia vastatrix Berk et Br.) ont été utilisés pour la séparation d'isoenzymes par électrophorèse sur polyacrylamide. Les activités enzymatiques ont été quantifiées par densitométrie. Les résultats obtenus montrent que les activités relatives des isoenzymes SOD sont différentes pour les deux variétés. Les extraits de feuilles de la variété sensible possèdent au moins trois isoenzymes SOD différentiables par électrophorèse : une Mn-SOD, une Cu,Zn-SOD et une Fe-SOD ; la variété résistante possède au moins cinq isoenzymes SOD distinguées par électrophorèse : une Mn-SOD, trois Cu,Zn-SOD et une Fe-SOD.

CAFFEINE METABOLISM BY *COFFEA ARABICA* L. FRUIT

G. R. WALLER *, T. SUZUKI *, **

* Department of Biochemistry, Oklahoma State University, Oklahoma Agricultural Experiment Station, Stillwater, Oklahoma, USA.
** Faculty of Textile Science, Kyoto Kogei-Sen-i University, Kyoto, Japan.

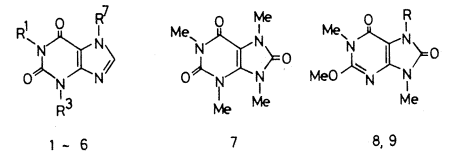
INTRODUCTION

Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine), a predominant purine alkaloid of coffee (*Coffea* species), has been shown to undergo a variety of metabolic changes (Petermann and Baumann, 1983; Suzuki and Waller, 1984a,b), and its role is considered to have ecological significance rather than to serve as a nitrogen reserve (Chou and Waller, 1980a,b; Rizvi *et al.*, 1980; Friedman and Waller, 1983a,b; Baumann and Gabriel, 1984; Nathanson, 1984). Similarly, Suzuki and Waller (1985a) reported that the purine alkaloids, caffeine and theobromine (3,7-dimethylxanthine) in leaves and shoots of tea (*Camellia sinensis*) decreased significantly in August, October and November in Japan; suggesting that the alkaloids have no role in the storage of nitrogen in tea leaves during the winter months.

The purpose of this article is to provide up-to-date knowledge of dynamic aspects (metabolism) of caffeine and related compounds (Suzuki and Waller, 1988). Some comprehensive articles concerning caffeine metabolism and related topics in plants were published in the 1970's (Schlee, 1973; Kihlman, 1977; Suzuki and Takahashi, 1977). However, more important advances in this field have been made in the past few years, and this has been only briefly or little described (for example, Waller and Dermer, 1981; Wasternack, 1982; Schlee, 1985).

The widespread natural occurrence of purine alkaloids - caffeine and other methylxanthines such as theobromine and theophylline (Fig. 1) - in a variety of plants undoubtedly played a major role in the long-standing popularity of caffeine-containing products especially nonalcoholic beverages and foods (coffee, tea, soft drinks, cocoa and chocolate products, etc).

	Trivial name	R^1	R^3	R^7 or R
1	Xanthine	H	H	H
2	7-Methylxanthine	Heteroxanthine	H	H	Me
3	1,3-Dimethylxanthine	Theophylline	Me	Me	H
4	3,7-Dimethylxanthine	Theobromine	H	Me	Me
5	1,7-Dimethylxanthine	Paraxanthine	Me	H	Me
6	1,3,7-Trimethylxanthine	Caffeine	Me	Me	Me
7	1,3,7,9-Tetramethyluric acid	Theacrine	-	-	-
8	O^2,1,9-Trimethyluric acid	Liberine	-	-	H
9	O^2,1,7,9-Tetramethyluric acid	Methylliberine	-	-	Me



1 - 6 7 8, 9

Fig. 1. Structures of purine alkaloids in plants

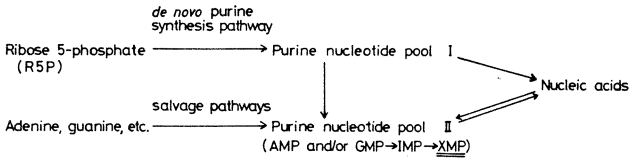
EXPERIMENTAL

For details the original articles must be consulted; or the chapter on *Metabolism and Analysis of Caffeine and other Methylxanthines in Coffee, Tea, Cola, Guarana and Cacao* provides a summary (Suzuki and Waller, 1988).

RESULTS AND DISCUSSION

Metabolism of Caffeine in Caffeine-Containing Plants

Although purine metabolism in higher plants essentially resembles that in microorganisms and animals (Suzuki and Takahashi, 1977; Ross, 1981; Wasternack, 1982), its regulation and mechanism in caffeine-containing plants would be expected to be different from that in other organisms (Scheme 1). In tea (*Camellia sinensis*) and coffee (*C. arabica*)plants, caffeine is synthesized from xanthosine via 7-methylxanthosine, 7-methylxanthine and theobromine, and S-adenosylmethionine (SAM) is the actual source of the methyl groups (Suzuki and Takahashi 1977; Negishi *et al.*, 1985a,b,c; Suzuki and Waller, 1985b; Scheme 2).

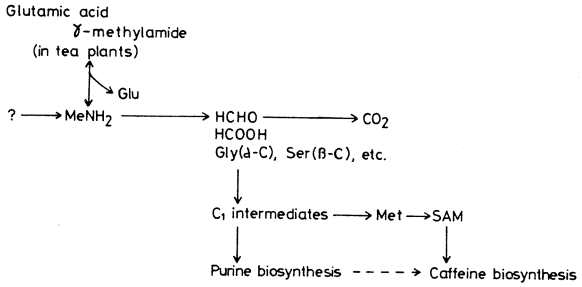


Scheme 1. Purine metabolism in tea (*C. sinensis*)and coffee (*C. arabica*)plants. (Suzuki 1985b; Susuki and Waller, 1985b).

Three methyluric acids (Fig. 1) are considered to be products of caffeine metabolism in some *Coffea* species (Petermann and Baumann, 1983). Biodegradation of caffeine occurs in *C arabica* fruits through theophylline and theobromine as the first biodegradation products (Suzuki and Waller, 1984a,b). Further, notable seasonal variations of the levels of caffeine and theobromine in the stem and leaves of new shoots of tea have been observed, suggesting metabolism and/or translocation of the methylxanthines (Suzuki and Waller, 1986a).

Caffeine Biosynthesis and C_1 Metabolism

That the methyl carbon atom of methionine and other C_1 compounds can serve as the methyl group donors for caffeine synthesis was initially found by Anderson and Gibbs (1962) and Inoue and Adachi (1962). Since then, L-[methyl-^{14}C]methionine has been repeatedly employed as the most effective methyl donor for caffeine biosynthesis (see the review by Suzuki and Takahashi, 1977; Scheme 3). The synthesis of SAM from methionine and its possible participation in caffeine synthesis were reported by Suzuki (1972). Enzymic introduction of the caffeine methyl group with SAM as the methyl donor has now been well established in tea and coffee (*C. arabica*) plants (Suzuki and Takahashi, 1975a; Roberts and Waller, 1979; Negishi *et al.*, 1985b,c) as well as in vitro cultures (Baumann *et al.*, 1983; Waller *et al.*, 1983).

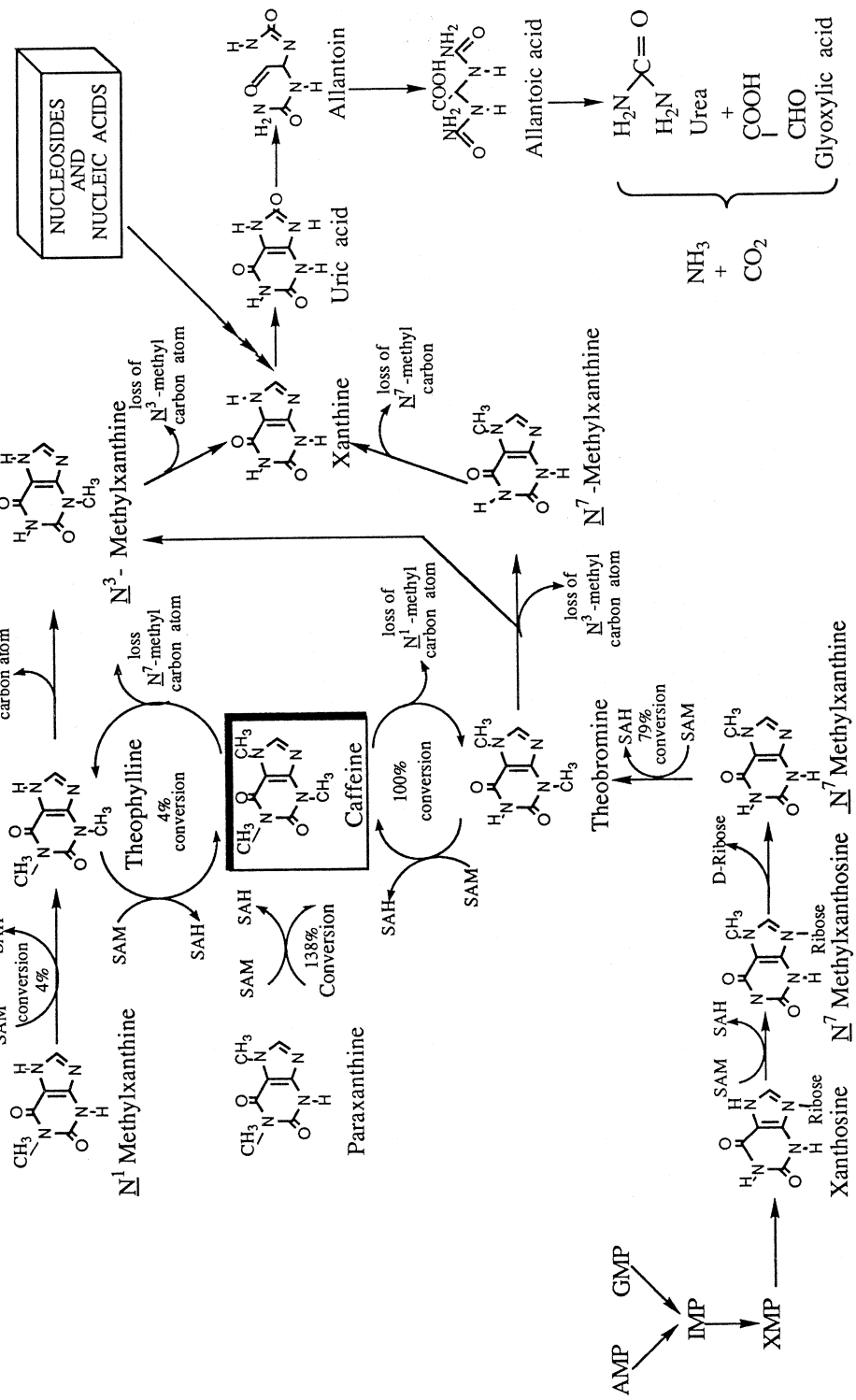


Scheme 3. One-carbon metabolism and caffeine biosynthesis in tea and coffee plants. (Suzuki and Takahashi, 1977).

One-carbon metabolism relating to caffeine biosynthesis in caffeine-containing plants has been described only for tea plants, using L-[methyl-^{14}C]methionine and [^{14}C]methylamine (Suzuki, 1973; Suzuki andTakahashi, 1976a,b).

Caffeine Biosynthesis and Purine Metabolism

The purine ring of caffeine is synthesized by the same pathways as de novo purine biosynthesis, which was initially shown with nonpurine precursors (Anderson and Gibbs, 1962; Preusser and Serenkov, 1963) and then



SCHEME 2. PATHWAYS OF METABOLISM OF CAFFEINE IN COFFEE AND TEA.

directly with purine precursors (see the review by Suzuki and Takahashi, 1977; Scheme 1.) Xanthine cannot serve as the direct precursor for the caffeine purine ring, and is metabolized by the conventional purine degradation pathway via uric acid even in tea and coffee (*C. arabica*) plants (Suzuki and Takahashi, 1975b; Waller *et al.*, 1981, 1983; Suzuki and Waller, 1984b; Scheme 1). Among purine bases, adenine is the most effective biosynthetic precursor of caffeine in tea and coffee (*C. arabica*) plants (Suzuki and Takahashi, 1976c; Suzuki and Waller, 1984b). Similarly, 7-methylxanthosine and xanthosine are the effective precursors (Looser *et al.*, 1974; Baumann *et al.*, 1978; Negishi *et al.*, 1985a, c). Although the methylation of xanthosine to 7-methylxanthosine is the first step of a series of methylations in the pathway for caffeine biosynthesis, xanthosine is also metabolized by purine degradation pathway via xanthine (Negishi *et al.*, 1985c). Thus caffeine biosynthesis does not replace purine catabolism in these plants.

Purine and nucleic acid metabolism concerning caffeine biosynthesis in caffeine-containing plants has been reported exclusively for tea plants, using L[methyl-^{14}C]methionine (Ogutuga and Northcote, 1970a; Suzuki and Takahashi, 1976a,b), de novo purine biosynthetic precursors such as glutamic acid γ-[^{14}C]-methylamide (Konishi *et al.*, 1972a,b), [^{14}C]methylamine, and [1-^{14}C]glycine (Suzuki, 1973; Suzuki and Takahashi, 1976a), and purine precursors such as [8-^{14}C]hypoxanthine, [8-^{14}C]adenine, and [8-^{14}C]guanine (Suzuki and Takahashi 1975b, 1976c; Ashihara and Kubota, 1986, 1987).

Caffeine Biosynthesis: Compartmentation of Purine de Novo Biosynthesis and Salvage Pathways

It is noteworthy that a problem in interpreting many labeling studies of precursors of the de novo and salvage pathways for purine biosynthesis is the surprisingly unequal incorporation of such precursors into adenine (A) and guanine (G) nucleotides (Suzuki and Takahashi, 1977; Ross, 1981).

Administration of a "pulse" of [8-^{14}C]hypoxanthine or [8-+14C]guanine in tea shoot tips shows a preferential incorporation of ^{14}C into the GMP of RNA (A/G<0.1), while there is more incorporation of [1-^{14}C]glycine or [1-^{14}C]methylamine (which is oxidized to HCHO, and thereby metabolized as a C_1 compound) into AMP of RNA than GMP of RNA (A/G=2). As regards [8-^{14}C]adenine, the A/G ranges between 1 and 2, depending on the incubation time (Suzuki and Takahashi, 1976c, 1977; Fig. 2). If hypoxanthine (as well as guanine) enters the same pool of IMP synthesized from glycine or methylamine via the de novo purine pathway, it is difficult to explain the preferential incorporation into the GMP of RNA (or little incorporation of guanine into the AMP of RNA compared with high incorporation of adenine into the AMP and GMP). These results suggest that purine de novo and salvage reactions are compartmentalized separately in tea shoot tips (Suzuki, 1985b; Suzuki and Waller 1985b, 1986b; Scheme 4). Similar data with other plant materials have been reviewed (Suzuki and Takahashi 1977; Ross, 1981). In comparison with the de novo pathway, it appears that the salvage pathways are more important in germinating seeds (for example, Anderson, 1979; Nobusawa and Ashihara, 1983) as well as caffeine-producing plants.

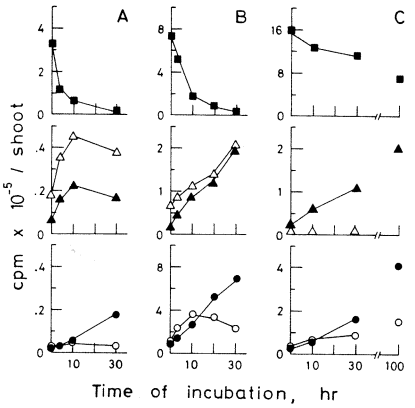
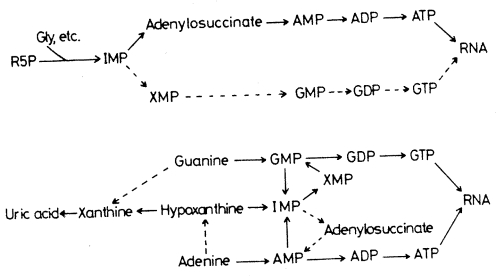


Fig. 2 A–C. Distribution of radioactivity among glycine, adenine, or guanine (■); AMP (△) and GMP (▲) of RNA; and theobromine (○) and caffeine (●), when tea shoot tips were incubated with 5 μCi of [1-^{14}C]glycine (**A**), with 5 μCi of [8-^{14}C]adenine (**B**), or with 5 μCi of [8-^{14}C]guanine (**C**). Groups of four excised shoot tips, comprising the terminal bud, three expanded leaves and the associated stem, were each fed with 5 μCi of the radioactive precursors within 1 h and then incubated in H_2O in 50-ml flasks for various periods. (Suzuki 1985b; Suzuki and Waller 1985b)



Scheme 4. A two-compartment model to explain labeling ratios in RNA purine nucleotides after feeding purine or nonpurine precursors to detached tea shoot tips. Reactions shown by *dashed lines* are assumed to be slow, allowing precursors of the de novo pathway to IMP *(top)* to be more incorproated into AMP of RNA than into GMP of RNA. In the salavage pathway *(bottom)*, guanine is converted almost exclusively into the GMP of RNA. Hypoxanthine is incorporated primarily into GMP of RNA, because conversion of IMP to GMP is much faster than that to AMP. At first, adenine labels largely AMP of RNA, but later GMP can also be formed if GMP synthesis from IMP is active in the salvage compartment. Hypoxanthine can also be degraded via xanthine and uric acid. (Suzuki, 1985b; Suzuki and Waller, 1985b).

The existence of compartmentation of the de novo and salvage pathways means that there are two possible sources for xanthosine utilized in caffeine biosynthesis; one directly from IMP and XMP arising from the de novo pathway, and the other from the purine nucleotides in the nucleotide pool, which is linked with the breakdown of nucleic acis and/or the salvage pathways. The available evidence argues for the latter (Scheme 2); administration of [8-^{14}C]-labeled purines to tea shoot tips caused an immediate increase of ^{14}C in RNA purine nucleotides as well as purine alkaloids, while there was only a slight increase of ^{14}C from [1-^{14}C]glycine in the purine alkaloids after a short lag period, despite the immediate increase of ^{14}C in RNA purine nucleotides (Suzuki, 1985b; Suzuki and Waller, 1985b, 1986b; Fig. 2). Similar data derived by administering [8-^{14}C]adenine to the younger leaves of tea have been described (Ashihara and Kubota, 1986). Thus, this conclusion agrees with our previous observation postulating purine nucleotides in the nucleotide pool as precursors for caffeine biosynthesis, except that methylation of the nucleotides is considered as the first step of a series of methylations in the pathway for caffeine biosynthesis (Suzuki and Takahashi, 1976a, b, 1977).

Although, as noted above, the importance of the purine salvage pathways for caffeine biosynthesis has been demonstrated (Suzuki and Takahashi, 1975b, 1976c; Suzuki and Waller, 1984b; Ashihara and Kubota, 1986), it remains uncertain whether purine bases are the normal precursors. Among free purine compounds, AMP is the major component in green tea, followed by ADP and GMP (Takino *et al.*, 1972).

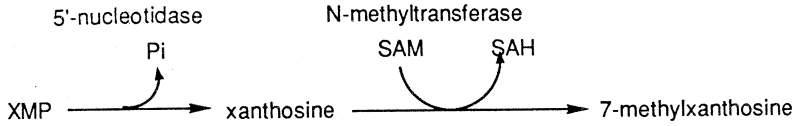
Compared with the markedly increasing amounts of caffeine in the leaves of tea during the growing season (April-June), the levels were low and remained almost unchanged during the winter months (see Fig. 3 below). Further, during the growing season the concentrations of theobromine, the immediate precursor for caffeine biosynthesis, in the leaves were relatively high but were very low in late autumn and winter (Suzuki and Waller 1986a). These seasonal changes of purine alkaloids are compatible with the observations that, although [8-^{14}C]adenine and [8-^{14}C]guanine are easily salvaged not only in the growing leaves of the plants but also in the leaves in February, no or only a little incorporation of ^{14}C from these purines and [8-^{14}C]adenosine into purine alkaloids is observed in similar winter leaves (Ashihara and Kubota, 1987). Of more interest is that, although hypoxanthine is an effective precursor for caffeine biosynthesis (Suzuki and Takahashi, 1975b, 1977), most of [8-^{14}C]hypoxanthine and [8-^{14}C]inosine is degraded by purine degradation pathway in the winter leaves (Ashihara and Kubota, 1987). Further studies are needed for the complete interpretation of these interesting results, e.e., regulatory mechanisms involved in caffeine biosynthesis, relating to purine metabolism in the plants during the growing season as well as the winter months. However, finally it is also desirable to consider the importance of one-carbon metabolism as methyl group donors and transmethylation reactions involved. Indeed, although not proved, there is a possibility that SAM or its biosynthesis alone regulates caffeine biosynthesis.

Caffeine Biosynthesis in Vitro with Enzyme Preparations

The complete description of a biosynthetic pathway should involved the characterization of each individual intermediate and each enzyme system involved; the enzymes described for caffeine biosynthesis and related metabolism in caffeine-producing plants are few, but summarized by Suzuki's and Waller (1988). In general, owing to difficulties encountered in extracting active enzymes from such plant tissues containing high concentrations of phenolic compounds, Polyclar AT (insoluble polyvinylpyrrodidone) is absolutely required in the extraction procedure.

Methyl groups are transferred from SAM to xanthosine, yielding 7-methylxanthosine (Negishi *et al.*, 1985b, c), which undergoes further methylations via 7-methylxanthine and theobromine to caffeine (Suzuki and Takahashi, 1975a; Roberts and Waller, 1979; Scheme 2). Xanthine and hypoxanthine were totally inactive in

these systems, except that xanthine was methylated at the N^3 position by incubation with tea-leaf extracts at pH 7.5 (Negishi *et al.*, 1985b). However, it had been already demonstrated that 3-methylxanthine is almost or totally inactive as a substrate for dimethylxanthine (theophylline and/or theobromine) synthesis in vitro (Suzuki and Takahashi, 1975a; Roberts and Waller, 1979; Waller *et al.*, 1981). Among purine nucleoside monophosphates. XMP was slightly methylated to produce 7-methylxanthosine, but it has been regarded as a result of dephosphorylation of XMP by the nucleotidase, forming xanthosine (Negishi *et al.*, 1985b):



Unexpectedly, paraxanthine was the most active as a methyl group acceptor among methylxanthines. However, paraxanthine is not considered to be the normal precursor of caffeine in vivo, since its formation from 1-and 7-methylxanthine is negligible or absent in vitro (Suzuki and Takahashi, 1975a; Roberts and Waller, 1979; Waller *et al.*, 1981, 1983). To confirm that the two consecutive methylations involved in the final step of caffeine biosynthesis are catalyzed by separate enzymes (Baumann *et al.*, 1983) needs further studies using more purified preparations, since those used show similar pH optima and are influenced almost identically by various inhibitors (Suzuki and Takahashi, 1975a; Roberts and Waller, 1979; Waller *et al.*, 1981; Suzuki and Waller, 1988).

The products formed from 7-methylxanthosine were first identified as theobromine (Roberts and Waller 1979), and then D-ribose and 7-methylxanthine when 7-methylxanthosine was incubated with unripe *C/ arabica* fruit extracts; this confirmed the formation of 7-methylxanthine from 7-methylxanthosine through the action of nucleosidase, but not of purine nucleoside phosphorylase (Suzuki and Waller, 1980); however, no further studies on this reaction have been conducted.

Besides the three methylations involved in caffeine biosynthesis, it should be added that the tRNA methyltransferase activity prepared from tea leaves as well as from the roots, which normally contain no purine alkaloids, caused formation of 1-methyladenine as the only methylated base (Suzuki and Takahashi, 1976a,b). Thus this result contradicts the view of involvement of methylation of nucleic acids in caffeine biosynthesis in tea callus cultures, as demonstrated by Ogutuga and Northcote (1970a,b).

The products formed from [2-^{14}C]xanthine were allantoin and urea when [2-^{14}C]-xanthine was incubated with extracts from tea leaves or coffee (*C. arabica*) unripe fruits and callus cultures (Suzuki and Takahashi, 1975a; Waller *et al.*, 1981, 1983). similarly, xanthine and allantoin were obtained by incubation with [8^{14}C]hypoxanthine (Suzuki and Takahashi, 1975a). These results suggest the presence of purine-degradative enzyme activities such as xanthine oxidase in such preparations.

Biodegradation and Biotransformation of Purine Alkaloids

Although caffeine may still be regarded, at least in short-term experiments, as the inert end product of a long biosynthetic pathway, recent studies concerning caffeine metabolism in coffee and tea plants have shown that it undergoes a variety of metabolic changes, and that the metabolism is closely associated with plant grown, including development of leaves and fruits.

Biodegradation of caffeine to xanthine, which is further metabolized by the purine degradation pathway via uric acid, was first shown to occur in *C. arabica* leaves (Kalberer, 1964, 1965), but theophylline and theobromine have been identified as the first degradation products in immature and mature *C. arabica* fruits recently (Suzuki and Waller, 1984a, b. Scheme 2). For [8-^{14}C]theophylline, the biodegradation products are 3-methtlxanthine (13), allantoin (14), allantoic acid (15), urea (16), and an unknown compounds, but no 1-methylxanthine (Suzuki and Waller, 1984a,b; de Romero and Waller, 1988). Further, it has been postulated that the appearance of theophylline in the pericarp of ripe fruit is probably due to a slowdown of theophylline catabolism at the mature fruit stage (Suzuki and Waller, 1984b, 1985a).

Three methyluric acids, 1,3,7,9-tetramethyluric acid (7), 0^2,1,9-trimethyluric acid (8) and 0^2,1,7,9-tetramethyluric acid (9) (See Fig. 1); have been identified as the products of caffeine metabolism in leaves of *Coffea* plants such as *C. liberica, C. dewevrei,* and *C. abeokutae* (Wanner *et al.*, 1975;; Petermann *et al.*, 1977; Petermann and Baumann, 1983). In these species, the young plant accumulating caffeine (6) transforms theobromine (4), but at later stages of growth caffeine is gradually replaced by 1,3,7,9-tetramethyluric acid and

then by 0^2,1,9-trimethyluric acid; 0^2,1,7,9-tetramethyluric acid is presumably the direct precursor of 0^2,1,9-trimethyluric acid (Petermann and Baumann, 1983; Baumann, 1986).

In tea leaves, caffeine has a metabolic half-life of not longer than a few months (Spedding and Wilson, 1964), and transformation of the N^1-methyl group of caffeine to CO_2 takes place only slowly (Suzuki and Waller, 1985b). However, it should be noted that notable seasonal variations of the levels of caffeine (plus theobromine(in tea leaves have been reported (Cloughley, 1982; Suzuki and Waller, 1986a). For example, the alkaloids decrease markedly in August and in October and November in Japan (Fig. 3), while total nitrogen increases appreciably in November and December. These results suggest metabolism and/or translocation of the alkaloids in autumn, which remain(s) to be further characterized, and the absence of any role for them in the storage of nitrogen in winter (Suzuki and Waller, 1986a).

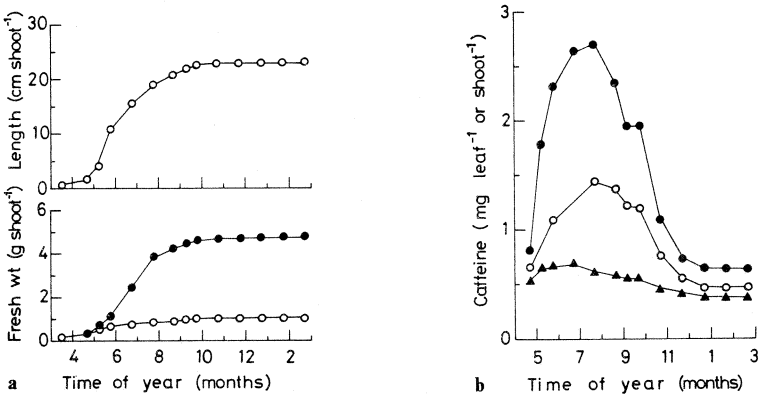


Fig. 3. **a** Lengths and fresh weights of the stem (○) and leaves (●) of new shoots of tea throughout the year. (Suzuki and Waller 1986a). **b** Amounts of caffeine in stems (○) and leaves (●) of new shoots, and older leaves of 1-year-old stems (▲) of tea throughout the year. (Suzuki and Waller 1986a)

Caffeine Metabolism in In-Vitro Plant Culture

Plant tissue and cell cultures are also suitable systems for studying the metabolism of certain secondary products such as caffeine and other methylxanthines. With the use of tea callus cultures, caffeine formation was first reported by Ogutuga and Northcote (1970b), and then by Tsushida and Doi (1984). Using in vitro coffee cultures, Keller *et al.*, (1972) made the first report on caffeine production. Since then, a number of similar reports have been appeared (for example, see Waller *et al.*, 1983; Baumann, 1986; Baumann and Frischknecht, 1987). As a rule, caffeine is formed by these *C. arabica* cultures in amounts as high as in the plant (Baumann and Frischknecht, 1982; Waller *et al.*, 1983), and possibly by the same biosynthetic pathway as in the plant (Baumann *et al.*, 1983; Waller *et al.*, 1983; Scheme 2). However, that theophylline and paraxanthine, which are present in the plants only in minute quantities, are often found in vitro cultures appears to be due to disorder of secondary metabolism as compared with that in intact plants (Suzuki and Waller, 1982) or related to a high catabolic capacity toward caffeine (Baumann and Frischknecht, 1982).

That purine alkaloids in plants have ecological significance e.g., by influencing the interrelation between organisms or by improving adaptation to unfavorable environmental conditions, leads to the idea of introducing stress into in vitro cultures with the aim of improving the production of purine alkaloids. Stress-producing agents such as high light intensity and, depending on the culture type, high NaCl concentration were shown to stimulate caffeine production in *C. arabica* suspension culture (Frischknecht and Baumann, 1985; Baumann and Frischknecht, 1987).

The potential of biotechnology for the growth and manufacture of coffee, relating to the production and metabolism of purine alkaloids, has been described by Baumann (1986).

Translocation, Accumulation and Other Aspects

In *C.arabica* caffeine is synthesized in the pericarp, transported to the seeds, and accumulated there during fruit development, and even transport from leaf to leaf has been demonstrated by application of doubly labeled caffeine (Baumann and Wanner, 1972). Biodegradation of caffeine is also considered to occur primarily in the pericarp of *C. arabica* fruit (Suzuki and Waller, 1985a, Table 1). In contrast, the caffeine found in the flower and dry fruit (pericarp and seed coats) of tea is primarily that synthesized and accumulated in these tissues, which also contain important amounts of theobromine, during their development (Suzuki, 1985a; Suzuki and Waller, 1985a). However, very little is known about cellular aspects of metabolism and storage of purine alkaloids in these plant tissues.

Table 1

Distribution of Caffeine (Cf), Theobromine (Tb), and Theophylline (Tp) between Seed and Pericarp of *Coffea arabica* fruits at different stages of development in 1980

		Seeds (per fruit)				Pericarp (per fruit)			
Age (weeks)	Colour of fruit epidermis	Fresh weight (mg)	Cf	Tb	Tp	Fresh weight (mg)	Cf	Tb	Tp
			(μg)				(μ)		
16	Green	600±110	1810±260	20±3	0	870±150	760±105	10±2	0
24	Red	580±100	2320±290	25±5	0	1180±230	840±120	10±2	15±3
28–32	Brown-black	560±100	2180±270	30±5	0	860±140	560±100	15±3	30±5

Data are means±s.e. of 10 samples.

The physiological significance as well as ecological function of purine alkaloid formation should be examined in individual plants, because patterns of the metabolism and accumulation differ even within the plant, within the particular tissue. In tea leaves, as described already, caffeine is involved in active metabolism and accumulation and/or transport (see Section on biodegradation and biotransformation and Fig. 3), and its biosynthetic pathway does not replace purine degradation pathway via uric acid (Scheme 2). However, in shed flowers (petals and stamens) and dry fruit (pericarp and fruit stalk) of tea after flowering and ripening there are considerable amounts of caffeine, indicating that caffeine is an inert end product in these tissues. The purine alkaloids in the seed coats of tea seeds have no nutritive function as nitrogen reserves, but are phytotoxic and autotoxic, i.e., inhibit growth of germinating tea seedlings. Thus the coat of tea, which is more highly developed than that of coffee, functions as a good reservoir of the toxic alkaloids, thereby preventing autotoxic hazards from becoming effective during fruit development (seed formation) as well as germination (Suzuki and Waller, 1986c, 1987a,b). Similar autotoxic reactions of coffee seeds during germination and their ecological and agricultural significance have been described (Friedman and Waller, 1983a,b, 1985; Waller *et al.*, 1986).

Under natural circumstances, the coffee fruits drop after ripening, and then the seeds germinate and grow. Purine alkaloids in the pericarp and seeds function as potential allelochemicals (for example, see the reports by Friedman and Waller, 1983a,b; Baumann and Gabriel, 1984; and the review by Friedman and Waller 1985). Similarly, ecological roles of the alkaloids in the coffee plant, i.e., ones as possible naturally occurring pesticides and sterilants have been demonstrated (for example, Rizvi *et al.*, 1980; Nathanson, 1984; Frischknecht *et al.*, 1986; Baumann, 1986).

Finally, to repeat: although there is still no decisive discovery of the physiological significance of purine alkaloids in plants, their metabolism should be considered from the viewpoint not only of nitrogen metabolism, such as that of purines and nucleic acis, but also of one-carbon metabolism, including SAM biosynthesis and transmethylation-demethylation reactions (Cossins, 1980; Poulton, 1981).

REFERENCES

Anderson, J. D. 1979. *Plant Physiol.* 63:100-104.

Anderson, L. and Gibbs, M. 1962. *J. Biol. Chem.* 237:1941-1944.

Arnaud, M. J. 1984. Products of metabolism of caffeine. In: Dews P.B. (ed) *Caffeine*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp 3-38.

Ashihara, H. and Kubota, H. 1986. *Physiol. Plant* 68:275-281.

Ashihara, H. and Kubota, H. 1987. *Plant Cell Physiol.* 28:535-539.

Baumann, T. W. 1986. Biotechnology, its potential for the growth and manufacture of coffee. In: *11th Coll. Sci.* 11-15 Feb. 1985, Rome, pp 55-68.

Baumann, T. W., and Frischknecht, P. M. 1982. Biosynthesis and biodegradation of purine alkaloids in tissue cultures. In: Fujiwara, A. (ed) *Plant tissue culture* . 1982. Maruzen, Tokyo, pp 365-366.
Baumann, T. W. and Frischknecht, P. M. 1987. Purines. In: Vasil I.K. (ed) *Cell culture and somatic cell genetics of plants*, Vol. 5. Academic Press, London, New York (in press).
Baumann, T. W. and Gabriel, H. 1984. *Plant Cell Physiol.* 25:1431-1436.
Baumann, T. W. and Wanner, H. 1972. *Planta* 108:11-20.
Baumann, T. W. , Dupont-Looser, E. and Wanner, H. 1978. *Phytochemistry* 17:2075-2076.
Chou, C-H. and Waller, G. R. 1980a. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 21:25-34.
Chou, C-H. and Waller, G. R. 1980b. *J. Chem Ecol.* 6:643-654.
Cloughley, J. B. 1982. *Food Chem.* 9:269-276.
Cloughley, J. B. 1983. *Food Chem.* 10:25-34.
Cossins, E. A. 1980. One-carbon metabolism. In: Stumpf, P. K., Conn, E. E. (eds) *The biochemistry of plants*, Vol 2. Academic Press, London, New York. pp 365-418.
de Romero, I.C.L. and Waller, G. R. 1988. *Rev. Latinoamer Quim.* 19:46-50.
Dews, P. B. (ed) 1984. Caffeine. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
Eijk, J. L. van. 1952. *Pharm. Weekbl.* 87:425-432.
Friedman, J. and Waller, G. R. 1983a. *J. Chem. Ecol.* 9:1099-1106.
Friedman, J. and Waller, G. R. 1983b. *J. Chem. Ecol.* 9:1107-1117.
Friedman, J. and Waller, G. R. 1985. *Trends Biochem. Sci.* 10:47-50.
Frischknecht, P. M. and Baumann, T. W. 1985. *Phytochemistry* 24:2255-2257.
Frischknecht, P. M., Eller, B. M., and Baumann, T. W. *Planta* 156:295-301.
Frischknecht, P. M., Ulmer-Dufek, J. and Baumann, T. W. 1986. *Phytochemistry* 25:613-616.
Inoue, T. and Adachi, F. 1962. III. *J. Pharm. Soc. Jpn.* 10:1212-1214.
Kalberer, P. 1964. *Ber Schweiz. Bot. Ges.* 74:62-107.
Kalberer, P. *Nature* 205:597-598.
Kappeler, A. W. and Baumann, T. W. 1986. In: *11th Coll. Sci. Int. Sur. le Café.* 11-15 Feb 1985, Rome, pp 273-279.
Keller, H., Wanner, H., Baumann, T. W. 1972. *Planta* 108:339-350.
Kihlman, B. A. 1977. Caffeine and chromosomes. Elsevier, Amsterdam.
Konishi, S., Inoue, T. and Takahashi, E. 1972a. *Plant Cell Physiol.*13:695-702.
Konishi, S., Ozasa, M. and Takahashi, E. 1972b. *Plant Cell Physiol.*13:365-375.
Looser, E., Baumann, T. W. and Winner, H. 1974. *Phytochemistry* 13:2515-2518.
Nathanson, J. A. 1984. *Science* 226:184-187.
Negishi, O., Ozawa, T. and Imagawa, H. 1985a. *Agric. Biol. Chem.* 49:251-253.
Negishi, O., Ozawa, T. and Imagawa, H. 1985b. *Agric. Biol. Chem.* 49:887-890..
Negishi, O., Ozawa, T. and Imagawa, H. 1985c. *Agric. Biol. Chem.* 49:2221-2222.
Nobusawa, E. and Ashihara, H. 1983. *Int. J. Biochem.* 15:1059-1065.
Ogutuga, D. B. A. and Northcote, D. H. 1970a. *Biochem. J.* 117:715-720.
Ogutuga, D. B. A. and Northcote, D. H. 1970b. *J. Exp Bot.* 21:258-273.
Petermann, J. B. and Baumann, T. W., 1983. *Plant Physiol.* 73:961-964.
Petermann, J. B., Baumann, T. W. and Wanner, H. 1977. *Phytochemistry* 16:620-621.
Poulton, J. E. 1981. Transmethylation and demethylation reactions in the metabolism of secondary plant products. In: Stumpf, P. K. and Conn, E. E. (eds) *The biochemistry of plants*, Vol. 7, Academic Press, London, New York, pp 667-723.
Proiser (Preusser), p. and Serenkov, G. P. 1963. On caffeine biosynthesis in tea leaves. *Biokhimiya* **28:857-861**. (in Russian with English summary).
Rizvi, S. J. H., Padney, S. K., Mukerji, D. and Mathus, S. N. 1980. *Z Angew. Entomol.* 90:378-380.
Roberts, M. F. and Waller, G. R. 1979. *Phytochemistry* 18:451-455.
Ross, C. W. 1981. Biosynthesis of nucleotides. In: Stumpf, P. K. and Conn, E. E. (eds) *The biochemistry of plants*, Vol. 6. Academic Press, London, New York, pp 169-205.
Schlee, D. 1973. *Biol. Rundsch* 11:285-296.
Schlee, D. 1985. Alkaloids derived from purine. In: Mothes, K. and Schutte, H. R. (eds) *Biochemistry of Alkaloids*. VEB, Berlin, pp 338-350.
Spedding, D. J. and Wilson A. T. 1964. *Nature* 204:73.
Suzuki, T. 1972. *FEBS Lett.* 24:18-20.
Suzuki, T. 1973. *Biochem. J.* 132:753-763.
Suzuki, T. 1985a. *Agric. Biol. Chem.* 49:2803-2805.
Suzuki, T. 1985b. *Seikagaku* 57:1277-1282 (in Japanese).
Suzuki, T. and Takahashi, E. 1975a. *Biochem J.* 146:87-96.
Suzuki, T. and Takahashi, E. 1975b. *Biochem.J.* 146:79-85.
Suzuki, T. and Takahashi, E. 1976a. *Biochem. J.* 160:171-179.
Suzuki, T. and Takahashi, E. 1976b. *Biochem. J.* 160:181-184.
Suzuki, T. and Takahashi, E. 1976c. *Phytochemistry* 15:1235-1239.
Suzuki, T. and Takahashi, E. 1977. *Drug Metab. Rev.* 6:213-242.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1980. Cell free metabolism of caffeine in *Coffea arabica.* In 23rd West Cent States Biochem. Conf., 10-11 Oct. 1980, Columbia, Abstr. 53.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1982. Metabolism of caffeine in sterile callus tissue cultures of *Coffea arabica.* In: Fujiweara, A. (ed) *Plant tissue culture* 1982. Maruzen, Tokyo, pp 385-386.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1984a. *J. Sci Food Agric.* 35:66-70.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1984b. *J. Agric. Food Chem.* 32:845-848.

Suzuki, T. and Waller, G. R. 1985a. *Ann. Bot.* 56:537-542.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1985b.Purine nucleotide compartmentation and caffeine biosynthesis in *Camellia snensis* L. and *Coffea arabica* L. In: 13th Int. Congr. Biochem., 25-30 Aug. 1985, Amsterdam, p 537.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1985c. *Plant Cell Physiol.* 26:765-768.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1986a. *J. Sci. Food Agric.* 37:862-866.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1986b. *Jpn. J. Soil Sci Plant Nutrit.* 57:70-72 (in Japanese)
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1987a. *Plant Soil* 98:131-136.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1987b. Purine alkaloids in tea seeds during germination. In: Waller, G. R. (ed) *Allelochemicals: role in agriculture and forestry*. ACS Symp. Ser. 330, pp 289-204.
Suzuki, T. and Waller, G. R. 1988. Metabolism and analysis of caffeine and other methylxanthines in coffee, tea, cola, guarna and cacao. In: Analysis of Nonalcoholic Beverages, *Modern Methods of Plant Analysis*, New Series, Vol. 81, Linskens, H. F. and Jackson, J. F., Springer-Verlag, New York, NY, pp, 183-220.
Takino, Y., Imagawa, H. and Shishido, K. 1972. *J. Food Sci. Technol.* 19:213-218 (in Japanese with English summary).
Tsushida, T. and Doi, Y. 1984. *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* 58:1131-1133 (in Japanese with English summary).
Waller, G. R. and Dermer, O. C. 1981. Enzymology of alkaloid metabolism in plants and microorganisms. In: Stumpf, P. K. and Conn, E. E. (eds) *The biochemistry of plants*, Vol. 7. Academic Press, London, New York, pp 317-402.
Waller, G. R. and Nowacki, E. K. 1978. Metabolic (catabolic) modifications of alkaloids by plants. In: *Alkaloid biologyand metabolism in plants*. Plenum, New York, pp 183-249.
Waller, G. R., Suzuki, T. and Roberts, M. F. 1981. Cell-free metabolism of caffeine in *Coffea arabica*. In: 9th Coll. Sci. Int. Sur le Café. 16-20 June 1980, London, pp 627-635.
Waller, G. R., MacVean, C. D. and Suzuki, T. 1983. *Plant Cell Rep.* 2:109-112.
Wanner, H., Pesakova, M., Baumann, T. W., Charubala, R., Guggisberg, A., Hesse, M., Schmid, H. 1975. *Phytochemistry* 14:747-750.
Waternack, C. 1982. Metabolism of phrimidines and purines. In: Pirson, A., Zimmermann, M. H. (eds) *Encyclopedia of plant physiology*, New Series, Vol. 14B. Springer, Berlin, Heidelberg, New York, pp 263-301.

SUMMARY

Although the presence of purine alkaloids in leaves, flowers, fruits and/or seeds of plants (e.g., coffee, tea, cola, guarana and cacao) has now been established, little is known about the localization of the alkaloids within a particular tissue, or within a specific organelle. Such subcellular aspects regarding the biosynthesis and accumulation of the alkaloids as well as the regulating mechanisms also remain obscure, although the overall pathways of purine alkaloid metabolism (anabolism and catabolism) in tea and coffee plants are now elucidated. In other plants (i.e., cocoa, cola and guarana), very little is known even about the metabolic pathways. Although purine metabolism in plants essentially resembles that in microorganisms and animals, its regulatory mechanism in caffeine-containing plants would be expected to differ from that in other organisms. Thus, such plants appear to be particularly attractive systems for the biochemist (especially the plant biochemist) studying the basic features of purine metabolism (as well as possibly C_1 metabolism) and its regulating mechanisms. Similarly, not only -methyltransferases and a nucleosidase involved in caffeine biosynthesis (which have been studies only with partial purified enzyme preparations) but also *N*- and *O*-demethylases involved in caffeine biodegradation or methyluric acid biosynthesis are fascinating enzymes to be characterized. Further, the great majority of caffeine-containing plants have in common that they grow in tropical or subtropical countries; notable exceptions are tea (which also grows in the temperate zone, as in China and Japan) and the common stork's-bill, *Erodium cicutarium* (which in Europe grows as far north as the Scandinavian countries and contains a small amount of caffeine) (van Eijk, 1952). Seasonal variations of the levels of purine alkaloids in tea plants grown in Japan are now known. Factors influencing caffeine metabolism and accumulation and the mechanisms thereof are interesting subjects to be studies by the plant scientist (especially physiologist) or agriculturist. From these studies, we expect that the physiological significance or role of purine alkaloids in plants will become clearer.

RESUMEN

Se ha establecido que las plantas contienen alcaloides púricos en las hojas, flores, frutos y/o semillas, sin embargo, se sabe poco a cerca de su localización dentro de un tejido particular o un organelo específico. Se desconocen aun aspectos subcelulares concernientes a la biosíntesis, acumulación y mecanismos de regulación de los alcaloides, aunque en plantas de café y té, ya se conocen las vías metabólicas generales de los alcaloides púricos (anabolismo y catabolismo), pero en otras plantas (cocoa, cola y guarana), se sabe muy poco aun de estas vías metabólicas. No obstante que el metabolismo de las purinas en plantas es similar al de los microorganismos y animales, se podría esperar que el mecanismo regulador en plantas que contienen cafeína sea diferente al de otros organismos. Estas plantas son sistemas particularmente interesantes para los bioquímicos (especialmente bioquímicos vegetales) dedicados al estudio de las principales características del metabolismo de las purinas (así como del metabolismo C_1). Otras enzimas como la N- y O-dimetilasa involucrada en la biodegradación de la cafeína o en la biosíntesis del ácido metilurico son importantes de ser caracterizadas y no unicamente enzimas como las metiltransferasas y una nucleosidasa involucradas en la biosíntesis de la cafeína

(las cuales solo han sido estudiadas en preparaciones parcialmente purificadas). Un aspecto en comun de las plantas que contienen cafeina es que la gran mayoria crece en regiones tropicales y subtropicales, con exepciones como la planta del té (la cual crece en regiones templadas como Japón y la India) o el geranio comun *Erodium cicutarium* (el cual crece en el norte de Europa como en los paises Nórdicos) que contiene pequeñas cantidades de cafeína (van Eijk, 1952). Ya se conocen las variaciones estacionales de los niveles de alcaloides púricos en plantas de té que crecen en Japón. Son objeto de estudio interesante para los científicos vegetales (especialmente fisiólogos) y agrónomos los factores que influyen en el metabolismo, acumulación y mecanismos de la cafeína. Con estos estudios se espera contribuir al esclarecimiento de la significancia fisiológica o papel de los alcaloides púricos en las plantas.

Résumé

Métabolisme de la caféine dans le fruit de Coffea arabica L.

Bien que la présence d'alcaloïdes puriques dans les feuilles, fleurs, fruits et/ou graines de végétaux (tels que caféier, théier, colatier, guarana et cacaoyer) soit maintenant établie, on connaît peu de choses sur la localisation des alcaloïdes dans un tissu particulier ou dans un organite spécifique. Des aspects subcellulaires ayant trait à la biosynthèse et à l'accumulation d'alcaloïdes aussi bien qu'aux mécanismes de régulation demeurent obscurs, bien que les voies générales du métabolisme de l'alcaloïde purique (anabolisme et catabolisme) aient maintenant été établies dans le théier et le caféier. Pour d'autres plantes (p.ex. cacaoyer, colatier et guarana) on sait très peu de choses sur les voies métaboliques. Bien que le métabolisme des purines dans les végétaux ressemble essentiellement à celui dans les microorganismes et les animaux, on peut supposer que son mécanisme régulatoire dans les végétaux contenant de la caféine diffère de celui dans d'autres organismes. Ainsi de telles plantes constituent des systèmes particulièrement attractifs pour les biochimistes (spécialement ceux concernés par les végétaux) qui étudient les caractéristiques fondamentales du métabolisme des purines (de même éventuellement que le métabolisme C$_1$) et ses mécanismes de régulation. De même, non seulement les méthyltransférases et une nucléosidase impliquées dans la biosynthèse de la caféine (étudiées seulement sur des préparations enzymatiques partiellement purifiées), mais aussi les N- et O-déméthylases qui interviennent dans la biodégradation de la caféine ou la biosynthèse de l'acide urique sont des enzymes fascinantes à caractériser. En outre, la grande majorité des végétaux contenant de la caféine ont ceci en commun qu'ils poussent dans des régions tropicales et subtropicales ; des exceptions à noter, le théier (qui se développe également en zone tempérée, comme en Chine et au Japon) et le bec-de-grue commun, Erodium cicutarium (qui en Europe croît aussi loin au nord que les pays scandinaves et contient une petite quantité de caféine) (van Eijk, 1952). On connait maintenant des variations saisonnières des niveaux d'alcaloïdes puriques dans les théiers cultivés au Japon. Les facteurs influençant le métabolisme et l'accumulation de caféine et leurs mécanismes sont des sujets d'étude intéressants pour le spécialiste des végétaux (surtout le physiologiste) ou l'agriculteur. Nous espérons que ces études clarifieront le rôle et l'importance physiologique des alcaloïdes puriques dans les végétaux.

A PROBLEM IN COFFEE PLANTATIONS: AUTOTOXICITY OF CAFFEINE AND OTHER COMPOUNDS

G. R. WALLER *, A. L. ANAYA-LANG **, L. SAGRERO-NIEVES ***,
A. B. CELIS OCHOA CORDERO ****, D. KUMARI *, J. FRIEDMAN *,
N. FRIEDMAN *, CHANG-HUNG CHOU *

* Department of Biochemistry, Oklahoma State University, Oklahoma Agricultural Experiment Station, Stillwater, Oklahoma, USA.
** Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autonoma de México, Mexico City, México.
*** Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México.
**** Instituto Mexicano del Café, Xalapa, Veracruz, México.

INTRODUCTION

Coffee plantations are managed in different ways, ranging from intensive cultivation to maintenance as natural forest like ecosystems, but little or no attention has been given to adjusting their management for the allelopathic effects that are produced by secondary metabolites such as caffeine (Fig. 1) (Waller *et al.*, 1988). Caffeine is present to the greatest extent in fruits (1.5 ± 0.3%) in *Coffea arabica*, the plant from which most commercial coffee is made. Other compounds present (Chou and Waller, 1980a,b), such as theophylline, theobromine, paraxanthine (Fig. 1); scopoletin, and caffeic, coumaric, ferulic, *p*-hydroxybenzoic, vanillic, and chlorogenic acids, are all known as allelochemicals.

	Trivial name	R^1	R^3	R^7
Xanthine		H	H	H
1,3-Dimethylxanthine	Theophylline	CH_3	CH_3	H
3,7-Dimethylxanthine	Theobromine	H	CH_3	CH_3
1,7-Dimethylxanthine	Paraxanthine	CH_3	H	CH_3
1,3,7-Trimethylxanthine	Caffeine	CH_3	CH_3	CH_3

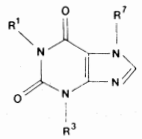


Figure 1. Some Naturally Occurring Methylated Xanthines.

It is important to recognize two aspects, such as allelopathy in (a) the capacity of species and varieties to produce allelochemicals, and (b) production of these by plants during the various stages of the life cycle. The producing and receiving plants may be the same or different species, the receiving plants may be growing intermingled with the producers, or they may be found adjacent to the producers in the same or different location. Coffee plants most often contact allelochemicals as in soil components. The schematic of Fig. 2 illustrates some of the potential field interrelationships and complexities. As caffeine and other allelochemicals move through the environment their quantity, residence time, and biological activity fluctuate widely (Einhellig, 1987; Young, 1988).

The allelopathic effects of *Coffea arabica* trees have been studies by Anaya-Lang and Del Amo (1978), Anaya *et al.* (1978, 1982, 1985), Chou and Waller (1980a,b), Ramos *et al.* (1983), and Friedman and Waller (1983a,b). Anaya's group performed research on coffee plantations in Coatepec, Veracruz, Mexico which are characterized by the presence of shade trees that resemble the deciduous temperate forest, with three well-defined strata: the herbaceous layer, the shrub layer represented by coffee plants, and the tree layer. The main objective of this group was to assess the allelopathic interactions among the species present in this community, in particular the coffee plants. Anaya-Lang *et al.* (1978) reported that aqueous extracts of fresh and dried roots of coffee plants

had an allelopathic effect on weeds associated with coffee plantations. Four varieties of coffee, all *C. arabica*, inhibited the radicle growth of most test weeds, but there were varietal differences (Anaya *et al.*, 1982). Inhibition was also produced by suspension of soils beneath coffee trees.

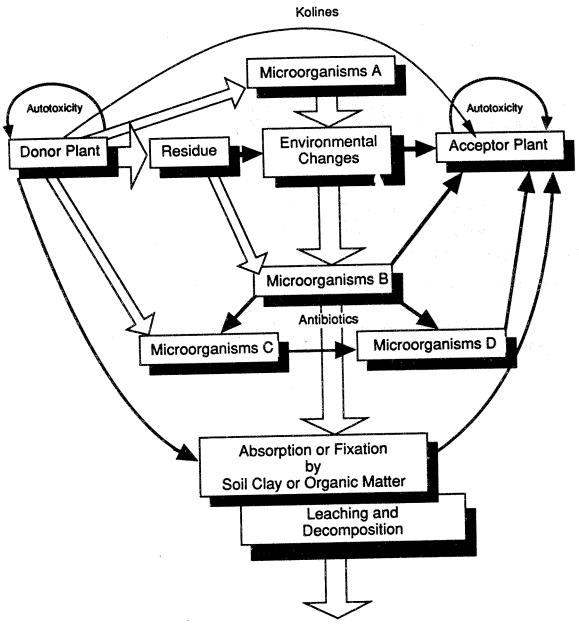


Figure 2. Possible Mode of Allelopathic Action in Coffee Soil and the Coffee Plants (modified after Einhellige, 1987 and Young, 1988).

One of the weed species tested was a member of the Commelinaceae family. The coffee plantations in Coatepec have a sparse to dense ground cover of herbaceous vegetation dominated by Gramineae and Compositae for the sunny plantings and by Commelinaceae in the shade (Fig. 3). Anaya's group (Ramos *et al.*, 1983) reported on leachates from fresh, air-dried, and oven-dried material and litter from some Commelinaceae, collected at different times of the year, which reduced the radicle length of *Brassica campestris, Bidens pilosa,* and *Rumex* sp.

Figure 3. Commelinas Dominating and Covering the Soil in a Shade Coffee Plantation in Coatepec, Veracruz (Courtesy of A. L. Anaya).

The scarcity of weeds around many coffee trees is due at least in part to a slow leaching of caffeine from the tree canopy as well as from litter and lost coffee beans (Fig. 2). Such beans lose their viability after about 6 months and then release the caffeine seven times as fast as viable seeds (Friedman and Waller, 1983b). The coffee and shade tree litter in combination with that from weeds should produce decomposed material to supply the soil with enough toxins to inhibit the germination and growth of various other plant species as well as to be autotoxic to coffee trees.

The emission of inhibitors can occur by leaching, root exudation, volatilization, and decomposition of plants, and inhibition can occur only after uptake of allelochemicals, usually by the roots (Fig. 2). Many allelopathic plants are perennials whose roots may often grow far below the upper soil layer where allelochemicals usually accumulate. However, when such chemicals are released from roots they poison the same or adjacent roots. Root tips are often the susceptible zone;, thus the question arises of what distance between two zones can prevent autotoxic hazards. In coffee, where roots are highly susceptible to caffeine and are also close to the soil surface, the degeneration known to occur in old plantations may be (at least in part) due to autointoxication. The raison d'être for caffeine production in coffee plants is protection against predators, regulations of plant spacing, and suppression of weeds. These probably override the cumulative negative effects of caffeine, though it eventually reduces the life-span of the tree (Friedman and Waller, 1985).

EXPERIMENTAL

Germination and Growth of Coffee Seedlings

Seeds of *C. arabica cv.* Bourbon, 3-6 months after collection, containing 32 ± 3% water (on a dry-weight basis), were obtained from Instituto Mexicano del Café, Xalapa, Mexico. As described by Valio (1976),

endocarp-free seeds were allowed to germinate at 27 ± 0.1°C in darkness. To furnish optimal conditions for germination and early growth, seeds were initially soaked and shaken in 0-20 m*M* aqueous solutions of caffeine, pH 5.2-6.0, for 48 hours at the same temperature and were later washed and set on the margins in the middle of four layers of strips (10 x 50 cm) of Whatman chromatographic paper, 0.3 mm thick. These were rolled and placed in glass tanks (30 x 30 x 10 cm), each with a different solution of caffeine. To avoid gross changes in caffeine concentration by either uptake or evaporation of water, 300 ml of solution per tank were used and the tanks were sealed. In each tank 150 seeds, divided into 3 groups (replicas) of 50 each, were set. The effect of exogenous theophylline (1.3-dimethylxanthine) was also similarly tested. Lengths of rootlet and hypocotyl were periodically measured. Extraction and quantitative evaluation of caffeine were conducted by the method of Chou and Waller (1980b), slightly modified. Caffeine content was determined in each of the five seedlings weekly, and was measured separately for the rootlet, hypocotyl, cotyledons, endosperm, and the germination medium; measurements were conducted during the course of germination, 6 weeks after seed wetting.

Coffee seeds are known to lose viability some months after collection, as already noted. The rate of release of caffeine was determined both in new, viable seeds of coffee (*C. arabica* cv. Bourbon) 3 months after their collection (in Xalapa, Mexico), having 38 ± 4% water (on a dry-weight basis), and showing 87 ± 6% germination during 10 days, as well as in one-year-old dead seeds of the same variety and origin with 18 ± 8% water on a dry-weight basis. Seeds of both types contained 0.8% caffeine. Twenty-five seeds of each type were immersed in 50 ml of glass-distilled water, then the mixture was shaken for 24 hours at 27 ± 0.5°C. The leachate was replaced by distilled water every 24 hours for a period of 12 days, and the caffeine content of extracts was determined according to a slightly modified method of Chou and Waller (1980b).

The effect of caffeine on cell division was followed in cells of root tips of *C. arabica* L. cv. Bourbon seedlings. These were allowed to develop on filter paper in distilled water for 4 weeks at 27°C in darkness, and then were placed on filter paper immersed in 10 m*M* caffeine in a tightly covered glass tank (30 x 30 x 9 cm). Root tips were removed, fixed, and prepared for microscopic examination by Warmake's method (Warmake, 1935) with some modification.

Caffeine Addition to Coffee Seedlings

Seedlings 6 weeks old, initially grown in distilled water in the darkness, were transferred into caffeine solutions (0, 10, 20, 30, 40, and 50 m*M*) and set on top of rolled filter paper 15 cm long. These rolls were placed in sealed glass tanks (20 x 20 x 8 cm) with their lower part (1 cm) dipping into one of the various caffeine solutions. Rootlets were aerated by this method. Tanks with the seedlings were kept in darkness at 27°C for another 20 days and caffeine was determined separately for the roots and the shoots (hypocotyl and cotyledons).

Recovery of Caffeine from Coffee Soils from Mexican Plantations

Soil samples were randomly collected in coffee plantations near Xalapa at various depths (0-10, 11-20, 21-30, and 31-40 cm), some near the base of the tree under the canopy and others about 1 m apart around the circumference of this canopy. Samples were collected from several locations, including coffee plantations that had trees aged 6, 25, 40, and 75 years. Samples were air-dried and passed through a sieve (2 x 2 mm) to remove pebbles and fragments of coffee tree roots. The methods used to determine caffeine are the standard ones employed in this laboratory (Waller *et al.*, 1983); they involve reflux with 0.012 N H_2SO_4, extraction with chloroform, TLC, spectrometric determination of quantity, and finally confirmation of identity by mass spectrometry. A modification of the method proposed by Lailach et al. (1968) and Wang (personal communication, 1982), which employed 10% hydrochloric-hydrofluoric acid (5% HCl and 5% HF) instead of the H_2SO_4, was also used. Both of these techniques were adopted for analysis of the soil from the base of a 25-year-old tree and immediately outside the canopy (1 m away). The HCl/HF method was only partially successful in breaking the binding of caffeine in the soil.

RESULTS

The data on the allelopathic constituents of *Coffea arabica*, that made use of caffeine, theobromine, theophylline scopoletin and other phenolic acids using lettuce, rye grass and fescue was shown by Waller and Chou, 1980b. Autotoxicity of caffeine by *Coffea arabica* followed several years later (Friedman and Waller, 1983a).

Coffee Seeds as an Allelopathic Agent

Since the soil surrounding coffee trees contains a bank of seeds of various ages, Friedman and Waller (1983b) studied the effect of seed senescence on the rate of emanation of germination inhibitors. The available data had

shown that leakage of ionic solutes from germinating seeds increases with seed age, thereby increasing the electrical conductivity of the medium (Harman and Granett, 1972; Parish and Leopold, 1978). Young, viable seeds often reabsorb sugars, amino acids, and other metabolites by active uptake (Osborne, 1981), but as senescence progresses, the loss of cytoplasmic solutes is correspondingly greater and the extent of subsequent uptake is lower (Roberts, 1972). Because of these findings, as well as the limited data dealing with the escape of secondary metabolites from seeds, we tested the hypothesis that the escape of a secondary metabolite that also inhibits germination will increase with seed age. Experiments with seed types were replicated five times, as described above. The results on rates of release of caffeine are shown in Fig. 4. The average leakage of caffeine is expressed as a percentage of the amount initially present in the seed. During a period of 24 hours, the viable seeds showed an average rate of caffeine efflux comprising 1.8% of the total caffeine; the average rate of loss from the old, nonviable seeds was more than five times that value.

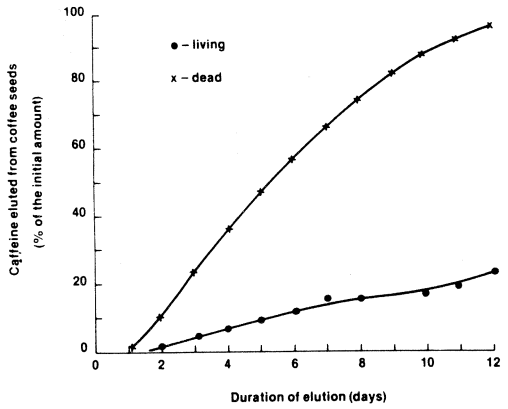


Figure 4. Average Rate of Caffeine Release from Young Viable Seeds (o) and from Old Dead Seeds (x) of Coffee (*Coffea arabica* cv. Bourbon) Shaken in Distilled Water (Friedman and Waller, 183b).

Our incidental observations in coffee plantations in Xalapa, Mexico have established that only a small number of lost, uncollected coffee seeds germinate. Thus we conclude that in nature most of the caffeine in seeds of coffee is discharged into the soil around the tree with 1-2 yr after seed dispersal. Rate of caffeine efflux will surely increase as the last seed crop ages. Hence, if the allelopathic potential of seeds is to be properly evaluated, both old nonviable and young seeds in the soil should be considered.

Avoidance of Caffeine Autotoxicity by Coffee Seedlings

Phytotoxins with autotoxic activity are often present in the outer parts of seeds or diaspores. If these toxins are not sufficiently leached out by rainfall or metabolized by soil microflora, they hold germination in check and ensure that this will occur only after the amounts of rainfall are sufficient for the establishment of seedlings (Friedman and Waller, 1983b). Other toxins, however, are stored within the seeds and are difficult to leach; these are natural protectants (e.g., caffeine in *C. arabica and* strychnine in *Strychnos nux vomica*). When either of these compounds is applied exogenously to the seed that stores it, germination is inhibited, even when the concentration of the exogenous inhibitor is much lower than that found endogenously in the imbibed seed (Evenari, 1949). This suggests that such seeds have some means to avoid the effect of their own phytotoxins. Fowden and Lea (1979) describe mechanisms by which plants avoid self-poisoning by their secondary metabolites, especially by nonprotein amino acids.

When seeds of coffee were allowed to germinate in aqueous solutions of caffeine of various concentrations, elongation of hypocotyls was reduced in all cases and growth of rootlets was almost completely inhibited by 10 m*M* caffeine (Fig. 5, Table 1). Root tips darkened and 4-5 days later deteriorated. A similar although milder inhibition was caused by theophylline. Suppression of growth occurred, although the concentration of the endogenous caffeine in the imbibed coffee seeds was 40-60 m*M*. This indicated that embryos of germinating coffee seeds must be able to avoid autotoxic hazards from their endogenous caffeine.

Inhibitors may be sequestered in specific tissues, dead or alive. For example, in the fruit of *Ammi majus* (Bishop's weed, Umbelliferae), 8-methoxypsoralen is stored mainly in the outer dead layers of the fruit (Friedman *et al.*, 1982). Autoinhibition occurs only after the inner fruit shell is pierced, that is, an impenetrable barrier keeps the embryo away from autotoxic agents. Germinating coffee seeds contain an average of 40 m*M* caffeine. However, mitosis in root tips is arrested by 10 m*M* caffeine, in a manner similar to the response of roots of onion [(Kihlman, 1949) (Fig. 6)]. The caffeine of the seeds (1-2% dry weight) is stored within the endosperm and the dormant embryo is nearly devoid of the alkaloid. During the first stages of germination no cell division occurs in the root tip; it starts only after the root tip is pushed outside (1-3 mm away from the caffeine-rich endosperm) as a result of cell expansion and elongation of the hypocotyl. During this stage the cotyledons of the embryo are about

TABLE 1

Growth of rootlet and hypocotyl of 4-week-old seedlings of coffee (*Coffea arabica* L. cv. Bourbon) germinated in various concentrations (5, 10, 20 m*M*) of caffeine or theophylline*

		Concentration (m*M*)		
		5	10	20
Caffeine	Rootlet	72 ± 8	3 ± 2	3 ± 3
	Hypocotyl	152 ± 7	61 ± 19	39 ± 12
Theophylline	Rootlet	59 ± 7	27 ± 4	14 ± 7
	Hypocotyl	158 ± 4	48 ± 1	54 ± 6

Source: Friedman and Waller (1983a).

*Data presented as percentage of growth (length in mm) of the control (distilled water); average of 50 seedlings.

2 mm in diameter and mitosis proceeds until the third week of germination. At the end of this stage caffeine disappears from the endosperm and is accumulated within the cotyledons (Fig. 7) when mitosis is arrested. At the final stage of germination most of the caffeine of the seedling is in cotyledons (85%) and the hypocotyl (13%) with only a small amount in the roots. Studies by Baumann and Gabriel (1984) using sterile conditions did not support the loss of 13% in the hypocotyl, presumably because our system was nonsterile. Caffeine is thought to be sequestered from the sites where mitosis occurs, but how this is effected is not yet known.

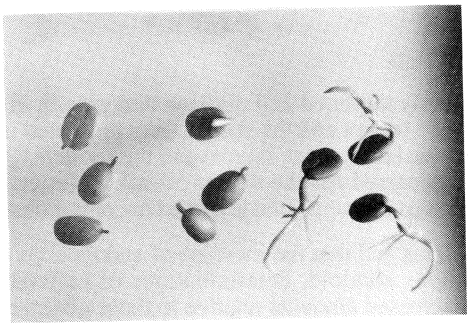


Figure 5. Seedlings of *Coffea arabica* L. cv. Bourbon Germinated in Distilled Water (right) and in 4.25 m*M* (center) and 25 m*M* (left) Caffeine, 3 Weeks after Wetting, in the dark. In all caffeine treated seeds, emergence of the hypocotyl did occur but rootlet growth was arrested (x 2.5 natural size).

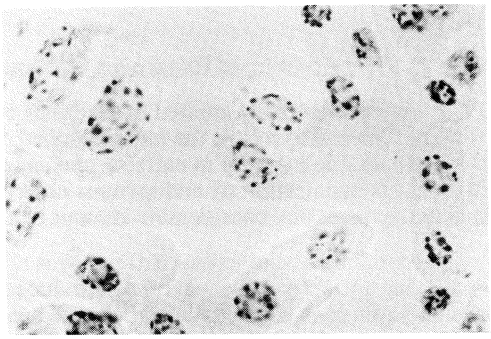


Figure 6. Inhibition of Cell-Plate Formation in Root Tips of Coffee (*Coffea arabica* L. cv. Bourbon Seedlings After Exposure to 10 m*M* Caffeine for 248 Hours (x 1200) (Friedman and Waller, 1983a).

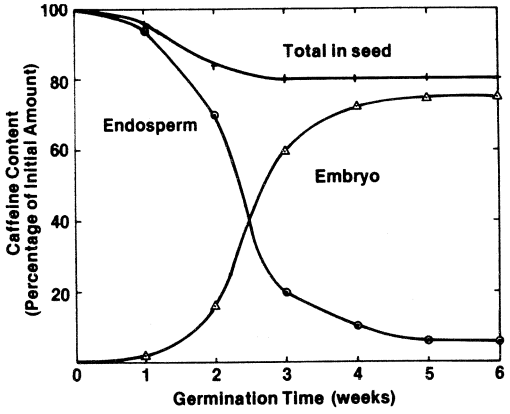


Figure 7. Caffeine Content in the Endosperm and in the Embryo During the Germination of Seeds of Coffee (*Coffea arabica* L. cv. Bourbon) (Friedman and Waller, 1983a).

Despite starvation, caffeine is preserved, which indicates that the alkaloid is not easily utilized either for energy or as a nitrogen source. Uptake of the alkaloid into the cotyledons, despite its potential hazard, suggests that caffeine is an important protective agent for the plant. The nature of the interaction between biochemical molecules and soil matrices depends upon the chemistry of the compounds and the properties of the matrix near the soil surface. Such interaction between plants and soil microorganisms is less complicated but little investigated; the allelochemical effect is governed by the soil environment and climatic conditions, which may vary by geographical regions.

We suggest that caffeine can be incorporated into the nucleic acid chains of DNA and RNA and thus prevent the normal cell division. Lang (1975, 1976) observed a decrease in the T_m of DNA in the presence of 20 μM caffeine or higher concentrations. The destabilizing effect increased with increasing concentrations of caffeine. Since these changes serve as recognition sites for repair endonucleases, their **reversal** by caffeine prevents excision repair (Fig. 8).

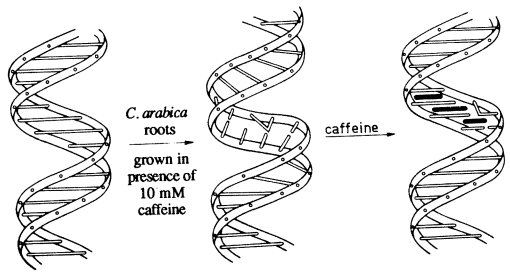


Figure 8. Schematic Representation of Conformation of Root DNA and Its Reversal by Insertion of Caffeine Molecules. Modified from Lang (1975, 1976).

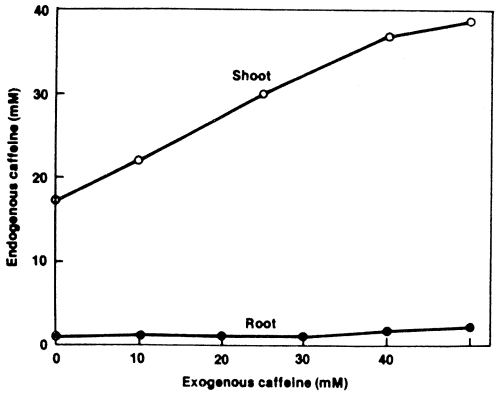


Figure 9. Comparison of Exogenous with Endogenous in *Caffeine arabica* L. cv. Bourbon. Caff determined weekly in each of five seedlings ; rootlet (Friedman and Waller, 1983a).

Uptake and Translocation of Exogenous Caffeine by Coffee Seedlings

Caffeine exogenously applied to seedlings of coffee remarkably inhibited cell division and growth of rootlet, so it was of interest to follow the fate of applied caffeine in both the rootlet and the shoot. Data presented in Fig. 9 show a remarkable increase in caffeine concentration in the shoots, but no such increase in the rootlets. A slight increase in concentration of endogenous caffeine in the roots occurred for the 40- or 50-m*M* solutions and is probably the result of a considerable amount of dead parts of root tips that appeared at these concentrations.

To ascertain that exogenous caffeine was taken up by the plants and that the increase of endogenous caffeine was not due to increased biosynthesis induced by the exogenous alkaloid, determinations of caffeine in the exogenous solutions were conducted. These analyses showed decreased amounts relative to those observed in the seedlings. Also, autoradiograms made of young seedlings after rootlets were immersed in [2-^{14}C] caffeine for 24 hours showed uptake and translocation to all parts of the seedling. It is evident that coffee rootlets can absorb caffeine and that the absorbed alkaloid is translocated into the shoots. This occurs even though such shoots grown in distilled water contain 17-18 m*M* of endogenous caffeine. Accumulation of caffeine in the shoot, against the gradient concentration, could be the plant's means to remove the alkaloid from the susceptible root tip.

Isolation of Caffeine in Soils from Coffee Plantations

The nature of the interaction between biochemical molecules and soil matrices depends upon the chemistry of the compounds and the properties of the matrix near the soil surface. The interaction between plants and soil microorganisms is less complicated but little investigated; the allelochemical effect is governed by the soil environment and climatic conditions, which vary by geographical regions. We had not previously worked with soil before collecting samples in Mexico, around Xalapa, the center of coffee production in that country. To gain an understanding of how the caffeine is bound in the soil, experiments on extracting the alkaloid from it were performed.

Attempts to extract endogenous caffeine by the method used for fruit or seed were not successful when applied to soil (Fig. 10a). However, soil treated with caffeine in varying amounts and then incubated for 24-48 hours at 28°C gave higher recoveries of caffeine from canopy soil than the samples outside the canopy. Treatment of canopy soil with refluxing HF and HCl for 20 minutes gave a recovery of nearly 100% (Fig. 10b). Again, no endogenous caffeine was found by this method, but caffeine should be used to ascertain what the survival of the alkaloid in the Mexican soil may be. It is remarkable that soil from under coffee trees allows complete recovery of added caffeine. An understanding of the differences between the soils from the canopy and outside the canopy is needed. There is a possibility that soil microbes in canopy soil have adapted to metabolizing caffeine, rather than its being tightly bound, but this does not seem likely.

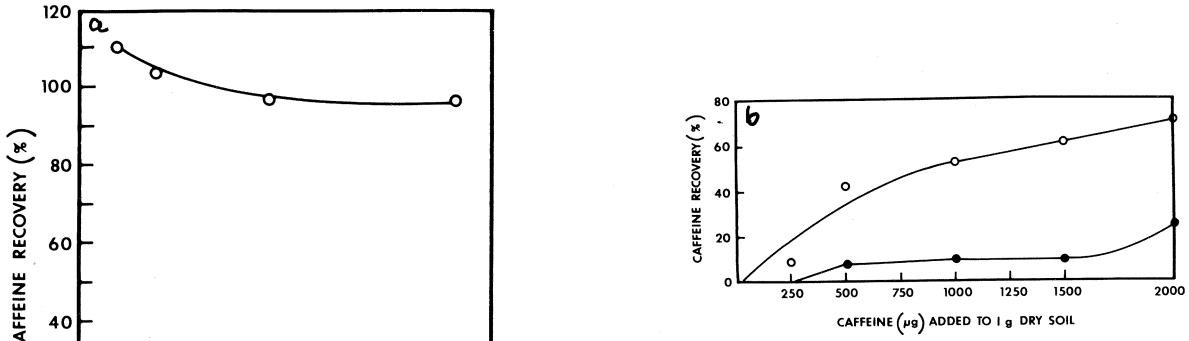


Figure 10. Caffeine Recovery (%) from Soil Samples F Treated with Different Amounts of Caffeine H_2SO_4 method: soil under coffee canopy, - m away from coffee tree, -o-; (b) By HF-HC soil under coffee canopy, -o-; soil 2 m a coffee tree, -o- (Waller *et al.*, 1983).

These preliminary analytical data on the soils suggest that the binding of caffeine is very complicated. They imply that the canopy soil already contains much caffeine while the outside soil is far from being saturated. The term "saturation" refers to the amount of caffeine bound to the soil matrices (by covalent or ionic bonds or sorption) and to humic and fulvic acids. For the sake of simplicity, two different groups of sites that immobilize caffeine can be recognized, those that have a very strong binding capacity (covalent or strong ionic bonding) and those that have a weaker binding capacity (weak ionic and sorption bonding). In canopy soil under old trees the first sites are regarded as saturated with caffeine (and its derivatives), but these alkaloids are not removable by our methods; any added amount of alkaloids is more weakly held on the second group of sites and therefore is recoverable by our extraction. Of course the soil outside the canopy of coffee trees has the same types of sites of bonding. When the added caffeine is so strongly bound (by the first mechanisms proposed) that it is very difficult to remove by the HCl/HF procedure, we can calculate how much caffeine a soil might take up before the second type of binding is reached. This value is approximately 2-4 mg/g. We suggest that this level of caffeine in soil might produce the "tired soil.." It is not clear what level of caffeine should be regarded as producing "tired soil." In fact, most trees are developed from plants that are first grown from seed in nursery beds and transplanted to the field after a year, which has a significant amount of caffeine present in the soil.

REFERENCES

Al Saadawi, I. S., E. L., Rice, and T. K. B. Karns. 1983. *J. Chem. Ecol.* 9:761.

Anaya-Lang, A.L. and S. Del Amo. 1978. *J. Chem. Ecol.*4:289.

Anaya-Lang, A.L., G. Roy-Ocotla, and L. Ortiz-Ortega. 1978. *2nd Int. Congr. Ecol. Jerusalem, Israel,* September 10-16. p. 8 (abstract).

Anaya, A. L., G. Roy-Ocotla, L. M. Ortiz, and L. Ramos. 1982. In E. Jimenez Avila and A. Gomez-Pompa (eds.), *Estudios Ecologicos en el Agroecosistema Cafetalero.* Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bioticos, Xalapa, Veracruz, Cid Editorial Continental, S. A., Mexico D. F., pp. 83-92.

Anaya, A. L., L. Ramos, J. G. Hernandez, and R. Cruz. 1985. *Abstracts, 190th Am. Chem. Soc. Mtg.* September 9-14, Chicago IL AGFD-200.

Baumann, T. W. and H. Gabriel. 1984. *Plant Cell Physiol.* 25:1431.

Chou, C. H. and G. R. Waller. 1980a. *J. Chem. Ecol.* 6:643.

Chou, C. H. and G. R. Waller. 1980b. *Bot. Bull. Acad. Sinica*21:25.

Epifanio, J. A. 1981. *Ecologia del Agroecosistema Cafetalero.* Ph.D. Thesis. Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico. 166 pp.

Evenari, M. 1949. *Bot. Rev.* 15:153.

Einhellig, F. A. 1987. Effects of allelopathic chemicals on crop productivity. In "Bioregulators for Pest Control". (Hedin, P. A., Cutler, H. G., Hammock, B. D., Henn, J. J., Moreland, D. E., and Plimmer, J. D. Eds); ACS Symposium Series 276, American Chemical Society, Washington DC, pp. 109-130.

Fowden, L. and P. J. Lea. 1979. In G. A. Rosenthal and D. H. Janzen (eds.), *Herbivores. Their Interaction with Secondary Plant Metabolites.* Academic, New York, pp. 135-160.

Friedman, J., E. Rushkin, and G. R. Waller. 1982. *J. Chem. Ecol.* 8:55-65.

Friedman, J. and G. R. Waller. 1983a. *J. Chem. Ecol.* 9:1099.

Friedman, J. and G. R. Waller. 1983b. *J. Chem. Ecol.* 9:1107.

Friedman, J. and G. R. Waller. 1985. *Trends Biochem. Sci.* 10:47.
Harman, G. E. and A. L. Granett. 1972. *Physiol. Plant Pathol.* 2:271.
Kihlman, B. A. 1949. *Hereditas* 35:109.
Lang, H. 1975. *Stud. Biophys.* 55:137.
Lang, H. 1976. *Stud. Biophys.* 56:213.
Osborne, D. 1981. In K. V. Thiman (ed.), *Senescence in Plants.* CRC Press, Boca Raton FL. pp. 13-38.
Parish, D. J. and A. C. Leopold. 1978. *Plant Physiol.* 61:365.
Ramos, L., A. L. Anaya, and J. N. Pascual. 1983. *J. Chem. Ecol.* 9:1079.
Roberts, E. H. 1972. *Viability of Seeds.* Chapman and Hall, London.
Valio, I. F. M. 1976. *J. Exp. Bot.* 27:983.
Waller, G. R. and C.-H. Chou. 1980. *ASIC 9th Colloquium*, London, 619-626.
Waller, G. R., J. Friedman, C.-H. Chou, T. Suzuki, and N. Friedman. 1982. In *Proceedings of the Seminar on Allelochemicals and Pheromones,* Monograph 5. Institute of Botany, Academia Sinica, Taipei, ROC, pp. 239-260.
Waller, G. R., D. Kumari, J. Friedman, N. Friedman, and C.-H. Chou. 1986. Caffeine Autotoxicity in *Coffea arabica* L. in *The Science of Allelopathy* (A. R. Putnam and C.-S. Tang, Eds.) John Wiley & Sons, New York NY 243.
Wang, T.S.C., P. T. Hwang, and C.-Y. Chen. 1971. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 35:584.
Warmake, H. E. 1935. *Stain Technol.* 10:101.
Wellman, F. L. 1961. *Coffee: Botany, Cultivation and Utilization.* Interscience Publishers, New York, pp. 345-347.
Young, C.-C. 1988. Personal Communication.

SUMMARY

The results show that autotoxicity caused primarily by caffeine may occur in nature. The growth of coffee seedlings exposed to 10 m*M* caffeine was inhibited in the rootlets, where mitosis and cell plate formation were blocked. Since concentrations of endogenous caffeine in the imbibed seed were 40-60 m*M*, 4-6 times as high as in the seedlings, we conclude that coffee embryos have specific means of avoiding caffeine autotoxicity. Caffeine from Mexican canopy soil indicated that around old coffee trees considerable amounts of caffeine may be released from the tree litter and accumulate in the vicinity of roots over the years. The annual amount of litter (mostly leaves) produced, plus about 10% of lost fruits, in old coffee trees is 150-200 g dry matter/m^2/year (Epifanio, 1981). We reason that this litter may release 1-2 g caffeine/m^2/year, with some additional amounts of other purine alkaloids and compounds. The antimicrobial activity of caffeine may reduce catabolism of the alkaloid in the soil and thus prolong its retention and increase caffeine accumulation. Since most roots of coffee trees develop in the upper soil layer immediately under the tree's own litter, autotoxicity can occur. Soil that is "saturated" with caffeine can also continue building up other naturally occurring compounds from the action of microorganisms. Some of these products are toxic, particularly if formed in relatively high concentrations. This toxicity of allelochemicals may provide an explanation for the worldwide phenomenon of early degeneration of coffee plantations at 10-25 years of age (Wellman, 1961). Caffeine, the compound most associated with the production of coffee, is the factor that allows for survival of coffee plants in a hostile environment, but it may also be responsible for shortening the lives of mature trees.

RESUMEN

Los resultados muestran que la autotoxicidad producida por la cafeína puede ocurrir en la naturaleza. El crecimiento radicular fue inhibido en plantulas de café expuestas a una concentracion de cafeína de 10 mM, observandose que la mitosis y la formación del tabique de separacion fueron inhibidos. Se concluye que los embriones de la planta del café tienen mecanismos específicos para evitar la autotoxicidad por la cafeína, ya que se encontró que la concentración endógena de cafeína en la semilla imbibida fue de 40-60 mM, siendo de 4-6 veces tan alta como en las plántulas. La presencia de cafeína en los suelos de un cafetal mexicano, indicó que abajo de la canopia de los cafetos viejos se liberan de la hojarasca grandes cantidades de cafeína la cual es acumulada en la vecindad de las raíces a través de los años. La produccion anual de hojarasca (principalmente hojas y cerca del 10% de frutos perdidos) en una plantación vieja de café es de 150 a 200 g de materia seca / m^2 / ano (Epifanio, 1981). Esta cantidad de hojarasca puede liberar de 1 a 2 g de cafeína / m^2, con cantidades adicionales de alcaloides y otros compuestos. La actividad antimicrobiana de la cafeína puede reducir el catabolismo de los alcaloides en el suelo prolongando la retención de estos e incrementando la acumulación de cafeína. La autotoxicidad puede ocurrir en los cafetales, ya que las raices del cafeto crece superficialmente abajo de la hojarasca del mismo árbol. En un suelo saturado de cafeína, pueden producirse otros compuestos por la accion de los microorganismos, algunos de estos compuestos pueden ser tóxicos principalmente si son producidos en altas concentraciones. La toxicidad de estos aleloquímicos puede explicar el fenómeno de la degeneración temprana en plantaciones de café de 10-25 años de edad (Wellman, 1961). La cafeína, el compuesto más asociado con la produccion de café, es el factor que permite la sobrevivencia de la planta del café en un medio hostil, pero también puede ser la responsable del acortamiento del periodo de vida de los árboles maduros.

Résumé

Un problème dans les plantations de caféiers : l'autotoxicité de la caféine et d'autres composés.

Les résultats montrent que l'autotoxicité induite primairement par la caféine peut survenir dans la nature ; la croissance de jeunes plants de caféier exposés à 10 mmol de caféine a été inhibée dans les radicelles où mitose et formation de plaque cellulaire étaient bloquées. Les concentrations de caféine endogène dans les grains imbibés étant de 40-60 mmol, c'est-à-dire 4 à 6 fois plus élevées que dans les jeunes plantes, nous en concluons que les embryons possèdent des moyens spécifiques qui empêchent l'autotoxicité de la caféine. La caféine provenant du sol sous la frondaison, prélevé au Mexique, a montré qu'on peut, autour des caféiers âgés, récupérer des quantités considérables de caféine dans la litière des arbres et qu'elle s'accumule au voisinage des racines au cours des années. La quantité annuelle de litière (surtout des feuilles) produite, plus environ 10 % de fruits perdus, est, pour les caféiers âgés, de l'ordre de 150-200 g de matière sèche/m^2/an (Epifanio, 1981). Nous pensons que cette litière peut contenir 1-2 g de caféine/m^2/an et d'autres alcaloïdes puriques et composés. L'activité antimicrobienne de la caféine peut réduire le catabolisme de l'alcaloïde dans le sol, prolongeant ainsi sa rétention et l'accroissement d'accumulation de la caféine. La plupart des racines de caféier se développant dans la couche supérieure du sol, immédiatement sous la propre litière de l'arbre, il peut y avoir autotoxicité. Le sol "saturé" en caféine peut également continuer à former d'autres composés naturels à partir de l'action des microorganismes. Certains de ces produits sont toxiques, surtout s'ils sont formés en concentrations relativement élevées. Cette toxicité d'allèles chimiques peut expliquer le phénomène mondial de la dégénérescence précoce de plantations de caféiers entre 10 et 25 ans (Wellman, 1961). La caféine, composé le plus associé à la production de café, est le facteur qui permet la survie des caféiers dans un environnement hostile, mais elle peut aussi être responsable de la vie écourtée d'arbres adultes.

FACTORS RELATED TO THE FORMATION OF "OVERFERMENTED COFFEE BEANS" DURING THE WET PROCESSING METHOD AND STORAGE OF COFFEE

C. I. LOPEZ *, E. BAUTISTA **, E. MORENO **, E. DENTAN ***

* Scientific Researcher. Special Studies Department, ALMACAFE. A.A. 3938. Bogotá, Colombia.
** Scientific Researcher. Laboratory on Coffee Chemistry, National Federation of Coffee Growers of Colombia. A.A. 3938. Bogotá, Colombia.
*** Director of Electronic Microscopy, Nestlé Research Department. Av. Nestlé 55, CH-1800 Vevey, Switzerland.

INTRODUCTION

Overfermented coffee beans have been associated with characteristics such as: yellow, brown or black color, waxy consistency, silver skin strongly adhered to the surface, invagination or black spot at the embryo site. Whether such beans have one, some or eventually none of the above-mentioned features, a common one is that they all emit a bad smell and alter the beverage's quality through very unpleasant smell and taste (2, 11, 15, 22).

The overfermented coffee beans have been ascribed to causes such as: the presence of Ceratitis capitata larvae in the cherry (9), the storage of the cherry for periods exceeding 24 hours with a sharp temperature increase (11), fermentation for long periods (2, 11, 15) and the drying of well processed beans and/or of whitened beans at temperatures over 45°C (2, 11, 15).

The need to pinpoint the factors leading to this anomally during wet processing method and storage of Colombian Arabica Coffee to take effective measures against it, has led us to this research bearing in mind the following objectives:

- Identify the conditions that allow the defect to develop during processing.
- Determine the role that microorganisms play in its development.
- Identify and quantify the acids produced during overfermentation.
- Estimate de potential contamination capability of fermented coffee on good quality coffee during storage.
- Find out whether or not the defect develops during storage.

MATERIALS AND METHODS

Arabica coffee of the 1988 and 1989 crops from the Cundinamarca and Risaralda regions in Colombia was processed at the farm and/or on a smaller scale at the lab.

CHERRY STORAGE.

Eight kilos of ripe healthy cherries were stored in styrofoam boxes for 24, 50, 69 and 138 hours.

FERMENTATION .

Recently depulped coffee was initially left in fermentation tanks for 19 hours; that is, untill the coffee reached the "washing point". It was subsequently overfermented for 24, 42, 48, 66, 72, 96, 138 and 144 hours. At the Risaralda farms, recently depulped coffee was mixed every 24 hours with the coffee being fermented. Although this practice is not recommended by the Federation, it is occasionally used in the region during low production seasons. Every time the required time was reached, 2 kilogram samples were taken and kept frozen untill they were tested.

STORAGE (9 MONTHS)

20°C y 75% RH. One kilogram samples of properly fermented coffee (19 h) and "overfermented" coffee (144 h) packed in jute bags, which were called "control" and "ferment", respectively, were kept in separate chambers. Both samples were submitted to the cup test to check the beverage's good quality in the first case and the presence of the defect in the second one.

30°C y 80% RH. In addition to storing separate "control" and "ferment" samples packed in jute bags, as previously stated, to assess the potential contaminating capability of "overfermented" coffee during storage, two jute bags, one with "control" and the other with "ferment", were wrapped in paper bags. Thus, besides manteining permeability and contact between "control" and "ferment" coffee, the spreading of contamination to other samples was avoided.

MEASUREMENTS

MICROORGANISMS. To estimate the number and type of microorganisms, the method developed by Lopez (13) was used. Two samples from the same batch were processed and the following populations were ascertained:

-Mesophilic Aerobic Bacteria. Overplating method in standard plate count agar (SPC) was used at a temperature of 37°C. for 48 h.
-Anaerobes. Overplating method in standard plate count (SPC) was used at a temperature of 37°C. for 72 h. in an anaerobic atmosphere.
-Lactic bacteria. Lactic Bacteria in Modified Chalmers Medium by surface spreading at 30°C. for 72h. were selected.
-Moulds and Yeasts. Overplating method in Bengal Rose medium with antibiotic, and incubation at 30°C. were employed. Yeast and mould readings were recorded 48h. and 96h. later, respectively.

SCANNING ELECTRON MICROSCOPY. The methodology described by Dentan (6) was used.

TEMPERATURE. Temperature variations were recorded through a TECHNOTERM 7200 thermometer with a 1.5 m. probe introduced into the beans mass.

pH. Distilled water was added to 20 grams of depulped recently fermented coffee until a volume of 100 ml. was reached. After stirring, the mixture was vacuum filtered twice and the pH of the final filtrate was measured.

CARBOXILIC ACIDS. Samples were prepared in like manner to measure pH and were additionally filtered through a 0.45 micron millipore membrane.
The resulting filtrate was tested by high pressure liquid chromatography, under the following conditions :

Equipment	:	WATERS liquid phase chromatograph.
Mobile Phase	:	0.5% ammonium dibasic phosphate, pH 2.8 (with phosphoric acid).
Column	:	PACK C-18 radial cartridge
Flow	:	1.5 ml/minute
Detector	:	WATERS 481. = 214 nm.
Recording	:	VISTA VARIAN data acquisition system

COLOR. To determine the color of the coffee bean, an AGTROM M 500 A colorimeter was used.

HUMIDITY. Parchment coffee humidity measurements were done according to ISO 6673 standard.

BEVERAGE QUALITY. Beverage quality was evaluated by the eight members of the National Federation of Coffee Growers Lab. taste panel. Each drink was tasted three times grading 12 attributes between positive and negative (aroma intensity, coffee aroma, acidity, astringency, bitterness, sweetish, settled, ferment, strange, unpleasant persistence, equilibrium, overall impression). The presence of ferment taste and odor, defect which was graded from zero (absence of defect) to ten (maximum intensity), was emphasized.

DEFECTS. Parchment and coffee bean defects were selected taking into consideration the color, consistency, odor and invagination at the embryo site as well as characteristics of the silver skin.

RESULTS AND DISCUSSIONS

CHERRY STORAGE

MICROORGANISMS. Aerobic bacteria and yeast populations prevailed in the stored cherry. The number of these populations remained almost constant (in the order of 10^6 cfu per gram of coffee) during the 50 h. of storage. Anaerobic and lactic bacteria increased with time in one or two logarithmic cycles while the number of field moulds varied depending on their resistence to fermentation conditions. See TABLE 1.

TABLE 1. Microbiological populations during storage of coffee cherry (averages of two samples with their replicas).

Cherry Storage (hours)	Mesophylic Aerobic Bac.	Lactic Bacteria	Yeasts	Moulds
			(cfu/gr)	
0	7.63×10^7	1.18×10^5	2.72×10^7	3.85×10^4
6	1.32×10^7	4.00×10^5	6.50×10^6	(-)
24	8.79×10^6	1.03×10^7	3.62×10^6	1.50×10^4
50	5.90×10^7	3.50×10^7	6.90×10^7	(-)

TEMPERATURE. The temperature inside the cherries mass increased from 23°C to 26°C as time went by.

DEFECTS. The coffee obtained from the cherries previously stored during 60, 69 and 148 hours showed stained parchment and silver skin (due to diffusion of the cherry exocarp pigments) and a reddish color which increased with storage time. Furthermore, the bean of the samples stored for 69 and 148 h. whitened sharply.

FERMENT IN THE BEVERAGE. With a maximum temperature of 26°C inside of the cherry mass, the defect in the beverage was detected within 24 h of storage. This temperature is lower than the one reported by (2) who found the defect after the same period of time, but with a minimum temperature of 30°C. The ferment appeared as a "wine-like" flavor in the beverage prepared from cherries stored for 24-50 hours. Later, between 50 and 72 hours it turned into a "vinegar-like" taste and from there on the defect increased up to 140 hours when the beverage acquired an unpleasant rotten or "stinker" taste. See Fig. 1.

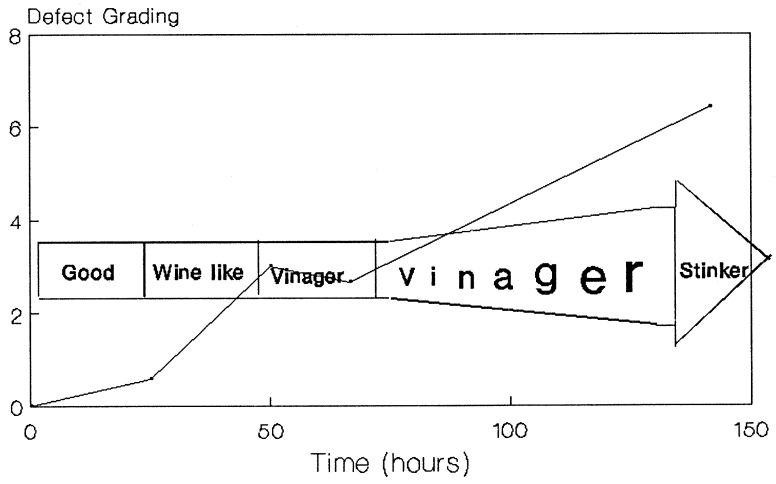


Fig. 1. Ferment in Beverage throughout Coffee Cherry Storage.

FERMENTATION

MICROORGANISMS.

-Aerobic mesophylic bacteria. Their population remained quite constant throughout fermentation time, in the order of 10^8. See Fig.3.

-Anaerobes. Their number ranged between 10^6 and 10^8 cfu/gr.

-Lactic Bacteria. The population of lactic bacteria decreased from 10^7 to 10^1 from the depulping time up to the 40 h. of fermentation and from thereon it gradually increased exceeding the 10^7 cfu/gr at the end of the essay (138 h). See Fig.2.

-Yeasts. These ranged betwen 10^7 cfu/gr and 10^8. See Fig.3.

CARBOXILIC ACIDS. Galacturonic, malic, DL lactic, citric and propionic acids were detected in a decreasing order in washing waters of recently depulped coffee. During normal fermentation their concentration increased and with overfermentation time their concentration decreased.

Formic acid was detected within 95 1/2 h and acetic acid at 20 h of fermentation, times as of which their concentrations began to increase up to 120 h and then decreased. See Fig. 4.

TEMPERATURE. During the first 95 1/2 hours of fermentation, temperature progressively increased from 20°C to 23°C (maximum reached) and subsequently decreased. See Fig. 5.

pH. It decreased with fermentation time up to a minimum of 3,85 which was obtained at 95 1/2 h. Then, between 110 and 140 h. it increased, decreasing again in the final stage. See Fig. 5.

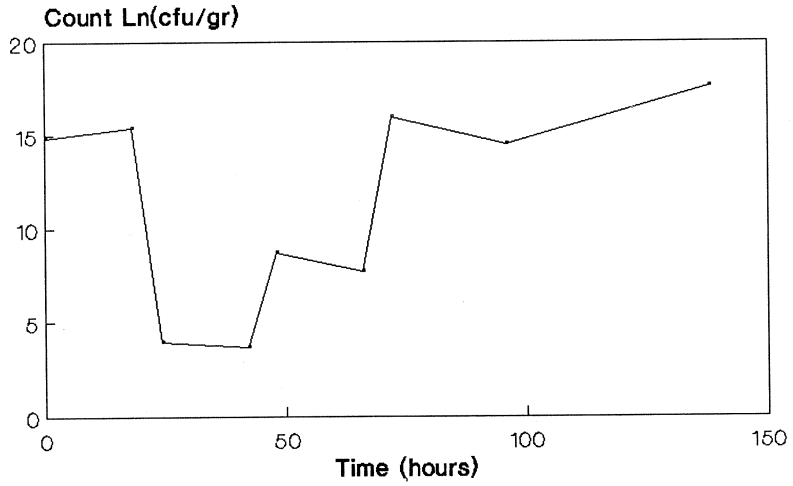


Fig. 2. Lactic Bacteria throughout Fermentation Time.

Fig. 3. Bacteria and Yeasts at Bean Central Slit

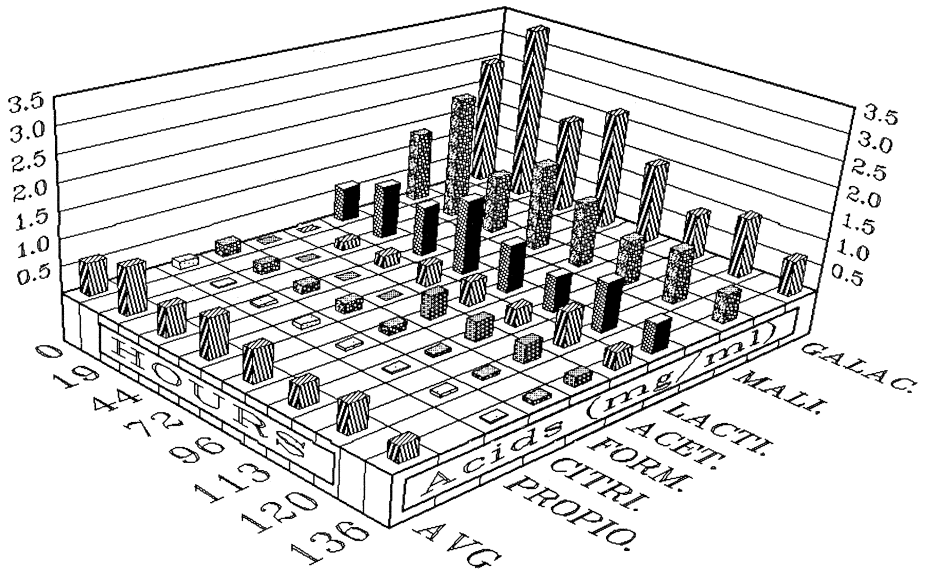


Fig. 4. Acids throughout Fermentation Time

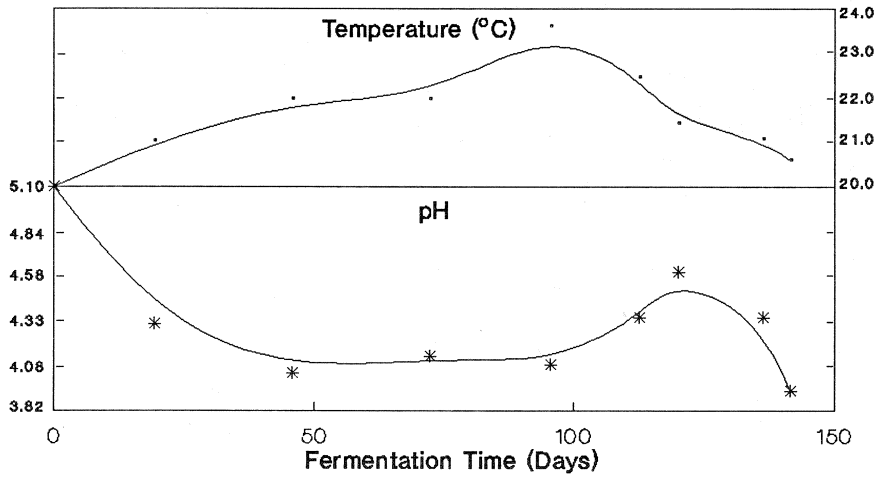


Fig. 5. Temperature and pH Fluctuations throughout Fermentation Time.

BEAN DEFECTS AND BEVERAGE QUALITY. The first defects detected in overfermented coffee beans were: cuticulate and partial vinegar, then the beans began to show invagination at the embryo site and then a black spot in the invagination and decoloration with black spot. The ratio of these defects increased to such an extent that with time, a 9.75% defect percentage was found at the end of the overfermentation. Likewise, the change in the overfermented coffee beverage quality was detected as "ferment" as of the 44 hours of fermentation and initially proved to have a light "vinegar-like" taste. Concurrently, the concentration of acetic acid was 0.471 mgr / ml in the washing waters and there was 0.75% of partially vinegar beans in the bean. The intensity of "vinegar-like" taste increased progressively with fermentation time up to 140 hours when it turned so strong and unpleasant that it was described as "stinker". See Table 2.

TABLE 2. Characteristics of coffee fermented for different time periods.

Fermentation Time (hours)	Defects (%)					Other Characteristics	Beverage Quality
	Black	Cuticulate	Partial Vinegar	Decolored Black Spot	Total		
19.0	0.00	0.00	0.12	0.00	0.12	Odor : normal	Good
68.0	0.03	0.15	0.25	0.00	0.43	Odor : pulp Cuticle: greenish Aspect : normal	Light Vinegar
95.50	0.00	0.06	0.75	1.34	2.15	Invagination	Vinegar
110.00	0.12	0.18	0.64	3.22	4.16	Odor : ferment Invagination and black spot	Strong Vinegar
140.00	0.25	0.30	1.53	7.67	9.75	Odor: ferment Invagination black spot	Rotten (stinker)

ORGANOLEPTIC FEATURES OF A FERMENTED COFFEE. Some of the features of the coffee beverage are altered when coffee is subjected to long fermentation periods. This is illustrated in TABLE 3.

TABLE 3. Alteration of the overfermented coffee beverage quality.

		Alteration	
Class	**Feature**	**Type**	**Grade**
positive	coffee aroma	decreases	+++
	acidity	increases/decreases	++
	astringency	increases	+
	bitterness	increases/decreases	+
negative	ferment	appears	+++
	sweetish	appears	+
	unpleasant. persist.	appears	+++
	strange	appears	++

+++ : strong, ++ : moderate, + : weak

STORAGE

COFFEE HUMIDITY. Between 10 and 12% for 75% RH. and 20°C and from 12 to 16% for 80% RH. and 30°C.

MICROORGANISMS

75% RH. and 20°C.

In both the "control" and "ferment" samples, yeasts were detected during the first 3 months of storage and later their population sharply decreased, even disappearing in the "overfermented" sample.

The number of moulds fluctuated between 10^5 and 10^3 and had a tendency to decrease over storage time.

80% RH and 30°C.

Yeasts were detected only in the "control" sample. Due to high humidity conditions, moulds proliferated in all samples, mainly in overfermented coffee which proved to be more sensitive to infestation and suffered severe damage at the embryo and parenchima levels as seen by electron microscopy. See Fig.6.

BEVERAGE QUALITY. The beverage prepared from the "control" samples stored at 20°C and 75% RH. kept its good quality throughout the whole storage period, while the beverage prepared from the samples stored at 30°C and 80% RH. deteriorated and the bean whitened as expected since the samples were stored at high humidity conditions. A slight "ferment" with an "alcohol-like" taste was detected after 3 1/2 months. Bearing this in mind, it is presumed that the "ferment" can form during storage at high equilibrium humidities of the bean. At an 80% RH. and 30°C "ferment" samples separately stored and "ferment" samples jointly stored with "control" samples still kept the defect with grades between 3 and 5. Furthermore, in the last months of storage, a strong "mould-like" taste which impaired the beverage quality to a greater extent was detected. This taste is related to the mould populations present in the said samples. These populations were the highest during the same period. See at Fig. 7. mould populations as were observed by electron microscopy.
The "control" sample jointly stored with overfermented coffee acquired the defect during storage. The defect was detected for the first time within three and a half months of storage and its intensity received a grade of 2. This defect became stronger up to the fifth and a half month and then returned to its initial level. See Fig. 8.

CONCLUSIONS

- Cherry storage for longer than 24h. and temperatures higher than 26°C causes :
  * Fermentations with a predominance of anaerobic bacteria and yeasts.
  * Parchment and silver skin pigmentation from the 50th hour.
  * Whitening of the beans.
  * Difficulty to perform depulping.
  * In fermentation, a slower demucilagination appears.
  * Appearance of fermented beverage which had the following tastes:
    . "wine-like" between 24 and 50 hours.
    . "vinegar" between 50 and 72 hours.
    . "stronger vinager" starting on the 72nd hour on.
    . "stinker" over 130 hours.

- In the wet processing stage called fermentation there is :
  * Presence of aerobic, anaerobic and lactic bacteria and yeasts.
  * During overfermentation there is a predominance and increase of lactic and anaerobic bacteria.
  * In the washing waters there is an increase in the concentration of galacturonic, malic, lactic and citric acids from the depulping period up to the 19th hour of fermentation.
  * Acetic acid appears in the washing waters after 20 hours of

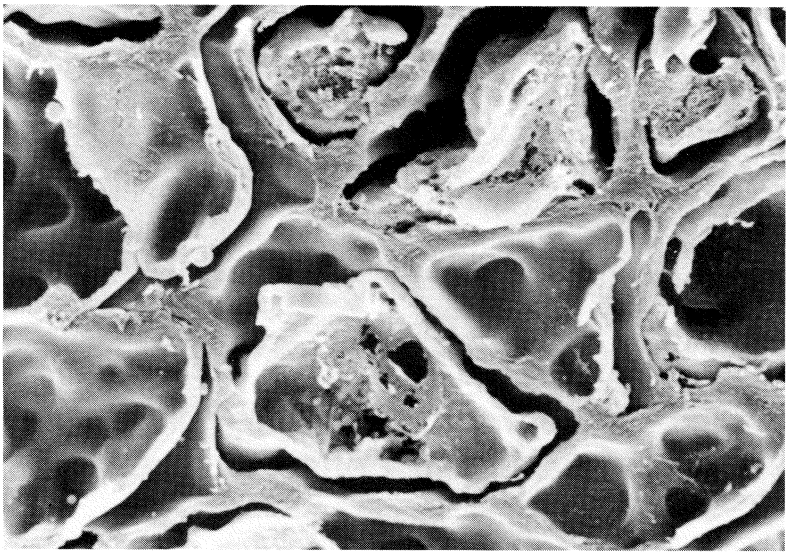


Fig. 6. Bean Parenchima Sharply Affected by "Overfermentation"

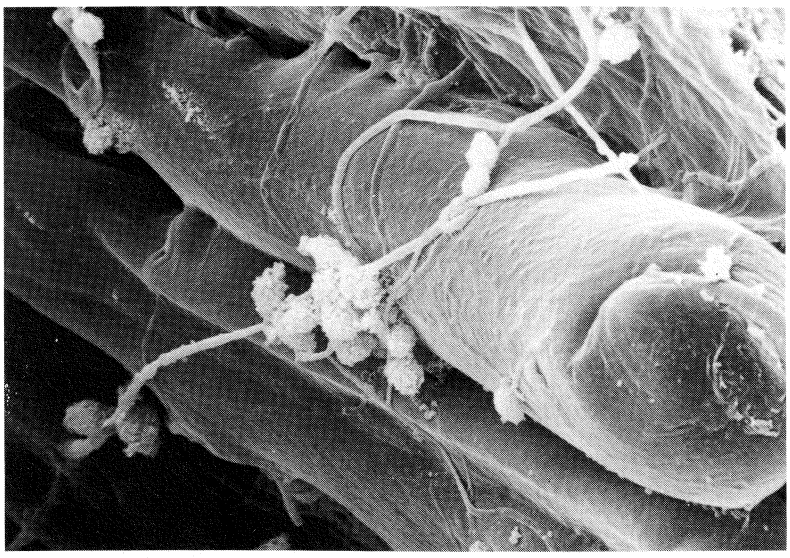


Fig. 7. Moulds at the Bean Central Slit

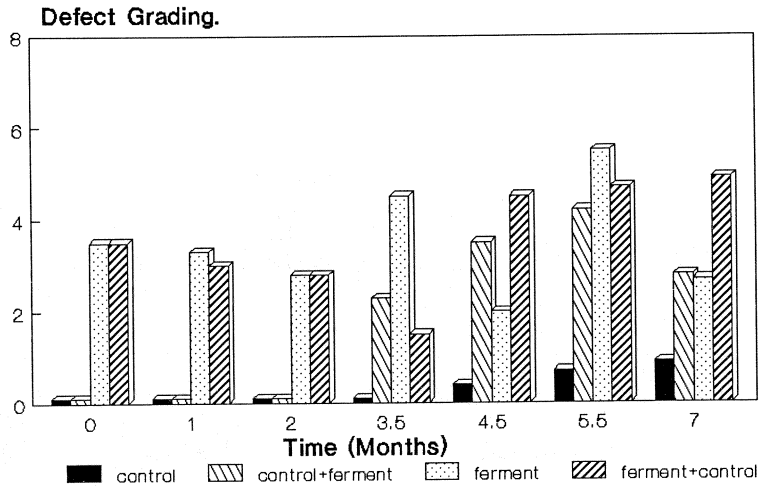


Fig. 8. Ferment in Beverage throughout Parchment Coffee Storage.

fermentation. Detection of "vinegar" in the beverage.

* After 44 hours of fermentation (overfermentation) there is a decrease in the concentration of acids.
* Formation of formic acid within 95 1/2 hours of fermentation. Marked detection of "vinegar" in the beverage. Decrease of pH.
* After 115 hours, the quality of the beverage worsens, "stinker" appears.

- During parchment coffee storage :
  * The ferment may be originated at bean equilibrium humidities higher than 14%.
  * Good quality coffee stored for more than three and a half months with fermented coffee acquires the defect.
  * Overfermented coffee is more sensitive to infestation by moulds than good quality coffee.

REFERENCES

1. ARUNGA, R.O. 1973. Enzymatic Fermentation of Coffee. Kenya Coffee, XXXVIII (453):354-356.

2. BAREL, M., Challot, F., VINCENT, J-C. 1976. Contribution a L'etude des Feves de Café Défectueuses. Café Cacao Thé, XX(2): 129-134.

3. BUTTY, M. 1973. Rapid Fermentation of Coffee. Kenya Coffee, XXXVIII (448):214-224.

4. CARVALHO, V.D. e CHALFOUN, S.M. 1985. Aspectos Qualitativos do Café. Inf. Agropec., Belo Horizonte, 11(126):79-92.

5. CROS, E., GUYOT, B., VINCENT, J-C. 1979. Profil Chromatographique de la Fraction Volatile du Café. Différence entre Cafés Verts Sain et Puant sur le Grain et la Boisson. Café Cacao Thé, XXIII(3): 193-202.

6. DENTAN, E., ILLY,A. 1985. Etude Microscopique de Grains de Café Matures, Inmatures et Inmatures Fermentés Arabica Santos. ASIC., XIe Colloque International sur le Café. Lomé (Togo), p.341-

7. -------- 1985. Etude Microscopique du Dévelopment et de la maturation du grain de café. ASIC. XIe Colloque International sur le Café, Lomé (Togo), P.381-387.

8. ESTEVES, A.B. 1966. Premier Essai pour Reconnaitre les Grains de Café Vert Défectueux, en les Examinant au Microscope a Rayons X. ASIC., Second Colloque International sur le Café. Paris, p. 71-77.

9. GIBSON, A. 1970. Fruit Fly Damage in Kenya Coffee and its Possible Effects on Quality. Kenya Coffee (Nairobi)35(415): 260-263.

10. GIBSON, A., BUTTY, M. 1975. "Overfermented Coffee Beans ("Stinkers") : A Method for their Detection and Elimination". ASIC. VIIe Colloque International sur le Café. Hamburg., p.

11. GUYOT, E., CROS, E., VINCENT, J-C. 1982. Caractérisation et Identification des Composés de la fraction Volatile d'un Café Vert Arabica Sain et d'un Café Vert Arabica Puant. Café Cacao Thé, XXXVI(4): 279-289.

12. JALEEL, S.A. and SREEKANTIAH, K.R. 1984. Application of Fungal Pectic Enzymes in Coffee Curing. J. of Food Science and Technology, 21(1):5-8.

13. LOPEZ, C., BAUTISTA, E. and MORENO, E. 1987. Microflora of the Stored Coffee and its Influence on Quality. ASIC., 12e Colloque International sur le cafe. Montreux, p. 758-770.

14. MENCHU, J.F. and ROLZ, C. 1973. Coffee Fermentation Technology. Café Cacao Thé, XVII (1):53-60.

15. NORTHMORE, J.M. 1970."Overfermented" Beans and"Stinkers"as Defectives of Arabica Coffee. ASIC, 4e Colloque International sur le Café. p. 47-54.

16. ROLZ, C., MENCHU, J.F., ESPINOSA, R., GARCIA, PRENDES, A. 1971. Coffee Fermentation Studies. ASIC., 4e Colloque International sur le Café. Lisbonne, p.259-269.

17. ROLZ, C., MENCHU, J.F., CALZADA, F., DE LEON, R., GARCIA, R. 1982. Biotechnology in Washed Coffee Processing. Proc. Biochem. 17(2): 8-10.

18. STEGEN VAN DER, G.H.D., DUIJ VAN, J. 1987. Analysis of Normal Organic Acids in Coffee. ASIC, 12e Colloque International . p.238-246.

19. TCHANA, E., JACQUET, M., GUYOT, B., VINCENT, J.C. 1985. Etude de L'influence des Conditions de Fermentation sur les Caractéristiques d'un Café Arabica. ASIC., XIe Colloque International sur le Café. Lomé (Togo), p. 309-318.

20. VANOS, V. and COX, L. 1986. Rapid Routine Method for the Detection of Lactic Acid Bacteria among Competitive Flora. Food Microbiology, (3): 223-234.

21. VANOS, V. 1987. Preliminary Microbial Ecological Studies in "Rio-Taste" Coffee Beans. ASIC, 12e Colloque International sur le Café. p. 353-356.

22. VINCENT, J-C., BAREL, M., CHALLOT, F. Contribution a l'etude des Feves Defectueuses du Café Vert. ASIC., Ve Colloque International sur le Café. p. 133-140.

23. WILBAUX, R., HAHN, D. 1966. Les Relations entre Défauts des Cafés Verts ou Torréfiés et les Qualités a la Tasse. ASIC. Second Colloque International sur le Café. Paris, p. 212-222.

24. WOOTTON, A.E. The Importance of Field Processing to the Quality of East African Coffees. ASIC. Colloque International sur le Café p. 247-254.

S U M M A R Y Colombian Arabica Coffee was processed at the laboratory and in farms located in Cundinamarca and Risaralda, varying the storage period of cherries and length of the fermentation time. Later on, the coffee was stored for a period of 9 months under two environmental conditions : 20°C. - 75% RH. and 30°C. - 80% RH. Throughout the entire process physicochemical, organoleptical and microbiological analyses were carried out, which led to the following conclusions:
- The storage of the cherries for extended periods of time promotes fermentations during which there is predominants of yeast and anaerobic bacteria, the dry bean gets stained and the defect in the beverage appears.
-During normal fermentation, there is an outstanding participation of yeast, lactic and anaerobic bacteria which produce different carboxylic acids.
- When the fermentation is carried out for more than 115 hours, beverage quality deteriorates and in addition to the ferment off flavor, another foul flavors appear.
- Anomalous fermented beans may be produced during storage period.

RESUMEN Café Arabica Colombiano fue beneficiado, variando el tiempo de almacenamiento de las cerezas y los periodos de fermentación en fincas de Cundinamarca y Risaralda, y a menor escala en el laboratorio. Posteriormente el café fue almacenado por nueve meses bajo dos condiciones ambientales:20°C-75% HR y 30°C-80% HR. Mediante análisis fisicoquímicos, organolépticos y microbiológicos se hizo un seguimiento a todo el proceso y se evidenciaron,

entre otros, los siguientes puntos:
-Cuando se almacena la cereza por períodos prolongados, se promueven fermentaciones con predominio de bacterias anaerobias y levaduras, se mancha el pergamino y aparece el defecto en la bebida.
-Durante una correcta fermentación, hay destacada participación de bacterias anaerobias, lácticas y levaduras las cuales producen diferentes ácidos carboxílicos.
-Cuando la fermentación se prolonga por más de 115 h. aparece el "stinker".
-Granos sobrefermnetados pueden originarse durante el almacenamiento.

Résumé

Facteurs en liaison avec le développement de grains de café surfermentés au cours du traitement par voie humide et du stockage du café.

Du café Arabica colombien a été traité en laboratoire et dans des plantations des provinces de Cundinamarca et de Risaralda, en faisant varier la période de stockage des cerises et la durée de fermentation. Ensuite le café a été stocké pendant 9 mois sous deux conditions d'environnement différentes : 20°C - 75 % HR et 30°C - 80 % HR. Les analyses physicochimiques, organoleptiques et microbiologiques effectuées tout au long de cette période permettent de tirer les conclusions suivantes :

- Le stockage des cerises pendant des périodes prolongées provoque des fermentations avec prédominance de levures et de bactéries anaérobies, le grain sec est altéré et le défaut se transmet à la boisson.
- Au cours d'une fermentation normale il y a une participation prédominante de levures, bactéries lactiques et anaérobies qui produisent différents acides carboxyliques.
- Lorsque la durée de fermentation dépasse 115 heures, la qualité de la boisson se dégrade et outre le mauvais goût de fermenté, d'autres goûts fétides apparaissent.
- Les grains anormalement fermentés peuvent être produits au cours du stockage.

SISTEMATIZACIÓN DE LA DOCUMENTACIÓN : CENIC, UNA BASE DE DATOS SISTEMATIZADA Y AUTOMATIZADA DE LA INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNICA DEL CAFÉ

L. A. MAYA-MONTALVO
CENICAFE, Centro de Documentación,
Chinchiná (Caldas), Colombia

INTRODUCCION

La información y documentación sobre CAFE, al igual que cualquier otra documentación agrícola, se tiende a analizar y a procesar mediante normas preestablecidas y a clasificar su contenido mediante un sistema y un vocabulario propio y uniforme. El vocabulario, dentro de los sistemas de recuperación de información es la variable más importante, ya que de su acertada aplicación depende el mayor o menor grado de eficiencia en la recuperación de ésta. Por otra parte, es recomendable estudiar el procedimiento que permita la selección de un programa de computador (Software) que garantice y facilite una rápida y eficiente entrada de datos, de tal forma que todos estos procedimientos faciliten una recuperación especifica de información.

Analizando, en primer lugar el aspecto del vocabulario, se buscó la existencia de uno que fuera adecuado para analizar y procesar esta información. Se encontró que los que existían eran de carácter general o específico para las ciencias agrícolas o particular para otro tema. Por esta razón, desde 1976 se comenzó a reunir y a organizar terminología propia para el asunto CAFE. Estudiando varias alternativas para la organización de vocabularios documentales y la que fuera más adecuada para la sistematización de la terminología especializada del CAFE, se decidió por el sistema facetado. En este esquema, los conceptos se organizan sistemáticamente por categorías, facetas, subfacetas y focos, y los términos se ordenan en forma de tesauro en una secuencia alfabética.

Para el estudio, reunión y selección de la terminología se optó por el método analítico-sintético.

Analizando por otro lado, el aspecto de la automatización de la información, nos encontramos con la posibilidad de la aplicación sobre todo de tres programas de computación específicos para documentación (ISIS, SCI-MATE, SCIB). Se decidió por el programa ISIS Versión 2, por ser el programa que mas se ajustaba a las necesidades de la base de datos CENIC de Cenicafé.

REVISION DE LITERATURA

Comenzaremos analizando el referencial teórico por el estudio del lenguaje. El lenguaje, fundamento de los vocabularios, es un medio de adquisición de conocimientos que se fija a través de los signos linguísticos. El lenguaje como un canal de comunicación psico-social, usa diferentes medios como: signos, gestos, señales, símbolos, formas, etc. Cintra (18). Con los signos linguísticos el hombre designa los objetos circundantes y traduce los pensamientos que formula sobre los mismos. Según el aspecto organizacional, Saussure (29) indica que el lenguaje es un sistema en donde las partes (signos) están unidos por vínculos estrechos de dependencia, los cuales, a su vez, se articulan, diferencian y delimitan mutuamente cuando forman las frases. Según el aspecto funcional, los signos linguísticos pueden ser estudiados bajo 3 niveles: sintáctico, semántico y pragmático, Pignatari (26). Sintáctico: cuando

se refiere a las relaciones funcionales de los signos. **Semántico**: cuando envuelve las relaciones de significado entre signo/referente y **Pragmático**: cuando implica la relación entre el signo y el interprete.

El signo linguístico tiene una existencia relacional de doble fase significante y significado. Correspondiendo el primero a una realidad con sus características y propiedades y el segundo es la concepción particular o universal de las cosas originada en una imagen acústica. El significado adviene del acuerdo tácito entre los integrantes de un grupo social. Un signo es comprensible en la medida que se sabe su significado y este depende del contexto en que es utilizado, Hegenberg (18), Dubois-Ch (13), Pottier (27).

El significado es ampliamente estudiado por la semántica y tiene un valor básico en la formación de lenguajes documentales, Andreewski (3), Carontini y Peraya (6), Bierwisch (4).

El estudio del significado y del significante nos conduce a la formación de conceptos (manifestación síquica o referencial del significado). El concepto está formado por un contenido de pensamiento (predicados verdaderos, propiedades y características), por palabras (nombres, términos, símbolos) y de una realidad (cosas, hechos). De esta forma, al concepto lo podemos definir como una unidad del pensamiento, resultante de la reunión de sus características y propiedades, que se refiere a una realidad y cuya expresión exige de un término o signo. Analizando la esencia de los conceptos, se observa que sus características y propiedades son extralinguísticas y los términos o signos que los sintetizan son intralinguísticos, Bruner (5), Dahlberg (11).

Se observa también que los conceptos están formados por un conjunto de características verdaderas y propiedades y éstos son mejor entendidos en la medida en que se han expresado debidamente sus características necesarias e indispensables. El conjunto de características de un concepto lo situa en una determinada categoría y define las relaciones que existen entre éstas y las de otro u otros conceptos.

Ya estructurado el conocimiento de los conceptos, este nos conduce a la obtención de una equivalencia verbal, específicamente a una definición, Hegenberg (18). Las definiciones son necesarias en los lenguajes documentales. El continuo crecimiento de los conocimientos y de la lengua nos lleva a la utilización de nuevos conceptos, símbolos y términos cuyo dominio no siempre es fácil de mantener, Dahlberg (11).

Observando las relaciones de las características se ve que unas se entrelazan y otras se excluyen formando entre éstas, grupos asociativos. Estas asociaciones son más fuertes cuanto mayor es su proximidad y ocurrencia, Clark (9), así se ve que no hay conceptos en estado de aislamiento en la mente del hombre, todos ellos están asociados por una serie de características que los relacionan entre sí formando un campo de significación que en linguística es conocido como campo semántico.

Haciendo un análisis de estas asociaciones, se ve que pueden ser estudiadas desde un punto de vista funcional, presentándose en este caso el aparecimiento de las relaciones sintagmáticas. Como también pueden estudiarse desde un punto de vista semántico y tenemos la presencia de las relaciones paradigmáticas, Pottier (27) Chaumier (7) Farradane (14) Coyaud (10).

Analizando particularmente tanto las relaciones sintagmáticas como paradigmáticas, podemos observar que éstas pueden asimilarse con las asociaciones formales de la lógica. De esta forma, en lenguaje documentales, los términos sinónimos se asemejan con las relaciones de identidad. Los términos hiperónimos e hipónimos se asocian con las relaciones de implicación é inclusión. Los términos funcionales por coordenación, polisemia, homonimia, cuasisinonimia y complementaridad se asocian con las relaciones de intersección y exclusión; los términos antónimos se asocian con las relaciones de negación, Dahlberg (12).

Estos conceptos con estos diversos tipos de relaciones necesitan de un sistema de organización o clasificación. La combinación de conceptos, cuando homogéneos, forman clases y la reunión de clases forman los sistemas de clasificación. La clasificación se fundamentó, desde tiempos remotos, en los niveles integrativos, Novikoff (25), Foskett (16), llamados también de agregación. Estas integraciones eran observadas en la naturaleza partiendo de los elementos simples a los más complejos, como también de los niveles menores hasta los mayores. Estos niveles facilitaron la formación de esquemas de clasificación ofreciendo un único lugar para cada concepto. Las diversas formas de organización de los objetos dieron, entre otros, origen a los sistemas de clasificación documental.

Entre los esquemas de clasificación documental se pueden observar varios tipos, siendo los más comunes los de carácter analítico-sintético o facetados y los de carácter lógico o enumerativo, Foskett (16). La escogencia de uno u otro tipo depende de la clase del asunto a clasificarse y del grado de especificidad con que los documentos pueden ser analizados. La utilidad de uno u otro depende de estas variables y no hay razón para juzgar cualquier clasificación como acertada o errónea, Langridge (22).

Analizando los principios estructurales de la clasificación facetada se observa que su principio primordial se fundamenta en el agrupamiento de términos según dominios homogéneos denominados categorías. Las categorías son grupos generales en que se divide un asunto, es un concepto en su más amplia extensión, es la forma más general de la realidad o existencia que un objeto concreto asume, es la representación de conceptos, objetos o hechos que tienen propiedades semejantes, es el concepto en su amplia aplicación y alta generalidad, Mills (24), Grolier (17). Dentro de cada categoría los términos se agrupan en facetas, los términos que forman las facetas pueden estar organizados en forma jerárquica. Aplicando la técnica de análisis por facetas se logra una distribución de conceptos, en relación con un asunto definido, en categorías diferentes que se excluyen mutuamente y que derivan de una fuente común por un sólo principio de división. Se entiende por faceta al conjunto de términos que representan algo en común, Vickery (23) Ranganathan (28).

En esquemas de clasificación documental se acostumbra a simbolizar su terminología por algún sistema de notación. La notación es utilizada para facilitar la mejor comprensión del orden en que se citan las categorías, facetas, subfacetas y focos en un sistema de clasificación facetado. De acuerdo al aspecto funcional, la notación identifica exclusivamente un término, y representa en forma secuencial la estructura del esquema. Una acertada notación debe permitir la expansión del esquema (flexibilidad), como también debe ser de fácil recordación (mnemotécnica). Según su estructura, la notación es pura cuando utiliza un sólo tipo de símbolos (letras o números), o es mixta cuando usa una combinación de símbolos (números y letras), Thoman (31) Luhn (23) Foskett (15).

Dado que la clasificación ordena los términos en esquema sistemático, como suplemento de ésta, es necesario que haya un índice referencial alfabético. Existe la alternativa de usar sencillamente un índice como un listado alfábetico de términos o utilizar un índice en forma de Tesauro; el segundo tiene la ventaja de incluir dentro de la mención de cada término su campo semántico (categorización, notación, definición; términos hiperónimos, hipónimos, sinónimos, antónimos y los términos relacionados funcionalmente). El solo hecho de escoger el uso de un tesauro facetado, implícitamente se está decidiendo por la formación de una clasificación facetada y un tesauro que es su parte complementaria, Aitchison (1). La formación tanto de la clasificación como del tesauro se hacen en forma alterna. El tesauro según su característica funcional, es una herramienta de control terminológico, utilizado para traducir a un lenguaje sistemático el lenguaje natural existente en los documentos y en el vocabulario de los especialistas de un asunto, ISO (21), Chaumier (7), Aitchison y Gilchrist (2).

Finalmente, estos lenguajes de análisis documental no alcanzarían a plenitud su meta y objetivos, sino fueran complementarios de los esquemas de automatización de la información. Pero, también, antes de decidir por la utilización de un determinado programa (Software) de computador a utilizarse, es necesario realizar un estudio de las mayores ventajas que ofrecen cada uno en el aspecto de satisfacción de necesidades de procesamiento y recuperación de información. Se observa que a nivel de Colombia, los programas más usuales son los editados por el "Institut for Scientific Information (19), Instituto Colombiano para la Educación Superior (20) y por la Unesco (32): Analizando las ventajas de cada uno se ve que el programa de la Unesco (CDS-ISIS) ofrece las ventajas adicionales de poder formar listas alfabéticas por cada uno de los autores y descriptores lo que permite formar, en las revistas de resúmenes, sus respectivos índices.

MATERIALES Y METODOS

Para el caso del vocabulario y por la naturaleza del asunto, el material está interrelacionado al propio método. En este caso lo constituyen la literatura especializada sobre el asunto CAFE y la terminología utilizada por la comunidad técnico-científica en el tema. Consecuentemente, el "Tesauro Facetado sobre Café" se fundamentó en la garantía literaria y en el endoso del usuario del área cafeícola.

Para la formación de un vocabulario de esta naturaleza y para fundamentar los procedimientos metodológicos se utilizó el método analítico-sintético. Este método, para el objetivo de este trabajo, consistió en identificar, mediante análisis, los conceptos correspondientes al asunto CAFE y los periféricos a esta área. Conceptos que expresados mediante términos, fueron objeto de estudio de sus características e interrelaciones para determinar su organización sistemática en grupos homogéneos (categorías, facetas, subfacetas y focos). Estos términos, posteriormente fueron ordenados en tesauro con la inclusión de las pertinentes relaciones paradigmáticas y sintagmáticas, de tal forma que faciliten su coordenación y síntesis cuando se quiera representar cualquiera de los tópicos cafeícolas.

Para la formación y constitución del vocabulario documental sobre CAFE, se aplicaron las siguientes etapas metodológicas:

- Delimitación del asunto
- Aplicación de parámetros de precisión
- Identificación y consulta de fuentes
- Análisis de documentos
- Colecta de terminología
- Identificación de significados de los términos
- Eliminación de términos no significativos
- Agrupamiento provisional de términos
- Selección y reducción de terminología
- Determinación de uso de la forma de los términos
- Identificación de características
- Determinación de definiciones de los términos
- Aplicación de principios de división
- Formulación de categorías
- Establecimiento de relaciones entre términos
  - Relaciones paradigmáticas
  - Relaciones sintagmáticas
- Determinación de un orden de citación de las categorías
- Establecimiento de facetas y subfacetas
- Aplicación de principios de integración de los términos en facetas
- Aplicación de un orden de archivo de los términos en facetas
- Aplicación de una simbolización o notación
- Determinación de los símbolos del tesauro
- Ordenación alfabética de los términos en forma de tesauro

Para el aspecto de la automatización (después de haber seleccionado el programa ISIS V.2) se siguieron estos pasos.

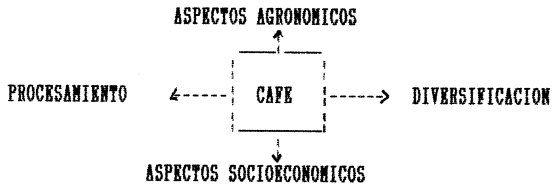
- Determinación y extensión de campos.
- Selección de campos para archivo invertido.
- Normalización de entrada de datos.
- Procesamiento final de información para publicación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados son una consecuencia de la aplicación de los pasos metodológicos para la formación del vocabulario facetado para CAFE y su aplicación automatizada. Enseguida y en forma sintética se indican los principales resultados.

- Delimitación del asunto

Después de un análisis profundo del asunto CAFE y con la asesoría de sus especialistas se delimitó el tema según estos tópicos.

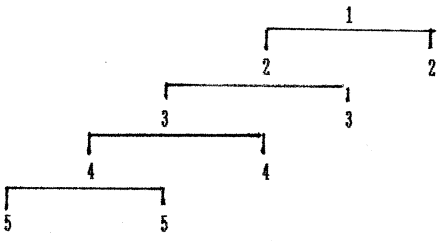


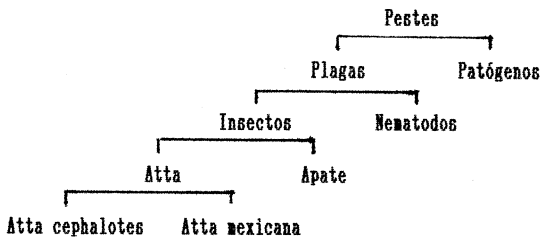
En esta etapa el CAFE constituye el área núcleo: Los aspectos agronómicos, socioeconómicos, la diversificación y el procesamiento forman las fronteras del tema.

- Establecimiento de parámetros de precisión

Los parámetros de precisión indican y limitan la profundidad de análisis de la terminología. Para el asunto CAFE, los niveles de especificidad alcanzados en vocabulario fueron:

Ej:

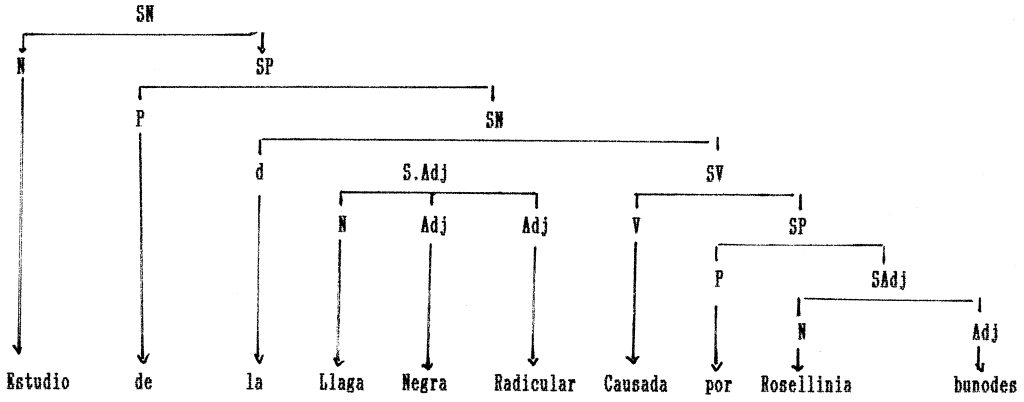




- Identificación y análisis de documentos

Después de identificados los documentos objeto de estudio, se hizo el análisis de éstos con base en el carácter lineal o de linearidad de las palabras en las frases. Se tuvo siempre presente que éstas son unidades básicas de descripción del contenido de los documentos. Para la identificación de funciones de las palabras se usó el análisis sintagmático (estructural).

Ej: Estudio de la Llaga Negra Radicular del cafeto causada por Rosellinia bunodes.



- Colecta de terminología

Después de encontrados los constituyentes de las frases, se procedió a su registro en categorías sintácticas o funcionales. Este procedimiento facilita la posterior selección y reducción de terminología.

Ej:

FRASES	DETERMINANTES	SUSTANTIVOS	MODIFICADORES	VERBOS
Estudio de la Llaga Negra Radicular causada por Rosellinia bunodes	de la por	Estudio Llaga Rosellinia	Negra Radicular bunodes	Causada
La determination de la la teneur en eau du café torrefie	La de la en	Determinación Contenido Agua		
Controle químico de Hemileia vastatrix em cafezais de Nicaragua em 1980.	de em de em	Café Control Hemileia Cafetales Nicaragua 1980	Tostado Químico vastatrix	

- Identificación de significados y eliminación de términos no significativos

El significado de los términos sólo es entendido en la medida en que son comprendidas sus significaciones o las frases en que ellos aparecen. En la misma forma, las frases son entendidas en la medida en que son entendidos los significados de los signos que los integran.

El signo linguístico es variable de acuerdo a la lengua (variación que se conoce como la arbitrariedad del signo linguístico), pero el significado, que es la concepción de la realidad debe corresponder a un sólo objeto o significante; así: Cafeto (español), Coffee tree (inglés), Cafeeiro (portugués) tienen cada uno una sola imagen acústica provocada por un sólo significante que es la planta de café. Por otra parte, las palabras como unidades tienen un significado y pueden tener otro cuando se encuentran unidas de acuerdo a una factoración semántica, así la palabra llaga tiene un significado genérico; Llaga negra ya es más específico pero Llaga Negra Radicular (en el asunto CAFE) es un concepto específico que caracteriza a un daño que causa el hongo Rosellinia bunodes.

También, para los vocabularios documentales, existe una clase de términos que no tienen valor para la recuperación de la información; esta terminología esta formada por preposiciones, conjunciones, artículos, adverbios, pronombres, los que se eliminan.

- Agrupamiento provisional de términos

Después de que se hizo una eliminación de términos que no son necesarios para fines de recuperación y que se sabe claramente los significados de los que quedan para formar el vocabulario, se reunieron los términos en grupos provisionales.

Ej:

FRASES	ENTIDADES	ACTIVIDADES	PROPIEDADES	MODIFICADORES	TIEMPO
Estudio de la Llaga Negra Radicular causada por Rosellinia bunodes	Llaga Negra Radicular Rosellinia bunodes	Estudio		Negra Radicular bunodes	
La determination de la teneur en eau du café torrefie	Agua Café	Determinación tostado	Contenido de agua	Tostado	
Controle químico de Hemileia vastatrix em cafezais de Nicaragua em 1980	Hemileia vastatrix Cafetales Nicaragua	Control Control químico		químico vastatrix	1980

- **Selección y reducción de terminología**

Una vez concluida la fase de un agrupamiento provisional de términos, se procedió a realizar la selección y consecuentemente a reducir terminología. Esta selección y reducción es un paso de suma importancia y de mucho cuidado ya que es un procedimiento de aceptación de términos preferenciales.

Con base en la frecuencia con que los términos aparecen en la literatura especializada del tema y en el vocabulario que usan los técnicos al solicitar información, se procedió a seleccionar la terminología que formaría el conjunto de términos preferenciales del vocabulario sobre CAFE, y los no seleccionados, el grupo de términos de referencia o remisión o no preferenciales.

Como índices de frecuencia de uso de la terminología, se usaron los siguientes parámetros:

- Frecuencia de aparecimiento en la literatura
- Frecuencia de uso en el contexto cafeícola
- Correlación con otros términos ya seleccionados
- Precisión con que los términos describen específicamente los conceptos emitidos en los documentos
- Aceptación científica y técnica.

En esta etapa también, se comienzan a señalar y a reunir los términos sinónimos de los términos preferenciales.

- **Forma de los términos**

Después de que se tuvieron listas de términos preferenciales, a continuación fue necesario normalizar la forma de entrada de los términos. Esta normalización es importante ya que debe existir consistencia y coincidencia entre la forma de las palabras que se usan en la descripción de los documentos y los términos que se utilizan en la recuperación de la información.

Se decidió que la terminología estaría constituida por el siguiente tipo de terminología: Sustantivos, adjetivos, términos simples y términos compuestos y estos entrados en singular o en plural de acuerdo a las normas documentales existentes para este fin.

Para la formación de términos compuestos se usó la factoración morfológica* y la factoración semántica**.

Ej:

Hidratos de carbono ⟶ Carbohidratos ⟵ (Factoración morfológica)
Fisiología vegetal ⟶ Fitofisiología ⟵ (Factoración morfológica)

Híbrido + Timor ⟶ Híbrido de Timor ⟵ (Factoración semántica)

Variedad + Colombia ⟶ Variedad Colombia ⟵ (Factoración semántica)

- **Identificación de características**

Luego que se determinó la forma en que se entrarían los términos al vocabulario, fue necesario conocer las características y propiedades de los términos. Las características son un conjunto de enunciados verdaderos de un concepto; su conocimiento facilita la determinación de las funciones de éste y su ubicación en un determinado grupo.

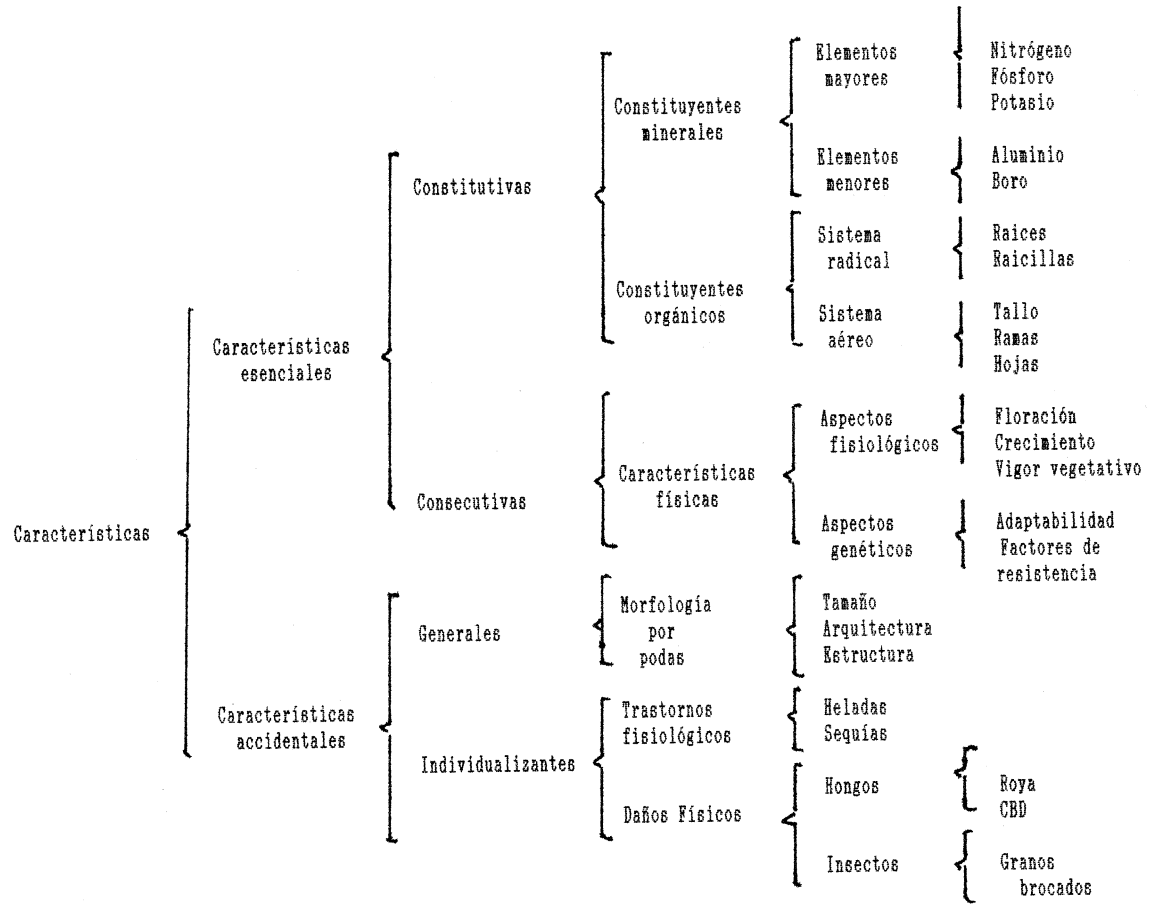
Las características pueden ser esenciales y accidentales. Las esenciales se dividen en constitutivas, o sea aquellas que forman la esencia de un objeto y las consecutivas, aquellas que se derivan de la materia de ese objeto. Por otro lado, las características accidentales se presentan por la acción de factores externos que inciden en las propiedades del objeto. Las características accidentales están interrelacionadas con las esenciales y dependen de éstas. También las características pueden ser simples o complejas según se refieran a una o varias propiedades de un objeto.

---

* **Factoración morfológica**: Representación de un concepto mediante un término compuesto por dos o más palabras.

** **Factoración semántica**: Representación de un concepto mediante un término compuesto formado por palabras cuyos significados individuales, no necesariamente están contenidos en ese concepto.

Ej:



De acuerdo a estas observaciones, se constató que el cafeto tiene una determinada composición mineral, en algo diferente a la de otros vegetales. También posee una constitución física con un determinado tipo de tejidos y células propios del reino vegetal, además de las ramas, hojas, flores y frutos que le son singulares. Estas y otras características de igual índole son las que forman las características constitutivas del cafeto.

Por otro lado, las propiedades físicas de la planta como es el crecimiento, la productividad, la floración, el vigor vegetativo, etc. dependen de las especies y variedades de cafetos, constituyendo, en este caso, las características consecutivas. Tanto las características constitutivas como las consecutivas forman las características esenciales de la planta.

Analizando el aspecto de las características consecutivas, se observa que éstas dependen de las constitutivas. Así, la productividad del cafeto está relacionada, en gran parte, con los constituyentes minerales de la planta, los cuales a su vez dependen del grado de nutrientes que tenga el suelo, que a la vez está en función de la adición de estos elementos por parte del hombre en forma de abonos. También, la productividad, el crecimiento y otras características físicas dependen interrelacionadamente de los sistemas aéreo y radical del cafeto.

Además de las caracteristicas esenciales, se observa que existen otras que se les denominan accidentales o posibles. Unas son de carácter general y otras de carácter individualizante. Las caracteristicas accidentales o posibles solo se presentan debido a la interferencia de factores externos, dando como resultado las reacciones, por ejemplo el marchitamiento de la planta por una helada o una sequía.

También se vió que las características eran simples cuando se referían a una sola propiedad (productividad de la planta), o eran complejas cuando incluían más de una propiedad (composición química de la planta).

- Aplicación de principios de división

Una vez conocidas las propiedades y características de los conceptos del asunto CAFE, el paso siguiente fue estudiar como se podían aplicar estas características de tal forma que nos permitan dividir y formar grupos y subgrupos de términos reunidos por algo que tengan en común. Las técnicas de aplicación para la división se conocen como **principios de división**. Un principio de división es una característica que se usa en forma exhaustiva para lograr un mejor grado de homogeneidad y exhaustividad en la formación de grupos de conceptos. Estos principios son usados para definir una categoría, faceta o subfaceta con el fin de reunir conceptos

coordenados y mutuamente exclusivos:

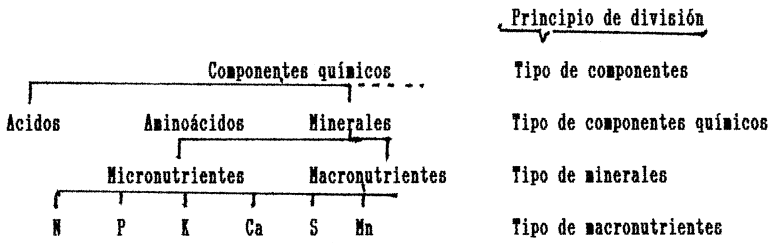
Es normativo el que se aplique, en la formación de grupos, un principio en forma consistente y con carácter exhaustivo antes que otro sea utilizado. Sobre esto Shera y Egan* dicen.

> "La aplicación de una característica de división es un proceso por el cual se diferencia una especie, adicionando una característica diferencial a la definición de la clase mayor. Así, los grupos incluidos en clases más generales, destacasen unos de otros por la posesión de algunos atributos no comunes a la clase como un todo".

Para el caso especifico del vocabulario documental sobre CAFE, se utilizaron principios de división fundamentados en las características propias de este asunto; esto con el fin de garantizar consistencia y coherencia en el vocabulario y su aplicación.

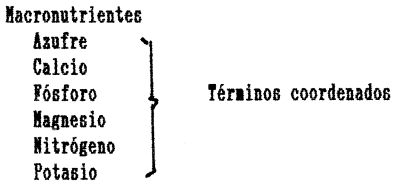
Partiendo de lo más general a lo más específico en la aplicación de los principios de división, se consiguió una secuencia gradual y descendente de grupos de términos. Se trató de que los grupos se formaran hasta agotar la aplicación de todas las posibles características de división.

Ej:



En la formación de grupos y subgrupos, resultantes de la sucesiva aplicación de un principio de división, se observó que cuando se emplea un principio en forma exhaustiva se obtienen en cada grupo una secuencia de conceptos coordenados.

Ej:



En cambio, con el uso de principios de división en forma sucesiva y gradativa, se consiguió una división en cadena de conceptos generados de uno más general hasta llegar a los más especificos.

Ej:

Componentes químicos	Reguladores de crecimiento
Minerales	Aceleradores de crecimiento
Macronutrientes	Auxinas
Azufre	Dicamba
Calcio	IBa
etc.	etc.

- Uso de definiciones

Teniendo ya grupos de términos resultantes de la aplicación de singulares principios de división propios del asunto CAFE, quedó más fácil identificar las definiciones de los términos.

La definición es una limitación de un concepto con la intención de fijar su contenido. Existen varios tipos de definiciones, sinembargo las más usuales en vocabularios documentales son las definiciones nominales, reales, denotativas, extensivas y connotativas.

Se observa que cuando se está delimitando, explicando o fijando el uso de un término se está haciendo uso de un tipo de definición nominal.

---

* SHERA, J.H.; EGAN, M.E. **Catálogo sistemático; principios gerais.** Brasilia (Brasil), Universidade de Brasilia, 1969. p. 60.

Ej: **ABONOS ORGANICOS**
(Sustancias de origen vegetal, animal o mixto, conteniendo uno o más fertilizantes, en general disponibles lentamente para las plantas).

PRODUCTIVIDAD
(Término usado para indicar la capacidad de fructificación de la planta. Para los casos cuantitativos de cosecha de un lugar use el término PRODUCCION).

Por otra parte, cuando se indican las características o la esencia de las cosas se está frente a una definición real o conceptual.

Ej: **CARBOHIDRATOS**
(Compuestos químicos formados por hidrógeno, oxígeno y carbono).

OZONO
(Gas con una molécula triatómica de oxígeno)

Se ve también que cuando se aplica una característica o principio de división se forman grupos de términos incluyentes en otro mas genérico. La reunión total de conceptos específicos e inmediatos de otro más genérico constituye su definición denotativa.

Ej: **Componentes químicos**

- Minerales
- Acidos
- Aminoácidos
- Alcaloides
- Carbohidratos
- Enzimas
- Fenoles
- Lípidos
- Pigmentos
- Proteínas
- Vitaminas

Pero, si se indican todos los conceptos específicos en forma gradativa y exhaustiva de otro más genérico, se está frente al caso de una definición extensiva de un concepto.

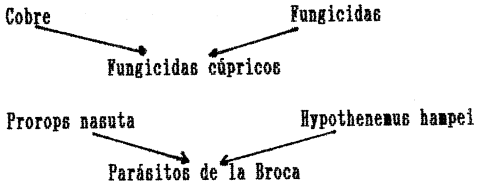
Ej: **Componentes químicos**

- Minerales
  - Macronutrientes
    - Azufre
    - Calcio
    - etc.
  - Micronutrientes
    - Aluminio
    - etc.
- Acidos
  - Acidos aromáticos
    - Aceite esencial
    - etc.
  - Aminoácidos
  - etc.
- etc.

De lo que se observa, se puede deducir que la suma de definiciones denotativas de conceptos específicos de otro más genérico forman su definición extensiva.

Cuando se indican los conceptos, que los podemos llamar periféricos, vecinos o funcionales de otro concepto, los cuales nos evocan ese concepto nos encontramos frente a una definición connotativa.

Ej:



- Formulación de categorías y su orden de citación

Después de que se ha conocido el significado de los términos, luego que se les ha reunido en grupos y se conoce que definición tienen, la fase siguiente corresponde a la indicación de cómo se van a categorizar estos grupos, y subgrupos y en que secuencia se van a citar estas categorías.

En el decorrer de la aplicación del método analítico-sintético sobre la literatura cafeícola se observó que los conceptos del asunto CAFE expresaban atributos de éste mediante enunciados o predicados; éstos a su vez, podían ser objeto de otras predicaciones y así

sucesivamente hasta llegar a una faceta muy general (el concepto en su más amplia extensión) conocida como CATEGORIA. Así:

- El Nitrógeno es un elemento mineral
- Un elemento mineral (Nitrógeno) es un nutriente
- Un nutriente es un agente necesario para la vida del cafeto.

En este caso, por medio de la predicación sucesiva y la aplicación de características de división se llegó a la categoría AGENTES. También, estudiando desde otro punto de vista, se observa que el Nitrógeno integrado ya a la planta, forma parte de su constitución, aquí se está frente a otra categoría, la de los CONSTITUYENTES. Por otra parte, continuando con el análisis de los conceptos, se vió que éstos se asociaban alrededor de un Todo (El Café) que es la personalidad del tema. Este todo está formado por cosas, objetos o entidades, apareciendo en este caso, la categoría de ENTIDAD (El cafeto y sus partes). Al comparar los objetos que forman esta entidad se observaba que unos son semejantes y otros diferentes, pudiéndose agruparlos en géneros, especies y variedades: género Coffea, especie Coffea arabica, variedades Borbón, Caturra, Mundo Novo, etc. La composición orgánica, ampliamente aplicada en biología, permite la jerarquización por sistemas, órganos y partes; así, el cafeto está formado por el Sistema Radical y el Sistema Aéreo, constituidos a su vez, por diferentes órganos como son las raíces y sus partes formando el primer sistema; el tallo, las ramas, las hojas, las flores y los frutos constituyendo el segundo sistema. Los órganos pueden ser físicamente separables como la división de la substancia en sus elementos, más algunos pierden rápidamente sus características previas; así las raíces del cafeto y sus hojas sólo pueden subsistir si están unidas a la planta, dejan de existir como tales cuando son separadas de ella.

En otros casos, los objetos pierden su identidad para dar como resultado otras cosas y aparece, en el caso del CAFE, los PRODUCTOS y SUBPRODUCTOS, por ejemplo el café tostado, la bebida, la pulpa como abono orgánico.

Algunas partes no son apéndices inertes, pudiendo ser separadas de su todo de origen sin perder su caracterización, así los minerales: Nitrógeno, Fósforo, Potasio, etc. no cambian sus propiedades al ser separados de la planta, encontrándonos en este caso, frente a la categoría de los CONSTITUYENTES.

Algunas cosas, si bien pueden distinguirse, sólo pueden separarse en forma conceptual, así el aroma de la bebida, el tamaño de los granos, la morfología de los frutos, apareciendo en este caso la categoría de las PROPIEDADES.

Las relaciones entre sistemas, órganos y partes son dinámicas y se encuentran (mientras hay vida) en continua actividad intrínseca, dando como resultado la aparición de la categoría de los PROCESOS como: la germinación, el crecimiento, la floración, la fructificación del cafeto. Los organismos vivos son susceptibles de cambios, así los procesos pueden ser rítmicos como la nutrición mineral y la respiración o pueden ser seriados desde la germinación de la semilla hasta la muerte de la planta.

El dinamismo vegetal lleva a las interacciones como es la competencia por nutrientes, luz y agua entre plantas, afectándose unas a otras y provocando efectos característicos como las deficiencias nutritivas. También, en los procesos, las plantas muestran sus propiedades como: el vigor vegetativo, la productividad, la adaptabilidad, formando la categoría de las CARACTERISTICAS.

En la formación del cafeto, el hombre interviene o interfiere en los fenómenos naturales de la planta. Esa interferencia da origen a la categoría de las OPERACIONES, tales como: prácticas de cultivo, biotecnología vegetal, fitomejoramiento, procesamiento del grano y comercio del producto.

En el dinamismo de los procesos y operaciones intervienen elementos externos que los modifican y aparece la categoría de los AGENTES; así los fertilizantes modifican la nutrición del cafeto, los patógenos le causan enfermedades y algunos insectos le hacen daños. Otras veces, el hombre utiliza instrumentos como dispositivos mecánicos en la caficultura, encontrándonos frente a la categoría EQUIPOS y HERRAMIENTAS, tales como: silos para almacenar café, aspersoras de productos químicos.

Las actividades (procesos y operaciones) se desarrollan en lugares definidos y en lapsos de tiempo y nos encontramos, en estos casos, frente a las categorías de ESPACIO y TIEMPO.

Por otra parte, el estudiar el orden de citación se ve que éste tiene como finalidad definir cual es la secuencia apropiada en que las categorías son dispuestas en el vocabulario. Antes de tomar una decisión sobre este orden, se tuvo en cuenta estas apreciaciones acerca del orden de citación: El objeto o la esencia debe ir antes que sus partes y tipos, así como el fin antes que los medios. También las entidades deben tener prioridad a las acciones (procesos y operaciones) ya que no se conciben acciones sin las materias a las cuales se aplican. También para que haya una enfermedad es necesario que haya un órgano lo mismo que no se concibe un tratamiento sin que haya un agente. En estos casos, los factores independientes deben seguir a aquellos de los cuales dependen; lo mismo que las propiedades y características se deben citar después de aquello a lo cual caracterizan. Se acostumbra también hacer una citación de lo más general a lo más específico conocido comúnmente como principio de concretividad decreciente. Todos los principios son útiles y deben tenerse en cuenta pero lo más importante es el principio de utilidad para el usuario.

Después de un análisis cuidadoso y de estudiar varias alternativas y combinaciones de éstas, se decidió que las categorías más apropiadas para el asunto CAFE serían estas y en este orden:

A. **ENTIDAD**	Cafeto, hojas, ramas, raíces, granos
B. **PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS**	Bebida, Biogás
C. **CONSTITUYENTES**	Fenoles
D. **CARACTERISTICAS Y PROPIEDADES**	Aroma, productividad
E. **PROCESOS**	Germinación, floración
F. **OPERACIONES**	Podas, Control químico
G. **AGENTES**	Fertilizantes, Hemileia vastatrix
H. **EQUIPOS Y HERRAMIENTAS**	Silos, Aspersoras
I. **ESPACIO**	Colombia, Brasil
J. **TIEMPO**	1988, 1989

En esta fase ya se puede hacer el intento de relacionar los términos de los ejemplos citados en las categorías y observar su funcionamiento.

Ej:		
	(B+A)	Bebida de café
	(C+B)	Fenoles en la bebida
	(D+A)	Productividad del cafeto
	(E+A)	Germinación de los granos
	(H+F+G)	Aspersoras para control químico de Hemileia vastatrix
	(H+A+I)	Silos para granos en Colombia
	(A+J)	Caficultura en 1989

- Establecimiento de relaciones entre términos

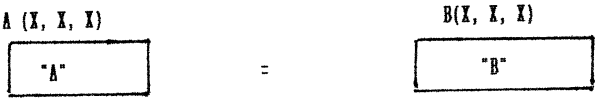
Luego de concluir la fase de categorización, el procedimiento siguiente consistió en definir las relaciones entre conceptos.

La asociación o interrelación entre conceptos es un fenómeno artificial de gran importancia para la formación de vocabularios documentales. Esta asociación nos muestra las propiedades y características subyacentes de los signos linguísticos.

Las interrelaciones se manifiestan cuando al comparar las características de los conceptos se observa que éstos son similares o comunes o en algo similares o en algo comunes; también son dependientes como también pueden ser contrarias. Este tipo de relaciones, conocidas en la lógica como formales se agrupan en: relaciones lógicas de igualdad o equivalencia, de implicación, intersección, disyunción o negación. Las relaciones lógicas, dentro de vocabularios documentales, están comprendidas en las relaciones paradigmáticas.

- Relaciones de equivalencia o identidad

Son aquellas que aparecen cuando las características del concepto "A" son iguales a las del concepto "B" y viceversa.

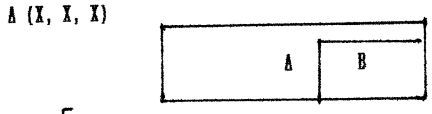


Así:		
Abonamiento	=	Fertilización
Nitrato de potasio	=	Salitre de Chile
Caldo bordelés	=	Mezcla bordelesa
Cloruro de Sodio	=	Sal

Estas relaciones en los vocabularios documentales expresan los casos de sinonimia.

- Relaciones de implicación o inclusión

Estas relaciones aparecen cuando todas las características del concepto "B" están incluidas en el concepto "A"; poseyendo el concepto "A" por lo menos una característica adicional. Esto quiere decir que una o más características del concepto "A" no pertenecen al concepto "B".

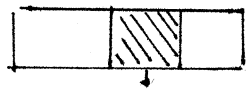


Ej: **Coffea** { **Coffea canephora,... Coffea arabica (Café Caturra, Café Borbón)** }

Estas relaciones expresan las asociaciones jerárquicas.

- **Relaciones de intersección**

Se presentan estas relaciones cuando al comparar las características de dos o más conceptos, existen una o más características que son comunes en todos ellos.



Característica común entre "A" "B" es aquella que los caracteriza para ser excluídos dentro de C. arabica.

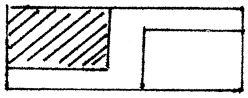
Estas relaciones expresan los casos de coordenación de términos.

- **Relaciones de disyunción o exclusión**

Estas relaciones aparecen cuando al ser comparadas las características del concepto "A" se observa que una o más se excluye mutuamente con los del concepto "B".

A (X, -Z, X)

Verticillium lecanii



B (X, Z, X)

Hemileia vastatrix

La característica "Z" y "-Z" son excluyentes por consiguiente puede haber una relación entre estos dos componentes.

Estas relaciones, en los vocabularios documentales, expresan las relaciones de contigüidad o vecindad.

- **Relaciones de negación**

Estas relaciones se presentan cuando las características del concepto "A" son la negación de las del concepto "B".

A (X, X, X)

Luminosidad

B (-X, -X, -X)

Obscuridad

Estas relaciones expresan las relaciones de antonimia

- **Relaciones sintagmáticas**

Las relaciones sintagmáticas se fundamentan en la función gramatical o linearidad de los signos linguísticos. De esta forma, podemos decir que existe relación sintagmática entre términos cuando ellos son funcionales entre sí. Así la linearidad se establece cuando existen relaciones, en una frase, entre una palabra y otra que la anteceden o preceden.

Estas relaciones se establecen bajo 3 niveles. Tomemos una frase para su mejor comprensión: El caficultor fertiliza los cafetales.

- **El Nivel Fonológico**

Este nivel esta formado por consonantes y vocales, formando la sintagma silábico:

El - ca - fi - cul - tor - fer - ti - li - za - los - ca - fe - ta - les

- **El Nivel Morfológico**

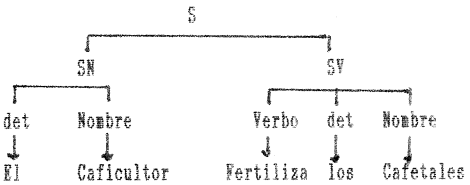
Este nivel surge cuando se integran sufijos y prefijos a los radicales, formando los sintagmas morfológicos.

El cafi-cult-or Fertil-iza los cafe-tales

- **El Nivel Sintáctico**

El nivel sintáctico se presenta cuando se estudia la frase a nivel de sujeto y predicado (SN + SV) dando lugar a los sintagmas

sintácticos.
Ej:



Analizando el nivel morfológico se observa que las palabras tienen un radical común con un sólo significado que condiciona una relación semántica entre estos términos así: Fertilidad, Fertilización, Fertilizante tienen el radical común fertil, con sufijos distintos que los colocan, sin embargo, dentro de facetas o categorías distintas (Características, Operaciones, Agentes, respectivamente). Entonces, también se puede observar que a nivel sintagmático (lineal) se definen las relaciones funcionales. Así para conseguir la fertilidad de un suelo se necesita fertilizar con algún tipo de fertilizante. Por otra parte también se observa que existen radicales con igual significación. Ej: Fertilizar = abonar, en este caso se presenta una relación semántica de sinonimia.

También, si se analiza la frase Control biológico de Hypothenemus Hampei con Prorops nasuta

Operación Agente Agente

Se ve que, estudiando la lineridad de los términos, se presenta una relación o asociación funcional entre Hypothenemus hampei (Broca) y Prorops nasuta (avispita de Uganda), existiendo por consiguiente entre los dos una relación funcional (Prorops nasuta es un parásito de Hypothenemus hampei.

- Establecimiento de Facetas y Subfacetas

La reunión de términos en grupos y subgrupos, dentro de las categorías establecidas se conocen como facetas y subfacetas respectivamente. Las facetas y Subfacetas se obtienen cuando al aplicar un principio de división se descompone una categoría en sus partes, distinguiéndose unas de otras por alguna diferencia.

Antes de aplicar una característica o principio de división para formar estos grupos es necesario tener presente que la aplicación de uno u otro, tienen una consecuencia útil en la recuperación de la información; tratando de usar siempre aquellas características que provoquen una consistente y coherente división de términos dentro de cada categoría. Esto siempre se debe tener en cuenta porque son muchos los puntos de vista de como se puede apreciar un asunto.

Ej:

Constituyentes	Categoría
ácidos	Faceta
ácidos aromáticos	Subfaceta
aceite esencial, ácido benzoico	Focos
etc.	
ácidos grasos	Subfaceta
ácido araquidonico, etc	Focos
ácidos nucleicos	Subfaceta
ADN, ARN	Focos
ácidos orgánicos	Subfaceta
ácido acético, ácidos cafeico	Focos
etc.	
Aminoácidos	Faceta

- Aplicación de principios de integración de los términos en facetas

El uso de los principios de integración es una consecuencia de la aplicación de los de las características de división y la conclusión de la síntesis. Los principios de integración son utilizados para obtener una secuencia ordenada de términos, que además debe ser útil. Dentro de las facetas y subfacetas; éstos principios orientan el proceso de reintegración de los términos y su coordenación.

Aunque la ordenación de los términos dentro de las divisiones y subdivisiones de un vocabulario documental obedece sobre todo a la naturaleza del asunto, existen algunas reglas o cánones que generalmente son usados, estos son:

- **Orden de complejidad o estructura creciente:**
(De lo más simple a lo más complejo).

Haploides
Aneuploides
Diploides
Triploides
Tetraploides
Poliploides

- **Orden geométrica:**
(Según la posición en el espacio

Frutos
Almendra
Embrión
Película plateada
Pergamino
Mucílago
Pulpa
Piel

- **Orden secuencial o cronológico:**
(Según el aparecimiento o realización)

Beneficio del grano
Cosecha
Despulpado
Fermentación
Lavado
Secado
Clasificación comercial
Almacenamiento

- **Orden genética:**
(De acuerdo a su estructura)

Cafeto
Sistema radical
Raíces
Sistema aéreo
Tallo
Ramas
Hojas
Flores
Frutos

- Orden evolucionario:
(Según el proceso evolutivo)

Germinación
Nacimiento
Brotación
Ramificación
Foliación
Fructificación
Maduración

- Orden de contigüidad espacial:
(De acuerdo a la proximidad geográfica)

América
América del Norte
Canadá
Estados Unidos
México
América Central
Guatemala
El Salvador
Honduras
Nicaragua
Costa Rica
Panamá

- **Orden secuencia de filiación:**
(Según la organización social o institucional)

Familia
Abuelos
Padres
Hijos
Nietos
etc.

Federación Nacional de Cafeteros de Colombia
Congreso Cafetero
Conferencia Cafetera
Gerencia General
Comités departamentales
etc.

- **Orden alfabético:**
(Palabra por palabra)
(Letra por letra)

Café Acaiá
Café Anfilio
Café Arusha
Café Blue Montain
Café Borbón
Café Botucatu
Café Catimor
Café Catuai
Café Caturra
Café Cera
Café Chinchiná
Café Columnaris
etc.

- **Aplicación de una notación o simbolización**

Después de que se tuvieron completamente organizados los términos dentro de cada categoría, faceta y subfaceta, el paso siguiente consistió en simbolizar esta terminología o simplemente darle una notación. La notación es un conjunto lógico de símbolos destinados a representar los términos de un esquema de clasificación, mostrando la secuencia y la organización de este, con el fin de traducir

a un lenguaje codificado las características de los documentos.

Se escogió una notación de tipo mixta, formada por números y letras, de tal forma que permita representar grupos ordenados de términos, mostrando la posición relativa entre unos y otros, revelando la organización e identificando, en forma exclusiva, cada categoría, faceta, subfaceta y focos.

Se trató de que la notación tenga, sobre todo estas cualidades: expresividad (que refleje la estructura del esquema) y Hospitalidad (que permita la inclusión de nuevas facetas subfacetas y focos en su lugar correcto, conforme el esquema va creciendo).

Ej:

CONCEPTOS	NOTACION	CATEGORIAS
Cafeto	1A	Entidad
Coffea arabica	1Ba	Tipo
Flores	1Ef	Parte
Extractos	2Ad	Productos
Biogás	2Dag	Subproductos
Tejidos	3Aa	Constituyentes
Vigor vegetativo	4Caf	Características
Floración	5Bah	Proceso
Cultivo de tejidos	6Bd	Operación
Micorrizas	7Bm	Agentes
Secadores	8Acr	Equipos
Colombia	9Hdd	Espacio

Identificación de la estructura y hospitalidad del esquema

7	Agentes
7J	Patogenos
7Ja	Hongos patógenos
7Jas	Hemileia
7Jasa	Hemileia coffeicola
7Jasb	Hemileia vastatrix
7Jat	Leptosfihaeria

Gráficamente se puede observar como la notación revela la estructura jerárquica del esquema. Se ve que después de 7Jasb se puede intercalar 7Jasc, 7Jasd... Hasta 7Jasz.

- Determinación de los símbolos del Tesauro

Para expresar las interrelaciones de los términos en el tesauro, se usó la siguiente simbología

NE	(Nota explicativa o definición)
UP	(Usado por)
TE	(Términos específicos)
TG	(Términos genéricos)
TF	(Términos funcionales)
USE	(Referencia remitiva)

CARBOHIDRATOS 3H
NE (Compuestos químicos formados por hidrógeno, oxigeno y carbono)
UP Hidratos de carbono
TG Constituventes
TE Aminoazucares
Azúcares
Glúcidos
Polialcoholes
Polisacáridos
TF Carbono
Hidrógeno
Fotosintesis

- **Ordenación de los términos del Tesauro**

Se optó por una ordenación alfabética de palabra por palabra

AUTOMATIZACION DE LA INFORMACION

La segunda parte y complementaria a la organización del vocabulario es la automatización de la información. Esta etapa incluye los aspectos de selección de un programa adecuado de computadora; la parte de normalización del ingreso de los registros para formar la base de datos y finalmente el diseño de las alternativas de recuperación de información.

En este aspecto de automatización de la información, como se dijo en la introducción, se optó por el programa ISIS V.2 de la UNESCO.

- **Determinación de campos**

Después de que fueron analizadas varias hojas de entrada de datos seguidas por algunas instituciones de caracter nacional e internacional (AGRIS, AGRINTER, SNICA, etc.), también, con el fin de economizar tiempo y recursos, se optó por escoger solamente los campos que fueron estrictamente necesarios sin detrimento de la recuperación de la información. De esta forma se decidió por estos campos: (FDT - Field Definition Table).

Field Definition Table (FDT) **Data Base: CENIC**

?¦	Tag¦	Name	¦Len¦	Typ¦	Rep¦	Delimiters/Pattern ¦
-	10	# REGISTRO	9	X		
-	20	CLASIFICACION	45	X		abcde
-	30	AUTORES	130	X		
-	40	DIRECCION	130	X		
-	50	TITULO DOCUMENTO	300	X		
-	60	TITULO PUBLICACION	300	X		
-	70	PIE IMPRENTA	80	X		
-	80	COLACION	30	X		
-	90	NOTAS	156	X		
-	100	DESCRIPTORES	307	X		
-	110	RESUMEN	1650	X		

¦ A - Insert (after) ¦ B - Insert (before) ¦ C - Change entry ¦ D - Delete entry
¦ P - Previous page ¦ N - Next page ¦ F - First entry ¦ K - Last entry
¦ X - Exit ¦ ¦ - Next entry

```
# REGISTRO 00753*___ CLASIFICACION ^a5M^b7Mrcd^c4Id^d9Hdm^e1987_____________
AUTORES ALMEIDA, V.F.DE.%CAMPOS, V.P.%LIMA, R.D. DE._____________________
_____DIRECCION (Empresa de
Pesquisa Agropecuaria de Minas Gerais, Lavras, Brasil)._____________________
_____TITULO DOCUMENTO Flutuacao populacional de
/Meloidogyne exigua/ na rizosfera do cafeeiro._____________________________
_____
_____
_____TITULO PUBLICACION Nematologia Brasileira /Bra
sil/ 11:159-175. 1987._____
_____
_____
_____PIE IMPRENTA_____
_____COLACION_____
NOTAS 10 Refs. Port._____
_____
DESCRIPTORES /Nematologia/ /Meloidogyne exigua/ /Epidemiologia de Meloidogyne ex
igua/ /Biologia de Meloidogyne exigua/ /Lluvias/ /Humedad/ /Brasil/_____
_____
_____

¦ ¦ - Next page ¦ B - Previous page ¦ M - Modify ¦ N - New record ¦
¦ X - Exit ¦ D - Delete ¦ C - Cancel ¦ T - End revise ¦
More ... MFN = 10
```

RESUMEN Estudios de campo fueron llevados a cabo en Brasil para examinar las fluctuaciones de población de /M. exigua/ en las raíces de café. Las poblaciones larvales más bajas fueron obtenidas entre diciembre y febrero. El incremento de población fue interrumpido entre abril y julio, formando dos topes. A profundidades de suelo mayores de 80 cm. en el número de larvas fue reducido, mientras que las altas densidades de población se dieron entre 0 y 60 cms de profundidad y arriba de 40 cm en el tallo, principalmente en junio y julio. Las poblaciones larvales estuvieron negativamente correlacionadas con la humedad y la lluvia.____

¦ - Next page	B - Previous page	M - Modify	N - New record
X - Exit	D - Delete	C - Cancel	T - End revise

MFN= 10

A continuación se explica la significación de cada uno de los campos:

Número de registro: Corresponde al número consecutivo con que ingresa el documento al Centro de Documentación.

Clasificación: De acuerdo al tipo de clasificación facetada, se determinó que la representación sistemática de la información constaría de estos 5 elementos. Materia, Submateria, Faceta, Lugar y Fecha. Estos 5 subcampos permiten recuperar información especificamente por cualquiera de ellos.

Autores: En este campo se incluye información tanto de autores personales como de corporativos o institucionales.

Dirección: En este campo se registra la institución en la que trabaja el autor indicando su dirección completa (esto para fines de solicitar reimpresos).

Título del documento: Se registra en este campo el título particular de un documento como una parte de otro más general. Así, aquí se inscriben los títulos de artículos de revistas, ponencias en congresos, conferencias, seminarios, capítulos de libros o partes de informes, etc.

Título de publicación: Cuando se tiene un documento como un todo (monográfico), se registra esta información en este campo. Así, aquí se incluyen los títulos de los libros, de las revistas, de los informes, de las monografías, etc.

Pie de imprenta: Este campo está destinado a registrar información sobre el lugar de publicación, el editor y la fecha de publicación.

Colación: En este campo se incluye información sobre el número de páginas, volúmenes.

Notas: Este campo está formado por las informaciones necesarias para identificar mejor un documento como: idioma del texto, número de referencias bibliográficas utilizadas, publicaciones alternas en que aparece el documento, tipo de material, especificaciones de trabajos de tesis y quien los dirigió, donde se encuentra el documento y cualquier otra nota que lleve a identificar mejor el material.

Descriptores: Siguiendo el **Tesauro Facetado sobre Café,** se identifican en este campo todas las materias y submaterias (Descriptores) sobre las que trata el documento y bajo las cuales se puede recuperar información.

Resumen: En este campo se incluye el resumen en español sobre el contenido del documento.

- Selección de campos para archivo invertido

Una vez determinados los campos en los que se registran los datos bibliográficos, el siguiente paso consistió en determinar los campos que contienen la principal información para formar el archivo invertido de términos organizados alfabéticamente.

El archivo invertido (FST - File Selective Table for Inverted File) está formado por todas las palabras significativas y los símbolos que son necesarios para una correcta recuperación de información, a la vez que permite identificar claramente un documento para evitar su duplicación en la base de datos. Para este fin se decidió que la información contenida en los campos: Número de registro, Clasificación, Autores, Titulos de los Documentos y Publicaciones y Descriptores, sería la necesaria para formar este archivo.

Data Base Name: CENIC FST for Inverted File FST name: CENIC

ID	IT	Data extraction format
- 10	0	MHU,V10
- 20	1	MPL,V20^a/V20^b/V20^c/V20^d/V20^e
- 30	0	MHU,(V30/)
- 50	4	MHU,V50
- 60	4	MHU,V60
-100	3	MHU,(V100/)

Previamente se hizo un archivo de palabras no significativas (artículos, preposiciones, conjunciones, etc.) para evitar la saturación de la memoria del computador con términos que no son necesarios para la recuperación de información.

Ej:										
	A	AQUEL	AT	COME	DAS	DI	ELLA	ENTRE	ESTAS	FOR
	AL	AQUELLA	AU	COMO	DE	DO	ELLAS	ESA	ESTE	FROM
	AND	AQUELLAS	AUS	CON	DEL	DOS	ELLO	ESAS	ESTO	HACIA
	ANTE	AQUELLO	BAJO	CONTRA	DER	DU	ELLOS	ESE	ESTOS	etc.
	AO	AQUELLOS	BY	DA	DES	E	EM	ESOS	ET	
	AOS	AS	COM	DANS	DESDE	EL	EN	ESTA	EX	

- Normalización de entrada de datos

Una vez concluida la labor de decisión de qué campos se utilizarían para la entrada de información es indispensable y muy importante el que se tenga un manual de normalización de como se van a entrar los datos. De esta estandarización depende la consistencia y exactitud en la recuperación. Para este fin se tomó como base para la entrada de datos bibliográficos las normas existentes en CENICAFE para la elaboración de referencias bibliográficas. Para la normalización de la entrada de descriptores y de clasificación se hace de acuerdo con el **Tesauro Facetado sobre Café** y para la realización de resúmenes se optó por criterios preestablecidos en la literatura mundial sobre este tema.

El adecuado ingreso de datos a la base CENIC permite la formación de revistas de resúmenes sobre CAFE o trabajos de monografías sobre un tópico determinado de este asunto. En estos productos es donde comienza a funcionar la disposición de los datos registrados en los campos. Así el número de registro permite la relación entre autores y descriptores con el número que identifica a ese documento. La clasificación permite la organización de referencias bibliográficas con sus resúmenes, por materias y submaterias, partiendo de lo más general a lo específico. La indicación uniforme de la entrada de autores (personales o corporativos) permite que estos sean identificados de una sola forma, esto evita dispersión de información. Tanto los autores como los descriptores permiten, cuando se hacen publicaciones (además de otros fines), la formación estandarizada de índices de autores y descriptores con referencia al número del documento.

Ej:

INDICE DE AUTORES

ALIF, A.F.B.M.	BELLIARDO, F.	CARNEIRO, M.F.N.	DHARMARAJ, P.S.	GONCALVES, W.
09698*	09709*	09684	09702*	09697
BAUER, H.	BERTHOU, F.	CASER, D.V.	ESKES, A.B.	GUNNING, J.W.
09688	09683	09710	09685	09691*
BAYETTA, B.	BEVAN, D.L.	COLLIER, P.	FERRAZ, L.C.C.B.	GUZZO, S.D.
09695	09691*	09691*	09697	09686

INDICE DE DESCRIPTORES

ACIDOS	AGROCLIMATOLOGIA	ANHIDRIDO CARBONICO	AUTOFECUNDACION	BIOTECNOLOGIA
09707	09710	09688	09702*	09683
ACIDOS GRASOS	ALMACIGOS	APERTURA ESTOMATAL	BEBIDA	CAFE CATIMOR
09689	09687	09688	09709*	09685
ADN	AMERICA	AUSTRALIA	BIOQUIMICA	CAFEINA
09683	09708*	09693*	09686	09709*

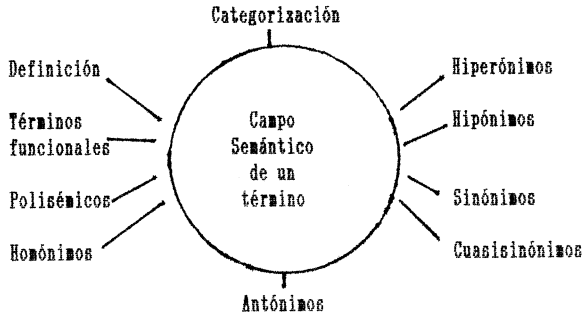
- Procesamiento final de información para publicación

El adecuado tratamiento de la documentación en el programa ISIS permite el que se salve o se guarde por separado una información dada. Esta información es factible de ser exportada a otro programa de preparación de textos o procesadores de palabras: WP (Word Perfect) ó MS (Micro Star), donde se realiza el acabado o pulimiento del escrito como: Espaciamiento entre líneas, Encabezamientos de Páginas, Paginación, Portada, Introducción, Justificación de líneas y parráfos y finalmente su impresión.

C O N C L U S I O N E S

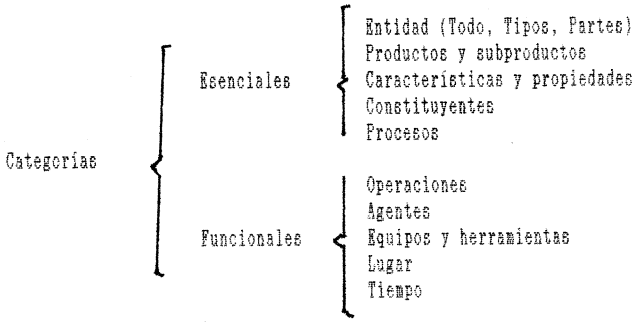
La aplicación de procedimientos metodológicos para la formación de un vocabulario documental, sea cual fuere su naturaleza, implica conocimientos, tanto de las teorías del lenguaje, sea natural o artificial, cuanto del asunto a ser clasificado. Además de conocer el tema en cuestión es necesario un entendimiento de las normas de la gramática estructural.

El establecimiento de las diferentes relaciones de las características de un término cafeícola con las de otros, nos lleva a deducir que dentro de un lenguaje documental como el del CAFE, todos estos elementos forman parte de un campo semántico de dicho término. De ahí que un término del Tesauro Facetado (descriptor) tiende informar al usuario sobre todas las posibles relaciones semánticas de ese descriptor facilitando la comprensión de su extensión. Podemos observar esta afirmación en siguiente cuadro:



Analizando las categorías establecidas para el asunto CAFE, se observa que unas son esenciales como aquellas que forman la parte constituyente del cafeto, son su parte intrínseca y otras son funcionales como aquellas de carácter extrínseco que actúan sobre las primeras.

Ej:



Con referencia al aspecto de la automatización podemos concluir que:

- Es indispensable, antes de optar por cualquier programa de computación (Software), el que se haga una análisis de la aplicabilidad al tipo de documentación que se va a procesar, así como de las ventajas que ofrece en los varios aspectos de la recuperación de la información.

- De acuerdo también a las necesidades institucionales y a la disposición de recursos económicos y humanos es recomendable adoptar una hoja de trabajo (hoja electrónica) que sea eficiente, funcional, simplificada, sin detrimento en la exactitud de la entrada de todos los datos necesarios para que se identifiquen los documentos y a la vez sean inteligibles o de fácil comprensión por los usuarios.

- Es indispensable la normalización de la forma de la entrada de datos así como la uniformidad en la consistencia y exactitud de la asignación de descriptores. Esto da como resultado una eficiente, selectiva y completa recuperación de información.

B I B L I O G R A F I A

1. AITCHISON, J. **The Tesauro-Facet a multipurpose retrieval language tool.** Journal of Documentation (Estados Unidos) 26(3):187-203, 1970.

2. AITCHISON, J.; GILCHRIST, A. **Thesaurus construction a practical manual.** London (Inglaterra), ASLIB, 1972.

3. ANDREEWSKI, A. **Indexacao automática baseada em metodos linguisticos e sua aplicabilidade a lingua portuguesa.** Ciencia da Informacao (Brasil). 12(1):61-73, 1983.

4. BIERWISCH, M. **Semântica.** In: Lyons, J. (ed). Novos horizontes em linguistica. Sao Paulo (Brasil), Cultrix, 1976. p.161-178.

5. BRUNER, J.S. **Teoria da aprendizagem; proposicoes gerais.** Rio de Janeiro (Brasil), IBICT, s.f. 5p.

6. CARONTINI, E.; PERAYA, D. **O projeto semiótico.** Sao Paulo (Brasil), Cultrix, 1979. 134 p.

7. CHAUMIER, J. **Les langages documentaires.** In: _____ Les techniques documentaires. Paris (Francia), Press Universitaires de France, 1974. p.56-89.

8. CINTRA, A.M.M. **Elementos de linguística para estudos de indexacao.** Ciencia da Informacao (Brasil) 12(1):5-12, 1983.

9. CLARK, H.H. **Associacao de palavras e teoria linguística.** In: Lyons, J. (ed) Novos horizontes em linguistica. Sao Paulo (Brasil), Cultrix, 1977. p. 260-276.

10. COYAUD, M. **Linguistique et documentation, les articulations loguiques du discours.** Paris (Francia), Larousse, 1972. 173 p.

11. DAHLBERG, I. **Conceptual definitions for interconcept.** International Classification (Alemania) 8(1):16-22. 1981.

12. DAHLBERG, I. **Teoria do conceito.** Ciencia da Informacao (Brasil) 7(2):101-107. 1978.

13. DUBOIS-CHARLIER, F. **Bases de analise linguística.** Coimbra (Portugal), Larousse, 1977. 334 p.

14. FARRADANE, J.E.L. **A scientific theory of classification and indexing; further considerations.** Journal of Documentation (Estados Unidos) 8(2):73-92. 1952.

15. FOSKETT, A.C. **Notation and alphabetic index.** In: _____ The subject approach to information. 4ed. London (Inglaterra), Clive and Bingley, 1982. p. 188-218.

16. FOSKETT, A.C. **Systematic arrangement.** In: _____ The subject approach to information. 4ed. London (Inglaterra), Clive and Bingley, 1982. p. 150-175.

17. GROLIER, E. DE. **Categories et expression des relations dans les classifications documentaires especialisées.** In: _____ Etude sur les categories generales applicables aux classifications documentaires. Paris (Francia), Unesco, 1962. p. 65-148.

18. HEGENBERG, L. **Definicoes; termos teoricos e significacao.** Sao Paulo (Brasil), Cultrix, 1974. 136 p.

19. INSTITUT FOR SCIENTIFIC INFORMATION - ISI. Filadelfia (Estados Unidos). **Sci-mate manual.** Philadelphia, ISI, 1983. 166 p.

20. INSTITUTO COLOMBIANO DE EDUCACION SUPERIOR ICFES. Bogotá (Colombia). **Manual integrado para entrada de datos del SCIB.** Bogotá (Colombia), ICFES, 1987. 104 p.

21. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARIZATION. ISO. Ginebra (Suiza). **Documentation; guide lines for the establishment and development of monolingual thesauri.** Ginebra (Suiza), ISO, 1974. 13 p.

22. LANGRIDGE, D. **Classificacao.** Rio de Janeiro (Brasil), Interciencia, 1977, 126 p.

23. LUHN, H.P. **Auto-encoding of documents for information retrieval systems.** In: Symposium of Documentation. California (Estados Unidos), 9-11 Apr. 1958. Proceedings.

24. MILLS, J.A. **A modern outline of library classification.** London (Inglaterra), Chapman and Hall, 1960.

25. NOVIKOFF, A.B. **The concept of integrative levels and biology.** Science (Estados Unidos) 101(2618):209-215, 1945.

26. PIGNATARI, D. **Informacao, linguagem e comunicacao.** Sao Paulo (Brasil), Perspectiva, 1968.

27. POTTIER, B. **Presentation de la linguistique; fondaments d'une theorie.** Paris, 1967.

28. RANGANATHAN, S.R. **Prolegomena to library classification.** London (Inglaterra), Library Association, 1957. 487 p.

29. SAUSSURE, F. DE. **Curso de linguistica general.** 5ed. Sao Paulo (Brasil), Cultrix, 1977.

30. SHERA, J.H.; EGAN, M.E. **Principios gerais para a elaboracao de um sistema de classificacao.** In: _____ Catálogo sistemático; principios básicos. Brasilia (Brasil), Universidade de Brasilia, 1969. p. 35-87.

31. TOMAN, J. **A system of faceted classification with a multidimensional mnemonic notation and with classification formula.** In: International Conference of Classication Research, 2. Elsinore (Dinamarca) 14-18 Sept. 1964. p. 152-158.

32. UNITED NATIONS FOR SCIENTIFIC AND CULTURAL ORGANIZATION. UNESCO. Paris (Francia). **CDS/ISIS; mini-micro version.** Paris (Francia). UNESCO, 1986. 193 p.

33. VICKERY, B.C. **Faceted classification schemes.** New Brunswick, Rutgers University Press, 1966. 108 p.

RESUMEN Y ABSTRACT

MAYA-MONTALVO, L.A. Sistematización de la Documentación. "CENIC, una base de datos sistematizada y automatizada de la información científica y técnica del café". XIII Colloque Scientifique International sur le Café. Paipa (Colombia), 21-25 Aout. 1989. 21 p.

Con base en el análisis de la literatura científica y técnica del asunto CAFE, así como en la terminología usada por los investigadores cafeteros, teniendo como fundamento el método analítico-sintético, se formó un vocabulario especializado denominado "Tesauro Facetado sobre Café". El vocabulario está constituido por una clasificación facetada y tesauro alfabético de términos. La parte sistemática se organizó en 9 categorías: Entidad (Cafeto y sus partes); Productos y Subprodustos; Constituyentes, Características y propiedades; Procesos; Operaciones; Agentes; Equipos y Espacio geográfico. Se usó una notación alfa-numérica (caracterizada por la expresividad y la hospitalidad) para simbolizar los componentes de las categorías, facetas, subfacetas y focos del tema. El campo semántico de los conceptos (formado por la categorización, hiperónimos, hipónimos, sinónimos, cuasisinónimos, antónimos, términos funcionales, deficiones y notas de delimitación de uso) fundamentó la construcción del tesauro.

Tanto el "Tesauro Facetado sobre CAFE" como el programa de computación CD-ISIS 2.3, han permitido el análisis técnico de la información científico y técnica sobre CAFE. Para el registro de los datos en el computador se diseñó una hoja de entrada constituida por los siguientes campos: No. de registro del documento, clasificación, autor (personal o corporativo), Institución del trabajo del autor, Titulo del documento; Título de la publicación en que está el documento, Pie de imprenta, Colación, Notas, Descriptores y Resumen. Mediante el uso de la clasificación se ha logrado recuperar información ordenada sistemáticamente y por los descriptores, información específica en un tópico determinado. Mediante este sistema se realizan boletines de resúmenes de documentos sobre café complementados con índices de autores y materias.

Based on the scientific and technical literature, as well as the terminology used by the coffee researchers, and having as a basis the analitical-synthetic method, a specialized glosary was made, called "Tesauro Facetado sobre Café". The glosary is composed by a faceted classification and alphabetic thesaurus of terms. The systematic part was arranged in 9 classes: Essence (Coffee plant and its parts); products and subproducts; constituents, features and qualities; processes; operations, agents, equipment and geographie location. It was used an alpha-numeric notation (Characterized by expressiveness and hospitality) to symbolize the components of the categories, facets, subfacets and the focus of the subject. The semantic field from de concepts (formed by the categorization, Lyperonyms, Lyponyms, guasi-synonyms, antonyms, funcional terms, meanings and notes of use delimitation) was the basis for the construction of the thesaurus.

Both, the "Tesauro Facetado sobre Café" as well as the computer programm CD-ISIS 2.3, have permitted technical information about coffee. For recording the data in the computer an entry sheet was designed, made up by the following fields: record number of the paper, classification, author (personal or corporation), place where the author works, title of the document, name of the publication where the paper is found, foot note, notes, subjects and abstracts. By using the classification, the recuperation has been achieved, organized systematically and by the subjects, specific information on a definite topic. By using this system bulletins can be realized of the summaries of documents about coffee complemented by indexes of authors and subjects.

Résumé

Systématisation de la documentation ; CEMIC, une base de données systématisée et automatisée relative à l'information scientifique et technique du café.

Un glossaire spécialisé, "Tesauro Facetado sobre Café", a été réalisé à partir de la littérature scientifique et technique et de la terminologie utilisée par les chercheurs dans le domaine du café, et ce sur la base de la méthode analytique - synthétique. Le glossaire est constitué d'une classification à facettes et d'un thésaurus alphabétique des termes. La partie systématique est organisée en 9 classes : Entité (caféier et ses différentes parties) ; produits et sous-produits ; constituants, caractéristiques et propriétés ; procédés ; opérations ; agents ; équipements et situation géographique. Une notation alphanumérique (caractérisée par l'"expressivité" et l'hospitalité) a été utilisée pour symboliser les constituants des catégories, les facettes, les sous-facettes et le thème central du sujet. Le champ sémantique des concepts (formé par catégorisation, hyperonymes, hyponymes, synonymes, quasi-synonymes, antonymes, termes fonctionnels, définitions et notes de délimitation d'emploi) a été la base de construction du thésaurus.

Tant le "Tesauro Facetado sobre Café" que le programme d'ordinateur CD-ISIS 2,3 ont permis d'analyser techniquement l'information scientifique et technique sur le café. Pour entrer les données dans l'ordinateur une feuille d'entrée a été réalisée, avec les champs suivants : numéro d'enregistrement du document, classification, auteur (personne physique ou morale), lieu de travail de l'auteur, titre du document, nom de la revue, remarque, notes, sujets et résumés. En utilisant la classification il a été possible de récupérer l'information ordonnée systématiquement et par ses descripteurs, information spécifique à un sujet donné. Ce système permet de réaliser des bulletins de résumés de documents sur le café complétés par des index des auteurs et des matières.

THE POTENTIAL IMPACT OF BIOTECHNOLOGY IN COFFEE

M. R. SÖNDAHL, Ph. D., Senior Director
Cereals and Tropical Crops
DNA Plant Technology Corporation
Cinnaminson, NJ, USA

I. INTRODUCTION

Coffee is by far the most valuable agricultural exporting commodity of the Third World. An average of the 1980-85 world green coffee production equaled 92 million bags (Table 1). There are more than 50 coffee producing countries located in the tropical regions of Latin America, Africa and Asia. For most coffee exporting countries, coffee is the major source of hard currencies. Brazil and Colombia are the main coffee producers and exporters sharing about 45% of the total market (Table 1). Costa Rica is the leading country in productivity with yields of 1,500 kg/ha. Modern coffee farms in Brazil produced 2,400 kg/ha which demonstrates the genetic potential of new coffee varieties (Arabica type). Brazil has ca. 2.6 million hectares (6.5 million acres) of coffee with a total population of more than 3.5 billion trees.

There are two widely cultivated coffee species: Coffea arabica L. and C. canephora Pierre (Robusta coffee). Higher quality beverage is associated with Arabica which is cultivated at higher altitudes. Arabica coffee represents ca. 73% of the commercial coffee of the world and about 99% of the Latin American production (Table 1). Robusta coffee is usually grown in tropical areas at lower altitudes; 80% of the African production is from this species. On a very reduced scale, C. liberica is grown in Liberia, Surinam and Malaysia, C. racemosa in Mozambique, and C. dewevrei in Ivory Coast and Zaire. These species produce beans of lower quality, which is only acceptable in the local market.

Table 1. World Green Coffee Production: Averaged Data of 1980-1985.

Producing Country	Production (million bags)	Arabica (%)	Robusta (%)	Area (million ha)	Yield (kg/ha/ year)
Brazil	27.3	92.7	7.3	2.64	688*
Colombia	13.0	100.0	-	1.01	830
Indonesia	5.5	5.4	94.6	0.79	607
Mexico	4.3	98.6	1.4	0.41	730
Ivory Coast	3.9	-	100.0	1.27	206
Uganda	3.2	6.2	93.8	0.40	456
Ethiopia	3.1	100.0	-	n.a.	n.a.
El Salvador	2.6	100.0	-	0.18	866
Guatemala	2.5	100.0	-	0.29	590
India	2.3	52.2	47.8	0.23	674
Costa Rica	2.0	100.0	-	0.09	1,538
Others	21.8	-	-	-	-
TOTAL	91.5	75.7	24.3	-	-

* Commercial yields of 2,400 kg/ha are common in modern Arabica farms in Brazil.

II. BIOTECHNOLOGY

Plant cells can be manipulated by in vitro techniques in a similar fashion as bacteria and fungi. This means that plant scientists can now work at the cellular and molecular levels and recover intact plants for field testing and commercialization. Molecular biology and cell genetics are not the only methods for crop improvement, but rather they will be used as adjunct tools with plant breeding to release new varieties or hybrids.

A biotechnology flow for coffee improvement is given in Figure 1.

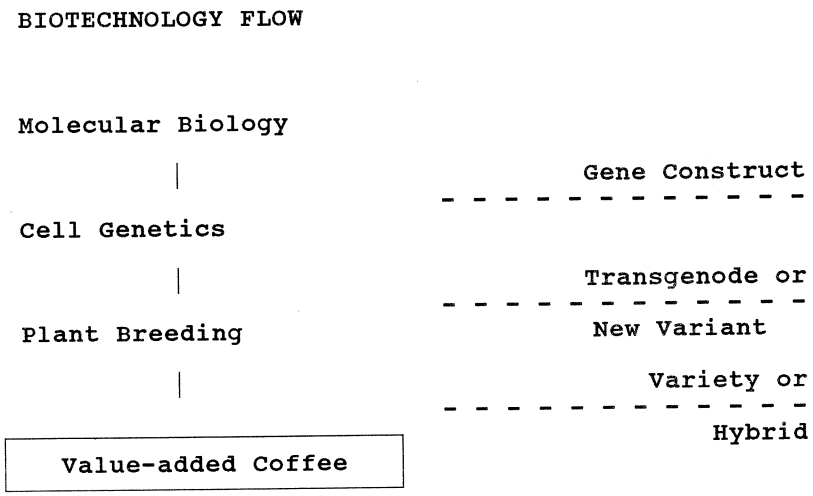


Figure 1

The program can have a molecular component, a cellular phase and breeding activity. The product of a molecular phase is the gene construct in a cassette form with proper initiating and ending sequences and an efficient promoter. The successful introduction of the gene cassette in plant cells (transformation) will produce transgenic plants or transgenodes. Other cellular techniques can lead to new variants without gene manipulation. The breeding phase will permit the selection of a variety (or hybrid) and the release of new value-added coffee trees.

(A) Methods and Outputs

A broad concept of plant biotechnology includes breeding as integral part of an improvement program. Several coffee breeding methods are usually practiced in research programs:

Coffee Breeding: Methods

1. **Selection from natural populations;**
2. **Hybridization and progeny evaluation;**
3. **Backcrossing;**
4. **Interspecific crosses;**
5. **Induced mutation.**

Commercial production of coffee has been greatly improved by plant breeding. High-yielding cultivars have been released after selections from natural populations followed by hybridization, progeny evaluation, and pedigree selection. Backcrossing has been used to transfer specific traits such as short stature, disease, and pest resistance to commercial cultivars. Interspecific hybridization has been applied successfully within three commercial coffee cultivars, Arabusta, Catimor, and Icatu. These efforts have led to yield increases of up to 300% among improved Arabica cultivars released by the Department of Genetics, Institute of Agronomy, Campinas, Brazil. Disease resistant coffee varieties have also been

released by coffee breeding groups in Colombia by CENICAFE (coffee leaf rust) and in Kenya by Central Coffee Research Institute (coffee berry disease), among other coffee research institutions. To date, outputs of coffee breeding activities can be summarized as follows:

Coffee Breeding: Outputs

1. **High-yielding cultivars;**
2. **Disease resistance;**
3. **Insect resistance;**
4. **Nematode resistance;**
5. **Short stature.**

Although coffee is one of the major agricultural products, it has not yet benefited from most technological developments at the cellular and molecular levels as the case of many other cash crops. Several cellular methods can be utilized for coffee improvement programs:

Cell Genetics: Methods

1. **Micropropagation;**
2. **Embryo rescue;**
3. **Somaclonal variation;**
4. **Gametic array;**
5. **Cell suspension;**
6. **Protoplast fusion (cybridization).**

Micropropagation of a high-value perennial species such as coffee represents a simple and immediate method to evaluate the commercial value of selected individual trees on a clonal orchard. The best clones would be propagated again for large-scale coffee production. This approach greatly reduces the time for varietal development for seed propagation and preserves heterozygosity and plasticity. It can be applied to scale-up hybrid individuals in both Robusta and Arabica, as well as selected interspecific hybrids in Arabusta, Icatu, and Catimor populations. Coffee can be propagated by cuttings or axillary buds (nodal cultures of orthotropic branches). Both techniques are useful for establishing clonal orchards but not for large-scale programs. Somatic embryogenesis in bioreactor vessels is the only technique that can deliver in number and competitive price per unit of cloned tree.

Genetic barriers between crosses of distant Coffea species can be overcome by in vitro culture of immature embryos. Wild coffee species are often a genetic source for resistance to disease, insects, salinity, water deficit, agronomic habits (stature, growth cycle, branching, etc.), caffeine content and other characteristics. Upon recovery of a F_1 hybrid by embryo rescue, several cycles of backcrossing and selfing are necessary to select for a desirable gene combination and to eliminate deleterious genes. Embryo rescue programs combined with an efficient micropropagation method would shorten the time to commercialization from wild crosses.

Somaclonal variation explores the natural or in vitro variability of somatic cells after plant regeneration (somaclones). Most of this variability is due to chromosome alterations (breakages, translocations, deletions, aneuploidy, polyploidy), gene amplification, transposons, somatic crossing-over and point mutations. Somaclonal variation is an excellent method to shorten breeding programs, since it provides access to new mutant forms from pre-existing commercial varieties. Somaclones carry very few genetic alterations, and so

preserving the great majority of desirable genetic make-up of the donor commercial variety.

The anther culture of F_1 hybrids and the recovery of homozygous individuals permits exploration of the entire array of recombinants (gametic array) between the two parents. Many useful homozygous individuals could be selected using controlled pollinations between a high-yielding variety and a wild species. They would carry most of the commercial traits and just a few desirable characteristics of the wild parent. This is a very powerful technique since it not only gives access to new recombinant forms as provide them in a homozygous form. In coffee, the recovery of an individual with 97% homozygosity would take at least 15 years by standard breeding methods. Gametic array can be used in a varietal improvement program of coffee, whereby the selected homozygous individual can be backcrossed with existing varieties to introduce plasticity for superior performance in multiple locations. It also could be the only practical method to produce large numbers of inbred lines in a short period of time in a program aimed to develop commercial hybrid coffee.

Cell suspension cultures with regeneration capacity is an ideal system to select spontaneous or induced mutations using either positive or negative selection pressures. Amino-acid analogues, herbicides, pathotoxins, heavy metals and other agents can be used as selective agents. Embryogenic cell suspensions are also an excellent system to provide donor cells for protoplast cultures.

Protoplasts are naked cells from which cell walls have been removed by enzyme digestion. Proper techniques will release viable protoplasts that will form new cell walls and will divide again to form microcolonies. Protoplasts from highly embryogenic cell lines will have the greatest change of regenerating entire plants again. Protoplast cultures are an excellent system for cell fusion (somatic hybridization), cell cytoplasm fusions (cybridization), organelle transfer, or direct gene uptake. Coffee improvement programs could use this cellular technique to perform very distant crosses and selection of recombinant types. In other cases, transfer of cytoplasmic genes from wild species to whole protoplasts of commercial cell lines to have access to new sources of disease resistance, cytoplasmic male sterility (cms), or other desirable traits.

In summary, cell genetics techniques can provide the following series of outputs:

Cell Genetics: Outputs

1. **Micropropagation;**
2. **New variants;**
3. **Homozygous lines;**
4. **Mutant cell lines;**
5. **Interspecific hybridization;**
6. **Distant hybridization, organelle transfer;**
7. **Gene transfer.**

Molecular biology offers the ultimate technology for providing coffee plants capable of fulfilling specific agronomic, processing, and consumer needs. Rapid advances have been made in this technology which include:

Molecular Biology: Methods

1. **Gene tagging;**
2. **Gene isolation;**
3. **Cassette construction;**
4. **Transformation/regeneration.**

Identification and isolation of useful genes is still the one great limitation in applying this technique on a more routine basis. Another great barrier is the availability of an adequate cell system that permits efficient gene transfer and regeneration (transformation). The classical method for gene identification is based on reverse transcriptase of RNA, which is limited to genes that produce abundant amounts of RNA and proteins. A more recent method of gene identification is based on transposons (gene tagging), which now permits the isolation of any gene in plants as long as the transposon system is applicable. Once the gene is isolated, the next step is to construct a proper cassette expression system with proper initiating and ending sequences and an efficient promotor. Site or organ specific promotors are now being developed in such a way that the expression of an inserted gene can be restricted to one plant organ or tissue. This level of specificity can be very useful for coffee, since resistance genes for disease insects, or herbicides can be directed to vegetative parts only (leaves, stems, roots) and thus avoiding the cherry tissues. Inversely, genes that can affect the cherry qualitative properties can be targeted to coffee fruits leaving vegetative parts unaffected. After completion of the cassette construct, gene insertion in plant cells will be accomplished by one of the following methods:

Transformation: Methods

1. **Indirect gene transfer**

   Agrobacterium
   Virus

2. **Direct gene transfer**

   PEG uptake
   Microinjection
   Electroporation
   Ballistic

A successful molecular program requires the combination of good cassette expression systems and efficient cell and tissue culture systems. Transformation is the interphase between molecular and cell genetics as regeneration is the transition between tissue culture and breeding (see Figure 1). Indirect transformation takes advantage of natural vector systems (Agrobacterium tumefaciens, CAM virus) to introduce DNA inside plant cells. The direct gene transfer is based on physical methods to introduce DNA. PEG (polyethylene glycol) uptake is based on protoplast uptake of isolated DNA in presence of PEG. Microinjection is a direct DNA insertion into protoplasts or young plant cells with the aid of microneedles attached to a micromanipulator. Electroporation causes small holes in the protoplast cell membrane by short pulses of a DC electrical current and thus facilitating DNA uptake. The ballistic method is based on high speed particles (gold or tungsten, 0.2-3.0μm diameter) coated with DNA. Among the direct methods of gene transfer, this is the only one that does not require a protoplast/regeneration system.

Coffee is amenable to almost all transformation methods (except virus). Coffee leaf discs would be an excellent system for Agrobacterium and coffee protoplasts

with regeneration capacity would permit the practice of three direct gene methods. Embryogenic tissue (in liquid or solid media) would provide adequate target cells for ballistic technique.

The products of a molecular program can be summarized as follows:

Molecular Biology: Outputs

1. **New products;**
2. **Gene switch on/off;**
3. **RFLPs.**

The expression of new gene products is the most frequent goal in molecular programs. However, in some cases the benefit is to turn on silent genes (or enhance low expressing genes) or to turn off undesirable genes. The kinds of new genes to be inserted in coffee will depend on the focus of interest, i.e., at the farm level, processing or consumer benefits. Finally, RFLPs (Restricted Fragment Length Polymorphism) are small segments of DNA cut by specific DNA cutting enzymes. These fragments are an excellent source for making molecular fingerprinting identification of varieties or hybrids as well as a tool to assist breeding of quantitative traits.

(B) **Present Status in Coffee**

The development of biotechnology in coffee has reached today the following technological areas:

Coffee Biotechnology: Present Status

1. **Breeding;**
2. **Nodal culture;**
3. **Embryo culture;**
4. **Somatic embryogenesis**
   - **stem,**
   - **leaf;**
5. **Cell suspension;**
6. **Protoplast regeneration**
   - **Robusta.**

Certainly breeding has been the most traditional method applied to coffee improvement in both Arabica and Robusta types (Carvalho 1988; Charrier and Berthaud, 1988). A recent review on the progress of coffee tissue culture (Sondahl and Loh, 1988) can provide an extensive list of original publications.

It is clear that coffee is an excellent species to benefit from biotechnology, since it has been demonstrated to be amenable to a vast array of *in vitro* techniques. What is needed now is the missing links between techniques and well-structured programs to translate potential into reality. Due to its economical and strategic importance, it is believed that coffee will be among the first examples of biotech improvement in fruit trees.

(C) Next Advances in Coffee

There are still a few techniques that have not been described in coffee and which will be extremely important to develop in order to guarantee further improvements in this crop:

Coffee Biotechnology: Next Advances

1. **Micropropagation by SE;**
2. **Protoplast**
   - **regeneration in Arabica,**
   - **somatic hybrids;**
3. **Anther culture (dihaploids);**
4. **Transformation.**

Somatic embryogenesis (SE) has been described in both Arabica and Robusta coffee and constitutes one model system for perennial species (Sondahl and Loh, 1988). The next step is to exploit somatic embryogenesis in large scale (for example, in liquid culture in bioreactors) for extensive micropropagation programs.

Despite the fact that cell suspensions with regeneration capacity have been described for Arabica coffee, no protoplast regeneration system has yet been reported. The availability of an efficient protoplast regeneration system in Arabica commercial cultivars is critical to coffee improvement through molecular biology (gene uptake) and cell genetics (somatic hybridization).

Anther culture has a dual benefit to produce homozygous plants (dihaploids) in one generation and to give access to new recombinant forms (gametic array). This technique has proved very valuable in several annual plant species, but its ultimate value will be with perennial trees like coffee where acceptable level of homozygosity is only achieved after 15-18 years. Coffee is one outstanding example of a fruit tree highly dependent on seeds to establish new plantations. In fact, any micropropagation technique in coffee has to be competitive with the US$0.10-0.15 cost per seedling at the nursery stage. So coffee breeding programs and commercial plantations will benefit from the use of anther culture techniques since it can provide homozygous seeds in one cycle (3 years). After mastering the technology of anther culture and the recovery of homozygous lines, the next logical step would be the development of "true hybrid systems" in coffee.

Transformation in coffee, even it has not been described yet, is a technological step feasible to execute considering the regeneration system already available. The missing link is the existence of a coffee improvement program that targets the transfer of useful genes to this species and so justifies the costs of this execution.

III. COFFEE IMPROVEMENT

Coffee breeding and selection have made excellent contributions to increase yield. The most recent advances in cell genetics and molecular biology will lead to further improvements in coffee agriculture and bean quality beyond breeding limits and within shorter time frame. Although coffee is a perennial species, somatic embryos can be incuded at high frequency from leaf callus, cell suspensions and protoplasts. Thus, coffee is an ideal in vitro model system for biotech improvement programs.

Coffee improvement through biotechnology can focus on three different areas:

1. Agronomic characteristics;
2. Processing industry;
3. Final consumer.

The net profit of a coffee farmer depends on the productivity of the plantation and his direct and indirect costs. In Brazil, direct costs constitutes about 63% equally divided between fertilization/pesticides and labor costs. It is important to increase productivity to competitive levels but it does create increased supply which will lower the commodity price. To decrease coffee farming costs, the new technologies have to address fertilizer efficiency, disease and pest resistance and labor utilization. Another farming benefit is to grow value-added coffee varieties that will address special market needs and permit higher profit margins.

(A) **Agronomic Benefits**

A series of agronomic benefits can be target for coffee biotech improvement programs:

1. Increase yield;
2. Micropropagation;
3. Disease resistance;
4. Insect resistance;
5. Drought tolerance;
6. Cold tolerance;
7. Resistance to heavy metals;
8. Herbicide resistance;
9. Diverse maturation cycles;
10. Development of true hybrid system.

Increased yields can be achieved by new varieties that are more efficient in the partition between vegetative growth and fruit load or by new cultivars with increased efficiency for nutrient absorption and utilization. Nitrogen and potassium are the two most expensive elements in a coffee plantation, and thus should be targeted first. The complete understanding of the biochemical mechanism and the genetic basis of mineral uptake is long overdue. Natural resistance to disease and insects would reduce the cost of agrochemical usage. Tolerance to environmental conditions (water deficit, cold, or heavy metals) would improve coffee production in marginal areas and protect farmers against seasonal fluctuations. The use of herbicides would reduce labor costs. Herbicide resistance in coffee should focus on total biodegradable herbicides (like Round-up, Basta and other similar products) to minimize soil and underground water residues. Coffee varieties with short (3 months), mid (6 months) and long (9 months) maturation cycles will permit a more even distribution of the harvesting and processing activities at the farm level. Finally, one of the most far reaching coffee farm benefit will be the development of "true hybrid system" in both Arabica and Robusta coffee. Modern hybrids would bring the consistent quality and yield and diverse hybrids would permit the diversity and specificity to different ecological niches.

(B) **Processing Benefits**

There are several characteristics of coffee that could have some benefits to the coffee industry:

1. Increased total soluble solids;
2. Larger and more uniform bean size;
3. Bean density and texture;

4. Uniform maturation;
5. Diverse maturation cycles.

These new traits may be incorporated into existing coffee varieties through cellular and molecular methods in a short period of time. Somaclonal variation, which produces small genetic changes while maintaining the overall agronomics of the donor variety, could be the first approach until the molecular basis of these traits are better understood. An increase in soluble solids will provide greater yields of soluble coffee. Alterations of the carbohydrate metabolism in the coffee endosperm leading to the accumulation of a higher fraction of galactomannans would accomplish this goal. Uniform bean size is highly benefitial during the roasting process and larger bean size is always desirable. Bean density and texture can affect coffee yields, while uniform maturation would minimize the presence of immature beans, which gives off flavor to the final product. Diverse maturation cycles would also be a benefit to the coffee processor, since it would decrease the underripe and overripe bean fractions with an overall quality improvement. Another indirect benefit of this approach would be the reduction of the off-flavor "Rio Coffee." Rio Coffee develops due to cherry fermentation mainly after being in contact with soil due to fruit abscission. Different maturation cycles would permit the farmer to harvest (manually or mechanically) at peak maturity with minimal risks of abscission of overripe cherries.

(C) Consumer Benefits

Two aspects that will directly affect the end user is coffee quality and price. Improved aroma and taste is always desirable in coffee. Increased levels of sulfur-containing amino-acids in the coffee bean will contribute to the enhancement of aroma. Enhancement of reducing sugars and oil content may improve coffee quality. Varying levels of organic acids (high to low) would address different consumer requirements. Coffee flavor is very complex (more than 400 identifiable peaks in gas chromatography) and so much more difficult to manipulate. The best approach to premium coffee flavor is to harvest at peak maturity from trees growing in optimum growing conditions (humidity and temperature). Varying caffeine content (high, medium, low and zero) will address some of the consumer needs. There are coffee drinkers that prefer high caffeine and others with no caffeine, while some coffee drinkers prefer high to medium caffeine in the morning and medium to no caffeine toward the end of the day. Varying caffeine levels would create specialty brands without any extra cost to the processor and without any price or quality penalties to the final consumer.

An overall scheme for coffee improvement through biotechnology is illustrated in the scheme given below.

COFFEE BIOTECHNOLOGY

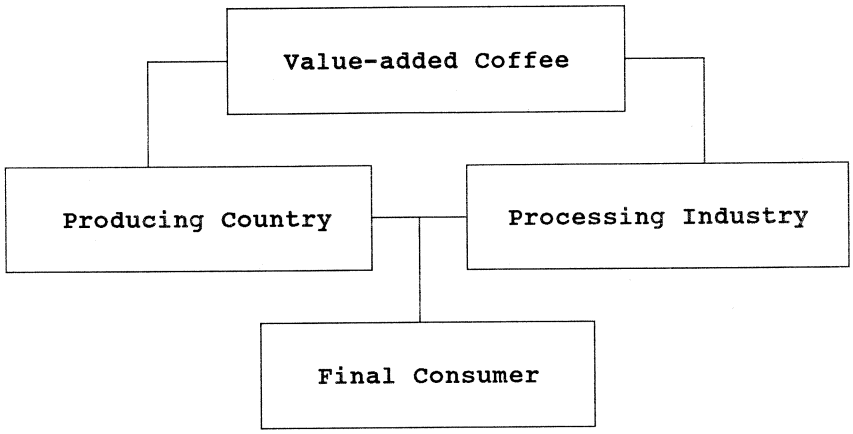


Figure 2

The final expression of plant characteristics is determined by genotype and environment. Coffee quality depends primarily on the genotype but is also highly susceptible to environmental fluctuations. Plantation management, which determines the microclime, nutrition level, seed processing techniques, etc., has a major impact on the final coffee quality. Higher beverage quality is produced from Coffea arabica cultivars grown in higher elevations. Crosses between Arabica and other coffee species confirm that Arabica genes are responsible for superior beverage quality. Postharvest processing and storage also have a major role in determining final coffee quality.

Coffee consumption is decreasing in both per capita and total volume in the USA, which is the largest single country market of coffee responsible with ca. 30% of total world imports. Stable prices, superior quality, and attention to consumer needs will be the only long-term strategy to overcome this tendency. Biotechnology is just a series of techniques that can more efficiently and, in most cases, in a shorter period of time, bring value-added to this industry. In most of these coffee improvement programs, an association of the producing sector (coffee farmer) and the processing/marketing company(s) will bring the ultimate success. The availability of certain value-added coffee would open opportunities for market niches for specialty coffee brands. Most agronomic benefits will bring quality and price stability to the commodity market. Increase the levels of coffee farmer net return will also contribute to the long-term success of this industry.

Opportunities for Coffee Biotechnology

- Government Sector:
  - Agricultural benefits to coffee farmers.
- Private Sector:
  - Opportunity to short-fuse variety development with added value for the processor or final consumer.

IV. SUMMARY

Plant cells can be manipulated by in vitro techniques in a similar fashion as bacteria and fungi. This means that plant scientists can now work at the cellular and molecular levels and recover intact plants again. Although coffee is one of the major agricultural products, it has not yet benefited from technological developments similar to those existing in other cash crops. Coffee breeding and selection has made excellent contributions to increased production (especially within Arabica species). Recent advances in cell genetics and molecular biology would lead to further improvements in coffee agriculture and bean quality.

Applications of modern biotech techniques will allow coffee researchers to target improvement of specific quality characteristics and to achieve these objectives quicker. Although coffee is a perennial, somatic embryos can be induced from leaf and stem at high frequency. Regeneration from embryogenic cell suspension and protoplast is also possible. Thus, coffee is an ideal in vitro model system for improvement via cell and molecular genetics.

The impact of biotechnology to lower coffee farming costs has to focus on fertilizer efficiency, disease and pest resistance, tolerance to adverse environmental conditions and lower labor utilization, since these are the most important items on direct costs of a typical coffee farm. Characteristics such as uniform maturity, a shorter maturation cycle, enhanced total soluble solids, larger and more uniform bean size, and improved bean density and texture would benefit the coffee processor. These traits could be targeted via cellular and molecular technologies today. Improved aroma and taste are two qualities which directly affect the end user--the coffee drinker. Caffeine content is also a major consideration. Both high- and low-caffeine beans may be desirable, albeit to different market sectors.

Coffee is the most important commodity among tropical countries, generating ca. $12 billion in the world market. Coffee-producing countries are responsible to increase farmer revenues, stabilize production, and deliver consistent quality. Coffee-producing countries would benefit from agricultural gains, and consuming countries will enjoy more stable prices and superior beverage quality. To maintain or increase coffee per capita consumption, price and quality have to be included in a long-term strategy for all coffee-producing countries. Research and marketing programs carried by coffee-producing countries should be in focus with modern trends in consuming countries. Producing countries that embark early on in coffee improvement programs would enjoy market leadership and long-term stability for such commodity.

V. REFERENCES

CARVALHO, A. 1988. Principles and practice of coffee plant breeding for productivity and quality factors: Coffea arabica, pp. 129-165. In: Coffee Agronomy, R.J. Clarke and R. Macrae (eds.), Vol. 4, Elsevier Applied Sci., London.

CHARRIER, A., and BERTHAUD, J. 1988. Principles and methods in coffee plant breeding: Coffea canephora, pp. 167-197. In: Coffee Agronomy, R.J. Clarke and R. Macrae (eds.), Vol. 4, Elsevier Applied Sci., London.

SONDAHL, M.R., and LOH, W.H.T. 1988. Coffee Biotechnology, pp. 236-262. In: Coffee Agronomy, R.J. Clarke and R. Macrae (eds.), Vol. 4, Elsevier Applied Sci., London.

Résumé

Impact potentiel de la biotechnologie chez le caféier.

Les cellules végétales peuvent être manipulées in vitro, comme les champignons et les bactéries. Ceci signifie que les chercheurs qui travaillent sur les plantes peuvent maintenant le faire aux échelles cellulaire et moléculaire et obtenir des plantes entières. L'amélioration et la sélection du caféier sont à l'origine d'une meilleure production (particulièrement au sein des espèces d'Arabica). De récents progrès en génétique cellulaire et en biologie moléculaire devraient conduire à de nouvelles améliorations en caféiculture et dans le domaine de la qualité du grain.

L'emploi de la biotechnologie, en vue de l'abaissement des coûts d'exploitation du caféier, doit être axé sur l'efficacité des engrais, la résistance aux maladies et déprédateurs, la tolérance aux mauvaises conditions de milieu, la diminution du besoin de main-d'oeuvre, étant donné que ce sont les facteurs les plus importants qui influent sur les coûts directs d'une plantation caféière type. Des caractéristiques telles que : une maturité uniforme, un cycle de maturation plus court, une plus forte teneur en extraits secs solubles, une meilleure uniformité des grains, une densité et une texture des grains améliorées seront profitables aux industriels qui traitent le café. Ces caractéristiques pourraient être obtenues par des technologies réalisées à l'échelle cellulaire ou moléculaire.

LES CAFÉIERS SAUVAGES DE CÔTE D'IVOIRE ET DE GUINÉE : BILAN DES MISSIONS DE PROSPECTION EFFECTUÉES DE 1984 A 1987

D. LE PIERRÈS *, P. CHARMETANT **, A. YAPO ***, T. LEROY ***,
E. COUTURON ****, S. BONTEMS ***, H. TEHE ****

* ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex (France).
** IRCC, 01, B.P. 1827, Abidjan 01 (Côte d'Ivoire).
*** IRCC, B.P. 808, Divo (Côte d'Ivoire).
**** ORSTOM, B.P. 434, Man (Côte d'Ivoire).

INTRODUCTION.

Les caféiers sauvages sont une composante de la flore forestière africaine. Ils occupent une très vaste étendue dans la zone intertropicale humide entre l'Océan Indien et l'Océan Atlantique. D'après Chevalier (1), et Portères (2, 3) la partie la plus occidentale se trouve en Guinée où existent les quatre espèces typiques de l'Afrique de l'Ouest: *Coffea canephora, C. liberica, C. stenophylla, C. humilis*, ainsi que des genres voisins.

Les études de Berthaud (4) sur les *Coffea* ont confirmé que la région guinéenne est un centre de diversification des caféiers. Ceci est particulièrement vrai pour l'espèce cultivée de basse altitude *C. canephora*, pour laquelle cet auteur a mis en évidence une structure en deux grands groupes qui distinguent les formes guinéennes et congolaises, dont les hybrides intergroupes présentent un intérêt pour l'amélioration du Robusta.

Il est alors nécessaire de disposer d'une bonne représentation des diverses formes pour augmenter la base génétique. Malheureusement l'érosion génétique naturelle déjà ancienne a fait qu'en particulier les génotypes de forme guinéenne de *C. canephora* sont sous-représentés dans nos collections vivantes (5), et maintenant menacés irrémédiablement de disparition par la déforestation active au profit des cultures vivrières. La recollecte urgente de ces caféiers de l'Ouest et principalement des *C. canephora* "guinéens" a donc fait l'objet de quatre prospections ces dernières années: une en Guinée (6),et trois en Côte d'Ivoire (7, 8, 9)

Ces prospections financées en partie par la C.E.E.,s'inscrivent dans le cadre d'un programme d'amélioration des caféiers de l'Opération Conjointe ORSTOM-I.R.C.C.. Elles font suite à une série de prospections de caféiers sauvages effectuées depuis 1966 sur la quasi-totalité de l'aire naturelle de dispersion des caféiers (10, 11).

Après avoir présenté les lieux prospectés, nous ferons succinctement un bilan des espèces ramassées, puis nous examinerons plus en détail les problèmes de prospection des formes spontanées de l'espèce cultivée *C canephora* dans la partie occidentale de son aire d'origine.

LES STATIONS DE COLLECTE.

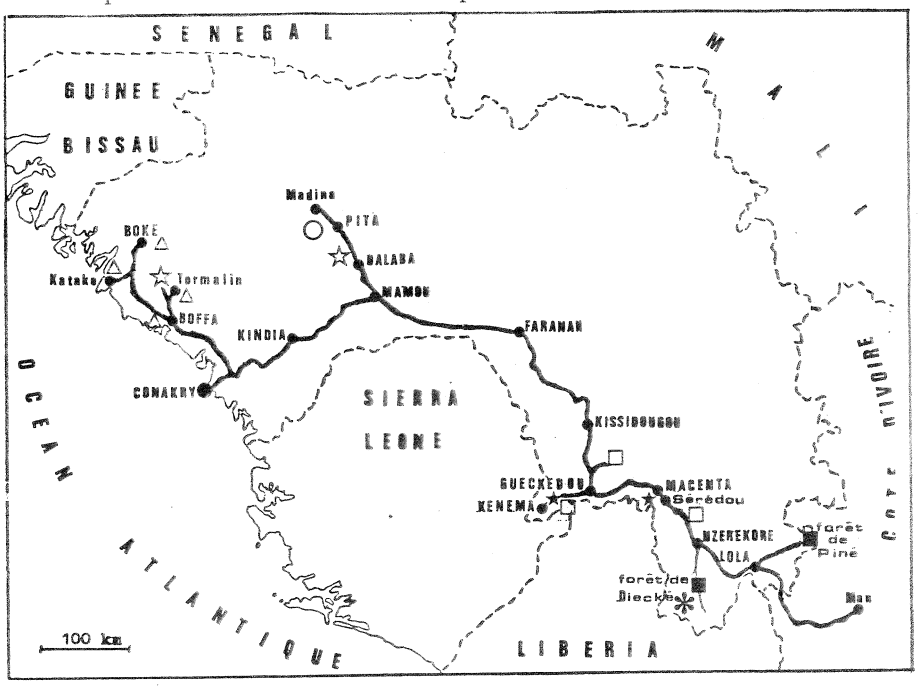
Quatre prospections ont été organisées entre 1984 et 1987 (voir tableau 1) :
- dans la région de Danané en décembre 1984 en Côte d'Ivoire;
- dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire en 1986;
- sur trois des quatre régions de la Guinée en 1987;
- dans le Sud-Est de la Côte d'Ivoire en avril 1987.

Tableau 1 : Les prospections de 1984 à 1987 en Côte d'Ivoire et en Guinée. (équipe ORSTOM - I.R.C.C.).

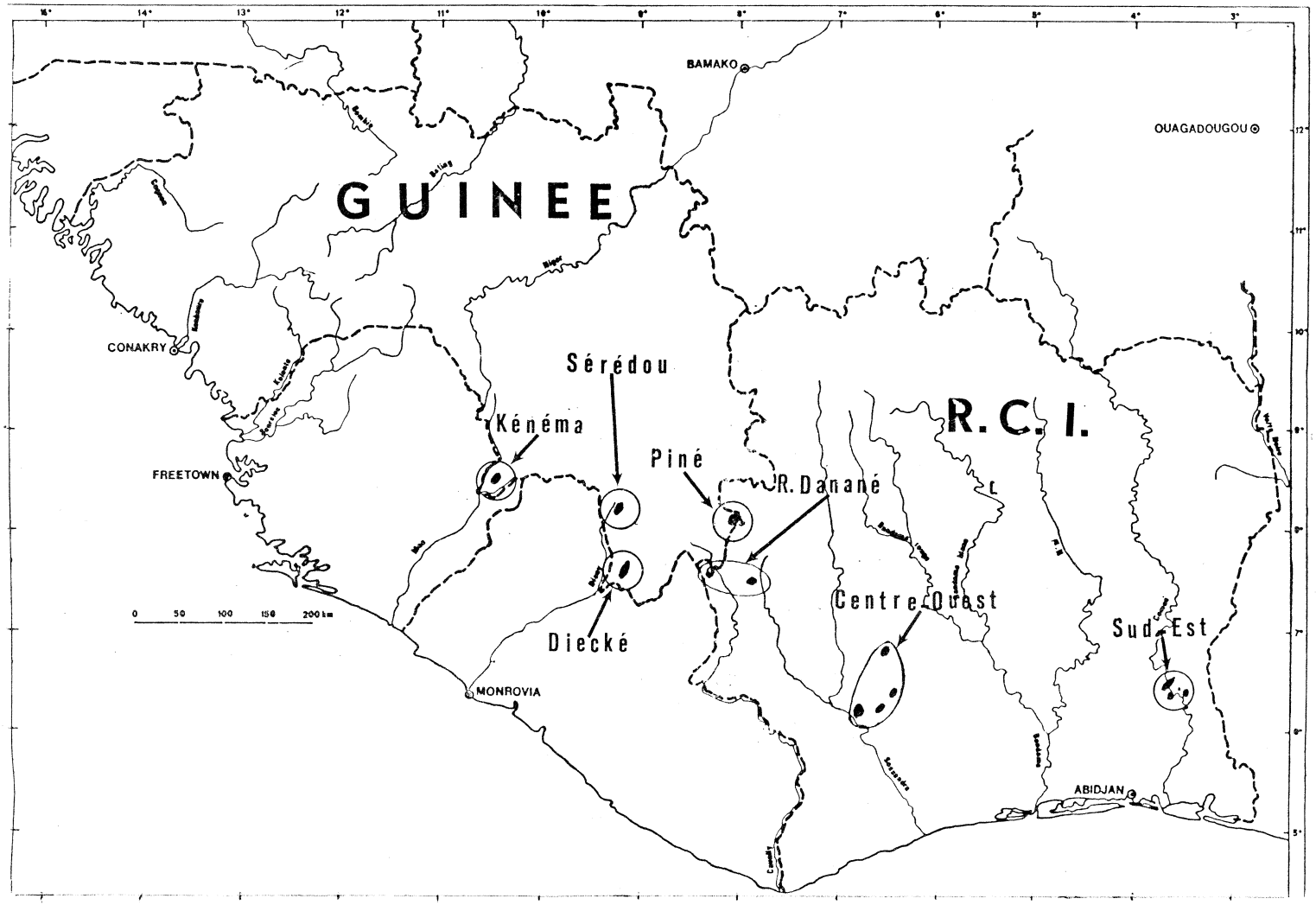
dates	lieux	prospecteurs
12 -14 décembre 1984	Région de Danané Côte d'Ivoire	3
24 - 27 février 1986	Centre - Ouest Côte d'Ivoire	4
1er fév.-2 mars 1987	Guinée Forestière Guinée Maritime Moyenne Guinée	4
7 - 11 avril 1987	Sud - Est Côte d'Ivoire	4

Nous noterons que chacune des prospections en Côte d'Ivoire a duré moins d'une semaine, tandis que celle de Guinée s'est déroulée sur un mois Trois à quatre personnes: généticiens et botanistes de l'ORSTOM et de l'I.R.C.C. composaient les équipes de prospecteurs.

La première carte indique les itinéraires et les stations de collecte en Guinée sur trois régions de forêts pouvant abriter des caféiers d'après les travaux de Chevalier et de Portères (1,3).



Carte 2 Les prospections des *Coffea* en régions forestières de Guinée et de Côte d'Ivoire (1984 - 1987).



En Guinée Forestière, première zone visitée, l'espèce *C. canephora* ne serait présente que dans cette région où existent des forêts primaires et secondaires, dégradées ou non.

En Guinée Maritime, il n'existe plus de forêts. Celles-ci ont été brûlées faisant place à une savane arbustive avec des palmiers à huile à l'état sauvage. Quelques endroits boisés persistent le long des marigots. La collecte des caféiers spontanés n'y a pas été possible.

En Moyenne-Guinée, les niches pouvant abriter les caféiers sauvages ont complètement disparu.

La seconde carte situe les proximités des stations de collecte en Guinée et Côte d'Ivoire, où nous avons trouvé des caféiers sauvages.

- en Guinée Forestière. Parmi les rares forêts accessibles, ont été prospectées Diecké, Piné, Sérédou et Kénéma.

a) Forêt de Diecké

A Diecké, c'est une grande forêt ombrophile dense, humide sempervirente à épiphytes. La voûte forestière est fermée. Sur les nombreuses stations de collecte, on n'a pas trouvé de *C. canephora*, mais seulement des *C. humilis* et des genres voisins.

b) Forêt de Piné

La forêt de Piné située à la frontière de la Côte d'Ivoire est très petite. C'est une formation dense, humide et semi-décidue à caractère secondaire. Les arbustes très nombreux comprennent des *C. canephora* et des genres voisins aux *Coffea*.

c) Forêt de Sérédou

La forêt de Sérédou fait suite à la réserve forestière de Ziama. Elle est montagnarde. Nous y avons trouvé des *C. liberica*, mais pas de *C. canephora*.

d) Forêt de Kénéma

La forêt forme au sommet des collines quelques petits îlots forestiers denses humides semi-décidus au milieux de plantations. Les chances d'y trouver des *C. canephora* sauvages sont minces. Dans le sous-bois poussent des *C. liberica*.

- En Côte d'Ivoire :

a) La première zone à l'Ouest.

Elle est située autour de Danané qui est une région de caféiculture. Les forêts primaires ou secondaires, et petites. On y rencontre partout des *C. humilis*, tantôt *C. liberica* et *C. canephora*.

b) La seconde zone dans le Centre-Ouest.

On y trouve de belles forêts abritant des populations de *C. canephora*, de *C. humilis*, et parfois quelques pieds de *C. canephora*.

c) La dernière région au Sud-Est.

Elle possède encore quelques lambeaux de forêts primaires entourés de plantations de Robusta. Aucun *C. canephora* n'a été ramassé à cause de la proximité de ces plantations. On y a collecté des *C. stenophylla* et des *C. liberica*.

BILAN.

Le deuxième tableau renseigne sur les effectifs de matériel ramassé sous forme de baguette ou de jeunes plants. Les quatre espèces endémiques de la zone guinéenne ont été collectées, mais généralement en faible quantité à cause de la dégradation des forêts qui a réduit la taille des populations.

Tableau 2 : Effectifs des *Coffea* collectés en Guinée et en Côte d'Ivoire de 1984 à 1987.

		C.canephora		*C.humilis*	*C. liberica*		*C.stenophylla*	
		+	I	+	+	C	+	C
Guinée		49 / 1*	10	19 / 2	6 / 2	17		114
Côte d'Ivoire	Rég. Danané	19 / 4		17 / 4	3 / 1			
	Centre-Ouest	75 / 4		31 / 4	4 / 1			
	Sud-Est				21 / 1		14 / 2	
Total		143 / 9	10	67 / 10	34 / 5	17	14 / 2	114

+ = Populations sauvages ; I = Introduits ; C= autour des Cases

* numérateur : génotypes collectés à l'état végétatif ;
dénominateur : nombre de populations

143 génotypes de *C. canephora* issus de 9 populations ont été toutefois recueillis. Nous noterons également dans la collecte en Guinée la grande diversification des *C. stenophylla* qui possèdent d'autres origines que celles de nos collections. Parmi ceux-ci nous avons retrouvé le caféier de Kamaya ou *C. affinis* qui est une forme hybride plus ou moins stabilisée entre *C. stenophylla* et *C. liberica*. L'effectif des *C. humilis* a été volontairement restreint, car ils n'ont pas un intérêt immédiat en amélioration. De nombreux genres voisins ont été collectés partout en Guinée

Des observations phytosanitaires ont été faites *in situ*. La trachéomycose due à *Fusarium xylaroïdes* a été recherchée, même en plantation; on ne l'a pas trouvée. La rouille orangée *Hemileia vastatrix* s'observe un peu partout sauf sur les *C. liberica* et les *C. stenophylla*. La rouille farineuse *H. coffeicola* n'a pas été vue, même sur *Psilanthus ebracteolatus*. Les attaques des insectes sont importantes. Aucun fruit n'a pu être ramassé en forêt à ces époques de prospection, sauf sur *C. humilis* et *P. mannii*.

Ce matériel est installé en collection à l'I.R.C.C. de Divo en Côte d'Ivoire. Un double du matériel de Guinée a servi à démarrer une collection dans ce pays.

EXAMEN DETAILLE DES PROSPECTIONS DE C. CANEPHORA.

Les résultats figurent sur le tableau 3.

On note que 9 populations seulement ont été trouvée, parfois avec un seul individu. Sur l'ensemble, il n'y a que deux populations importantes : celle de Piné en Guinée, et celle de Pelezi 2 dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire Elles sont situées dans des forêts secondaires. Toutefois la forêt primaire peut contenir des *C. canephora* comme à Gbapleu. Plus de la moitié des stations prospectées ne contiennent pas de *C. canephora*. Ceci limite et rend les collectes de matériel varié très difficiles

Nous avons analysé ce matériel en électrophorèse afin de bien les identifier par rapport aux groupes guinéens et congolais définis par Berthaud. Quatre enzymes discriminants permettent de les caractériser (tableau 4) pour les loci PGD1, ICD, PAC2, et PGM2.

Tableau 3 : Résultat des prospections de *C.canephora* spontanés par station de collecte en Guinée et en Côte d'Ivoire.

Prospections	Populations	arbres	absence	forêts I	forêts II	*
Guinée Forestière 1987	Diecké (x stations)		0	x		
	Piné	49			x	
	Sérédou (x stations)		0	x		
	Kénéma		0	ilôts		
Ouest Côte d'Ivoire 1984	Sangouiné 1-3		0		x	
	" 4	2			x	
	Gbapleu 1	3			x	
	" 2	13		x		
	" 3	1		x		
	Daleu		0	x		
Centre-Ouest Côte d'Ivoire 1986	Dobia	6			x	
	Drekua		0		x	
	Sabregue	9			x	
	Buyo 1		0		x	
	" 2		0		x	
	Pelezi 1		0	x		
	" 2	42		sèche		
	" 3		0	semi-		
	Gonaté	18		décidue		
Est Côte d'Ivoire 1987	Bossé-Matié (x stations)		0	x		
	Sud Zaranou (x stations)		0	plus de forêt		
	W-Yakassé		0	plantations Robusta		

Stations sans *C. canephora* > 13/22

* Forêts primaires (I) ou secondaires (II)

Tableau 4 : Caractéristiques de 4 enzymes discriminants pour les groupes congolais et guinéens de *C. canephora* (Berthaud 1986).

enzymes	loci analysés	structures	allèles		
			guinéens	congolais	? ?
6 phospho-gluconates déshydrogénases	PGD1	dimère	P	R	ø
Isocitrates déshydrogénases	ICD	dimère	D, H	F	
phosphatases acides	PAC2	dimère	E	B,D,F,G,H	
phospho-glucomutases	PGM2	monomère	F	H	ø

Les enzymes sont : 6 phosphogluconates déshydrogénases, isocitrates déshydrogénases, phosphatases acides, et phosphoglucomutases. Des allèles distincts permettent de bien séparer les deux groupes dans chacun des locus étudiés

Tableau 5 : Dénombrement des allèles typiques guinéens (G) ou congolais (C) aux loci : PGD1, ICD, PAC2, et PGM2 pour les populations *C. canephora*.

Populations	effectifs analysés	PGD1		ICD		PAC2		PGM2	
		G	C	G	C	G	C	G	C
Piné	42	57	9	76	8	77	7	75	9
Sangouiné	2			2	2	2	2		
Gbapleu 1	3		6		6		6		6
Gbapleu 2	13	10	2	24	2	18	8	22	4
Gbapleu 3	1	2		2		2		2	
Dobia	6	7	5	5	7	8	4	8	4
Sabregue	8	3	3	10	6	8	8	6	10
Pelezi 2	37	73	1	73	1	71	3	72	2
Gonaté	18	27	1	26	10	27	9	29	7
Total	130	179	27	218	42	213	47	218	42
Fréquences allèliques (%)		87	13	84	16	82	18	84	16

Le tableau 5 montre que le dénombrement des allèles typiques à ces loci pour les différentes population. Les fréquences allèliques sont calculées globalement à cause du faible effectif dans chaque population. On constate d'une façon générale, que les allèles typiques guinéens sont très fréquents : de l'ordre de 85 %. On note qu'une seule des populations : Gbapleu 1, est complètement congolaise.

Tableau 6 : Dénombrement des phénotypes d'après les 4 loci : PGD1, ICD, PAC2, et PGM2.

	Purs Guinéens	Purs Congolais	F1 G x C	B.C.,Fx (F2...)	Total
Piné	31		4	7	42
Sangouiné				2	2
Gbapleu 1		3			3
Gbapleu 2	11				13
Gbapleu 3	1				1
Dobia	2	1		3	6
Sabregue			1	2 + 3*	8
Pelezi 2	34		1	1 + 1*	37
Gonaté	7			10 + 1*	18
Cumul.	86	4	6	25 + 5*	130
%	66	3	5	23	

* Phénotypes hybrides de groupes, homozygotes pour les 4 loci.

Le tableau 6 indique par population, d'après le génotype de chaque arbre, l'appartenance de ces derniers soit aux groupes purs : guinéen,ou congolais, soit encore aux hybrides intergroupes : F1, back-cross,ou des générations ultérieures (F2,...Fx). Les deux tiers des arbres prospectés sont des purs guinéens, 3 % seulement congolais, et le reste est hybride.

CONCLUSION.

Nous soulignons encore une fois qe la déforestation fait disparaître le patrimoine génétique des espèces du genre *Coffea*. Dans certaines zones, il n'est malheureusement plus possible de trouver un caféier. Il serait souhaitable, afin d'éviter la disparition complète des forêts tropicales en Afrique, de transformer d'urgence les quelques lambeaux de forêts restants en réserves forestières. Je pense à l'intérêt de ceci surtout pour les *C. humilis* qui ne poussent pas bien en dehors de leur milieu naturel.

Généralement les populations sont très réduites, quelquefois à un ou deux caféiers, et dans ce cas nous avons vu que leur origine est douteuse. La bonne efficacité de ces prospections a été montrée sur les grandes populations. Hélas! celles-ci sont maintenant très rares.

Néanmoins ces récentes prospections auront permis de compléter nos collections pour toutes les formes typiques de l'Afrique de l'Ouest, et en particulier des *C. canephora* dont la reconnaissance des génotypes a été rendue possible par l'électrophorèse d'enzymes. Pour cette dernière espèce, on a pu identifier 86 guinéens purs issus de six nouvelles populations, qui permettent d'augmenter de manière significative la base génétique du groupe guinéen des collections entrant dans le programme d'amélioration du Robusta.

A l'avenir, s'il fallait renouveler les prospections de *C. canephora* guinéens en Afrique de l'Ouest, nous proposons de collecter cette fois du matériel dans les vieilles plantations, où nous avons pu montrer que la fréquence des allèles guinéens des enzymes étudiés dépasse 50 %.

BIBLIOGRAPHIE.

1 .CHEVALIER (A) 1942- Les caféiers du globe. II. Iconographie des caféiers sauvages et cultivés et des rubiacées prises pour des caféiers. Ency., Editions Paul Lechevalier, Paris, 36 p., 158 pl..

2 .PORTERES (R.). 1959- Valeur agronomique des caféiers des types Kouilou et Robusta cultivés en Côte d'Ivoire. Café Cacao Thé, 3, 3-13.

3 .PORTERES (R.).1962- Caféiers de la République de Guinée. Café Cacao Thé, 6, 3-18.

4 .BERTHAUD (J.).1986- Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Evaluation de la richesse génétique des populations sylvestres et de ses mécanismes organisateurs. Conséquences pour l'application. Travaux et Documents de l'ORSTOM, 188, 379 p..

5 . CHARRIER (A.).1980- La conservation des ressources génétiques du genre *Coffea*. Café Cacao Thé, 24, 249-257.

6 .LE PIERRES (D.), CHARMETANT (P.), GNESIO (T.), BAMBA (A.), KONATE (M.), YAPO (A.).1987- Les ressources génétiques naturelles des caféiers en Guinée : Rapport sur la mission de prospection effectuée par une équipe ORSTOM/I.R.C.C. du 1er au 2 mars 1987. ORSTOM Adiopodoumé (Abibjan), multigr., 39 p..

7 .COUTURON (E.), LEROY (T.), YAPO (A.). 1984- Prospection de caféiers sauvages dans la région de Danané. Rapport de prospection du 12-14 décembre 1984. ORSTOM/I.R.C.C. (Côted'Ivoire), 4 p..

8 .CHARMETANT (P.), COUTURON (E.), LEROY (T.), YAPO (A.). 1986- Prospection de caféiers sauvages dans la région centre-ouest Issia-Daloa. ORSTOM/I.R.C.C. (Côte d'Ivoire), 4 p..

9 .COUTURON (E.), LEROY (T.), MANES (Y.), YAPO (A.). 1987- Prospection de caféiers sauvages dans la région sud-est Abengourou-Adzope. ORSTOM/I.R.C.C. (Côte d'Ivoire), 3 p..

10 .CHARRIER (A.). 1985- Progrès et perspectives de l'amélioration génétique des caféiers. A.S.I.C., 11ème Coll., Lomé, 403-425.

11 .NAMUR (C. de), COUTURON (E.), ANTHONY (F.). 1987- Résultats d'une mission de prospection des caféiers sauvages du Congo. A.S.I.C., 12ème Coll., Montreux, 397-404.

RESUME : Des prospections de caféiers sauvages, financées par la C.E.E., ont été effectuées par l'ORSTOM et l'I.R.C.C. de 1984 à 1986 en Côte d'Ivoire et en Guinée, afin de compléter la représentation des principales en collection au centre de ressources génétiques de caféiers africains en Côte d'Ivoire.

Les prospections ont permis de collecter les quatre espèces endémiques à la région occidentale de l'aire naturelle de dispersion des caféiers : *C. canephora, C. liberica, C. humilis*, et *C. stenophylla*, ainsi que des genres voisins.

Des difficultés de prospection de matériels sauvages ont été ressenties. Celles-ci sont dues à la déforestation qui a réduit l'ampleur, ou fait disparaître, des populations de caféiers; et aux hybridations naturelles avec des caféiers introduits qui ont été cultivés à proximité des reliquats de forêts.

L'originalité guinéenne du matériel a été vérifiée par l'électrophorèse d'enzymes, en particulier pour l'espèce cultivée *C. canephora*.

Wild coffee of Côte d'Ivoire and Guinea : Result and survey made from 1984 to 1987.

SUMMARY : Survey of wild coffee plants, financed by the E.E.C., were undertaken in Côte d'Ivoire from 1984 to 1986 and in Guinea in 1987 by ORSTOM and I.R.C.C., with the aim of completing the collection of the principal species held by the center for genetic resources of african coffee trees in Côte d'Ivoire.

The four species endemic to the western part of natural range of the genus *Coffea* were collected : *C. canephora*, *C. liberica*, *C. humilis* and *C. stenophylla*, as well as related genera.

A number of problems were encountered during the survey. These were caused by deforestation, resulting in declines or the disappearance of natural *coffea* populations from certain areas, and by spontaneous hybridizations with introduced coffees grown close to remaining forest patches.

The guinean originality of the material was verified by enzymatic electrophoresis, in particular for the cultivated species *C. canephora*.

COÛT ET VALORISATION DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES CAFÉIÈRES

A. CHARRIER, J. BERTHAUD, F. ANTHONY
ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex (France)

Depuis 1966, l'ORSTOM a participé à plusieurs collectes de caféiers sauvages dans les forêts tropicales d'Afrique et de la région malgache. Ces missions ont bénéficié de supports financiers français et internationaux (FAO, IBPGR, CCE). Elles ont été réalisées en collaboration avec l'IRCC et les organismes de recherche des pays visités. Une synthèse de ces prospection est donnée dans le tableau 1 (Berthaud et Charrier, 1988).

D'après notre propre expérience en Côte d'Ivoire, nous avons estimé les coûts relatifs à :

1) l'établissement et la maintenance d'une collection ;
2) l'évaluation du germplasm et son utilisation dans un programme de sélection.

Il s'agit de coûts réels, personnel compris, hors investissements et infrastructures.

1 - COUT DES COLLECTIONS

Chaque prospection de caféiers sauvages réalisée dans un pays d'Afrique nécessite un support logistique important pour une expédition de 2 mois en forêt tropicale d'une équipe de 3 à 5 chercheurs. Le matériel végétal vivant est réparti entre le pays visité pour sa recherche propre et le centre de ressources génétiques caféières de Côte d'Ivoire. Dans ce dernier, après passage en quarantaine, le matériel est implanté dans les stations caféières de Divo et Man, selon leur adaptation écologique. Actuellement, les collections vivantes en champ de Côte d'Ivoire comptent plus de 30 espèces de caféiers, représentées par environ 8 000 génotypes originaux, en provenance de 10 pays africains.

Les éléments pris en compte pour établir le prix de revient d'une prospection et la mise en collection sont résumés dans l'annexe 1. Le matériel végétal regroupé résulte de l'introduction de plusieurs centaines de plants et de graines à chaque prospection. Il a fallu assurer leur transport rapide à grande distance par avion, les accueillir en serre de quarantaine et les multiplier par greffage, puis les élever en pépinière pendant 1 à 2 ans avant plantation. La réussite de ces opérations a reposé sur un personnel technique qualifié (Berthaud et al., 1984).

Le coût d'une prospection est de l'ordre de 500 000 F (80.000 US $). Si l'on considère l'ensemble des prospections réalisées en Afrique, chaque souche en collection a coûté environ 500 F (80 US $).

Tableau 1 : Prospections de caféiers réalisées par l'ORSTOM depuis 1960.
Selon Berthaud et Charrier (1988).

Années	Pays	Institutions Collectées	Espèces	Mise en collection
1966	Ethiopie	ORSTOM	*C. arabica*	Ethiopie Côte d'Ivoire
1960-1974	Région Malgache	MUSEUM IRCC	"*Mascarocoffea*" 50 taxa	Madagascar
1975	Centre Afrique	IRCC ORSTOM	Caféier de la Nana *C. congensis* *C. liberica* *C. canephora*	Centre Afrique Côte d'Ivoire
1975-1981	Côte d'Ivoire	ORSTOM	*C. canephora* *C. humilis* *C. liberica* *C. stenophylla* *Psilanthus spp.*	Côte d'Ivoire
1977	Kenya	IRCC ORSTOM	*C. arabica* *C. eugenioides* *C. fadenii* *C. pseudozanguebariae* *C. sessiliflora*	Kenya Côte d'Ivoire
1982	Tanzanie	IRCC ORSTOM	*C. mufindiensis* *C. pseudozanguebariae* *C. sessiliflora* *C. sp.* F.	Tanzanie Côte d'Ivoire
1983	Cameroun	IBPGR IRCC ORSTOM	*C. brevipes* *C. canephora* *C. congensis* *C. liberica* *C. sp.* nov. *Psilanthus spp.*	Cameroun Côte d'Ivoire
1985	Congo	IBPGR IRCC ORSTOM	*C. brevipes* *C. canephora* *C. congensis* *C. liberica* *C. sp.*nov. *Psilanthus spp.*	Congo Côte d'Ivoire
1987	Guinée	CEE IRCC ORSTOM	*C. canephora* *C. humilis* *C. liberica* *C. stenophylla* *Psilanthus spp.*	Guinée Côte d'Ivoire

La maintenance de 8 ha de ces caféiers de collection, en Côte d'Ivoire, nécessite un entretien constant, sous la responsabilité d'un ingénieur qualifié afin de limiter les risques d'érosion génétique dus à l'environnement. Son coût annuel (annexe 1) a été estimé à 500 000 F (80,000 US $), c'est à dire à 62,5 F par génotype/an (10 US $). Les caféiers Arabica collectés en Ethiopie en 1966 par une mission ORSTOM sont conservés en collection à Man depuis 20 ans.

2 - VALORISATION DES RESSOURCES GENETIQUES

Une souche de caféier spontané n'a qu'une valeur potentielle. Son exploitation éventuelle dans la création variétale dépendra d'un long processus d'évaluation et de sélection, d'une durée minimum de 20 ans. Par exemple, la souche de *C. arabica* collectée au Soudan dans les années 40 et dénommée Rume Sudan n'a été utilisée en Afrique de l'Est que dans les années 70-80 pour améliorer la résistance au CBD (Van der Vossen, 1985). La forme guinéenne de *C. canephora* prospectée dans les années 70 en Côte d'Ivoire intervient depuis peu dans un schéma de sélection récurrente réciproque qui aboutira à de nouveaux clones sélectionnés au début des années 90 (Leroy, 1989).

Les éléments financiers de la valorisation des ressources génétiques caféières sont résumés dans l'annexe 2 : nous prévoyons 10 annés d'étude de la diversité du matériel, de choix des géniteurs possédant des caractéristiques intéressantes et de création de descendances contrôlées, puis une période de 10 ans de sélection et d'expérimentation des nouvelles variétés. La réalisation pratique de ces recherches nécessite en moyenne :

- 15 ha d'essais d'évaluation et d'étude de descendances suivis par 2 chercheurs généticiens (coût : 100 000 F/ha/an, soit 16 700 US $),

- 15 ha d'essais de sélection et de comportement variétal sous la responsabilité de 2 agronomes (coût : 90 000 F/ha/an, soit 14 400 US $).

3 - ANALYSE GLOBALE

Les coûts d'acquisition, de maintenance et de valorisation des ressources génétiques caféières sur 20 ans, basés sur le programme réalisé par l'ORSTOM et l'IRCC en Côte d'Ivoire s'établissent comme suit :

Tableau 2 : Coût global des ressources génétiques caféières.

1)	Prospections Mise en collection (500 F/génotype)	8 000 génotypes	4 000 kF (9 %)
2)	Conservation en collection (62,5 F/génotype/an)	1 technicien 8 000 génotypes 20 ans	10 000 kF (24 %)
3)	Evaluation croisements (100 kF/ha/an)	2 généticiens 15 ha essais 10 ans	15 000 kF (35 %)
4)	Sélection (90 kF/ha/an)	2 ingénieurs 15 ha essais 10 ans	13 500 kF (32 %)

Soit pour l'ensemble du programme un coût global sur 20 ans de 42 500 kF, soit 2 125 kF/an (340,000 US $/an).

Ce décompte sur 20 ans permet de mieux apprécier la part relative des opérations. L'investissement pour acquérir le germplasm et établir une collection de base représente moins de 10 % du total ; ce pourcentage est encore plus faible si l'on crée des collections par duplication dans plusieurs stations de recherche, au niveau régional ou continental. L'entretien de la collection et sa conservation sur 20 ans correspondent au quart des charges. La possession d'un tel patrimoine ne sert à rien s'il n'est pas intégré dans un programme d'amélioration variétale dont le coût atteint 67 % du total.

La charge financière d'un tel programme d'exploitation des ressources génétiques caféières (2 125 kF/an hors infrastructures) peut être utilement comparée à la valeur de la production caféière (annexe 3). Si l'on considère les pays africains, la charge d'un tel programme d'amélioration des caféiers est d'environ 1 ‰ (200 t/an de café) de la production de café de l'Ethiopie (170 000 t café arabica) ou de la Côte d'Ivoire (250 000 t café robusta). Elle serait réduite de moitié si le centre de ressources génétiques caféières était exploité au niveau régional.

4 - VALORISATION POTENTIELLE DU MATERIEL VEGETAL

L'appréciation de la valeur potentielle d'une ressource génétique peut être fondée sur des hypothèses et des situations très différentes. Rappelons le niveau moyen de productivité à l'hectare des plantations : il varie de 2 à 500 kg/ha en Afrique, entre 6 à 800 kg/ha en Amérique, pour atteindre exceptionnellement 1 000 à 1 500 kg/ha comme au Costa Rica. Comparativement, le potentiel des variétés sélectionnées dans des conditions écologiques et agronomiques favorables est de l'ordre de 2 à 3 t café/ha, soit 2 à 10 fois la productivité en milieu paysan. Bien entendu, on pourrait calculer la valeur potentielle des nouvelles variétés sélectionnées en rapport avec l'amélioration de la production obtenue dans les essais des stations de recherche. En réalité, l'accroissement de la productivité dépend tout autant des pratiques agronomiques et de la diffusion du progrès technique et économique en agriculture, que de l'emploi de nouvelles variétés plus performantes. La culture des caféiers étant surtout pratiquée par de petits agriculteurs des pays en développement, il ne serait pas réaliste de lier directement la valeur du matériel végétal à la productivité des variétés améliorées. Le gain de productivité est plutôt associé au taux d'accroissement annuel global du milieu agricole du pays : nous avons retenu un taux de 2 à 3 % qui entraîne un doublement de la production à l'hectare en 25-30 ans. Cette hypothèse de travail permet de déterminer le gain de production moyen et de l'attribuer pour moitié au progrès génétique.

Ainsi, la valorisation des ressources génétiques pour les pays producteurs de café donnerait un gain dû au seul effet génétique de l'ordre de (annexe 4) :

- 2 000 tonnes de café arabica / an en Ethiopie, soit 25 millions F/an ;
- 3 000 tonnes de café robusta / an en Côte d'Ivoire, soit 31 millions F/an ;
- 5 000 tonnes de café arabica / an en Afrique de l'Est, soit 60 millions F/an.

Ce gain peut paraître modeste en volume, mais comparé au coût des collections et des travaux de sélection, l'accroissement de production dû aux nouvelles variétés améliorées représente 10 à 20 fois le coût des programmes nationaux de sélection et 20 à 30 fois le coût d'un programme couvrant l'Afrique de l'Est ou l'Amérique centrale. La valorisation des ressources génétiques est donc largement assurée par les grands pays producteurs de café, surtout par les programmes régionaux.

BIBLIOGRAPHIE

Berthaud (J), Charrier (A). Genetic resources of *Coffea*. In : Coffee, vol. 4, Agronomy. Eds. R.J. Clarke and R. Macrae. ELSEVIER APPLIED SCIENCE (London), 1988, 1-42.

Berthaud (J), Charrier (A), Guillaumet (J.L), Lourd (M). In : Gestion des ressources génétiques des plantes, Ed. J. Pernès, ACCT (Paris), 1984, 15-104.

Van der Vossen (H.A.M). Coffee selection and breeding. In : Coffee. Eds : M.N. Clifford and K.C. Willson, CROOM HELM (London), 1985, 48-96.

Leroy (T), Charrier (A). Mise en place et premiers résultats d'un programme de sélection récurrente réciproque chez *Coffea canephora* Pierre. ASIC (Païpa), 1989.

Annexe 1 : COUT DES COLLECTIONS ET DE LEUR MAINTENANCE EN COTE D'IVOIRE.

1) **Prospection et mise en collection**

- Frais de prospection (100 à 200 kF)	160 kF
- Personnel (3 chercheurs x 2 mois x 50 kF)	300 kF
- Pépinière (3 000 plantes) + plantation (1 ha)	40 kF
1 prospection	500 kF
8 missions :	4 000 kF

soit 500 F/souche

2) **Maintenance des collections**

- Entretien (8 ha x 25 kF)	200 kF
- 1 ingénieur	300 kF
Maintenance annuelle GRU	500 kF

soit 62,5 F/souche/an

Annexe 2 : VALORISATION DES COLLECTIONS.

1) **Evaluation génétique et agronomique :**

- Expérimentation au champ : 15 x 50 kF/ha (Divo 10 ha + Man 5 ha)	750 kF
- Chercheurs : 2 x 400 kF/an	800 kF
Travaux d'évaluation	1 550 kF

Evaluation : 100 kF/ha/an

2) **Sélection et expérimentation :**

- Essais : 15 x 50 kF/an (10 ha station + 5 ha multilocal)	750 kF
- Sélectionneurs : 2 x 300 kF/an	600 kF
Travaux de sélection	1350 kF

Sélection : 90 kF/ha/an

Annexe 3 : COUT DU PROGRAMME D'AMELIORATION GENETIQUE COMPARE A LA PRODUCTION CAFEIERES.

	NATIONAL	REGIONAL
Acquisition, maintenance et évaluation du germplasm	1 CRG ( )	CRG ( )
Sélection	1 station	3 stations
Coût total (20 ans)	42 500 kF	70 000 kF
Coût annuel	2 125 kF	3 500 kF
Equivalent café (10-12 kF/tonne)	200 T	330 T
Rapport production		
Ethiopie (170 000 t)	1,2 °/∞	
Côte d'Ivoire (250 000 t)	0,8 °/∞	
Mexique (300 000 t)	0,7 °/∞	
Afrique Est (400 000 t)		0,8 °/∞
Afrique Ouest (400 000 t)		0,8 °/∞
Amérique Centrale (900 000 t)		0,4 °/∞

* CRG : Centre de ressources génétiques

Annexe 4 : VALORISATION POTENTIELLE DU MATERIEL VEGETAL.

Hypothèses : gain production 2-3 % /an
effet génétique 50 %
équivalent café 10-12 kF/tonne

	GAIN ANNUEL		
	CAFE (en t)	VALEUR (en kF)	x CRG
Ethiopie	2 125	25 500	11
Côte d'Ivoire	3 125	31 250	16
Mexique	3 750	45 000	23
Afrique Est	5 000	60 000	18
Afrique Ouest	5 000	50 000	18
Amérique Centrale	11 250	135 000	34

COUT ET VALORISATION DES RESSOURCES GENETIQUES CAFEIERES

A. CHARRIER, J. BERTHAUD, F. ANTHONY

ORSTOM, Montpellier (France)

Des prospections de caféiers spontanés ont été organisées depuis 1966 dans 10 pays d'Afrique par l'ORSTOM, en collaboration avec d'autres instituts. Un échantillon du matériel végétal collecté a été introduit dans un centre de ressources génétiques caféières en Côte d'Ivoire (Divo, Man). Les collections en champ comprennent une trentaine d'espèces du genre Coffea et de l'ordre de 8 000 génotypes originaux.

Le coût des prospections puis d'établissement et de maintenance des collections a été évalué : le prix de revient d'une souche est de l'ordre de 500 FF. Ces caféiers spontanés n'ont qu'une valeur potentielle ; leur valorisation sous forme de variétés nécessite un travail d'évaluation et de sélection d'une vingtaine d'années. Aussi, l'investissement pour mettre en place une collection de matériel génétique ne représente que le tiers du coût total d'un programme de sélection.

Le prix de revient global d'un programme d'exploitation des ressources génétiques caféières peut être comparé à la production caféière. Pour des pays comme l'Ethiopie ou la Côte d'Ivoire, le coût du programme de recherche représente 1°/oo des revenus de l'exploitation du café alors que l'accroissement annuel de leur production peut atteindre 1 à 2 % grâce aux nouvelles variétés sélectionnées.

COST AND POTENTIAL VALUE OF THE COFFEE GERMPLASM

Collecting missions of wild coffee species were organized in 10 countries of Africa by ORSTOM in collaboration with other organisations since 1966. After each exploration, a representative sample of the living material was introduced to the Coffee genetic resources Unit in the Ivory Coast (Divo, Man). Field collections which have been established, represent 30 species and 8.000 genotypes.

The actual cost of the establishment and maintainance of these collections has been evaluated : each strain cost about US $ 80. A wild coffee strain in a collection has only a potential value ; its exploitation in the creation of varieties depends on a 20 years evaluation and selection period. So, the investment to start and maintain a base collection represents 1/3 of the total cost of the breeding program.

The whole financial cost of such a project for exploitation of coffee germplasm (US $ 340.000/year) can be usefully compared to the value of the coffee production. For a country like Ethiopia or Ivory Coast, the cost of such a project is evaluated at about 1o/oo of their production while expected returns may be evaluated annually at 1 or 2 % of this production through improved varieties.

CONSERVATION DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES CAFÉIÈRES EN VITROTHÈQUE

A. BERTRAND-DESBRUNAIS, A. CHARRIER
ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex (France)

Depuis plus d'une vingtaine d'années, plusieurs prospections ont été réalisées en Afrique et à Madagascar par la FAO, le Muséum, l'ORSTOM et l'IRCC (Berthaud et Charrier, 1988). Ces prospections ont permis de constituer des collections de base de caféiers spontanés qui rassemblent plus de 30 espèces différentes du genre *Coffea* ainsi que quelques genres apparentés.

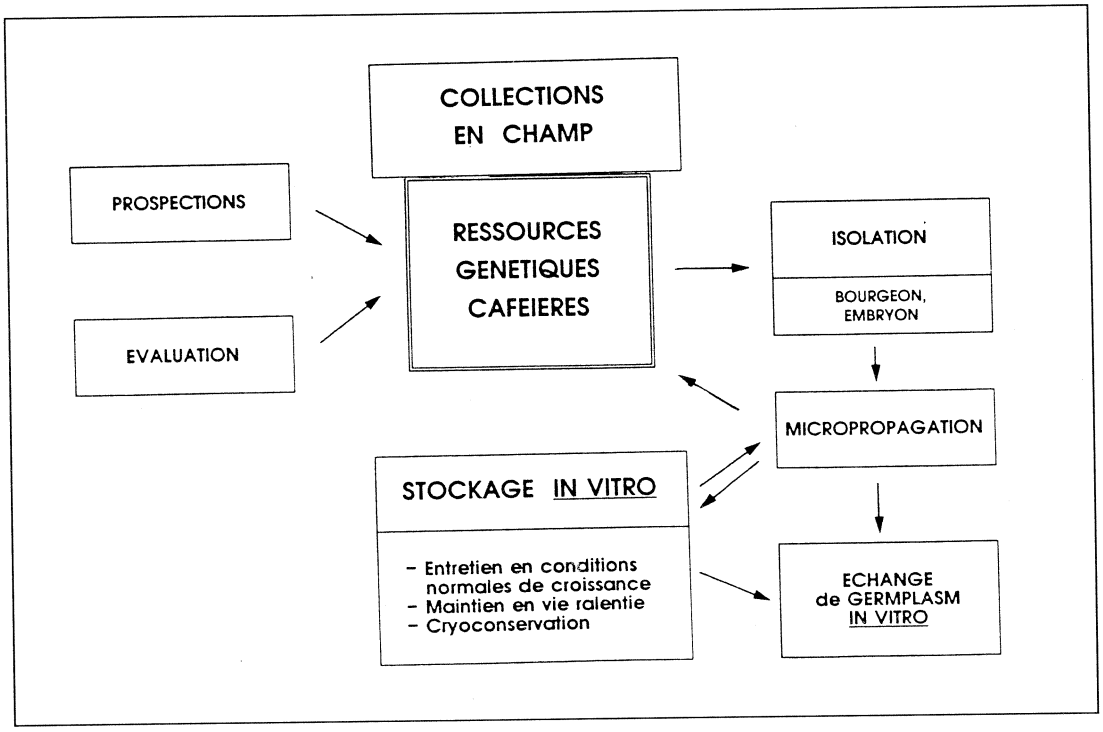
Les graines de caféiers sont de courte viabilité. Elles sont dites "récalcitrantes" aux méthodes de stockage couramment appliquées aux semences de céréales après dessication et maintien à basse température (-18°C à +5°C). Les méthodes de stockage utilisées par Van der Vossen au Kenya et Couturon en RCI consistent à maintenir les graines de caféiers dans une atmosphère à humidité saturante à des températures de 15 à 20°C. Leur survie ne dépasse pas, dans ces conditions, un ou deux ans.

Pour cette raison, les collections de caféiers sont rassemblées au champ dans les stations de recherche, véritables conservatoires des ressources génétiques de cette plante pérenne. Le maintien de telles collections comporte de nombreux risques bioclimatiques ou d'erreur humaine. Aussi, pour plus de sécurité, d'autres systèmes de conservation sont à l'étude.

Sous l'impulsion de l'IPBGR (1983), les techniques de culture *in vitro* ont été conseillées comme méthodes de conservation des ressources génétiques des espèces récalcitrantes. En multipliant *in vitro* les plantes, à partir des collections de base, les différents centres de recherche caféière peuvent ainsi disposer du patrimoine génétique en vitrothèque et échanger aisément du matériel sain. Pour limiter les problèmes de repiquages (main d'oeuvre, risque de contamination ou d'erreur d'étiquetage) et de variation au cours du temps, on préconise aussi de stocker pour le long terme dans l'azote liquide (cryoconservation).

La culture *in vitro* est déjà au point pour les espèces cultivées de caféier. On se reportera aux synthèses de Monaco *et al.*(1977), de Söndahl et Sharp (1979) et de Dublin (1984), Nous avons étudié, dans les laboratoires ORSTOM de Montpellier, les possibilités de multiplication et de stockage *in vitro* des ressources génétiques des caféiers c'est à dire une grande diversité d'espèces et de souches. Nous avons ainsi réalisé des essais pour la mise en place d'une vitrothèque formée de microboutures en vue d'un stockage de plantules à moyen terme en vie ralentie et des études de cryoconservation d'embryons somatiques pour le stockage à long terme

Figure 1 : diagramme Ressources Génétiques



I - MATERIEL VEGETAL

L'introduction du matériel végétal *in vitro* peut se faire à partir des diverses parties de la plante : boutures de noeuds orthotropes, explants foliaires, embryons zygotiques...

Dans notre cas, la principale voie d'introduction en vitrothèque d'espèces nouvelles a été la culture d'embryons zygotiques. Les plantules ainsi obtenues *in vitro* sont multipliées par microbouturage. Cette technique a été privilégiée, car elle utilise comme matériel de départ, des graines à différents stades de développement, facilement transportables et supportant une désinfection très poussée.

Pour le *C.arabica*, qui est autogame, la descendance issue d'une même origine peut être considérée comme fixée lorsque l'on part d'une lignée identifiée. Mais il ne faut pas sous-estimer la part d'hétérozygotie résiduelle trouvée dans le matériel sauvage d'Ethiopie (Charrier,1978b). Les autres espèces de caféiers, cultivés ou spontanés, sont allogames. Le prélèvement des échantillons de graines se fait donc soit réparti équitablement sur l'ensemble des arbres d'une même origine, par exemple une graine par arbre (SSD), l'ensemble des génotypes nous donne alors une image de la population, soit, plus rarement, sur un même arbre, on a donc, dans ce cas, une descendance maternelle.

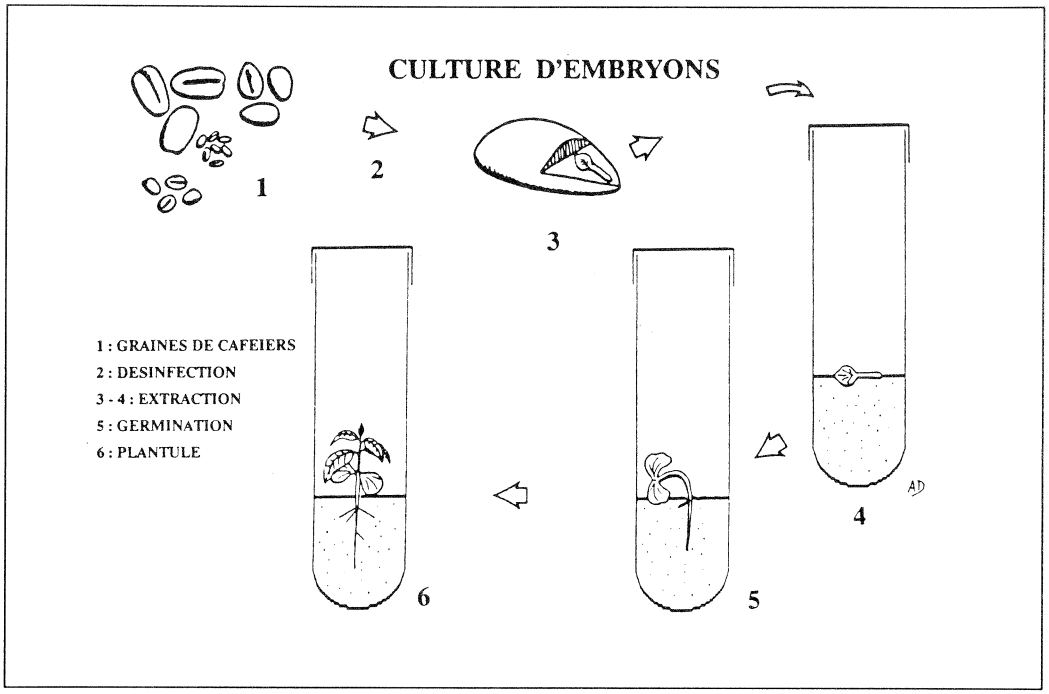
En comparaison, la mise en culture de noeuds orthotropes (Custers, 1980) permettant le clonage de souches hétérozygotes (des espèces allogames sélectionnées) nécessite des étapes supplémentaires, car le prélèvement se fait sur des plants, obtenus par bouturage, qui sont élevés en serre pour limiter les infections.

II - CULTURE *IN VITRO* D'EMBRYONS ZYGOTIQUES

Elle a été réalisée tout d'abord par Colonna (Colonna *et al.*,1971) sur *C. canephora* et *C. dewevrei*. Plus récemment, Söndahl (Söndahl *et al.*, 1981) a étudié la croissance et le développement des embryons de *C. arabica* en plantules capables de pousser en serre.

Nous avons mis au point un protocole de germination *in vitro* d'embryons zygotiques matures et immatures, applicable à la mise en culture de nombreuses espèces.

Figure 2 : Culture d'embryons



Les embryons sont cultivés sur un milieu de Gamborg (1968) modifié, contenant de la cystéine comme anti-oxydant, mais dépourvu de toute substance de croissance. Les premières phases de la germination s'effectuent à l'obscurité, un passage ultérieur à la lumière permet le verdissement et le développement des premières feuilles.

PROTOCOLE DE GERMINATION *IN VITRO* D'EMBRYONS ZYGOTIQUES DE CAFEIER

DESINFECTION : On stérilise la surface des graines par trempage dans une solution aqueuse d'Hypochlorite de Sodium à 12,5 % de Chlore actif pendant 20 mn. Rinçage trois fois à l'eau stérile
EXTRACTION ASEPTIQUE DE L'EMBRYON : L'embryon est dégagé par des incisions dans l'albumen corné. Il est prélevé dans des conditions stériles, et déposé à plat sur le milieu de culture dans un tube.

MILIEU DE CULTURE :

Eléments minéraux de B5 dilués de moitié,

cystéine	11,4	mM
acide nicotinique	30	µ M
thiamine-HCl	30	µ M
pyridoxine	15	µ M
méso-inositol	550	µ M
saccharose	58,4	mM
agar	6,5	g/l

CONDITIONS DE CULTURES :

La température est à tout moment de 27°C.

	STADES DE DEVELOPPEMENT
A L'OBSCURITE	.la radicule s'enfonce dans la gélose .la plantule se redresse .les cotylédons s'ouvrent
A LA LUMIERE 12^h / 12^h	.la gemmule débourre et la tigelle s'allonge .la plantule a 2 ou 3 paires de feuilles

A ce stade du développement, on sectionne l'hypocotyle.
La tigelle, ainsi prélevée, est repiquée sur le milieu de multiplication utilisé pour les microboutures.

III - LA VITROTHEQUE

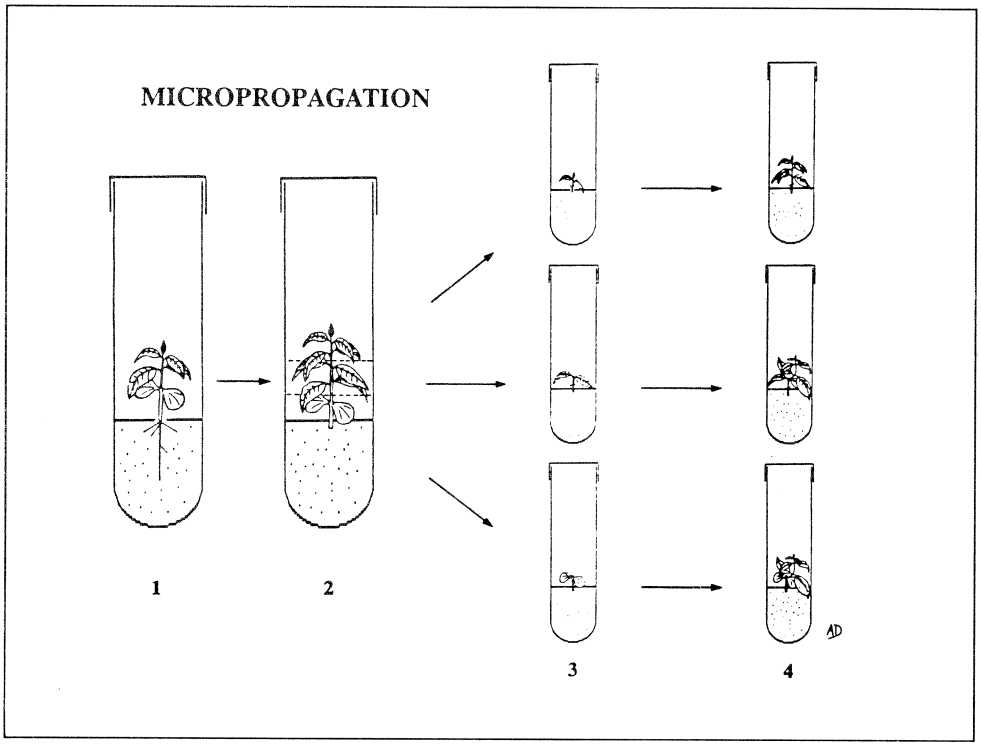
Dans la vitrothèque la plupart des espèces sont multipliées à partir d'un échantillon des différents génotypes de la population mise en culture. Dans certains cas, pour permettre des études de variabilité, toutes les microboutures issues d'une même plantule forment un clone et des sous-clones identifiés qui sont alors multipliés séparément.

La collection est entretenue en assurant au maximum le maintien de la stabilité génétique. Sur les milieux de croissance utilisés, la plupart des plantes miniaturisées montrent une forte dominance apicale. La multiplication se fait par la section des tiges en segments de deux à trois noeuds. Ces axes orthotropes sont issus du développement des bourgeons sériés latents, normalement formés à l'aisselle des feuilles. Il faut, en effet, proscrire toute utilisation des bourgeons adventifs que l'on peut trouver à la base de la microbouture, ou même sur l'hypocotyle.

Les microboutures sont repiquées sur des milieux différents selon les exigences des génotypes. Ils contiennent les éléments minéraux du B5 (Gamborg, 1968) ou du MS (Murashige & Skoog, 1962), avec ou sans BAP (Benzylaminopurine) à 1,3 µM.

Ce protocole a permis l'introduction *in vitro*, et la multiplication par microbouturage de l'ensemble des espèces étudiées, malgré leur diversité d'origine et de comportement. La vitrothèque de travail, ainsi établie, est formée d'une quinzaine d'espèces.

Figure 3 : Micropropagation



MISE EN CULTURE

ESPECE	EXPLANT	POPULATION
C. arabica	ei, em, no	14
C. bertrandi	em	1
C. canephora	ei, no	10
C. congensis	ei	4
C. heimii	em	1
C. liberica	ei	1
C. millotii	em	3
C. pseudozanguebariae	ei	1
C. pervilleana	em	1
C. racemosa	ei	1
C. resinosa	em	1
C. richardii	em	1
C. sessiliflora	ei	1
C. tetragona	em	1
C. vatovavyensis	em	1
C. sp.(A 527)	em	1
C. sp.(A 801)	em	1
C. sp.(A 955)	em	1

Légende : ei : embryon immature em : embryon mature no : noeud orthotrope

L'utilisation de facteurs limitants la croissance (éléments minéraux, saccharose, température) permet d'espacer les repiquages (Galzy, 1985) (Westcott, 1981). L'intervalle maximum entre deux repiquages peut être de l'ordre d'un an pour des génotypes de *C. arabica*, dans les conditions de culture à 27°C.

INTERVALLE MAXIMUM ENTRE DEUX REPIQUAGES EN CONDITIONS NORMALES DE CULTURES (CHAMBRE A 27°C) :

C. arabica	12 mois
C. canephora	6 - 8 mois
C. liberica	6 - 8 mois
C. racemosa	4 - 6 mois
C. sessiliflora	3 - 5 mois
C. pseudozanguebariae	3 - 5 mois

IV - CRYOCONSERVATION

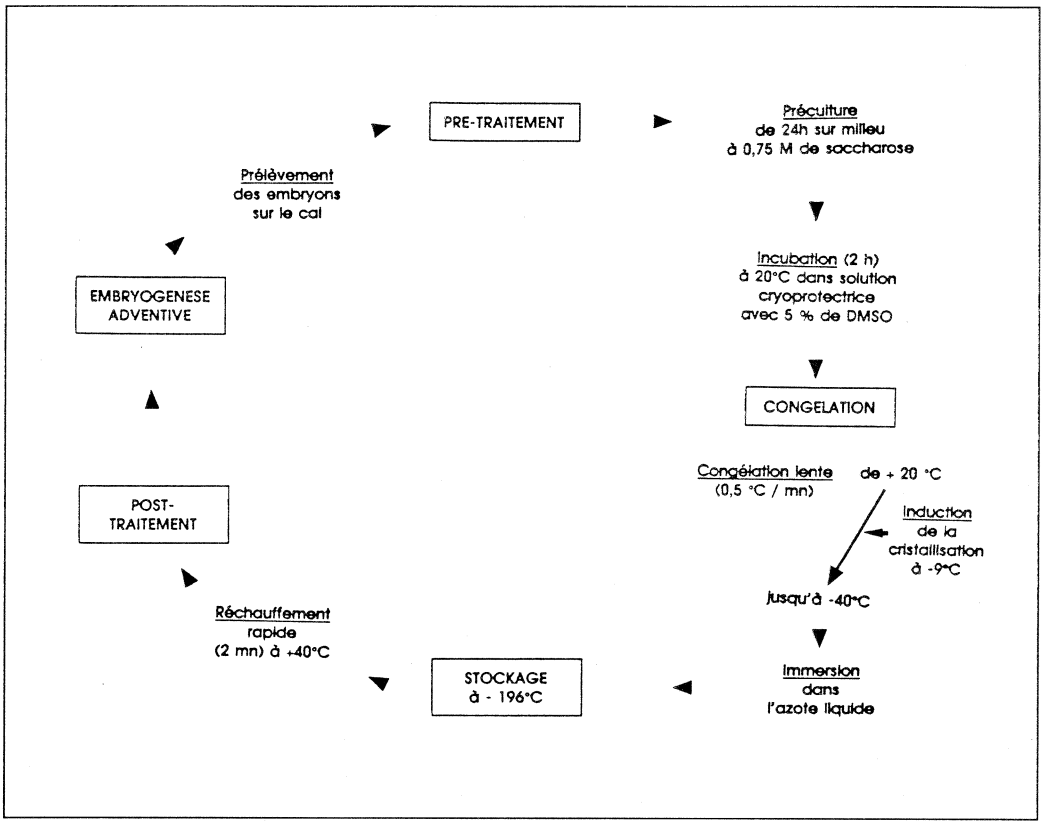
Un autre aspect de la conservation des caféiers *in vitro* a été abordé en utilisant la cryoconservation de souches embryogènes. C'est une méthode de stockage de méristèmes, embryons, cellules dans l'azote liquide (-196°C) à très long terme pendant laquelle toute activité métabolique cellulaire est arrêtée.

Les souches embryogènes proviennent d'explants qui sont mis en culture dans des conditions particulières décrites par Dublin (1981). Ils forment des cals porteurs d' embryons somatiques. Ces embryons, une fois isolés du cal, sont placés sur un milieu de croissance et se développent en plantule. Cette technique permet un taux de multiplication très élevé.Actuellement, une dizaine d'espèces de caféiers peuvent être multipliées par embryogenèse somatique. Les premiers essais de cryoconservation d'embryons somatiques ont été réalisés par A. Bertrand-Desbrunais (1988) avec des souches embryogènes de *C. arabica*.

Prélevés au stade globulaire, les embryons sont cultivés, pendant 24 heures, sur un milieu enrichi en saccharose. Placés dans un milieu liquide, le prétraitement des embryons se poursuit par l'adjonction de DMSO (Diméthylsulfoxyde) jusqu'à la concentration finale de 5 %. On répartit les embryons (par lot de 30 environ), avec 1 ml de milieu, dans des ampoules à cryogénie. Après un refroidissement lent, de 0,5°C / mn, jusqu'à -40°C, les ampoules sont aussitôt plongées dans l'azote liquide. Les embryons peuvent être ainsi stockés à long terme. Après un réchauffement rapide, les embryons sont repiqués toutes les 24 h, sur des milieux dont la concentration en saccharose diminue progressivement, soit respectivement : 0,5 M ; 0,3 M et 0,1 M.

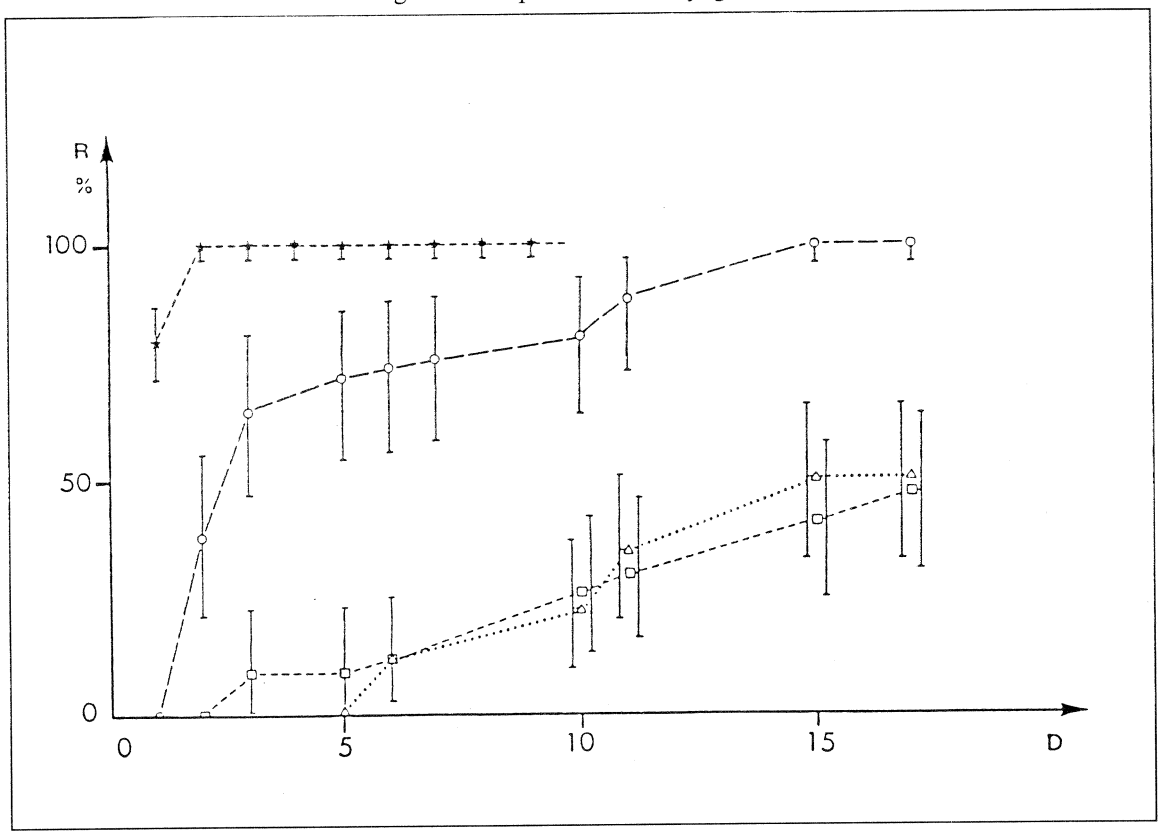
On note la survie des embryons traités par la reprise de la prolifération embryogène. Pour les embryons témoins, les premiers embryons adventifs apparaissent moins d'une semaine après la mise en culture, et quinze jours suffisent pour obtenir un taux de reprise de 100 %. Dans le cas des embryons ayant subi le prétraitement (saccharose et DMSO), le taux maximum est également atteint, mais plus progressivement, puisque quinze semaines sont nécessaires. La congélation à -40°C, ou dans l'azote liquide, a pour effet de diminuer le pourcentage de reprise. Les embryons néoformés n'apparaissent que dans 45 à 50 % des cas, après 17 semaines de latence. De plus 3 semaines sont nécessaires pour que l'on observe les premiers signes de l'embryogenèse adventive. Aucune différence significative n'apparait entre les embryons congelés à -40°C et ceux ayant subi, en plus, le traitement à l'azote liquide.

Figure 4 : Méthode de cryoconservation



Le taux de reprise, proche de 50 %, est très encourageant. Les embryons néoformés, que l'on isole sur un milieu favorisant la croissance, se développent en plantules. Un processus similaire a été utilisé avec une souche de *C. canephora*, avec un taux de survie relativement élevé : près de 55 %. La méthode décrite n'emploie pas d'hormone organochlorée toxique, comme le 2,4-D (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique), souvent utilisée pour accélérer la reprise de la prolifération. La régénération est lente mais ne passe par aucune dédifférenciation qui serait favorable aux variations somaclonales.

Figure 5 : Reprise de l'embryogenèse adventive



CONCLUSIONS

Les méthodes de culture *in vitro* mises au point sur quelques génotypes de caféiers cultivés sont donc appliquables à diverses espèces : microbouturage, culture d'embryons et embryogenèse somatique sur cal.

L'utilisation du protocole, mis au point pour la culture d'embryons zygotiques, nous permet d'introduire de nouvelles espèces en vitrothèque. La collection en tube nous donne du matériel de base pour de nombreuses recherches de laboratoire et échange de matériel végétal.

L'établissement de la vitrothèque permet de continuer les expérimentations de conservation de vitroplants en vie ralentie et d'autres études de cryoconservation.

La conservation en vie ralentie va être facilitée par la mise en service d'une chambre de culture à température réduite (20°C) fin 89.

Une amélioration de la technique de cryoconservation sera aussi recherchée. les études porteront sur la diminution du temps de latence entre le réchauffement et la reprise de l'embryogenèse adventive par la recherche de conditions optimales (stade et état des pré-embryons, prétraitement, vitesse de congélation entre autres). D'autres approches sont envisagées comme celle préconisé par Pétiard (1989) qui, réfutant l'utilisation du DMSO, jugé trop toxique, obtient une reprise directe de chaque embryon congelé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BERTHAUD J. et CHARRIER A., 1988 : *in* : Coffee, vol.4 Agronomy, Clarke R.J. et Macrae R. Eds, Elsevier, Londres, 1-42

BERTRAND - DESBRUNAIS A. *et al.*, 1988 : C. R. Acad Sci., (Paris), t. **307**, 795-801

CHARRIER A., Ed, 1978 b : Bulletin de l'IFCC (Paris) n°14

CHARRIER A., 1986 : Café Cacao Thé. **30** (2), 139-142

COLONNA J.P. *et al.*, 1971 : C. R. Acad. Sci, (Paris), t **272**, 60-63

COLONNA J.P., 1972 : Café Cacao Thé **26** (**3**), 193-203

COUTURON E., 1980 **:** Café Cacao Thé **24** (1), 27-32

CUSTERS J.B.M., 1980 : 9ème Colloque ASIC, 589-596

DUBLIN P., 1981 : Café Cacao Thé, **25** (4), 237-242

DUBLIN P., 1984 : Café Cacao Thé, **28** (4), 231-244

GALZY R., 1985 : Bulletin de l'O.I.V., **650-651,** 377-390

GAMBORG O.L. *et al.,* 1968 : Exp. Cell Res., **50**, 151-158

IPBGR, 1983 : Report of the first meeting advisory comitee on *in vitro* storage, IPBGR, Rome

IPBGR, 1984 : *in* : Crop genetic resources, HOLDEN J.H.T. et WILLIAMS J.T. Eds, IPBGR, Rome.

KARTHA K.K. *et al.,* 1981 : Plant Science Letters, **22**, 301-307

MONACO L.C. *et al.*, 1977 : *in* : Applied and fundamental aspect of plant cell, tissue and organ culture, Reinert J. and Bajaj Y.P.S. Eds, Springer Verlag, Berlin

MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962 : Physiol. Plant., **15**, 473-497

PETIARD V., 1989 : communication personnelle

SÖNDAHL M.R. et SHARP W.R., 1979 : *in* : Plant cell and tissue culture, 527-584, SHARP (W.R.) *et al.* Eds, Ohio State University Press (USA)

SÖNDAHL M.R. *et al.*, 1981 : *in* : Plant Tissue Culture, Thorpe T.A. Ed, Academic press, New-York, 325-347

VAN DER VOSSEN H.A.M., 1979 : Seed Sci. and Technology, **7**, 65-75

WESTCOTT R.J., 1981 : Potato res., **24**, 331-342

WITHERS L.A., 1984 : *in* : Crop genetic resources, HOLDEN J.H.T. et WILLIAMS J.T. Eds, IPBGR, Rome, 138-157.

CONSERVATION DES RESSOURCES GENETIQUES CAFEIERES EN VITROTHEQUE

Anna BERTRAND-DESBRUNAIS et André CHARRIER
ORSTOM, Montpellier (France)

Les prospections ORSTOM en Afrique ont permis d'établir d'importantes collections en champ de différentes espèces de caféiers cultivés et spontanés (Berthaud et Charrier, 1988). Leur conservation et leur utilisation pourraient être facilitées par les nouvelles technologies telles la culture *in vitro* et la cryogénie. L'ORSTOM a démarré des expériences de conservation des ressources génétiques en laboratoire, en vue d'apprécier les possibilités et les limites de cette approche. La micropropagation et l'embryogenèse somatique sur cal sont déjà opérationnelles pour les caféiers cultivés (Söndahl, 1988 ; Dublin, 1984).

L'introduction au laboratoire des caféiers par la culture *in vitro* d'embryons zygotiques a permis d'établir une vitrothèque de travail. Outre les deux espèces cultivées *C. arabica* et *C. canephora*, nous disposons d'une quinzaine d'autres espèces du genre *Coffea*.

Cette collection de plantes miniaturisées en tube est multipliée par un microbouturage avec développement des bourgeons latents pour assurer au maximum le maintien de la stabilité génétique. Pour le stockage à moyen terme, les microplantes sont maintenues en vie ralentie en limitant la croissance par appauvrissement du milieu de culture ou abaissement de la température.

La conservation à long terme en laboratoire relève d'autres techniques comme la cryoconservation. Celle-ci a été réalisée avec succès à partir de deux souches embryogènes, l'une d'*arabica* l'autre de *canephora* : il y a reprise de l'embryogenèse adventive sur des embryons somatiques, après leur congélation dans l'azote liquide.

IN VITRO COFFEE GERMPLASM PRESERVATION

ORSTOM expeditions in Africa have allowed to establish important field collections from different species of cultivated and spontaneous coffee trees (Berthaud and Charrier, 1988). Conservation and exploitation should be improved by new technologies such as *in vitro* culture and cryopreservation. Micropropagation and somatic embryogenesis on calluses are already operationnal for the cultivated coffee trees (Söndahl, 1988; Dublin, 1984). ORSTOM, in Montpellier, has started several genetic resources conservation experiments in laboratory, in order to appreciate the possibilities and the limits of this approach.

The introduction of coffee trees in laboratory has been performed by *in vitro* culture of zygotic embryos wich permitted to establish a working *in vitro* collection. In addition to the two cultivated species *C. arabica* and *C. canephora*, fifteen species from the *Coffea* genus are yet available.

This collection of miniaturized plants in tubes is multiplicated by microcutting based on the development of latent buds in the aim of obtaining an optimal security for the maintenance of the genetic stability. For the medium-term storage, the microplants are maintained under growth-limiting conditions (lower nutrients contents, low temperatures).

The long-term storage in the laboratory comes under other techniques such as cryopreservation. This has been realized successfully with two embryogenic strains, one from *C. arabica*, the other from *C. canephora* : in both cases we noticed the recovery of an adventive embryogenesis of somatic embryos after freezing in liquid nitrogen.

LES HYBRIDES CONGUSTA (*C. CANEPHORA* × *C. CONGENSIS*) : COMPORTEMENT DE RÉTROCROISEMENTS SUR *C. CANEPHORA* DANS LES CONDITIONS DE CÔTE D'IVOIRE

A. YAPO *, P. CHARMETANT **, T. LEROY **, D. LE PIERRÈS *, J. BERTHAUD *****

* IRCC, B.P. 808, Divo, Côte d'Ivoire.
** IRCC, 01, B.P. 1827, Abidjan 01, Côte d'Ivoire.
*** ORSTOM, Avenue du Val de Montferrand, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex, France.

Le Congusta, hybride interspécifique issu du croisement de Coffea canephora avec C. congensis a été connu à la suite des travaux de CRAMER (6)sur ces espèces. A Madagascar, la découverte de deux hybrides naturels HA et HB (9) a permis le développement de la culture des Congusta (5,11).

Les hybrides Congusta, comme le parent C. congensis, se comportent assez bien dans des sols d'alluvions basses, fréquemment inondés, dans des régions tropicales à pluviosité élevée. Les clones HA et HB ont un enracinement particulièrement bien adapté aux terrains humides et lourds. Ils supportent l'asphyxie temporaire provoquée par des inondations ou par des colmatages dûs à des pluies prolongées (13).

Les travaux sur les hybrides Congusta en Côte d'Ivoire visent à exploiter simultanément les caractéristiques intéressantes de l'espèce C. congensis et l'adaptation des Congusta aux conditions de culture du Robusta. L'espèce C. congensis présente en effet, une architecture intéressante, caractérisée par une forte ramification et un port buissonnant. Ses caractéristiques physiques et chimiques sont également bonnes avec un rendement en café marchand élevé (23%), une bonne granulométrie. Sa teneur en caféine est faible (0.8 à 2 % de la matière sèche); le goût à la tasse est neutre (2). L'espèce montre un très bon niveau de résistance à Hemileia vastatrix, agent pathogène responsable de la rouille orangée (3). La création et l'obtention des hybrides est relativement facile, puisque le taux moyen de réussite est de 40 à 50 hybrides pour 100 fleurs fécondées; leur fertilité est bonne, elle est même meilleure que celle des descendances intraspécifiques de C. canephora (10). Aucune barrière génétique ne s'oppose donc au transfert des gènes de C. congensis pour l'amélioration qualitative de C. canephora.

En Côte d'Ivoire, la grande majorité des hybrides F1 observés ont un système radiculaire peu développé, non adapté aux exigences pédo-climatiques de la zone caféière. Le développement végétatif des plants est ainsi affecté (2).

Les Congusta sont également sensibles aux variations climatiques: les floraisons sont très nombreuses et entrainent des récoltes très étalées (2).

L'obtention de nouveaux hybrides F1 et surtout la création d'hybrides de deuxième génération par rétrocroisement sur le parent C. canephora sont envisagées pour offrir de nouvelles possibilités de sélection. Les résultats des travaux réalisés sur un matériel de 3840 plantes hybrides sont exposés dans cet article.

MATERIEL ET METHODES

Le matériel végétal est constitué de 3840 arbres : 77 familles et 3 clones témoins de C. canephora. Les familles sont issues de trois types de croisements:

- croisements F1, C. congensis x C. canephora: 10 combinaisons réalisées pour un effectif de 480 individus;
- croisement F2, Congusta x Congusta: une combinaison réalisée pour un effectif de 48 descendants;
- rétrocroisements BC1, Congusta x C. canephora: 66 combinaisons pour un effectif total de 3168 individus.

Les clones témoins sont représentés par un effectif total de 144 arbres.

Les géniteurs de C. congensis utilisés sont issus de prospections en République centrafricaine; les géniteurs de C. canephora proviennent de la collection de l'IRCC.

Les caractéristiques étudiées sont essentiellement agronomiques:

- le diamètre de la jupe (caractéristique de l'architecture), évalué par la longueur du plus grand rameau plagiotrope;
- la vigueur, mesurée par le diamètre au collet et la hauteur des arbres;
- la résistance à la sécheresse (note qualitative de 1 à 3, les arbres résistants étant notés 1);
- la résistance à la rouille orangée (note qualitative de 0 à 3);
- la production cumulée sur trois ans, mesurée par le poids de cerises fraîches.

Les notations sont faites sur des arbres âgés de cinq ans.

Les variables sont analysées individuellement par l'analyse de variance à un critère de classification. Une analyse multivariée en composantes principales (ACP) est réalisée sur les variables de productivité à partir des moyennes par descendance. Les analyses portent sur l'ensemble des objets (77 familles et 3 clones témoins).

RESULTATS

1. Les caractères d'architecture et de vigueur

Les résultats des analyses de variance montrent un effet famille hautement significatif ($p = 0.01$) quel que soit le caractère étudié. L'effet croisement est significatif ($p = 0.05$), la combinaison F2 est la moins intéressante. Les moyennes et les coefficients de variation des dix meilleures descendances sont présentés dans le tableau 1.

2. Résistance à la sécheresse

Du fait de leur système radiculaire peu développé, les Congusta s'avèrent sensibles à la sécheresse. Leur rétrocroisement sur le parent C. canephora peut être une solution à ce problème. En effet, les dix descendances les moins sensibles figurant au tableau 2 sont pour la plus part issues de rétrocroisements. Mais les résultats montrent également une grande variation à l'intérieur des familles. Les arbres de taille moyenne, avec une ramification plus ou moins abondante et un diamètre moyen de la jupe, sont les moins sensibles à la sécheresse (corrélations sécheresse/hauteur: r = -0.9; sécheresse/long. rameau: r' = -0.6).

3. Résistance à la rouille orangée

Si l'espèce C. congensis présente une résistance totale aux races locales d'Hemileia vastatrix, il n'en est pas de même en ce qui concerne la résistance des hybrides Congusta à la rouille orangée.

En 1987, les observations faites pour déterminer l'importance des dégâts sur les hybrides, deux mois après la période la plus pluvieuse (12), ont permis de recenser 103 arbres présentant des taches de rouille sur l'ensemble de l'essai (2.7 % de l'effectif total): 12 arbres proviennent des hybrides F1, 83 des rétrocroisés (BC1) et 8 des clones témoins. Les descendants sont notés de 0 à 3 suivant le degré de sporulation:

- note 0: aucune tache, ou des taches non visibles à l'oeil nu: plants très résistants;
- note 1: quelques taches non sporulées: plants résistants;
- note 2: taches plus nombreuses, mais quelques unes seulement présentent des sporulations: plants moyennement résistants;
- note 3: très nombreuses tâches toutes sporulées: plants sensibles.

Cette notation est une version simplifiée de l'échelle mise au point par ESKES (8). La note 0 (très résistant = TR) dans notre classification, correspond aux notes 0 et 1, définies par ESKES; la note 1 (résistant = R), aux notes 2 et 3; la note 2 (moyennement résistant = MR) aux notes 4, 5 et 6; la note 3 (sensible = S) aux notes 7, 8 et 9 (tableau 3).

Suivant cette méthode d'évaluation, 17% des arbres sont sensibles, 35% moyennement résistants et 48% résistants. Les arbres sensibles proviennent en majorité du clone 107 de C. canephora sensible à la rouille orangée (tableau 4). Les BC1 dont 10 combinaisons sont créées avec ce clone, sont les plus atteints avec 16 arbres sensibles soit 0.7 % de leur effectif. Les F1 avec 5 combinaisons issues du 107, ressortent avec un seul arbre sensible, soit 0.3 % de leur effectif. Aucune tache de rouille n'a été remarquée sur les individus de la descendance F2.

4. Production

Des travaux antérieurs (2) ont montré que l'espèce C. congensis et les hybrides Congusta sont caractérisés par l'étalement de leur récolte dans le temps. Aussi, recherche t-on des génotypes à maturité groupée. Une analyse multivariée en composantes principales a été faite avec comme variables actives, les différents passages de récoltes des années 86 et 87, les récoltes annuelles et la production cumulée des années 85, 86 et 87. Les combinaisons représentent les individus actifs.

Les deux premiers axes représentent 95% de la variabilité totale. L'axe 1 est associé aux variables de production; la précocité est définie par l'axe 2 sur laquelle les récoltes tardives s'opposent aux récoltes précoces.

La projection des valeurs moyennes des différentes combinaisons sur le plan formé par les axes 1 et 2 (fig.1) présente trois groupes bien distincts:

- un groupe productif et précoce formé par les trois clones Robusta témoins;
- un groupe productif et tardif formé par deux combinaisons d'hybrides F1;
- le dernier groupe formé par les combinaisons restantes (75 au total), se caractérise par sa faible productivité et l'étalement de sa récolte dans le temps.

Cette analyse fait ressortir deux combinaisons F1 comme productives avec des récoltes moins étalées; aucune descendance BC1 n'apparait intéressante sur le plan de la productivité.

Une analyse de la variance a été réalisée sur la production cumulée des trois premières années. L'effet famille est hautement significatif ($p = 0.01$). Les clones témoins sont les meilleurs producteurs avec une moyenne de 10 kg de cerises par clone et par arbre. La famille F2 est parmi les moins productives avec moins de 2 kg de cerises par arbre. Le tableau 5 présente les moyennes des 10 meilleures descendances.

5. Caractéristiques technologiques

Les caractéristiques technologiques sont mesurées sur 130 arbres dont 41 sont issus de descendances F1 et 5 de descendance F2, le reste étant constitué d'arbres issus de rétrocroisements. Ces arbres ont été repérés comme ayant un bon niveau de production à la suite de la récolte de 1986 (production par arbre supérieure ou égale à 5 kg de cerises fraiches). Le poids moyen de 100 grains et le rendement moyen en café marchand calculés à 12% d'humidité sont respectivement de 11.50 g (cv = 20 %) et 20.34 % (cv = 22 %). Les valeurs sont comprises entre 6.40 et 18.50 g pour l'un et entre 12.0 et 27.20 % pour l'autre. L'effet croisement est non significatif ($p = 0.05$). Ces caractéristiques technologiques sont équivalentes à celles des clones témoins (LEROY T., c. p.).

6. Sélection d'arbres producteurs

La sélection individuelle dans les descendances a été basée principalement sur la productivité. Le meilleur clone témoin, le n°461, a une production cumulée moyenne de 13 kg de cerises fraîches par arbre sur trois ans, avec un écart type de 8 kg. Trois arbres sont retenus pour avoir eu une production individuelle supérieure à cette moyenne augmentée d'un écart type. Sept autres ont été ajoutés, compte tenu de la régularité de leurs productions (18.7 kg de cerises fraîches comme moyenne cumulée par arbres). Dix arbres au total ont été sélectionnés. Ces arbres sont indemnes de rouille. Leurs caractéristiques technologiques sont présentées dans le tableau 6. Ils sont en cours de multiplication pour être mis dans des essais de triage clonal.

CONCLUSIONS

L'étude des 77 descendances a permis de sélectionner dix arbres dont huit sont issues de rétrocroisements (0.25 % de l'effectif des BC1). Mais la stratégie adoptée, qui consiste à créer des hybrides rétrocroisés sur le parent récurrent C. canephora pour améliorer l'adaptation des Congusta aux conditions de Côte d'Ivoire, n'est pas entièrement satisfaisante. En effet, si quelques descendances BC1 ont un bon niveau de résistance à la sécheresse, elles sont toutes peu vigoureuses et peu productives avec une récolte très étalées. De plus, la sensibilité à la rouille orangée est plus accentuée chez les descendants rétrocroisés que chez les hybrides F1. Il faudrait, pour atteindre les objectifs visés, mettre l'accent sur le choix des géniteurs d'une part, et d'autre part, intercaler les générations de rétrocroisements, par des brassages inter et/ou intradescendances qui permettent de mettre en évidence des caractères intéressants de C. congensis et de contrôler les caractères de vigueur hérités du parent C. canephora.

BIBLIOGRAPHIE

1/ ANTHONY F., COUTURON E., DE NAMUR C., 1985. ASIC, 11e Colloque (Lomé), 495-501.

2/ ANTHONY F., LE PIERRES D., 1987. Café, Cacao, Thé, XXXI n°4, 251-266.

3/ BERTHAUD J., 1986. Travaux et documents ORSTOM, n°188, 379 p.

4/ BERTHAUD J., GUILLAUMET J., L., 1978. Café, Cacao, Thé, XXII, n°3, 171-186.

5/ CHARRIER A., 1972. Café, Cacao, Thé, XVI n°2, 111-122.

6/ CRAMER P., J., S., 1948. Bulletin Agricole du Congo belge, XXXIX, n°1, 29-48.

7/ DE NAMUR C., COUTURON E., SITA P., ANTHONY F., 1987. ASIC, 12e Colloque (Montreux), 397-404.

8/ ESKES A., TOMA-BRAGHINI M., 1981. Plant. Prot. Bull. FAO, 29, 56 -66.

9/ FOURY C., 1962. Rapport IFCC (Madagascar).

10/ LOUARN J., 1987. ASIC, 12e Colloque (Montreux), 441-452.

11/ RAVOHITRARIVO C., P., 1980. Thèse de Doctorat 3e cycle, Université de Madagascar, 105 p.

12/ SEIVERT B., 1983. Rapport d'élève ORSTOM.

13/ SNOECK J., 1968. Café, Cacao, Thé, XII, n°3, 223-235.

Diametre au collet (cm)				Hauteur (cm)				Longueur du plus grand plagiotrope (cm)			
Fam.	Eff.	$\bar{m}$	CV	Fam.	Eff.	$\bar{m}$	CV	Fam.	Eff.	$\bar{m}$	CV
CL 461	43	71	22	66 (F1)	38	224	15	Cl 126	43	121	16
48(BC1)	43	66	20	38(BC1)	42	224	15	CL 197	47	120	21
6 "	37	65	24	2 "	33	223	12	38(BC1)	42	119	21
76 "	43	65	17	3 "	35	222	16	76 "	43	119	20
38 "	42	65	16	CL 197	47	221	17	35 "	44	118	17
66(F1)	38	65	20	17(BC1)	43	221	19	77 "	41	116	18
77(BC1)	41	64	20	7 "	31	220	17	6 "	37	113	25
56 "	42	64	24	48 "	43	220	19	48 "	43	113	20
35 "	44	64	17	8 "	38	219	14	56 "	42	113	25
2 "	33	64	17	74 "	41	218	20	CL 461	43	112	18

TABLEAU 1 : Variables de vigueur et d'architecture.
Moyennes et coefficients de variation des 10 meilleures familles.

Résistance à la sécheresse			
Famille	Effectifs	m	CV
CL.126	43	1	35
52 (BC1)	28	1	39
10 "	31	1	41
9 "	39	1	43
1 "	32	2	47
17 "	27	2	40
16 "	28	2	43
31 "	33	2	51
53 "	25	2	44
30 "	31	2	46

TABLEAU 2 :

Valeurs moyennes et coefficients de variation de 10 familles les moins sensibles à la sécheresse.

	N° Fam.	Eff.	Nb plants ayant des taches de rouille	Nb. plants/classe		
				R	MR	S
(BC1)	1	39	2		2	
"	8	38	2	1		1
"	13	40	2	1	1	
"	17	27	2		2	
"	18	24	2	2		
"	21	32	2	2		
"	22	30	2	2		
"	23	43	1		1	
"	27	42	2	1	1	
"	28	35	1			1
"	29	42	2	1	1	
"	30	31	4		3	1
"	31	33	1		1	
"	32	33	1			1
"	37	37	1		1	
"	40	38	2	2		
"	41	31	9	3	3	3
"	42	32	6	4	1	1
"	43	34	2	1	1	
"	44	30	6	3	2	1
"	45	31	3	3		
"	49	30	6		3	3
"	50	20	2			2
"	51	26	2		2	
"	52	28	5	3	2	
"	54	36	6	3	2	1
"	55	34	2		2	
"	56	42	2	2		
(F1)	64	30	4	4		
"	67	29	1		1	
"	68	29	3	3		
"	70	22	2	2		
"	72	23	2		1	1
(BC1)	75	38	1		1	
(BC1)	77	41	2	2		

TABLEAU 3 : Répartition des arbres atteints de rouille par classe et par famille.

Géniteurs C.Canephora (parents)	Eff./descendance	Nb. total de plants atteints	Nbre de plants/classe		
			R	MR	S
A2	215	10	6	4	0
107	423	55	17	26	12
149	334	5	4	1	0
182	458	7	3	3	1
202	438	7	2	4	1
461	754	10	4	4	2

TABLEAU 4 : Répartition des arbres atteints par la rouille orangée par géniteurs de C.Canephora utilisés.

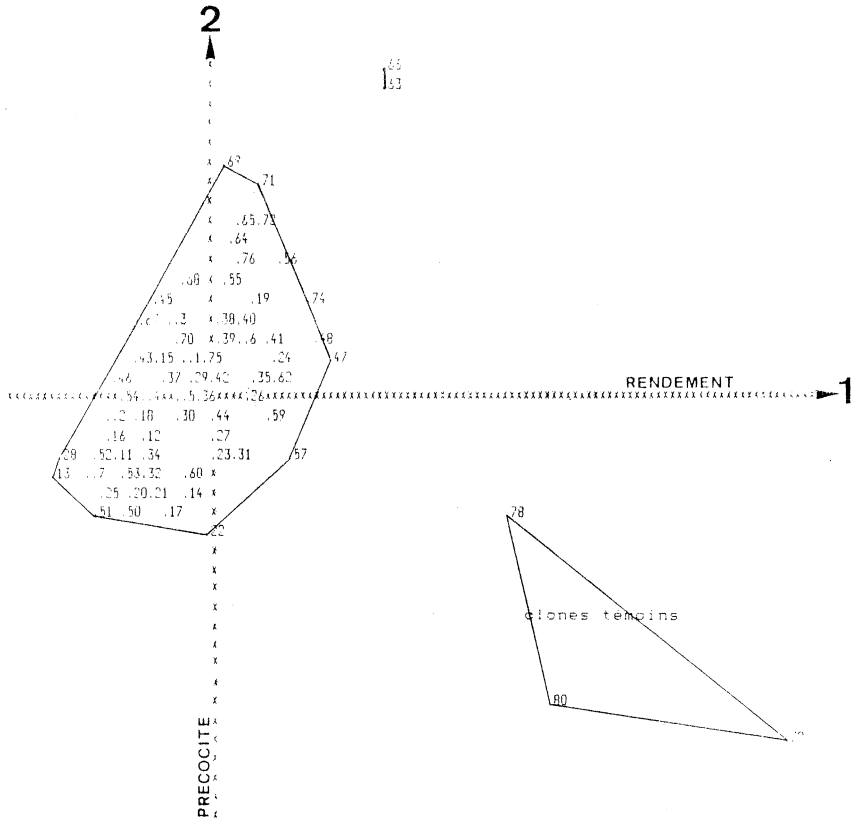


Fig. 1: Analyse en composantes principales sur les productions mensuelles (poids et dates de récoltes).
Projection des différentes combinaisons et des clones (témoins) sur le plan des axes 1 et 2 (95% de la variabilité totale).

N° Fam.	Eff.	$\bar{X}$	CV
79 (clone 461)	43	13,0	61
80 (clone 197)	47	9,0	65
78 (clone 126)	43	8,2	67
66 F1	38	6,2	76
63 "	42	6,1	70
47 (BC1)	40	5,4	95
48 "	43	5,3	92
74 "	41	5,0	74
57 "	39	5,0	88
24 "	43	4,5	95

TABLEAU 5 Production cumulée 85,86 et 87 en kg de cerises fraiches. Moyennes et coefficients de variation des 10 meilleurs familles (3 clones de C. canephora (témoins)et 7 descendances)

Position	Famille	Production cumulée (kg cerises)	Granulometrie (poids 100 grains (g)	Rendement en café marchand %
108/12	47 (BC1)	28,3	14,5	25,6
112/12	41 "	18,4	18,7	19,2
113/5	42 "	17,1	14,3	17,7
124/9	9 "	23,7	14,0	23,0
205/12	66 (F1)	16,8	10,5	15,3
219/6	48 (BC1)	23,5	10,7	20,1
219/8	35 "	20,4	12,2	22,4
227/13	47 "	18,3	14,0	20,6
311/14	63 (F1)	19,8	9,5	20,6
810/11	39 (BC1)	19,8	13,2	15,0

TABLEAU 6 Production et caractéristiques technologiques des arbres sélectionnés.

RESUME

Les premiers Congusta F1 testés en Côte d'Ivoire, s'ils présentaient des caractéristiques architecturales et une qualité du café intéressantes, s'avéraient mal adaptés aux conditions de sol et de climat de Côte d'Ivoire. Des rétrocroisements sur C. canephora (BC1) ont alors été réalisés à Man et testés à Divo de 1983 à 1987. Les observations ont porté sur le comportement des plants au champ, sur leur production et leur morphologie. Ces observations ont montré la possibilité d'engager en sélection clonale des individus de ce type de matériel. Cependant, les analyses des desendances montrent une faible vigueur et une faible productivité des BC1.

Il convient donc de mettre l'accent sur le choix des géniteurs pour la création du matériel et d'effectuer des brassages inter et/ou intradecsendances afin de mettre en évidence les caractères intéressants hérités des parents.

SUMMARY

Allthough they showed interesting architectural caracteristics and coffee cup quality, first tested F1 Congusta in Côte d'Ivoire appeared to be unadapted to Côte d'Ivoire soil and climatic conditions. Backcross on C. canephora were then conducted in Man and tested in Divo from 1983 untill 1987. Their productivity and morphology were observed. They proved the possibility to use genotypes among this material in clonal selection. Nevertheless, analysis led on their progenies showed little vigor and productivity.

Efforts should then be concentrated in choosing better genitors and in intra and/or inter crossing progenies to exhibit interesting inherited traits.

MISE EN PLACE D'UN PROGRAMME DE SÉLECTION RÉCURRENTE RÉCIPROQUE CHEZ *COFFEA CANEPHORA* PIERRE

T. LEROY *, A. CHARRIER **

* IRCC 01, B.P. 1827, Abidjan 01, Côte d'Ivoire.
** ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex, France.

INTRODUCTION

Le caféier *Coffea canephora*, appelé commercialement Robusta, est cultivé depuis la deuxième moitié du XIXe siècle. Il s'agit d'une espèce diploïde strictement allogame, grâce à un système d'incompatibilité gamétophytique mettant en jeu une série d'allèles S (BERTHAUD, 1980). Il existe donc une grande variabilité génétique dans les populations naturelles et les hybrides qui rend difficile l'étude de la transmission des caractères (BERTHAUD et al., 1984).

La sélection de *C. canephora* a débuté à Java vers 1900 (CRAMER, 1957). En Afrique centrale et occidentale, elle a été réalisée avec le matériel végétal local et introduit (PORTERES, 1959). Elle a débouché sur la production de variétés hybrides distribuées par semences, cas le plus répandu à travers le monde, et sur la diffusion de variétés clonales. La sélection clonale permet le choix d'individus exceptionnels et la distribution de matériel génétiquement homogène. La multiplication des variétés clonales s'est faite par greffage à Java (CRAMER, 1957), ou par bouturage de rameaux orthotropes en Afrique, particulièrement en Côte d'Ivoire.

Parmi les schémas d'amélioration adoptés pour les espèces cultivées, la sélection récurrente est une méthode très employée chez les plantes allogames, car elle permet un progrès génétique continu, sans forte diminution de la variabilité disponible. La sélection récurrente réciproque (COMSTOCK et al., 1949) fait intervenir deux populations aux caractéristiques complémentaires ; des études effectuées sur maïs ont montré son efficacité. Cette voie d'amélioration a été adoptée également pour le palmier à huile depuis 1957 (MEUNIER et GASCON, 1972) après une expérience internationale d'échange de matériel végétal qui a mis en évidence l'existence de deux pools géniques complémentaires.

Une étude récente sur la variabilité enzymatique de l'espèce *C. canephora* (BERTHAUD, 1986) a révélé l'existence de deux groupes génétiques, l'un d'origine ouest-africaine, l'autre d'Afrique centrale. Un hétérosis a été mis en évidence dans les descendances hybrides entre ces deux groupes. Ces résultats nous conduisent donc à envisager la mise en place d'un schéma de sélection récurrente réciproque sur *C. canephora*.

1) RAPPEL DU SCHEMA DE SELECTION DE C. CANEPHORA EN COTE D'IVOIRE

Entre 1900 et 1960 (PORTERES 1959), l'introduction de clones et de semences d'autres stations de recherche (origines "INEAC", "LULLA", "CONGO BELGE", "JAVA", "OUGANDA", "CENTRAFRIQUE"), a permis de disposer en Côte d'Ivoire de matériel végétal d'Afrique centrale.

Par ailleurs, des prospections dans les plantations ivoiriennes ont été menées pour prélever des boutures (PORTERES, 1959), après un choix phénotypique simple basé sur la production. Dans ces plantations, des hybridations naturelles s'étaient réalisées entre les génotypes introduits d'Afrique centrale et les caféiers locaux spontanés. En 1962 (IFCC, 1962), une stratégie de la sélection du caféier Robusta avait été élaborée. Elle prévoyait une sélection d'hybrides pour la distribution de semences, et un clonage des arbres les plus intéressants dans les descendances et en collection. Ce schéma comprenait tout d'abord une série de tests d'aptitude générale à la combinaison, qui peut être définie par la valeur moyenne pour le caractère étudié des descendances d'un parent donné croisé avec un certain nombre de partenaires.

Une série de croisements entre les génotypes repérés par ces tests devait être ensuite effectuée afin de déterminer ceux qui présentaient une bonne aptitude spécifique à la combinaison (écart à l'aptitude générale pour une combinaison particulière), et de sélectionner des combinaisons productives.

Dans la pratique, en Côte d'Ivoire (CAPOT, 1977), la sélection a démarré par une série de tests d'aptitude générale à la combinaison basés sur les descendances obtenues en fécondation libre dans les collections. Simultanément, des géniteurs ont été croisés pour tester leur aptitude spécifique à la combinaison, et préparer la mise en place de champs semenciers. Ils sont constitués d'un clone "femelle" et deux clones "mâles" afin d'assurer un meilleur synchronisme des floraisons. Dans le même temps, les génotypes introduits, prospectés ou repérés dans les essais de descendances ont été testés dans des essais clonaux. Ces travaux ont débouché sur la diffusion de sept clones améliorés aux planteurs ivoiriens, les semences étant réservées presque exclusivement à l'exportation.

Parallèlement à cette sélection, l'ORSTOM et l'IRCC ont engagé des prospections dans plusieurs pays d'Afrique depuis 1960. Pour *C. canephora*, 130 génotypes d'Afrique centrale et plus de 400 génotypes d'Afrique occidentale tous d'origine spontanée ont été introduits dans les collections de Côte d'Ivoire.

2) MISE EN EVIDENCE ET CARACTERISTIQUES DES GROUPES

En 1983, une étude du polymorphisme enzymatique de l'espèce *C. canephora* par électrophorèse a été entreprise (BERTHAUD, 1986). Cette analyse a porté sur les populations de génotypes spontanés prospectés en Côte d'Ivoire et en Afrique centrale (Centrafrique, Cameroun), ainsi que sur les collections de travail de l'IRCC. L'étude a été faite avec sept enzymes pour neuf loci, sur 471 génotypes . BERTHAUD a ainsi pu, sur trois loci (Isocitrate déshydrogénase, Phosphatase acide 2 et Phospho-gluconate déshydrogénase) mettre en évidence l'existence de deux groupes : les "guinéens" d'Afrique de l'Ouest et les "congolais" d'Afrique centrale.

Cette séparation correspond à des caractéristiques morphologiques très différentes (PORTERES, 1959 ; BERTHAUD, 1986), en rapport avec la structure génétique et écologique de l'espèce.

Les "guinéens" ont les caractères prédominants suivants :

- Arbres trapus à entre-noeuds courts
- Petites feuilles
- Forte ramification plagiotrope secondaire
- Adaptation à des zones sèches
- Faible granulométrie (souvent inférieure à 12g./100 fèves)
- Taux de caféine élevé (souvent supérieur à 2,8 %)
- Production précoce (septembre-octobre)
- Fort pourcentage d'arbres sensibles à la rouille orangée.

Les "congolais" ont les caractères prédominants suivants :
- Arbres à entre-noeuds longs, atteignant souvent des hauteurs supérieures à trois mètres
- Grandes feuilles
- Faible ramification plagiotrope
- Forte granulométrie (en moyenne 16 g./100 fèves)
- Taux de caféine moyen (autour de 2,4 %)
- Production tardive (décembre)
- Peu de plants sensibles à la rouille orangée.

Cette diversité ne pouvait être repérée plus tôt en raison de la faible représentation du groupe guinéen dans les collections de travail ; les caféiers de ce groupe étaient en effet systématiquement éliminés depuis les prospections de PORTERES, en raison de leur forte sensibilité à la rouille.

L'analyse enzymatique des collections de travail a permis également de mettre en évidence que trois des clones vulgarisés, repérés dans les plantations ivoiriennes, sont des hybrides naturels entre les deux groupes. La combinaison hybride testée la plus productive est également un hybride entre un génotype guinéen et un génotype congolais. Un clone choisi dans cette descendance est d'ailleurs sur le point d'être vulgarisé.

Chez l'espèce *Coffea canephora*, on se trouve donc en présence de deux groupes génétiques, d'origine géographique différente, aux caractéristiques complémentaires. Les hybrides entre ces deux groupes sont intéressants en sélection, puisqu'ils ont été largement retenus sous forme de clones ou de descendances. Ces données permettent de proposer la mise en place d'un schéma de sélection récurrente réciproque exploitant la vigueur et la productivité des hybrides intergroupes, ainsi que les caractères complémentaires des deux groupes (BERTHAUD, 1985 ; CHARRIER et BERTHAUD, 1988).

3) MISE EN PLACE DU SCHEMA DE SELECTION

3-1) Définition des populations de départ

Pour la constitution du groupe guinéen, on a intégré dans le schéma de sélection un échantillon de l'ensemble des populations spontanées prospectées depuis 1975, ainsi que les quatre génotypes de la collection de travail. Le choix des génotypes dans chaque population repose sur une sélection phénotypique des caractères architecturaux (ramification secondaire importante) et d'adaptation à des conditions sèches (arbre ne présentant pas de symptômes de défoliation ou de mort des rameaux, et fleurissant normalement après la période sèche).

Pour la constitution du groupe congolais, d'une variabilité phénotypique très importante, les génotypes des collections de travail ont été intégrés au schéma. Pour ceux des collections de caféiers spontanés, un simple choix phénotypique a permis de retenir un échantillon des populations prospectées.

3-2) Héritabilité et choix des critères de sélection intragroupe

3-2-1) Héritabilité des caractères sélectionnés

Les données disponibles sur l'héritabilité de certains caractères ne peuvent être utilisées directement dans le schéma d'amélioration car elles ne sont valables que pour les parents considérés et les conditions environnementales de l'essai analysé (CHARRIER et BERTHAUD, 1988). De plus, de gros effectifs sont nécessaires pour connaître la transmission de caractères polygéniques.

Les résultats connus sont les suivants :

- productivité : héritabilité faible (BOUHARMONT et al, 1986). Dans le cadre du schéma de sélection récurrente réciproque, la productivité résultera surtout de la vigueur des hybrides entre

guinéens et congolais.
- granulométrie : héritabilité moyenne. Ce caractère aurait une transmission de type additif (BOUHARMONT et al., 1986).
- taux de caféine : pour ce caractère, la variance des descendances est forte (CHARRIER et BERTHAUD, 1975), et une sélection efficace est donc possible. BOUHARMONT et ses collaborateurs (1986), CHARRIER et BERTHAUD (1988) considèrent que ce caractère a une transmission de type additif. Il existerait aussi une part d'hérédité maternelle par l'albumen.
- résistance à la rouille orangée : le déterminisme de ce caractère est oligogénique ou plus complexe (ESKES,1983 ; BERTHAUD et LOURD, 1982). Tant que l'on ne croise pas deux caféiers sensibles, la sélection d'arbres résistants dans une descendance est possible (CHARRIER et BERTHAUD, 1988).

3-2-2) Critères de sélection

Pour le choix des géniteurs, tous les caractères intéressants et complémentaires de chacun des groupes seront sélectionnés au cours du brassage des populations. Les caractères les plus héritables, taux de caféine et granulométrie, seront sélectionnés plus fortement. Le seuil de sélection sera différent pour les deux populations. La sélection se fera donc sur les caractères suivants : granulométrie, taux de caféine, résistance à la rouille orangée, architecture des arbres et adaptation à des zones sèches.

Ces caractères seront observés au stade optimal pour la sélection :
- rouille orangée : observation en pépinière ou notation au champ deux mois après le maximum des pluies pour des arbres en production
- architecture : observation visuelle sur des arbres âgés de quatre ans
- sécheresse : observation visuelle des arbres en fin de saison sèche
- granulométrie et taux de caféine : analyse d'échantillons sur les premières récoltes.

3-3) Type de sélection récurrente réciproque, plans de croisements

Le type de sélection adopté et les plans de croisements doivent garantir un progrès génétique continu, associé au maintien d'une variabilité génétique importante.
Le schéma général de sélection est présenté dans la figure 1.

3-3-1) Croisements intergroupes

La sélection récurrente réciproque peut être de deux types :
- sélection directe par croisement de tous les individus des deux groupes étudiés.
- sélection indirecte par croisement des génotypes d'un groupe par un ou plusieurs testeurs appartenant à l'autre groupe.

Le type de sélection dépend, d'une part du type de transmission des caractères sélectionnés, et d'autre part du volume de travail consacré au programme. Afin de le limiter, la sélection indirecte a été choisie. Elle est utilisée lorsque l'aptitude générale à la combinaison prédomine pour les caractères étudiés, hypothèse retenue d'après les résultats antérieurs (BOUHARMONT et al., 1986). Nous utiliserons trois testeurs dans chaque population afin d'éviter la sélection de génotypes n'ayant éventuellement qu'une aptitude spécifique avec l'un d'entre eux.

Les testeurs sont choisis à partir des résultats des tests d'aptitude générale et spécifique effectués en Côte d'Ivoire (CAPOT, 1977), qui concernaient une quarantaine de géniteurs et 100 hybrides contrôlés au champ. Il sera possible de changer les testeurs au cours des cycles successifs, sans que l'amélioration obtenue soit remise en cause.

Pour le groupe congolais, nous avons retenu :

- deux clones à bonne aptitude générale et spécifique : 178, 464 (parent de H6, meilleure combinaison vulgarisée).
- un clone aux caractéristiques intéressantes du point de vue granulométrie, caféine et résistance aux aléas : 444.

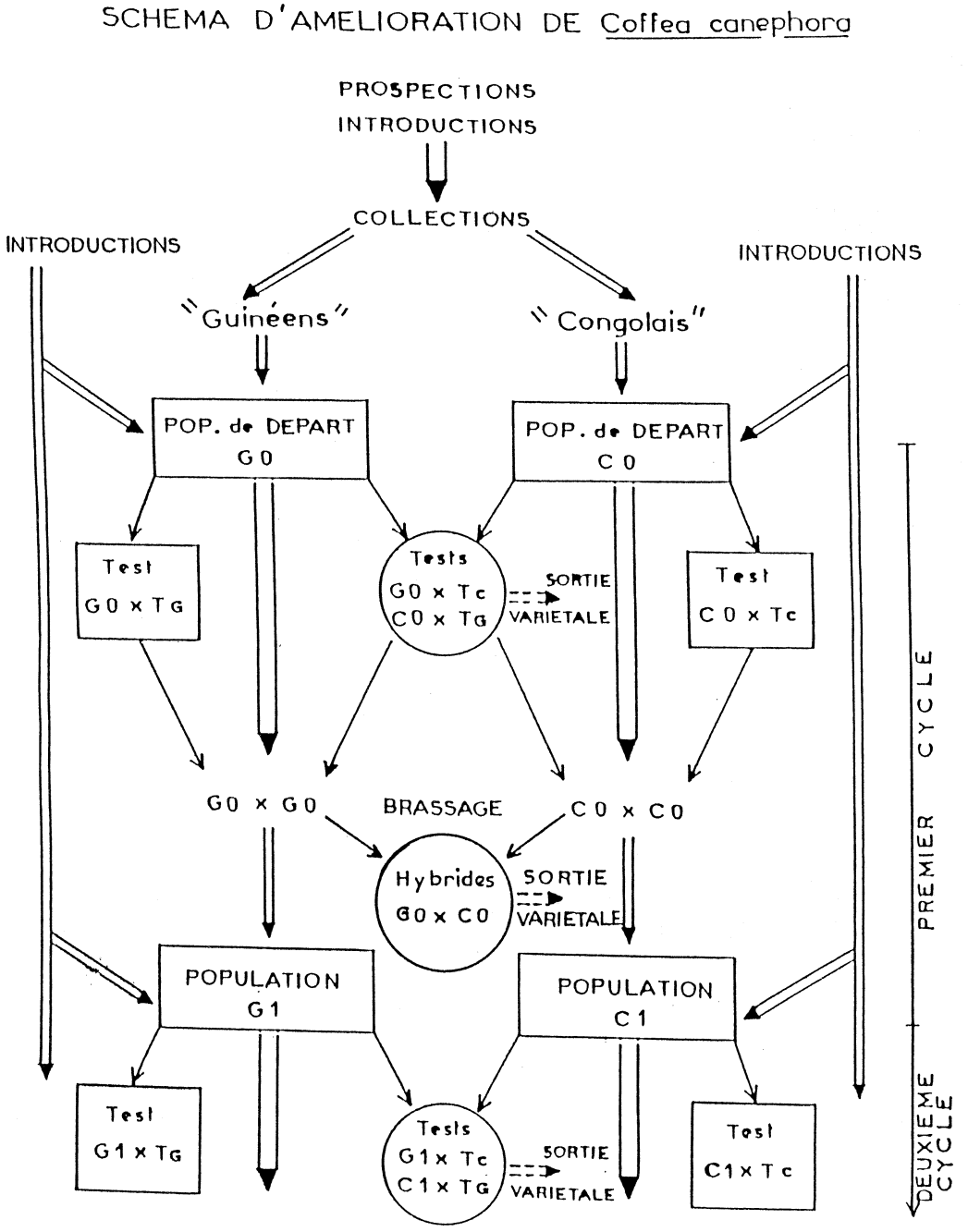

SCHEMA D'AMELIORATION DE Coffea canephora
PROSPECTIONS
INTRODUCTIONS
COLLECTIONS
INTRODUCTIONS
INTRODUCTIONS
"Guinéens"
"Congolais"
POP. de DEPART G 0
POP. de DEPART C 0
Test G 0 x T G
Tests G 0 x Tc C 0 x TG
SORTIE VARIETALE
Test C 0 x Tc
G 0 x G 0
BRASSAGE
C 0 x C 0
Hybrides G 0 x C 0
SORTIE VARIETALE
POPULATION G 1
POPULATION C 1
Test G 1 x T G
Tests G 1 x Tc C 1 x TG
SORTIE VARIETALE
Test C1 x Tc
PREMIER CYCLE
DEUXIEME CYCLE

Figure 1

Pour le groupe guinéen, nous avons retenu :

- deux clones à bonne aptitude générale : 155 et 410 (parent de H6).
- un génotype spontané de la population IRA2 résistant à la rouille.

3-3-2) Croisements intragroupes

Ces croisements permettent le brassage de chaque population pour créer la population améliorée, point de départ d'un nouveau cycle de sélection. Cette phase de brassage se fera en deux étapes. La première consistera, sur leur valeur propre et les résultats des premiers croisements, à polliniser les cinquante meilleurs géniteurs de chaque population avec un mélange de dix d'entre eux. La deuxième étape débutera lorsque les résultats de tous les essais d'hybrides intergroupes sur testeur seront connus. Elle consistera à choisir des arbres dans les descendances des meilleurs géniteurs pour constituer la population améliorée. L'introduction de nouveau matériel végétal directement dans le deuxième cycle sera possible, après l'avoir jugé sur sa valeur propre.

3-4) Le tri des arbres en essais - la sortie variétale

3-4-1) Tri des individus et des familles

Dans les essais d'hybrides intergroupes, la sélection d'arbres et de descendances se fera sur les critères liés à la vigueur intergroupe et sur les caractères complémentaires de chacun des groupes :

- Vigueur et productivité des arbres.
- Maturité groupée en vue d'une récolte facilitée et mécanisable.
- Fertilité des arbres (remplissage des fruits) : du fait de la distance génétique entre les deux populations, des problèmes de mauvaise fertilité pourront apparaître. La sélection sur ce caractère paraît indispensable.
- Architecture : les arbres sélectionnés devront avoir une architecture ramifiée, permettant le maintien de branches productives et l'écimage.
- Adaptation à des conditions sèches : la sélection sur ce caractère est nécessaire, compte tenu de l'évolution climatique actuelle en Afrique de l'Ouest.
- Résistance aux aléas, en particulier la rouille orangée.
- Granulométrie supérieure à 13 grammes pour 100 fèves.
- Taux de caféine inférieur à 2,5%.
- Qualité du café produit : ce critère de sélection prendra une importance croissante dans les prochaines années, du fait de la concurrence très forte du café Arabica, apprécié pour ses qualités organoleptiques. Le sélectionneur doit se préoccuper de la qualité, afin de proposer aux industriels et aux consommateurs un café ayant de bonnes caractéristiques industrielles, sans défaut organoleptique.

3-4-2) La sortie variétale

La sortie variétale sera de deux types : variétés hybrides distribuées sous forme de semences ou variétés clonales . Ces dernières seront issues d'arbres repérés dans les essais de descendances. La sélection de descendances et de clones se fera tout d'abord en un seul lieu, puis dans des essais multilocaux permettant de tester la plasticité et l'adaptabilité du matériel sélectionné à des conditions édaphoclimatiques variées.

4) ESSAIS MIS EN PLACE ET PREMIERS RESULTATS

4-1) Essais mis en place

Depuis 1984, date du début du programme, les expérimentations suivantes ont été mises en place :

- cinq essais de descendances (1985 à 1989), comparant cent cinquante descendances ;

- un essai à parent constant (1986), comparant les descendants de deux parents guinéens croisés avec cinq parents congolais ;
- deux parcelles isolées de cinquante génotypes guinéens et congolais, pour le brassage des populations (1986 et 1987) ;
- deux essais clonaux des géniteurs guinéens et congolais (cinq génotypes) pour connaître avec précision leur valeur propre (1988) ;
- un essai diallèle triangulaire à sept parents, quatre guinéens et trois congolais, pour la connaissance de l'héritabilité des principaux critères de sélection.

4-2) Premiers résultats

Les premiers essais permettent de vérifier la bonne valeur des hybrides intergroupes, et de connaître les aptitudes à la combinaison qui prédominent pour la vigueur et la précocité de production.

4-2-1) Vérification de la valeur des hybrides intergroupes

Cette étude a été menée sur un essai planté en 1985, en randomisation totale. L'essai comportait plusieurs types de plants en mélange : quatre descendances intergroupes congolais par guinéen, cinq descendances intracongolaises, une descendance de deuxième génération (hybride x hybride). Ces trois types de plants sont comparés à trois témoins clonaux génétiquement homogènes et vulgarisés pour leur productivité.

Les résultats portant sur la vigueur des plants montrent que les hybrides intergroupes sont plus vigoureux que les autres descendances et aussi vigoureux que les clones. Pour la productivité des arbres, les témoins clonaux s'avèrent plus productifs que les hybrides sur les deux premières récoltes. Ce résultat est normal, puisque les clones entrent en production un an avant les hybrides, et sont génétiquement homogènes. Au sein des descendances intergroupes, certains individus produisent plus que les meilleurs arbres des clones témoins, et peuvent donc intéresser la sélection clonale.

4-2-2) Aptitudes à la combinaison

Cette étude a été menée sur un essai à parent constant planté en 1986.

Deux génotypes guinéens ont été croisés avec cinq génotypes congolais pris comme mâles. L'analyse de la vigueur des arbres montre l'existence d'aptitudes générales et spécifiques à la combinaison. En revanche pour la précocité de production, seules des aptitudes générales à la combinaison ont pu être mises en évidence.

L'existence d'aptitudes spécifiques à la combinaison pour la vigueur montre la nécessité de croiser chaque génotype avec plusieurs testeurs de l'autre groupe. On évitera ainsi de sélectionner des arbres sur leur aptitude spécifique avec un seul testeur.

CONCLUSION

La relance de la sélection du caféier Robusta en Côte d'Ivoire au début des années 80 est fondée sur le schéma de sélection récurrente réciproque, conçu par BERTHAUD en 1983, et mis en oeuvre depuis 1984.

A ce jour, plus de 10 000 plants hybrides intragroupes et intergroupes sont au champ. Des essais de géniteurs guinéens et congolais ont été mis en place pour une bonne connaissance de la valeur propre des parents des hybrides. Un essai diallèle triangulaire à sept parents, planté en 1988, permettra de connaître avec précision, pour le type de matériel végétal utilisé, l'héritabilité et les mécanismes de transmission des caractères sélectionnés.

Les premiers résultats montrent l'intérêt des hybrides intergroupes en sélection pour leur vigueur et leur productivité, ainsi que l'existence d'aptitudes spécifiques à la combinaison pour la vigueur. Ce schéma de sélection doit permettre la vulgarisation progressive de nouveaux caféiers productifs fournissant un café de bonne qualité technologique.

Ce schéma d'amélioration appliqué à l'espèce *Coffea canephora* pourrait certainement être appliqué à d'autres plantes cultivées où l'on retrouve la séparation en deux groupes génétiques d'origines géographiques différentes.

L'utilisation simultanée de matériel local et introduit doit être considérée comme un bon exemple de coopération internationale pour le brassage du matériel végétal, préalable souvent nécessaire à la mise en place de schémas d'amélioration performants.

BIBLIOGRAPHIE

BERTHAUD J., 1980. L'incompatibilité chez *Coffea canephora* : méthode de test et déterminisme génétique. Café, Cacao, Thé, 24, 4, 267-274.

BERTHAUD J., LOURD M., 1982. La résistance à *Hemileia vastatrix* des caféiers de l'espèce *C. canephora* de Côte d'Ivoire. Etude de la transmission de ce caractère par croisements contrôlés. Garcia de Orta, Ser. Est. Agron., 9 (1-2), 89-96.

BERTHAUD J., CHARRIER A., GUILLAUMET J.L., LOURD M., 1984. Les caféiers *in* PERNES J. Gestion des ressources génétiques des plantes, tome 1, monographies. Ed. Lavoisier, Paris, France, pp 45-106.

BERTHAUD J., 1985. Propositions pour une nouvelle stratégie d'amélioration des caféiers de l'espèce *C. canephora*, basée sur les résultats de l'analyse des populations sylvestres. ASIC, 11ème colloque, Lomé, pp 445-452.

BERTHAUD J., 1986. Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Evaluation de la richesse génétique des populations sylvestres et de ses mécanismes organisateurs. Conséquences pour l'application. Document ORSTOM N°188, Paris, 379 p..

BOUHARMONT P., LOTODE R., AWEMO J., CASTAING X., 1986. La sélection générative du caféier au Cameroun. Analyse des résultats d'un essai d'hybrides diallèle partiel implanté en 1973. Café, Cacao, Thé, 30, 2, 93-112.

CAPOT J., 1977. L'amélioration du caféier Robusta en Côte d'Ivoire. Café, Cacao, Thé, 21, 4, 233-244.

CHARRIER A., BERTHAUD J., 1975. Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*. Café, Cacao, Thé, 19, 251-264.

CHARRIER A., BERTHAUD J., 1988. Principles and methods in coffee plant breeding : *Coffea canephora* Pierre, *in* R.J. CLARKE et R. MACRAE eds. COFFEE, vol.4 : Agronomy, Elsevier (Londres), pp 167-197.

COMSTOCK R.E., ROBINSON H.F., HARVRY P.H., 1949. A breeding procedure designed to make maximum use of both general and specific combining ability. Agron. J., 41, 360.

CRAMER P.J.S., 1957. Review of litterature of coffee research in Indonesia. Wellman F.L. Ed., Turrialba, Costa Rica, 262 p.

ESKES A.B., 1983. Characterisation of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in *Coffea canephora* cv. Kouilou. Euphytica, 32, 649-657.

I.F.C.C., 1962. Les principes de la sélection des caféiers canéphoroïdes et libéro-excelsoïdes. Leur application aux travaux des centres de recherches de l'IFCC en Côte d'Ivoire, à Madagascar et en république centrafricaine. Café, Cacao, Thé, 6, 2, 89-104.

MEUNIER J., GASCON J.P., 1972. Le schéma général d'amélioration du palmier à huile à l'I.R.H.O.. Oléagineux, 27, 1, 1-12.

PORTERES R., 1959. Valeur agronomique des caféiers des types Kouilou et Robusta cultivés en Côte d'Ivoire. Café, Cacao, Thé,3,1, 3-13.

RESUME

Une étude de la variabilité enzymatique de l'espèce *Coffea canephora* a permis de révéler l'existence de deux groupes génétiquement distincts, les "guinéens" et les "congolais". La mise en avant d'une vigueur hybride entre ces deux groupes a débouché sur la mise en place depuis 1984 d'un programme de sélection récurrente réciproque.

Les caractères sélectionnés et les modalités de la mise en place de ce schéma de sélection en Côte d'Ivoire sont exposés et discutés.

Les premiers résultats confirment la bonne vigueur et la forte productivité des hybrides intergroupes. Des phénomènes d'aptitude générale et spécifique à la combinaison sont mis en évidence grâce à un essai à parent constant.

SUMMARY

A program of reciprocal recurrent selection applied to the *Coffea canephora* species has been started from 1984 onward. This program is based on the results of a study on enzymatic variability demonstrating the existence of two genetically and geographically distinct groups within *C. canephora*, the "guinean" and "congolese" groups.

The procedure of the reciprocal recurrent selection program and selection criteria applied to the two groups are presented.

The first results confirm high vigor and productivity of intergroup hybrids. General and specific combining ability effects could be demonstrated in a test cross hybrid trial with seven parental clones.

STÉRILITÉ MÂLE DÉTECTÉE CHEZ *COFFEA ARABICA* ET *C. CANEPHORA* AU BRÉSIL

P. MAZZAFERA
UNICAMP, Campinas, S.P., Brésil

A. B. ESKES, J. P. PARVAIS
IRCC/CIRAD, Montpellier, France

A. CARVALHO
Instituto Agronômico, Campinas, S.P., Brésil

INTRODUCTION

La stérilité mâle est l'incapacité pour un individu, de produire des gamètes mâles fonctionnels et inclut tous les types de stérilité dus à des irrégularités du système reproductif sexuel masculin. Chez les plantes, trois formes d'expression de la stérilité mâle peuvent être identifiées (Kaul, 1988) : "structurelle" (absence ou déformation des organes reproductifs mâles), "sporogénique" (présence d'anthères mais sans ou avec très peu de pollen) et "fonctionnelle" (du pollen viable est produit, mais il y a des barrières qui empêchent l'arrivée du pollen sur les stigmates). Génétiquement, la stérilité mâle peut être liée à des gènes nucléaires, généralement recessifs, à des facteurs cytoplasmiques ou a l'interaction du cytoplasme avec le genôme nucléaire. Elle a été trouvée, avec des fréquences variables, chez un grand nombre d'espèces dans la nature ou induite par des traitements mutagènes (Kaul, 1988). Ce caractère est largement utilisé pour la production de variétés hybrides.

Chez le caféier, la stérilité mâle a été signalée pour la première fois dans une introduction de C. congensis existant dans la collection de l'Instituto Agronômico de Campinas (IAC), Brésil (Conagin, 1961). En effet, cette population est d'origine hybride, et devrait être considérée comme une descendance de Congusta. Cette stérilité est caractérisée par une non-viabilité du pollen qui ne germe pas ou germe anormalement. En Inde, des plantes mâles-stériles ont été détectées chez C. kapakata, C. liberica et dans des populations d'hybrides entre C. arabica et C. liberica (Vishveshwara, 1967).

A l'IAC la stérilité mâle chez C. arabica et C. canephora est étudiée depuis 1984, avec le but d'identifier des mutants spontanées utiles pour l'amélioration génétique. Cet article comprend les résultats des observations sur les premiers arbres mâle-stériles (ms) identifiés, y inclus une étude cytologique sur la microsporogenèse. Ensuite, l'intérêt de ces arbres pour la production d'hybrides chez C. arabica est discutée.

MATERIEL ET METHODES

Recherche de plantes ms et observations sur les descendances

Entre 1984 et 1987 un total d'environ 5 500 plantes de C. arabica et 25 de C. canephora, ont été triées sur le Centre Expérimental de l'IAC à Campinas. Cinq à dix boutons floraux ont été récoltés un jour avant l'épanouissement des fleurs et gardés à 100 % d'humidité relative. Après deux jours, des observations macroscopiques ont été faites sur la présence de pollen et, en cas de doute, avec l'aide d'une loupe binoculaire. Pour confirmer le caractère de stérilité mâle des plantes qui ne produisaient pas de pollen, des observations répétées ont été faites et aussi des tentatives d'autofécondation (isolation des fleurs avec des sachets en papier pendant 10 jours).

Pour étudier l'héritabilité du caractère les plantes ms ont été pollinisées, en 1986, avec des variétés de C. arabica (Catuai, Mundo Novo et Arabica). Des descendances obtenues par pollinisation livre de cinq plantes ms ont aussi été observées en pépinière pendant la floraison de 1988.

Observations cytologiques

Les anthères de trois plantes ms de C. arabica, ont été étudiées cytologiquement. Des boutons floraux ont été prélevés à cinq stades, correspondants à 37, 32, 24, 14 et 0 h avant l'anthèse. Les anthères ont été fixées dans du Carnoy (6 vol. alcool, 3 chloroforme, 1 acide acétique) pendant deux jours et ensuite conservés dans l'éthanol à 70° et à 4° C. Pour effectuer les observations cytologiques, les anthères ont été deshydratés progressivement dans l'alcool, inclus dans l'Historésine LKD, coupés à 3 micromètres avec une microtome Historange, et colorés à l'acide périodique Schiff associé à l'hematoxyline de Régaud. Par ailleurs, des observations sur le développement des microspores ont été faites aussi par écrasement des anthères dans du carmen acétique avec addition d'hematoxyline aceto-ferrique pour la coloration noire des noyaux.

RESULTATS ET DISCUSSION

Recherche de plantes ms

Les populations étudiées et le nombre de plantes ms détectées est montré dans le Tableau 1. Chez le cultivar Kouillou de C. canephora, présent en collection, deux plantes (C 66-1 et C69-11) ont été trouvées qui produisent très peu de pollen, celui-ci n'a pas germé dans les tests en laboratoire. La stérilité mâle de ces plantes a été confirmée en hybridations diverses, qui ont été menés à l'IAC entre 1978 et 1986, par l'absence de fruits quant ces plantes sont utilisées comme parents mâles. La production en cerises des deux plantes est normale, le C66-1 étant même très productif, ce qui indique que la fertilité femelle soit normale.

Les observations sur C. arabica ont débutées en 1984, avec des observations sur environ 400 plantes de la collection d'Ethiopie (FAO, 1964) et d'hybrides divers, et ont été élargi pendant les années suivantes à l'Icatu et aux variétés commerciales brésiliennes. Dans trois introductions, existants dans l'essai EP 228, un total de six plantes qui ne produisent pas du pollen ont été détectées (Tableau 1). Le C2018 et C2021 sont des descendances du CIFC, Portugal, identifiées respectivement comme Blumor (Blue Mountain x Hibrido de Timor) et comme une descendance du croisement de Bourbon Rouge avec S12 Kaffa, probablement en génération F_2 ou F_3. L'introduction C2154 correspond a une lignée obtenue du Costa Rica et d'origine de la province de Kaffa en Ethiopie (collection FAO, 1964).

Tableau I : Nombre total de plantes de C. arabica et C. canephora étudiées et nombre de plantes mâle-stériles repérées.

Population	Plantes étudiées	Males stériles	
		Sans pollen	Peu de pollen inviable
C. canephora cv Kouillou	25	0	2
C. arabica			
cvs Catuai, Mundo Novo, Caturra	4000	0	0
Icatu	500	0	0
Collection d'Ethiopie (FAO, 1966)	500	0	0
Hybrides divers	500	0	0
C 2018 (Blumor)	16	2	0
C 2021 (Bourbon x S12 Kaffa)	18	1	0
C 2154 (Kaffa, collection d'Ethiopie)	10	3	0

Des observations répétées sur les six plantes ms ont montré l'absence presque totale de pollen au moment d'anthèse. Les anthères ont un aspect macroscopique normal, mais ils ne s'ouvrent pas ou seulement partiellement. Des autofécondations essayées ont données des résultats négatifs confirmant la stérilité mâle totale des plantes. La productivité en cerises des plantes ms, bien que moins important que des cultivars Catuai ou Mundo Novo, était normale pour la moyenne des lignées en question, ce qui indique que la fertilité femelle de ces plantes soit normale. La plante ms la plus productive et la plus résistante à la rouille orangée était C2018 (239 B).

Observations sur des descendances de plantes ms de C. arabica.

Des descendances de cinq des six plantes ms identifiés (un plant de C2154 est morte en 1987) ont été observées en pépinière pour la production du pollen (Tableau 2).

Tableau II : Observations sur les descendances obtenues par pollinisation libre ou par croisements dirigés de cinq plantes mâle-stériles de C. arabica

Plant mère	Descencandes libres		Croisements dirigés*	
	Plantes observées (Nb)	Plantes mâle stériles (Nb)	Plantes observées (Nb)	Plantes mâle-stériles (Nb)
C 2018 (153 A)	51	1	0	-
C 2018 (239 B)	56	10	74	0
C 2021 (215 B)	46	1	0	-
C 2154 (442 A)	39	0	0	-
C 2154 (442 C)	13	0	32	0

* Comme parents mâles les cultivars Mundo Novo, Catuai et Arabica ont été utilisés.

Parmi des descendances obtenues par pollinisation libre très peu de plantes ms ont été identifiées, sauf pour la descendance de la plante C2018 (239 B) qui contenait environ 18 % de plantes ms. Parmi un total de 106 plantes issues de croisements dirigés, aucune n'a montré le caractère ms. Ces résultats suggèrent que le type de ms identifié est génique et récessif. Le nombre relativement élevée de plantes ms dans la descendance libre de C2018 (239B) peut être expliquée par la présence au champs, à proximité de cette plante, de plusieurs plantes de la même lignée C2018, donc par la possibilité de croisement entre homozygotes récessifs (plantes ms) et héterozygotes fertiles. Les autres plantes ms ont des plantes soeurs plus éloignés, ce qui, dans l'hypothèse annoncée, explique les taux plus faibles ou nuls de descendants ms observés.

Observations cytologiques

Le développement des microspores pendant 2-3 jours avant l'anthèse a été suivi à l'aide des écrasements et des coupes d'anthères de trois plantes ms et comparée à celui d'une plante de la variété Caturra. Les écrasements des anthères ont montré qu'il n'y a pas d'anomalies importantes jusqu'au stade de la mitose pollinique (2-4 jours avant l'anthèse), indiquant que le déroulement de la meiose est normale chez les plantes ms. Les observations faites juste avant l'anthèse montrent l'absence quasi total de pollen, les quelques graines trouvées sont anormales et dépourvues d'exine.

Les coupes montrent, chez le témoin Caturra, un développement normal des grains de pollen (Photos 1 et 2, Planche A). Les photos suivants montrent le développement des loges polliniques de la plante ms C2154 (442 A) pendant les deux jours avant l'anthèse. La photo 3 (Planche A) montre une loge à la fin de la mitose pollinique ; apparemment les microspores et le tapis sont encore dans des conditions presque normales. La photo 4 (Planche A) montre une loge dans un état de développement plus avancée : les grains du pollen n'ont pas formé d'exine et le tapis commence à montrer une dégénérescence précoce. Celle-ci se poursuit rapidement : le tapis et les grains du pollen sont partiellement ou totalement détruites 24-12 h avant l'anthèse. La dégénérescance est rendue aussi évidente par la forte coloration des amas de cellules du tapis (Photo 1, Planche B). La phase finale, juste avant l'anthèse, est caractérisée par une dégénérescence totale du tapis et presque totale des grains de pollen ; dans aucun des cas observés ceux-ci n'ont formé d'exine (Photo 2, Planche B).

Les Photos 3 et 4 (Planche B) montrent la phase finale juste avant l'anthèse, des loges polliniques des deux autres plantes ms étudiées et appartenant à deux lignées différentes (C2021 et C2154). Le type de dégéréscence observée est apparemment identique pour les trois plantes étudiées.

Ces résultats montrent que la ms detectée chez trois lignées de C. arabica peut être expliquée par un même phénomène de dégénérescence précoce du tapis ; celui-ci ne peut donc pas assurer sa fonction de nutrition des microspores. Les observations cytologiques mettent en évidence que la stérilité mâle observée est totale, sans aucune production de pollen viable.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les résultats ont montré l'existance de stérilité mâle chez C. canephora cv Kouillou. D'ailleurs en Côte d'Ivoire, un clone de cette même espèce (KM5) a été identifié comme mâle-stéril ; celui-ci produit des pollens totalement vide (C. LANAUD, CIRAD, observations personnelles, 1980). La stérilité mâle chez C. canephora n'a pas une application pour l'amélioration génétique, mais son existance peut rendre difficile la réalisation de certaines pollinisations.

La découverte chez C. arabica d'une stérilité mâle de type génique et récessif peut faciliter la production à grande échelle de variétés hybrides F_1, ce qui offre une alternative intéressante aux autres méthodes de reproduction (multiplication végétative et pollinisation manuelle). L'utilisation de variétés hybrides est encore très limitée, un des principaux problèmes étant la difficulté de reproduction. Cependant ce type de variété peut permettre de raccourcir le cycle traditionel de sélection, de profiter d'un possible effet d'hétérosis, ou de rassembler plusieurs caractères dominants dans une seule variété (par exemple la résistance à la rouille et au CBD présent dans la variété hybride Ruiru 11 au Kenya).

Pour l'application pratique de la stérilité mâle, on pourra recommander les étapes de recherche suivantes :

1. Utilisation directe des plantes ms identifiées. Cependant, due à l'hétérozygotie et la faible valeur propre de la plupart des plantes, il parait peu probable que les hybrides avec ces plantes sont intéressantes.

2. Sélection de plantes parmi les descendances des plantes ms issues de croisements frères et soeurs. L'objectif est de trouver des plantes ms plus homozygotes et avec des caractères agronomiques plus intéressant.

3. Introduction du caractère ms dans des variétés commerciales de C. arabica par croisements, rétrocroisements suivi d'autofécondations, ce qui est actuellement en cours de réalisation au Brésil.

4. Continuation de la recherche de ms spontanée chez les variétés commerciales ou chez s'autres ayant un génotype intéressant. Les résultats obtenus suggèrent qu'il n'est pas impossible de trouver des plantes ms, avec une certaine fréquence, dans une des autres populations de C. arabica. Cette voie devrait être privilégiée, parce qu'elle pourra permettre d'obtenir immédiatement des plantes ms intéressantes pour la création de variétés hybrides.

5. Egalement, la recherche de stérilité-mâle par mutagenèse artificielle ou induite par culture in vitro (variation somaclonale) peut être envisagée.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mme M. Toma-Braghini pour sa collaboration, durant la phase initialle des travaux, et l'accueil du laboratoire cytogénétique du CIRAD, Montpellier, où les études cytologiques ont été réalisées.

REFERENCES

Conagin, R.W. 1961. Microsporogenese, incompatibilidade e esterilidade masculina en Coffea congensis Froehner. Bragantia 20 : 669-677.

Kaul, M.L.H. 1988. Male sterility in higher plants. Springer-Verlag. 1005 pp.

Vishveshwara, S. 1967. Male sterility in coffee. Indian Coffee 31 : 6-8.

STERILITE MALE DETECTEE CHEZ Coffea arabica ET C. canephora AU BRESIL

P. MAZZAFERA , A. B. ESKES , J. P. PARVAIS et A. CARVALHO

RESUME

La stérilité mâle chez le caféier a été recherchée à l'Instituto Agronômico du Campinas, SP, Brésil, à partir de 1984. Dans la collection de C. canephora cv Kouillou deux plantes mâle-stériles (ms) ont été identifiées ; celles-ci ne reproduisent qu'une faible quantité de pollen non-viable. Parmi environ 5500 arabres de C. arabica, six plantes ms ont été identifiées ; celles-ci ne produisent pas de pollen mais ont des fleurs et des anthères normales. Les plantes ms appartiennent aux introductions suivantes : C2018 (Blumor), C2021 (Bourbon x S12 Kaffa) et C2154 (Kaffa, collection FAO d'Ethiopie). Les observations faites sur des descendances issues de pollinisation libre et contrôlée suggérent que le caractère est génique et récessif. Les observations cytologiques indiquent que la stérilité peut être expliquée par une degénérescence précoce du tapis. L'utilisation éventuelle de ce type de stérilité mâle pour la création de variétés hybrides chez C. arabica est discutée.

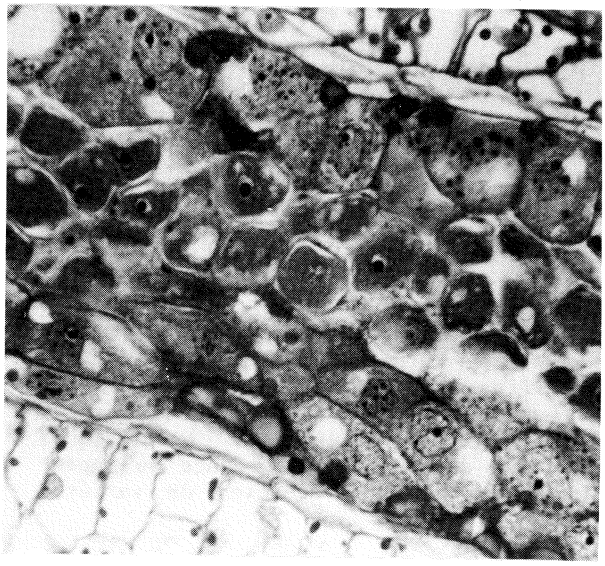
ESTERILIDAD MASCULINA ENCONTRADA EN Coffea arabica y C. canephora EN BRASIL

P. MAZZAFERA, A. B. ESKES, J. P. PARVAIS y A. CARVALHO

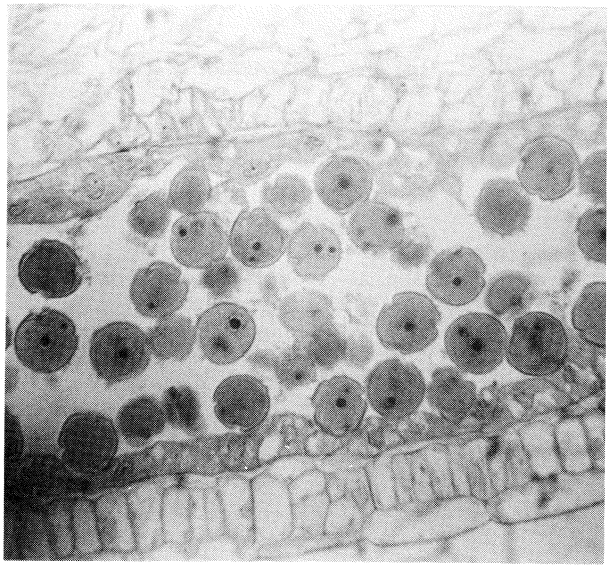
RESUMEN

La estérilidad masculina (em) del cafeto fué estudiada en el Instituto Agronômico de Campinas, S.P., Brasil, a partir de 1984. Se encontraron dos plantas macho-esteriles en la colección de C. canephora cv Kouillou, las cuales producen muy poco polen no viable. Entre las 5 500 plantas de C. arabica observadas, seis presentaron flores y anteras normales pero sin presencia de polen. Estas plantas pertenecen a las siguientes introducciones : C2018 (Blumor), C2021 (Bourbon x S12 Kaffa) y C2154 (Kaffa, de la coleccion FAO de Etiopia). Las evaluaciones realizadas en las descendencias obtenidas mediante la polinización libre o controlada, sugieren que el caracter de em es genético y recesivo. Las observaciones citológicas indican que la estérilidad está relacionada a una degeneración precoz del tapiz. Se discute la posible utilización de este tipo de em en la creación de variedades híbridas de C. arabica.

A1



A2



A3

A4

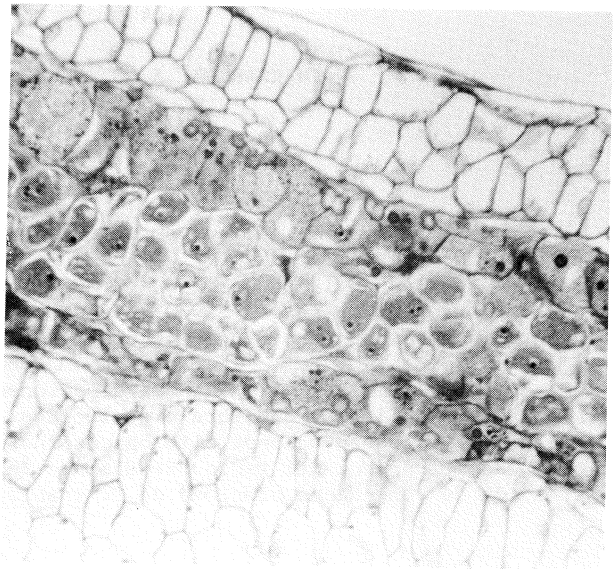


Planche A

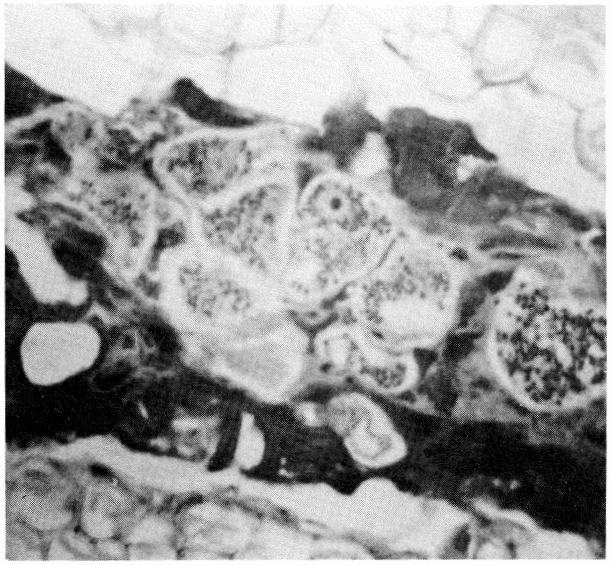
Photo 1 : Loge d'une anthère de cv Caturra 2-3 jours avant l'anthèse, pendant la phase de mitose pollinique.

Photo 2 : Loge de cv Caturra juste avant l'anthèse avec des grains de pollen normaux ; début de dégénérescence du tapis.

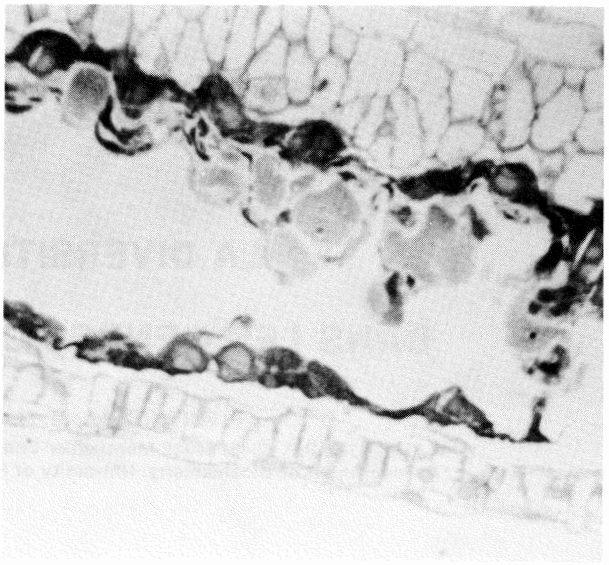
Photo 3 : Loge de la plante ms C2154 (442 A), 37 heures avant l'anthèse, à la fin de la phase de mitose pollinique.

Photo 4 : Loge de la plante ms C2154 (442 A) 24 heures avant l'anthèse ; début de dégéréscence du tapis.

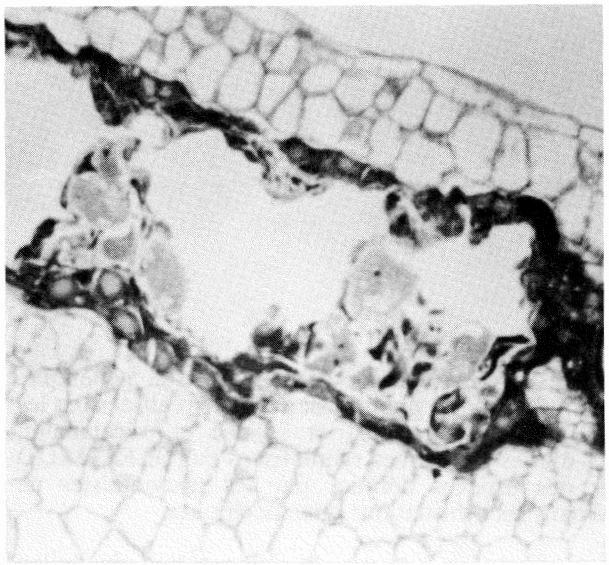
B1



B2



B3



B4

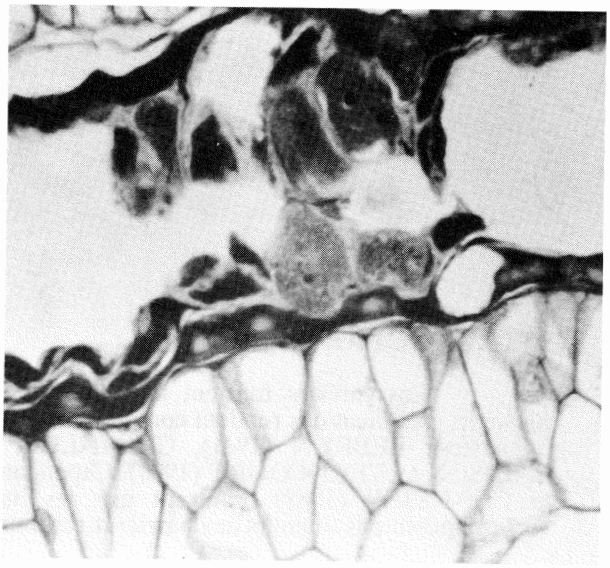


Planche B

Photo 1 : Loge d'un anthère de la plante ms C2154 (442 A) pris 14 heures avant l'anthèse. Le tapis et les grains du pollen commencent à se destructurer.

Photos 2, 3 et 4 :
Loges polliniques d'anthères de trois plantes ms, respectivement, C 2154 (442A), C2018 (239B) et C2015 (215B), pris juste avant l'anthèse. Les grains de pollen et le tapis sont totalement dégénérés.

LA DIVERSITÉ BIOCHIMIQUE DANS LES GENRES *COFFEA* ET *PSILANTHUS*

F. ANTHONY *, M. N. CLIFFORD **, M. NOIROT *

* ORSTOM, B.P. 5045, 34032 Montpellier Cedex (France).
** Department of Biochemistry, University of Surrey, Guildford, Surrey GU2 5XH (Grande-Bretagne).

INTRODUCTION

Les caféiers forment un complexe d'espèces présentant une grande diversité génétique. Plusieurs classifications rendent compte de leur variabilité. Les plus nombreuses ont été réalisées par les botanistes : LEBRUN (1941), CHEVALIER (1947), LEROY (1980a et 1980b) et, récemment, BRIDSON et VERDCOURT (1988). Cependant, les études génétiques synthétisées par BERTHAUD et CHARRIER (1988) montrent que les limites des espèces définies par les taxonomistes ne correspondent pas toujours aux barrières rencontrées dans les hybridations interspécifiques.

D'autres analyses de la diversité ont été effectuées à partir de l'observation du pollen (LOBREAU-CALLEN et LEROY, 1980), l'emploi des marqueurs enzymatiques révélés en électrophorèse (BERTHOU *et al.*, 1980 ; BERTHAUD, 1986) ou encore la détermination des caractéristiques biochimiques (CHARRIER et BERTHAUD, 1975 ; SANTA RAM *et al.*, 1982 ; CLIFFORD *et al.*, 1988). La plupart de ces travaux ne concernaient qu'un groupe limité d'espèces du genre *Coffea* ou des genres voisins.

Notre étude de la diversité biochimique des caféiers repose au contraire sur un large échantillonnage : 27 espèces de *Coffea* et 4 espèces de *Psilanthus*. Les teneurs en acides chlorogéniques, caféine et autres composés associés sont dosées dans les grains par chromatographie "haute performance" en phase liquide (HPLC). Les données sont traitées par les méthodes d'analyses multivariées permettant une description synthétique de la variabilité. Les résultats sont ensuite discutés par rapport à la diversité génétique du complexe multispécifique des caféiers.

MATERIEL ET METHODES

Le matériel végétal

Le matériel végétal est composé de fruits mûrs ou de grains secs reçus de divers centres de recherche caféière en Côte d'Ivoire, à Madagascar, en Tanzanie et au Brésil. Quelques échantillons de grains ont été prélevés à l'herbier de Kew (Grande-Bretagne). Au total, 75 échantillons ont été rassemblés, appartenant à 27 espèces de *Coffea* et 4 espèces de *Psilanthus* (tableau 1). Parmi les espèces de *Coffea*, 20 proviennent du continent africain et 7 de la région floristique malgache. Les espèces cultivées *C. arabica* et *C. canephora* sont représentées respectivement par 17 et 4 variétés.

Tableau 1 : Description du matériel analysé.

GENRE	ORIGINE	ESPECES	ECHANTILLONS
Coffea	Afrique	20	63
	Madagascar	7	7
Psilanthus	Afrique	2	3
	Asie	2	2
Total :		31	75

Pour la dénomination des taxons, nous avons utilisé la classification de CHEVALIER (1947), révisée pour les caféiers d'Afrique de l'Est par BRIDSON et VERDCOURT (1988).

La méthode de dosage

La méthode utilisée pour le dosage des acides chlorogéniques a été présentée au 11ème Colloque de l'A.S.I.C. par CLIFFORD *et al.* (1985). Elle a ensuite été optimisée pour l'étude des cafés commerciaux par CLIFFORD (1986). Les acides chlorogéniques sont détectés par HPLC, à 313nm.

La méthode a été récemment élargie au dosage de la caféine et des autres composés absorbant à 276nm par CLIFFORD et KAZI (1987). Ces composés, dont la nature chimique est encore inconnue, sont définis par leur temps de rétention vis à vis de l'acide 5-caféylquinique. Au total, 21 pics sont observables sur le chromatogramme à 276nm.

Les teneurs sont exprimées en pourcentage du poids sec (%MS). Le poids des échantillons d'herbier a été augmenté de 10% pour compenser leur forte déshydratation. Les limites inférieures de sensibilité de la méthode sont égales à 0,04% pour l'acide 5-caféylquinique et à 0,02% pour la caféine. Ces valeurs ont été enregistrées pour chaque composé visible sur le chromatogramme à des concentrations inférieures à la limite d'intégration.

Le codage des données

Pour les acides chlorogéniques connus, les teneurs en 3-CQA, 4-CQA et 5-CQA sont cumulées dans la teneur en acides caféylquiniques, celles en 3,4-diCQA, 3,5-diCQA et 4,5-diCQA dans la teneur en acides di-caféylquiniques et celle en 5-FQA dans la teneur en acides férulylquiniques.

Parmi les composés absorbant à 276nm, seule la caféine est dosée en quantité suffisante pour participer aux analyses. Les autres pics correspondent à des composés peu fréquents et peu abondants, dépassant rarement 1%MS. Nous avons cumulé leurs teneurs dans une seule variable, ce qui permet de conserver l'information sur la quantité de composés détectés à 276nm.

L'analyse des données

Le tableau des données est transcrit dans l'annexe 1. L'organisation de la diversité est étudiée par une analyse en composantes principales (HOTELLING, 1933) avec les variables suivantes :

- la teneur totale en acides chlorogéniques (T_{CGA}),
- les teneurs relatives en acides caféylquiniques (R_{CQA}), di-caféylquiniques (R_{DQA}) et férulylquiniques (R_{FQA}),
- la teneur totale en composés absorbant à 276nm (T_{276}),
- les teneurs relatives en caféine (R_{CAF}) et en autres composés détectés à 276nm (R_{AUT}).

L'intérêt de cette analyse est de décrire l'information contenue dans le tableau des données à l'aide de facteurs indépendants. Les variables des teneurs relatives introduisent une notion de flux entre les composés et de profil pour les échantillons.

RESULTATS

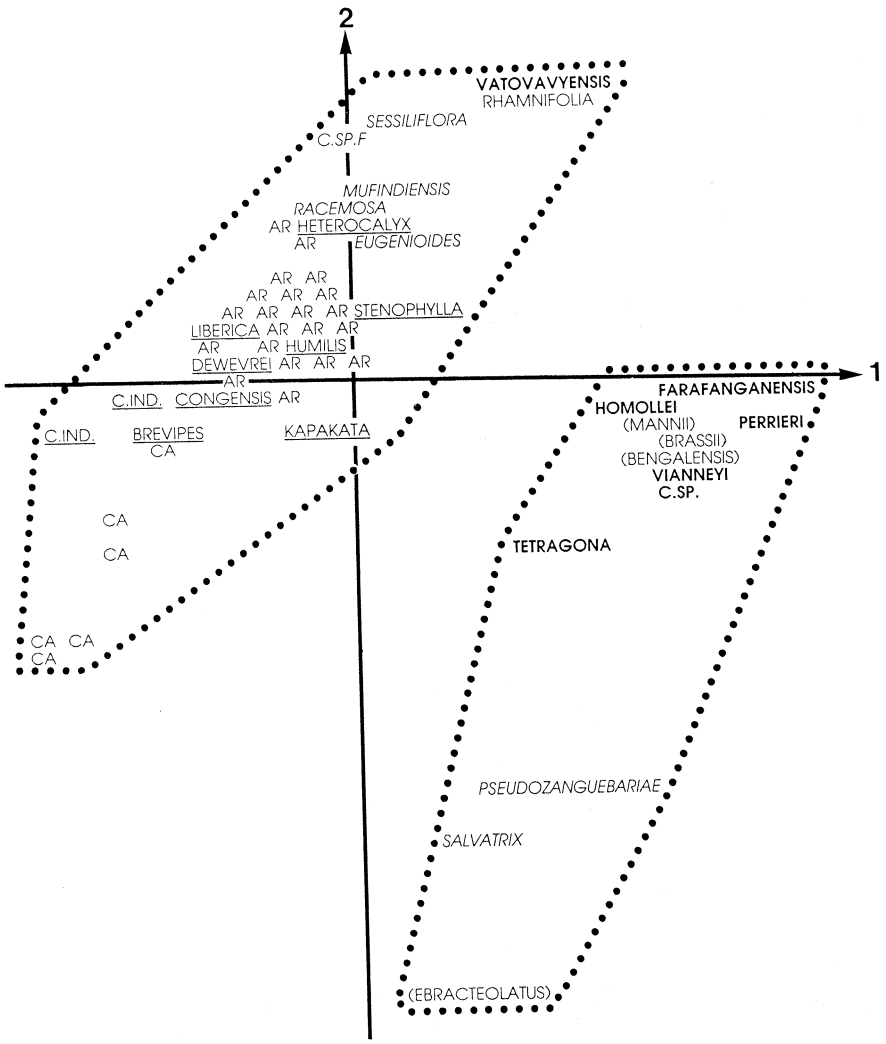
Le plan formé par les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales donne une représentation de 82% de la variabilité. Les échantillons se répartissent en deux ensembles nettement séparés (figure 1). Sur la partie droite du graphe sont rassemblées toutes les espèces ayant une très faible teneur relative en caféine, inférieure à 25% de la quantité totale des composés détectés à 276nm (annexe 2). On y trouve les *Mascarocoffea* à l'exception de *C. vatovavyensis*, deux espèces africaines *C. pseudozanguebariae* et *C. salvatrix* ainsi que toutes les espèces de *Psilanthus*. Les échantillons sont distribués sur l'axe 2 selon un gradient de la teneur en composés absorbant à 276nm. L'espèce *P. mannii* en est dépourvue. Les espèces de *Mascarocoffea* en ont de faibles quantités bien qu'il existe parfois plusieurs pics visibles sur le chromatogramme (cinq chez *C. vianneyi*). A l'opposé, les espèces *C. pseudozanguebariae*, *C. salvatrix* et *P. ebracteolatus* sont très riches, avec une teneur totale dépassant 3%MS.

Le second groupe, sur la partie gauche du graphe, est constitué des autres espèces de *Coffea*. La caféine représente plus de 75% des composés détectés à 276nm. Les trois quarts des chromatogrammes présentent uniquement le pic de la caféine. Les espèces sont réparties en fonction de leurs teneurs en caféine et en acides di-caféylquiniques et férulylquiniques. Les caféiers d'Afrique de l'Est ont les plus faibles teneurs et les variétés *C. canephora* les plus fortes teneurs.

Les variétés des espèces cultivées sont plutôt homogènes. Leurs profils sont identiques. Les plus grandes différences sont visibles pour la teneur en caféine : de 0,76 à 1,82%MS chez *C. arabica* et de 1,98 à 3,19%MS chez *C. canephora*.

Deux espèces aux positions taxonomiques souvent discutées sont clairement positionnées : *C. eugenioides* et *P. kapakata*. Les caféiers *C.eugenioides*, originaires du Kenya, présentent des teneurs modérées, comme les autres caféiers d'Afrique orientale. La seconde espèce, que BRIDSON (1982) et LEROY (1982) ont rapprochée des caféiers d'Afrique de l'Est, est placée à proximité des espèces d'Afrique centrale. Enfin, le classement des nouveaux taxons est sans surprise : *C. sp.* F, trouvé en Tanzanie par BERTHAUD *et al.* (1983), appartient bien au groupe des caféiers d'Afrique de [illegible] et les deux taxons collectés au Cameroun par ANTHONY *et al.* (1985) sont proches des autres espèces de cette région.

Dans cette représentation, la position de certains échantillons est suspecte. Ainsi, un échantillon *C. congensis*, provenant des collections de Tanzanie, est placé au milieu des variétés *C. canephora*. L'absence de caféiers *C. congensis* constatée dans ce pays par BERTHAUD et CHARRIER (1979) permet de penser qu'il s'agit d'un hybride Congusta, issu de croisements par l'espèce cultivée *C.canephora*. Deux autres espèces, supposées sans caféine, sont curieusement placées : *C. rhamnifolia* et *C. vatovavyensis*. Elles sont classées dans le groupe caractérisé par une forte teneur relative en caféine car le seul pic visible à 276nm est situé au niveau de celui de la caféine. Il correspond à de très faibles teneurs, inférieures à 0,06%MS. Mais, le profil de leur composition en acides chlorogéniques ressemble singulièrement à celui de *P. mannii* : très peu d'acides caféylquiniques et aucun acide di-caféylquinique et férulylquinique.



LEGENDE

COFFEA	PSILANTHUS ET APPARENTES
Afrique centrale et occidentale *Afrique orientale* **Madagascar**	entre parenthèses
ESPECES CULTIVEES : AR = *C. arabica* CA = *C. canephora*	

Figure 1 : Distribution des espèces sur le plan 1-2 de l'analyse en composantes principales.

DISCUSSION, CONCLUSION

L'organisation de la diversité

La diversité des genres *Coffea* et *Psilanthus* est structurée en deux groupes séparés par une importante différence qualitative. Leur mise en évidence repose sur la teneur relative en caféine par rapport à la quantité totale de composés détectés à 276nm. Ils sont aussi discriminés par les teneurs en caféine et en acides chlorogéniques (tableau 2).

Tableau 2 : Caractéristiques des deux groupes d'espèces.

DESCRIPTION	**TENEUR RELATIVE EN CAFEINE** ($\%T_{276}$)	CAFEINE (% MS)	AUTRES COMPOSES DETECTES A 276nm (% MS)	ACIDES CHLOROGENIQUES (% MS)
Madagascar (6/7) *C. pseudozanguebariae* *C. salvatrix* genre *Psilanthus*	**0 - 23**	0,00 - 0,28	0,00 - 4,31	0,04 - 2,41
Afrique orientale (6/8) Afrique centrale Afrique occidentale *C. vatovavyensis* *C. rhamnifolia*	**79 - 100**	0,46 - 3,19 (0,02*)	0,00 - 0,27	4,53 - 9,90 (0,14**)

* chez *C. vatovavyensis*
** chez *C. rhamnifolia*

Les espèces de *Coffea* dépourvues de caféine forment un ensemble homogène. Leurs teneurs en acides chlorogéniques sont faibles, inférieures à 2,5%MS. La séparation entre *Mascarocoffea* de la région malgache et *Eucoffea* d'Afrique était prévisible en regard aux composés originaux déjà identifiés chez les caféiers malgaches par BERTRAND (1901), CHASSEVENT (1972) et CHASSEVENT *et al.* (1967 ; 1974). C'est une conséquence de la différenciation génétique mise en évidence entre ces deux groupes d'espèces par CHARRIER (1978).

Deux espèces africaines sont classées avec les espèces malgaches : *C. pseudozanguebariae* et *C. salvatrix*. *C. pseudozanguebariae* est la première espèce sans caféine découverte sur le continent africain (HAMON *et al.*, 1984). Son appartenance à ce groupe suggère l'existence d'affinités, voire d'une origine commune, avec les caféiers de la région malgache. LEROY (1982) a déjà émis l'hypothèse que les caféiers du Kenya et de Madagascar proviendraient d'un même centre d'origine. La particularité de la composition biochimique des grains de *C. salvatrix* par rapport à celle d'autres espèces d'Afrique de l'Est a déjà été observée par SANTA RAM *et al.* (1982). Sa position à côté de *C. pseudozanguebariae* rejoint les résultats de LOUARN (c. p.) dans l'étude en cours des relations génétiques entre espèces de caféiers.

Le genre *Psilanthus* est aussi dépourvu de caféine. Il existe de fortes différences quantitatives pour les autres composés. L'espèce *P. mannii* se singularise par l'absence de pics sur le chromatogramme à 276nm. A l'opposé, *P. ebracteolatus* est très riche en composés détectés à 276nm, au moins 3,4%MS. Mais les variations à l'intérieur du genre ne coincident pas avec le découpage en sous-genres proposé par LEROY (1980b) ou BRIDSON (1987).

Le second ensemble homogène d'espèces de *Coffea* se caractérise par des teneurs en caféine et en acides chlorogéniques nettement plus élevées que dans l'autre groupe. Les espèces sont distribuées selon un gradient que l'on peut superposer aux origines géographiques, allant de l'Afrique de l'Est à l'Afrique centrale et occidentale. Les plus faibles teneurs sont trouvées chez *C. vatovavyensis* et

C. rhamnifolia. Les traces de caféine chez l'espèce malgache *C. vatovavyensis* devront cependant être confirmées. Par contre, la présence d'une très faible quantité de caféine (0,06%MS) chez *C. rhamnifolia* renforce l'hypothèse de BRIDSON et VERDCOURT (1988) qu'il s'agit d'une espèce charnière entre les genres *Coffea* et *Psilanthus*.

L'interprétation biochimique

Au niveau biochimique, nous nous contenterons de relever l'existence de fortes corrélations entre variables. Le lien entre la caféine et les acides chlorogéniques dans les grains de café est bien connu (NAVELLIER, 1959). Lorsque la caféine est absente, comme chez les *Mascarocoffea*, les acides chlorogéniques sont trouvés avec de très faibles teneurs, les acides di-caféylquiniques et férulylquiniques étant le plus souvent absents. Dans l'autre cas, les teneurs en acides di-caféylquiniques et férulylquiniques sont liées à la teneur en caféine ($r > 0,7$). De plus, on remarque des corrélations intéressantes entre les teneurs relatives des trois catégories d'acides chlorogéniques. En particulier, la teneur en acides di-caféylquiniques dépend étroitement de la quantité d'acides caféylquiniques ($r > 0,9$).

La mise en évidence de l'absence de caféine mérite d'être approfondie. En effet, de toutes les espèces dépourvues de caféine, seules *C. perrieri* et *P. mannii* n'ont révélé aucune trace au niveau du pic de la caféine. Nous avons déjà discuté le cas de l'espèce malgache *C. vatovavyensis*, à priori dépourvue de caféine, qui est classée dans le groupe des échantillons ayant de la caféine. Les traces enregistrées sur le chromatogramme correspondent-elles vraiment à la présence de caféine? Des analyses complémentaires sont nécessaires pour répondre à cette question.

Conclusion, perspectives

En résumé, il apparaît que la diversité biochimique observée ne cadre pas toujours avec le découpage taxonomique en genres et sous-genres. La distribution des espèces permet de retrouver plusieurs résultats acquis par l'étude des relations génétiques entre espèces de caféiers.

Enfin, l'identification des composés détectés à 276nm est indispensable pour une meilleure caractérisation des deux groupes d'espèces mis en évidence. Le déterminisme génétique de leur transmission pourra être étudié chez les hybrides intergroupes.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement A. Charrier pour ses conseils et sa présentation de la communication pendant le colloque ainsi que D. Bridson et E. Cros pour leurs critiques.

BIBLIOGRAPHIE

ANTHONY (F.), COUTURON (E.), de NAMUR (C.), 1985.
Les caféiers sauvages du Cameroun : résultats d'une mission de prospection effectuée par l'ORSTOM en 1983.
A.S.I.C., 11ème Colloque, Lomé, 495-505.

ANTHONY (F.), LE PIERRES (D.), 1987.
La diversité génétique de l'espèce *Coffea congensis* Froehner. 1/ Evaluation en Côte d'Ivoire de caféiers sauvages originaires de Centrafrique.
Café-Cacao-Thé, XXXI, 251-266.

BERTHAUD (J.), 1986.
Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Evaluation de la richesse génétique des populations sylvestres et de ses mécanismes organisateurs. Conséquences pour l'application.
Travaux et documents ORSTOM (Paris), 188, 379 p.

BERTHAUD (J.), CHARRIER (A.), 1979
Inventaire des ressources génétiques du genre *Coffea* en Afrique de l'Est.
Contrat F.A.O.-ORSTOM, Centre ORSTOM d'Abidjan, 24 p.

BERTHAUD (J.), ANTHONY (F.), LOURD (M.), 1983
Les caféiers sauvages de Tanzanie. Résultats d'une mission de prospection effectuée du 5 mars au 11 avril 1982.
Café-Cacao-Thé, 27, 245-258.

BERTHAUD (J.), CHARRIER (A.), 1988
Genetic resources of *Coffea*.
in R. J. Clarke et R. Macrae (ed.) : "Coffee. Volume 4: Agronomy", Elsevier Applied Science (Londres), 334 p.

BERTHOU (F.), TROUSLOT (P.), HAMON (S.), VEDEL (F.), QUETIER (F.), 1980
Analyse en électrophorèse du polymorphisme biochimique des caféiers : Variation enzymatique dans 18 populations sauvages. Variation de l'ADN mitochondrial dans les espèces : *C. canephora*, *C. eugenioides* et *C. arabica*.
Café-Cacao-Thé, XXIV, 313-326

BERTRAND (G.), 1901
Sur la composition chimique du café de la Grande Comore.
C. R. Acad. Sci. (Paris), 132, 162-164

BRIDSON (D.), 1982
Studies in *Coffea* and *Psilanthus* (*Rubiaceae* subfam. *Cinchonoideae*) for part 2 of "Flora of Tropical East Africa": *Rubiaceae*.
Kew Bulletin (Royal Botanic Garden), 36, 817-859

BRIDSON (D.), 1987
Nomenclatural notes on *Psilanthus*, including *Coffea* sect. *Paracoffea* (*Rubiaceae* tribe *Coffeeae*)
Kew Bulletin (Royal Botanic Garden), 42, 453-460

BRIDSON (D.), VERDCOURT (B.), 1988
Flora of East Tropical Africa. *Rubiaceae* (part 2)
Polhill R. M. (ed.), A. A. Balkema (Rotterdam), 747 p.

CHARRIER (A.), 1978
La structure génétique des caféiers spontanés de la région malgache (*Mascarocoffea*). Leurs relations avec les caféiers d'origine africaine (*Eucoffea*).
Mémoires ORSTOM (Paris), 87, 223 p.

CHARRIER (A.), BERTHAUD (J.), 1975
Variation de la teneur en caféine dans le genre *Coffea*.
Café-Cacao-Thé, XIX, 251-264

CHASSEVENT (F.), 1972
Composition et caractéristiques chimiques de *Coffea* sauvages de Madagascar. VII Recherche de l'acide chlorogénique et de composés voisins dans les graines de caféiers sauvages.
Café-Cacao-Thé, XVI, 161-166

CHASSEVENT (F.), ORNANO (J.), POUGNEAUD (S.), 1967
Composition et caractéristiques chimiques de *Coffea* sauvages de Madagascar. IV Isolement et étude de la structure de la cafamarine, substance amère de *C. buxifolia*.
Café-Cacao-Thé, XI, 343-349

CHASSEVENT (F.), DALGER (G.), GERWIG (S.), VINCENT (J.-C.), 1974
Contribution à l'étude des *Mascarocoffea* étude des fractions lipidique et insaponifiable. Relation éventuelle entre les teneurs en caféine et en acides chlorogéniques.
Café-Cacao-Thé, XVIII, 49-56

CHEVALIER (A.), 1947.
Les caféiers du globe. III Systématique des caféiers et faux caféiers. Maladies et insectes nuisibles.
Encyclopédie biologique, 28, Fas. III, Paul Lechevalier, Paris, 356 p.

CLIFFORD (M. N.), 1986
Coffee bean dicaffeoylquinic acids.
Phytochemistry, 25, 1767-1769

CLIFFORD (M. N.), OHIOKPEHAI (O.), de MENEZES (H.), 1985
A.S.I.C., 11ème Colloque, Lome, 252-262

CLIFFORD (M. N.), KAZI (T.), 1987
The influence of coffee bean maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline.
Food Chemistry, 26, 59-69

CLIFFORD (M. N.), WILLIAMS (T.), BRIDSON (D.), 1987
Chlorogenic acids and caffeine as possible taxonomic criteria in *Coffea* and *Psilanthus*.
Phytochemistry, 28, 829-838

HAMON (S.), ANTHONY (F.), LE PIERRES (D.), 1984
La variabilité génétique des caféiers spontanés de la section *Mozambicoffea* A. Chev. I Précisions sur deux espèces affines : *C. pseudozanguebariae* et *C. sp.* A Bridson.
Bull. Mus. natn. Hist. nat. (Paris), Adansonia, 2, 207-223

HOTELLING (H.), 1933
Analysis of a complex statistical variables into principal components.
J. Educ. Psy., 24, 417-441

LEBRUN (J.), 1941
Recherches morphologiques et systématiques sur les caféiers du Congo.
Mémoires t.XI(3), Institut Royal Colonial Belge, 184 p.

LEROY (J.-F.), 1980a
Evolution et taxogenèse chez les caféiers. Hypothèse sur leur origine.
C. R. Acad. Sci. (Paris), 291, 593-596

LEROY (J.-F.), 1980b
Les grandes lignées de caféiers.
A.S.I.C., 9ème Colloque, Londres, 473-477

LEROY (J.-F.), 1982
L'origine kenyane du genre *Coffea* et la radiation des espèces de Madagascar.
A.S.I.C., 10ème Colloque, Salvador, 413-420

LOBREAU-CALLEN (D.), LEROY (J.-F.), 1980
Quelques données palynologiques sur le genre *Coffea* et autres genres du cercle des caféiers.
A.S.I.C., 9ème Colloque, Londres, 479-506

NAVELLIER (P.), 1959
Chimie du café.
in R. Coste "Les caféiers et les cafés dans le monde", Larose ed. (Paris), t. 2, 163-220

SANTA RAM (A.), SREENIVASAN (M. S.), VISHVESHWARA (S.), 1982
Chemotaxonomy of *Mozambicoffea*.
J. Coffee Res., 12, 42-46

Annexe 1 : Tableau des données.

IDENTIFICATION	SOURCE	T_{CGA}	R_{CQA}	R_{DQA}	R_{FQA}	T_{276}	R_{CAF}	R_{AUT}
C. arabica var. *typica*	Tanzanie	5,45	0,85	0,10	0,06	1,67	1,00	0,00
C. arabica var. *bourbon* N39	Tanzanie	6,02	0,86	0,08	0,06	1,33	1,00	0,00
C. arabica var. *bourbon vermelho*	Brésil	7,49	0,89	0,08	0,03	1,26	1,00	0,00
C. arabica var. *purpurescens*	Tanzanie	6,10	0,82	0,12	0,06	0,76	1,00	0,00
C. arabica var. *laurina*	Tanzanie	5,96	0,86	0,10	0,04	0,79	1,00	0,00
C. arabica var. *erecta*	Tanzanie	6,54	0,84	0,09	0,07	1,49	1,00	0,00
C. arabica var. *semperflorens*	Tanzanie	5,93	0,85	0,09	0,06	1,48	1,00	0,00
C. arabica var. *murta*	Tanzanie	6,32	0,81	0,12	0,07	1,75	1,00	0,00
C. arabica var. *bourbon amarelo*	Tanzanie	6,83	0,86	0,08	0,06	1,49	1,00	0,00
C. arabica var. *bourbon amarelo*	Brésil	7,24	0,89	0,07	0,04	1,54	1,00	0,00
C. arabica var. *mokka*	Tanzanie	5,17	0,86	0,09	0,05	0,87	1,00	0,00
C. arabica var. *Maragogype*	Kew	6,92	0,79	0,17	0,04	1,39	1,00	0,00
C. arabica var. *San Ramon*	Tanzanie	5,76	0,84	0,11	0,05	1,44	1,00	0,00
C. arabica var. *caturra*	Tanzanie	5,90	0,82	0,12	0,06	1,59	1,00	0,00
C. arabica var. *polysperma*	Tanzanie	5,78	0,82	0,11	0,07	1,65	1,00	0,00
C. arabica var. *arabica* KP423	Tanzanie	5,99	0,85	0,10	0,05	1,57	1,00	0,00
C. arabica var. *mundo novo*	Brésil	5,75	0,84	0,11	0,05	1,57	1,00	0,00
C. arabica var. *mundo novo*	Brésil	5,89	0,85	0,11	0,04	1,59	1,00	0,00
C. arabica var. *catuai vermelho*	Brésil	7,15	0,86	0,10	0,04	1,82	1,00	0,00
C. arabica var. *catuai vermelho*	Brésil	6,55	0,85	0,11	0,04	1,53	1,00	0,00
C. arabica var. *catuai vermelho*	Brésil	5,66	0,84	0,11	0,05	1,28	1,00	0,00
C. brassii	P. N. Guinée	0,21	1,00	0,00	0,00	0,89	0,12	0,88
C. brevipes	Côte d'Ivoire	7,94	0,75	0,20	0,05	2,16	1,00	0,00
C. brevipes	Côte d'Ivoire	6,85	0,75	0,20	0,05	1,93	1,00	0,00
C. brevipes var. *heterocalyx*	Côte d'Ivoire	5,75	0,86	0,11	0,03	0,83	1,00	0,00
C. canephora	Côte d'Ivoire	9,21	0,75	0,17	0,08	3,19	1,00	0,00
C. canephora var. *Ugandae*	Tanzanie	8,81	0,68	0,21	0,11	3,02	1,00	0,00
C. canephora var. *robusta*	Tanzanie	7,39	0,64	0,21	0,15	2,29	1,00	0,00
C. canephora var. *robusta*	Brésil	8,67	0,74	0,16	0,10	2,48	1,00	0,00
C. canephora var. *kouillou*	Tanzanie	7,25	0,68	0,17	0,15	2,22	1,00	0,00
C. canephora var. C. de la Nana	Côte d'Ivoire	8,57	0,79	0,10	0,11	1,98	1,00	0,00
C. congensis	Côte d'Ivoire	7,98	0,82	0,12	0,07	2,13	1,00	0,00
C. congensis var. *excelsa*	Tanzanie	7,76	0,72	0,19	0,09	3,16	1,00	0,00
C. dewevrei	Côte d'Ivoire	7,79	0,79	0,13	0,08	2,15	0,92	0,08
C. dewevrei	Côte d'Ivoire	7,67	0,87	0,08	0,05	1,84	1,00	0,00
C. eugenioides	Côte d'Ivoire	4,54	0,86	0,07	0,07	0,69	0,94	0,06
C. eugenioides	Brésil	4,56	0,93	0,03	0,04	0,59	0,93	0,07
C. eugenioides	Kew	4,53	0,95	0,03	0,02	0,47	1,00	0,00
C. eugenioides	Tanzanie	6,27	0,91	0,05	0,04	0,67	0,94	0,06
C. farafanganensis	Madagascar	1,12	1,00	0,00	0,00	0,68	0,13	0,87
C. homollei	Madagascar	1,15	0,97	0,00	0,03	0,26	0,23	0,77
C. humilis	Côte d'Ivoire	6,68	0,86	0,11	0,03	2,12	0,96	0,24
C. ind. (Moloundou)	Côte d'Ivoire	4,81	0,61	0,36	0,03	0,62	1,00	0,00
C. ind. (Nkoumbala)	Côte d'Ivoire	8,83	0,77	0,19	0,05	2,00	1,00	0,00
C. liberica	Côte d'Ivoire	7,48	0,86	0,09	0,04	1,85	0,98	0,02
C. mufindiensis	Kew	7,14	0,95	0,04	0,01	1,37	0,94	0,06
C. perrieri	Madagascar	0,35	1,00	0,00	0,00	0,22	0,00	1,00
C. pseudozanguebariae	Côte d'Ivoire	1,79	0,90	0,07	0,03	3,04	0,01	0,99
C. pseudozanguebariae	Kew	0,93	0,92	0,00	0,08	3,02	0,01	0,99
C. racemosa	Côte d'Ivoire	6,03	0,86	0,12	0,02	0,76	1,00	0,00
C. racemosa	Brésil	4,97	0,89	0,09	0,03	0,92	1,00	0,00
C. racemosa	Brésil	5,41	0,90	0,09	0,01	1,16	1,00	0,00
C. rhamnifolia	Kew	0,14	1,00	0,00	0,00	0,06	1,00	0,00

Annexe 1 (suite)

IDENTIFICATION	SOURCE	T_{CGA}	R_{CQA}	R_{DQA}	R_{FQA}	T_{276}	R_{CAF}	R_{AUT}
C. salvatrix	Brésil	2,41	0,87	0,06	0,07	3,53	0,08	0,92
C. salvatrix	Tanzanie	1,76	0,83	0,11	0,07	3,00	0,03	0,97
C. sessiliflora	Côte d'Ivoire	6,99	0,94	0,03	0,03	0,60	0,92	0,08
C. sessiliflora	Kew	5,68	0,93	0,06	0,02	0,51	0,90	0,10
C. sessiliflora	Côte d'Ivoire	9,58	0,98	0,01	0,01	0,53	0,89	0,11
C. sessiliflora	Côte d'Ivoire	9,90	0,98	0,00	0,01	0,76	0,86	0,14
C. sp. (A315)	Madagascar	1,12	1,00	0,00	0,00	1,16	0,02	0,98
C. sp. F	Côte d'Ivoire	9,65	0,94	0,05	0,01	1,05	0,94	0,06
C. stenophylla	Côte d'Ivoire	8,87	0,89	0,08	0,03	2,07	1,00	0,00
C. stenophylla	Côte d'Ivoire	7,50	0,87	0,08	0,05	2,64	1,00	0,00
C. stenophylla	Brésil	6,66	0,91	0,07	0,02	1,62	0,94	0,06
C. stenophylla	Kew	6,04	0,90	0,09	0,02	1,50	1,00	0,00
C. stenophylla	Tanzanie	5,05	0,91	0,05	0,04	0,62	1,00	0,00
C. stenophylla	Côte d'Ivoire	9,70	0,80	0,17	0,03	2,07	1,00	0,00
C. tetragona	Madagascar	1,40	0,85	0,14	0,01	0,55	0,05	0,95
C. vatovavyensis	Madagascar	0,96	1,00	0,00	0,00	0,02	1,00	0,00
C. vianneyi	Madagascar	0,78	1,00	0,00	0,00	1,12	0,04	0,96
P. bengalensis		0,53	1,00	0,00	0,00	1,17	0,15	0,85
P. ebracteolatus	Côte d'Ivoire	0,27	0,67	0,11	0,22	4,34	0,01	0,99
P. ebracteolatus	Kew	0,04	1,00	0,00	0,00	3,42	0,01	0,99
P. kapakata	Tanzanie	5,06	0,81	0,12	0,07	1,31	0,79	0,21
P. mannii	Côte d'Ivoire	0,37	0,92	0,00	0,08	0,00	0,00	0,00

Annexe 2 : Corrélations entre les variables actives et les deux premiers facteurs.

	FACTEUR 1		FACTEUR 2	
VARIABLES	CORRELATION	CONTRIBUTION RELATIVE	CORRELATION	CONTRIBUTION RELATIVE
T_{CGA}	- 0.80	0.64	0.36	0.13
R_{CQA}	0.86	0.74	0.43	0.19
R_{DQA}	- 0.83	0.70	- 0.23	0.05
R_{FQA}	- 0.58	0.34	- 0.63	0.39
T_{276}	- 0.36	0.13	- 0.76	0.58
R_{CAF}	- 0.77	0.59	0.60	0.36
R_{AUT}	0.74	0.55	- 0.61	0.38

RESUME

La structuration de la diversité biochimique est étudiée dans les genres *Coffea* et *Psilanthus*. Les teneurs en acides chlorogéniques, caféine et autres composés absorbant à 276 nm ont été dosées dans les grains en HPLC. Notre étude porte sur 75 échantillons, représentant 20 espèces africaines de *Coffea* et 7 malgaches ainsi que 4 espèces de *Psilanthus*.

Les méthodes d'analyses multivariées mettent en évidence une répartition des espèces en deux groupes séparés par une importante différence qualitative. Le premier groupe est constitué des *Mascarocoffea*, de deux espèces africaines *C. pseudozanguebariae* et *C. salvatrix* ainsi que des *Psilanthus*. Toutes ces espèces présentent une très faible teneur de la caféine par rapport au total des composés détectés à 276nm. Ces faibles teneurs en caféine sont accompagnées de faibles teneurs en acides chlorogéniques. Les espèces sont distribuées selon un gradient de la teneur cumulée en autres composés absorbant à 276 nm.

Le second groupe est composé des autres espèces de *Coffea* du continent africain. La teneur en caféine y est variable mais très peu d'autres composés sont détectés à 276 nm. Elle est liée aux teneurs en acides di-caféylquiniques et férulylquiniques. Ces composés forment un gradient dont les points extrêmes sont les espèces d'Afrique de l'Est (*C. racemosa*, *C. sessiliflora*...) d'une part et les variétés de *C. canephora* d'autre part.

Ces résultats sont ensuite discutés en relation avec la structure de la diversité génétique du complexe d'espèces des caféiers.

SUMMARY

The structure of the biochemical diversity is studied in *Coffea* and *Psilanthus genus. The* contents of chlorogenic acids, caffeine and other 276nm absorbing components have been quantified in the seeds by HPLC. This study includes 75 samples of seeds belonging to 20 African and 7 Madagascan *Coffea* species, and to 4 *Psilanthus* species.

Using multivariate analysis, we show a distribution of the species in 2 groups separated by an important qualitative difference. The first group includes the *Mascarocoffea*, two African species *C. pseudozanguebariae* and *C. salvatrix*, and the *Psilanthus*. All these species have a very low content of caffeine in relation to the total content of 276nm absorbing components. These species also present a very low content of chlorogenic acids. The species are distributed along a gradient formed by their content of other components detected at 276nm.

The second group includes all other *Coffea* species from African continent. The content of caffeine is variable but there are very few other 276nm absorbing components. It is strongly correlated with content of di-caffeoylquinic and feruloylquinic acids. These components make a gradient in which the extreme points are represented by the species from East Africa (*C. racemosa, C. sessiliflora*...) on one side and by *C. canephora* on the other side.

These results are discussed with relation to the genetic structure of the multispecific complex of coffee-trees.

UTILIZACIÓN DE LOS HÍBRIDOS TRIPLOIDES EN EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL CAFÉ

F. J. OROZCO C.
CENICAFE, Chinchiná, Colombia

1. INTRODUCCION

Es ampliamente conocida la importancia social y económica del café en Colombia. También es reconocida la homogeneidad genética de las plantaciones de **Coffea arabica** en América Latina, cuyas variedades proceden de unos pocos árboles. Se sabe además que las variedades cultivadas de **C. arabica** tienen buenas características agronómicas y comerciales, tales como la calidad en taza, pero que adolecen de algunas características importantes como la resistencia a plagas como la broca, el minador, los nemátodos y a enfermedades económicamente muy importantes como la roya **(Hemileia vastatrix)** y la enfermedad de los frutos (C.B.D. - **Colletotrichum coffeanum).**

A pesar de tener una amplia variabilidad de formas, (2, 9, 19) son limitados los recursos genéticos con que se cuenta, dentro de la especie **C. arabica,** respecto a los factores necesarios mencionados y con relación a la escasa rusticidad de algunas variedades cultivadas como el caturra.

La especie **C. arabica** tiene algunos genes de resistencia general o específica a la roya y al C.B.D. pero además de lo limitado de los genes de resistencia, los cultivares que los portan poseen características no deseables que dificultan un programa de mejoramiento, tales como: el porte alto, la baja productividad, la forma del grano y a veces, la baja calidad en taza (4,7,8,17).

Las especies diploides y especialmente la más estudiada e importante económicamente, **Coffea canephora,** presenta características de resistencia a la roya, al CBD y a los nemátodos (2, 8, 18) diferentes y superiores a las encontradas en **C. arabica.**

Esto hace que la especie **C. canephora** sea uno de los recursos genéticos más valiosos para el mejoramiento de **C. arabica,** tiene además ventajas sobre otras especies diploides como la relativamente alta homología cromosómica con la especie **arabica** (2, 9) la cual permite obtener híbridos viables a partir de estas especies, posee ventajas comerciales y agronómicas, tales como la alta producción por árbol y la rusticidad. Como un factor desventajoso se le anota la baja calidad en taza, pero esta puede ser modificable durante el proceso de mejoramiento.

Por estas razones los programas de mejoramiento genético de **C. arabica** han recurrido principalmente a materiales de origen híbrido con la especie **C. canephora;** híbridos artificiales o naturales como el Híbrido de Timor (3) para la obtención de variedades con resistencia a la roya, como la Variedad Colombia (11), la Ruiru II (17) de Kenya y el Catimor de Portugal, Angola y Brasil (4, 6, 7).

Por las características cromosómicas del híbrido F1 triploide (2n = 33) entre **C. canephora** y **C. arabica** y debido al escaso número inicial de combinaciones triploides estudiadas (1, 5, 6, 18) se llegó a la conclusión

de que los triploides eran prácticamente estériles e inútiles como puente para la hibridación interespecífica en café. Se recurrió a la duplicación cromosómica de la especie diploide o del híbrido triploide, con el propósito de obtener plantas fértiles para continuar el proceso de mejoramiento. Los híbridos obtenidos a partir de tetraploides artificiales, tipo ARABUSTA e ICATU, debido a la doble carga génica de la especie diploide, dificultan y prolongan el proceso de mejoramiento, especialmente si se pretende obtener variedades genotipicamente cercanas a **C. arabica**.

En el proceso de obtención del ICATU ha sido necesario recurrir a 3 ó 4 retrocruzamientos del híbrido a **C. arabica**, en un proceso que ha demandado más de 40 años (se inició en 1947), tratando de eliminar características indeseables debidas, principalmente, a la duplicación cromosómica de la especie **C. canephora** y al uso de varias variedades de **C. arabica** como progenitores recurrentes.

Otra vía utilizada, en hibridación interespecífica en café, ha sido la duplicación del híbrido triploide, colocándolo a nivel hexaploide (1, 10) pero este método también ha tenido dificultades y los resultados han sido parcialmente útiles, debido a la complejidad del funcionamiento cromosómico, por tener 66 cromosomas (dos genomas de cada especie) las segregaciones se multiplican y las asociaciones entre cromosomas homólogos, de la misma especie, dificultan el intercambio génico.

En Colombia desde los primeros trabajos (1974) con híbridos triploides (12, 13) se evidenció la posibilidad de utilizarlos como vía de mejoramiento genético, debido a su comportamiento especial en nuestro medio, plantas con grados aceptables de fertilidad en algunas combinaciones F1 y recuperación rápida de la fertilidad en la siguiente generación (F1 de retrocruzamiento (RC1) o de polinización natural del triploide).

En 1976 (14) se postuló la posibilidad de usar los híbridos triploides como vía de mejoramiento en café, basados en las consideraciones genéticas que actualmente, pueden expresarse, así:

- La homología entre las especies del género **coffea**, facilita el intercambio génico y la recuperación de la fertilidad en los híbridos.
- El proceso de mejoramiento genético debía reducirse, al incorporar menor número de características de la especie diploide, en los híbridos.
- Las diferencias en fertilidad de los triploides y la alta habilidad combinatoria específica de algunos progenitores de la especie diploide, permitirían utilizar algunas combinaciones triploides.

Con estas bases se inició en 1976 un programa amplio de hibridación entre **C. arabica** variedad Caturra y plantas de la especie **C. canephora** seleccionadas en varios ensayos comparativos de 55 introducciones de esta especie, de varios orígenes. (16)

En la actualidad (1989) se tiene un número abundante de plantas de varias generaciones. Se han utilizado dos sistemas para la obtención de estos materiales (Tabla 1).

Un grupo proviene de los retrocruzamientos controlados de árboles F1 triploides a Caturra. Los árboles triploides actuan en este caso como progenitores masculinos (polen) seleccionados por su grado de fertilidad.

Otro grupo proviene de la polinización natural ocurrida en los árboles triploides. Este grupo puede ser el resultado del retrocruzamiento natural del triploide (progenitor femenino) con los árboles de **C. arabica** que los rodean o del cruzamiento entre híbridos (entrecruzamientos). Por esta razón se han denominado con la letra G.

A continuación se presentan los resultados más sobresalientes obtenidos en varias generaciones de estos dos grupos de materiales originados a partir de plantas F1 Triploides.

2. RESULTADOS

2.1 Resistencia a la roya

Tanto en los materiales de retrocruzamiento dirigido como en las progenies de polinización natural son frecuentes las plantas con resistencia específica (Tabla 2) en mayor porcentaje en las generaciones de polinización natural (G2 y G3).

Dentro de las plantas que no presentan resistencia específica se evidencian diferentes grados de resistencia parcial, manifiestos en el tipo de reacción.

En las poblaciones de origen híbrido son más frecuentes las plantas con

algún grado de resistencia parcial, siendo relativamente escasas las plantas que presentan el grado de susceptibilidad de la variedad Caturra (alto porcentaje de hojas atacadas, amarillamiento, defoliación y secamiento de frutos).Especialmente en la 2a generación de triploides (G2). Tabla 2

De los resultados generales anteriores, puede deducirse que: a través de los híbridos triploides pueden incorporarse a **C. arabica** genes de resistencia específica y general a la roya del cafeto. Por las proporciones de plantas con diferentes grados de resistencia parcial y por el número bajo de plantas completamente susceptibles (tipo Caturra) puede entreverse la presencia de varios genes de resistencia parcial o no específica en estas poblaciones.

2.2 TIPOS DE ARBOL

Los árboles F1 triploides presentan, en general, características intermedias entre las especies **C. arabica** y **C. canephora**, varían de acuerdo con el progenitor de **C. canephora** especialmente en tamaño y forma de las hojas. En las condiciones de Colombia (CENICAFE) son muy vigorosos y con ramificación abundante.

Las plantas provenientes de polinización natural de triploides (G2) presentan una amplia variación morfológica en cuanto a tipos de árbol, forma de las hojas, flores, frutos, etc. Se pueden clasificar en 5 grupos, de acuerdo a su fenotipo. Tabla 3

Hay dos grupos de plantas similares a los progenitores; **C. arabica** var. Caturra o **C. canephora** (tipos 1 y 5). Dos grupos con características predominantes de uno de los progenitores, pero con algunos rasgos del otro (tipos 2 y 4). Y un grupo intermedio, el más numeroso, que reune las plantas de tipo intermedio, los anormales, los nuevamente triploides, algunos, posiblemente, aneuploides y algunas plantas con características diferentes a las de los progenitores o a las combinaciones entre estos "tipos nuevos".(Grupo 3) Tabla 3.

Las plantas similares a los progenitores son poco numerosas (3 y 5%) pero las plantas en las que predomina uno de los progenitores representan un 30% de la población en cada tipo (tipos 2 y 4).

Esta distribución nos permite seleccionar plantas de tipo Caturra o predominantemente Caturra o de tipo canephora o predominantemente canephora. Esto hace que la vía de los híbridos triploides sea útil tanto para los mejoradores de **C. arabica** como para los mejoradores de **C. canephora**. Los tipos de árbol similares a **C. canephora** son el producto del entrecruzamiento de plantas F1 triploides y no aparecen en los retrocruzamientos. Tabla 4.

Para las plantas provenientes de retrocruzamiento controlado y en la 3a generación de polinización natural de híbridos F1 triploides G3, después de seleccionar, en la 2a generación, las plantas de tipo Caturra o predominantemente Caturra, fue necesario establecer una escala de clasificación fenotípica diferente a la descrita en la Tabla 3 , teniendo como prototipo la variedad Caturra de **C. arabica** (tipo 9). Los tipos 1, 2 y 3 son plantas diferentes al Caturra o anormales, los tipos 4 a 7 tienen algunas características de **C. canephora** pero en porcentajes relativamente bajos, desde 30 hasta 5% respectivamente.

Los porcentajes establecidos en la tabla 4 ,para cada tipo de planta, muestran como en estas poblaciones, F1 de RC1 y G3 (3a generación de triploides) predominan las plantas con fenotipo cercano o similiar al de la variedad Caturra, con variación un poco mayor en las plantas F1 de RC1.

Las características fenotípicas descritas diferencian claramente la población de retrocruzamiento dirigido de la población originada en la polinización natural de híbridos triploides.

2.3 PRODUCCION

Como ya se mencionó, los híbridos triploides F1 varían en cuanto a su grado de fertilidad habiendo desde plantas estériles o casi estériles hasta medianamente fértiles, estas últimas facilitan la obtención de progenies especialmente de polinización natural.

Dentro de los híbridos F1 aparece un porcentaje relativamente alto (1%) de autopoliploides espontáneos, fértiles y en su mayoría de tipo ARABUSTA, es decir, predominan en ellos las características de **C. canephora** y la hoja grande y ovalada.

Unicamente un árbol, de 10 autopoliploides, presenta características de **C.**

arabica, fertilidad y resistencia especifica a la roya.

2.3.1 Producción en generaciones de retrocruzamiento.

En las plantas de 1a generación de retrocruzamiento, (F1 de RC1), presentan en su producción acumulada de tres cosechas (en kilogramos de café en cereza) una distribución normal, con tendencia similar a la de plantas de la variedad Caturra sin control de roya. Hay un buen número de plantas híbridas con baja producción, pero a la vez existe un número considerable de plantas que superan los promedios del Caturra (100 de 300). Figura 1. Esta producción superior se debe a la fertilidad de las plantas y a la resistencia a roya.

Al observar en la Figura 2 la distribución de los árboles de la 3a generación del 1er. retrocruzamiento, (F3 de RC1), respecto a su producción, puede verse claramente que las plantas de origen híbrido superan en su gran mayoría los promedios del Caturra, el promedio de la población F3 esta por encima del límite superior del Caturra.

El número de plantas poco productivas es bajo, los resultados anteriores indican que: la fertilidad se recupera notoriamente con un retrocruzamiento; en las generaciones posteriores, F3 de RC1, se alcanzan niveles de producción altos en la mayoría de las plantas, pudiéndose conseguir progenies muy productivas.

2.3.2 Generaciones de polinización natural.

Las plantas de la 2a generación de triploides (G2) muestran una distribución asimétrica, dispersa y sesgada hacia un mayor número de individuos de baja producción o fertilidad (en esta población puede haber buen número de triploides, aneuploides y anormales). Pero es notable que con solo una generación, a partir de plantas triploides, se encuentren numerosas plantas fértiles, comercialmente productivas. Aproximadamente 300 plantas de un total de 1.200, (25%), superan el promedio de producción de las plantas de la variedad Caturra sin control de la roya. Y más de 60 plantas, (5%), superan los 30 kilogramos de café en cereza, (un promedio de 10 kilogramos por árbol/año, producción similar a la de las mejores variedades cultivadas). Figura 3.

En la 3a generación (G3) la población se distribuye en forma casi normal. Más de la mitad de las plantas superan los promedios del Caturra y de nuevo se tienen plantas con alta producción (más de 30 kilos). Figura 4.

Al comparar las dos poblaciones (de retrocruzamiento y de polinización natural) es fácil establecer la diferencia entre la F1 de RC1 y la 2a generación de triploides (G2). Tienen alguna similitud las poblaciones F1 de RC1 y 3a. generación de triploides (G3). Fgs. 1 y 4.

Es necesario aclarar que la mayoría de las plantas de la F1 de RC1 son autofértiles. Las plantas estudiadas de tipo similar a **C. arabica** en la 2a. generación de triploides (G2) también son autofértiles (no se ha estudiado si las plantas de tipo canephora son también autofértiles).

2.4 CARACTERISTICAS DE GRANO, tamaño y anormalidades

Las características de los granos, especialmente los porcentajes de granos anormales son una medida indirecta de las anormalidades meióticas o desajustes cromosómicos o génicos de las plantas de origen híbrido, además, deben cumplirse exigencias comerciales determinadas en tamaño de grano y en porcentajes aceptados de anormales.

Las variedades cultivadas, como el Caturra, tienen promedios conocidos y aceptados de las características de grano que sirven como patron: menos de 4% de granos vacíos o vanos, menos de 8% de granos caracoles y entre 60 y 65% de granos verdes con más de 17/64", (café supremo).

2.4.1 Características de grano en generaciones de retrocruzamiento

En la primera generación de retrocruzamiento hay una variación amplia en cuanto a los porcentajes de granos vacíos, caracoles y en el porcentaje de granos grandes. Figuras 5 a 16. La mayor dispersión y por lo tanto los mayores problemas se tiene en los porcentajes altos de granos caracoles y el abundante número de plantas con este defecto. En la Figura 9 se observa claramente que hay 2 subgrupos de plantas en la F1 de RC1; un grupo numeroso con porcentajes cercanos a los de la variedad Caturra (entre 2.5 y 20% de granos caracol) y un grupo igualmente numeroso con porcentajes altos de caracoles (más de 20%)

Por efecto de la selección es posible reducir a niveles comerciales los porcentajes de estos defectos (granos vacíos y caracoles), Figuras 6 y 10 y tener buen tamaño de grano en la mayoría de las plantas en la F3 de RC1. Figura 14.

En las generaciones de retrocruzamiento hay progenies completas sin problemas de anormalidades en los granos y de buen tamaño de grano desde la F1 de RC1.

La selección garantiza la obtención de progenies F3 de RC1, con muy buena producción, buen tamaño de grano, sin problemas de anormalidad en los granos y con resistencia a roya.

2.4.2 Características de los granos en generaciones de polinización natural

Las generaciones de polinización natural son más dispersas y varían más en cuanto a las características de grano, Figuras 7 a 16. Los árboles con problemas especialmente de granos caracol son numerosos, con la selección, en la 3a generación se concentra la población hacia los porcentajes menores de 20%, pero aún se encuentran árboles con porcentajes muy altos (más de 40%) de granos caracol, Figuras 11 y 12. Algo similar, pero en menor proporción, ocurre para los granos vacíos los cuales constituyen un problema menor y responden mejor a la selección. En la 3a generación la mayoría de las plantas tienen menos de 15% de granos vacíos, Figuras 7 y 8.

El tamaño del grano en la 2a generación de origen triploide muestra plantas con alto, medio y bajo porcentaje de granos grandes. Buen número de plantas presenta más de 70% de granos con tamaño mayor a 17/64 (café supremo) algunas con más de 80%, estas plantas son escasas en los retrocruzamientos dirigidos, Figuras 15 y 16.

Muy pocas progenies de la 3a generación (G3) (1 de 16) tienen todas las plantas sin problemas de granos anormales y con buen tamaño de grano. Se requiere avanzar a la 4a generación.

2.5 OTRAS CARACTERISTICAS

En las poblaciones de origen híbrido se estan tomando una serie de medidas relacionadas con la morfología de las plantas y con características relacionadas con la producción, tales como: ramificación, número de nudos con frutos por rama, número de frutos por nudo, entre otras. En la tabla 5 se destacan los promedios de estas características.

El promedio de los nudos con frutos por rama varía poco y es ligeramente superior en **C. canephora.** (13 nudos contra 10 de **C. arabica** var. Caturra).

En las plantas de origen híbrido los promedios muestran la tendencia a ser más frecuentes las plantas con un número de nudos con frutos superior a caturra. Los frutos por nudo son una característica más variable, pero, es conocido que la especie **C. canephora**, presenta, en general, nudos con mayor número de frutos que la especie **C. arabica** (20). En los materiales de origen triploide las variaciones son amplias, la mayoría de las generaciones presentan promedios superiores a los de la especie **C. arabica** y son frecuentes las plantas con un número de frutos por nudo cercano al promedio de **C. canephora.** Es decir, que es posible obtener y seleccionar plantas potencialmente más productivas que las de la variedad caturra, dentro de las poblaciones de origen híbrido.

3. DISCUSION

La ausencia de barreras genéticas fuertes entre las especies del género **Coffea** y la homología existente entre el juego cromosómico del **C. arabica** y el genoma de la mayoría de las especies diploides facilita la introgresión de características de la especie **C. canephora** hacia **C. arabica**, de acuerdo con los postulados sobre el origen y las relaciones genéticas entre las especies de **Coffea** hechos por Charrier y Berthoud (2, 9). Dicha homología a permitido el flujo de genes (oligogenes y probablemente poligenes) en ambas direcciones, de **C. canephora** hacia **C. arabica** y viceversa, como se aprecia en el presente estudio.

El método de hibridación interespecífica en café utilizando los híbridos triploides, ha tenido éxito con la especie **C. canephora**, deberá ocurrir algo similar con otras especies, como **C. libérica.** Tal como se mencionó, la vía de los triploides es útil tanto para el mejoramiento de la especie **C. arabica** como para el mejoramiento de especies diploides como **C. canephora.** Si se utilizan las semillas producidas por las plantas triploides, para el caso de los híbridos provenientes de **C. arabica** var.

caturra por **C. canephora**, en la segunda generación, se observaron 30% de las plantas con fenotipo predominantemente de **C. canephora**; mientras que en los retrocruzamientos del triploide hacia **C. arabica**, predominan las plantas con características de **C. arabica**. Se podría también retrocruzar las plantas triploides hacia el progenitor diploide si se pretende obtener plantas con mayor número de características de estos.

El número de plantas que resultan con el fenotipo de la especie diploide en la 2a generación de triploides (G2) y el número de retrocruzamientos naturales, provenientes de un grupo de plantas triploides, las cuales estaban rodeadas por plantas de la var. caturra erecta, característica debida a un par de alelos de dominancia completa (15), se observó solo 10% de plantas híbridas con los rasgos del erecta; refuerzan la hipótesis de que los entrecruzamientos entre triploides ocurren en más del 50% de los casos, en las plantas provenientes de la polinización natural de los triploides.

Otro aspecto evidenciado en el trabajo con triploides, es la necesidad de utilizar numerosos progenitores de la especie diploide, tanto para incorporar abundante variabilidad genética como, principalmente, por la compatibilidad diferencial entre los progenitores diploides (heterocigotos). Es conveniente además estudiar la compatibilidad de la especie diploide con varios genotipos de **C. arabica**, hay evidencias que sugieren que puede existir compatibilidad diferencial entre los genotipos de **C. arabica** y las especies diploides.

Se deben producir poblaciones numerosas para tener la probabilidad de encontrar plantas que reúnan varias de las características deseadas. El 40% de las plantas de la 2a generación de triploides tienen fertilidad mediana o alta (medida en producción) y aproximadamente un 50% de las plantas presentan resistencia específica a las razas de roya establecidas en Colombia, (más de 10 razas), pero, no todas las plantas resistentes son fértiles.

En una población de 100 plantas (G2), preseleccionadas por su fertilidad y sus fenotipo. Predominante de **C. arabica** var. caturra, el 15% de los árboles no presenta problemas de anormalidades en los granos (caracoles y vacíos), pero, únicamente el 6% de esta población preseleccionada reune todas las características (tipo caturra, producción aceptable, resistencia parcial o específica a la roya y bajo porcentaje de anormalidades en los granos). Se requiere una 2a generación de por lo menos 1.000 árboles, para encontrar en ella algunos pocos (10 por mil) individuos sobresalientes que reunan la mayoría de las características deseadas.

Está claro que estos no son los únicos individuos útiles, pues, muchas de las plantas de la 2a generación sirven como progenitores, bien sea, para retrocruzarlos a **C. arabica** o para obtener la 3a generación. Algunas de las plantas G2 han dado origen a progenies de 3a generación homogéneas fenotípicamente y con buenas características agronómicas.

Para la utilización de las progenies de polinización natural de plantas triploides se puede combinar la selección masal en la 2a generación (G2) y a partir de esta continuar con el método de "pedigree".

Con el retrocruzamiento dirigido a **C. arabica** se obtienen poblaciones fértiles, predominantemente de tipo cercano al **C. arabica**, pero, con mayor número de plantas susceptibles. Las anormalidades en los granos son menos frecuentes en los retrocruzamientos y se reducen eficientemente con la selección; en la F3 de RC1, se pueden alcanzar niveles comerciales en la mayoría de las progenies.

Aún cuando no se ha hecho un trabajo citológico confirmatorio, las observaciones hechas refuerzan lo expuesto en el trabajo inicial (12) en el cual se evidenció la diferencia en la fertilidad de los híbridos triploides y la recuperación de la fertilidad con el retrocruzamiento, medida por la tinción de granos de polen (13).

Respecto a otros programas de mejoramiento por hibridación interespecífica los cuales han utilizado la duplicación cromosómica de la especie diploide, es evidente la ganancia en tiempo y la eficiencia genética de la utilización de la vía triploide. Es posible obtener progenies y poblaciones muy homogéneas, productivas, con resistencia a roya y agronómicamente útiles con un retrocruzamiento y con tres o cuatro generaciones (F3 ó F4 de RC1). Este proceso a demandado aproximadamente 20 años para obtener la F4.

Utilizando las plantas de polinización natural puede requirirse de algunas generaciones más (G4 ó G5) o del retrocruzamiento para obtener progenies estables, homogéneas y útiles agronómicamente. (debe de tenerse en cuenta que en tiempo son equivalentes la G4 a la F3 de RC1).

Por lo registrado en plantas de origen híbrido entre las especies **C. arabica** y **C. canephora** (Icatu y Arabusta) en Brasil, Costa de Marfil y

Kenia, puede inferirse que dentro de las poblaciones originadas a través de triploides haya, además de la resistencia a roya, plantas con resistencia a CBD (**Colletrotrichum Coffeanum**) y a nemátodos.

Es posible también que algunas de las progenies posean además del vigor híbrido, evidente en la mayoría de los casos, adaptación a zonas de baja altitud o a regiones con clima y suelos diferentes a los óptimos de la zona central cafetera colombiana.

BIBLIOGRAFIA

1. BERTHAUD, J. L' hybridation interspecifique entre **Coffea arabica** L. et **Coffea canephora** Pierre. Cafe Cacao The XXII (1): 3-12 (2): 87-109. 1978.

2. BERTHAUD, J. and CHARRIER. A. Genetic resources of **coffea. In** Coffe. Agronomy. CLARKE R.J. and MACRAE, R. (eds) Elsevier Applied Science N.Y. Vol 4 chap 1 p 1-42. 1988.

3. BETTENCOURT, A. J. Consideracoes gerais sobre o "Hibrido de Timor" Instituto Agronómico CAMPINAS BRASIL. Circular No. 23 20 pp. 1973.

4. BETENCOURT, A. J Melhoramento genético do Cafeiro. Junta de investigacoes cientificas do Ultramar CIFC. Oeiras Portugal 93 p. 1981.

5. CAMBRONY H. R. Arabusta and other Interspecifc fertile Hybrids. **In** Coffee Agronomy Vol 4 chap 8 p 263-291. 1988

6. CARVALHO, A. Melhoramento do cafeiro. Cruzamentos entre **C. arabica** e **C. canephora**. ASIC 10o. Colleque, Salvador (Brasil). 1982 p 363-368

7. CARVALHO, A Pesquisas sobre o melhoramento do cafe. Anais do E.S.A. "Luiz de Queiros". Vol. XLIII: 793-809. 1986.

8. CARVALHO, A. Principles and practice of coffee plant breeding for producting and qualyte factors: **Coffea arabica In** . Coffee. Agronomy Vol. 4 chap 4 p.129-165. 1988

9. CHARRIER, A. and BERTHAUD, J. Botanical classification of **Coffea. In.** Coffee: Botany, Biochemistry and production of beans and beverage. CLIFFORD, M. N. and Willson K. C. (eds) AVI (USA). pp 13-14. 1985.

10. D. LE PIERRES, F. A. Les hybrides interspecifiques hexaploides **C. arabica** x **C. canephora.** ASIC 9o. Colloque, Londres 1980 p 563-570.

11. MORENO, G., CASTILLO, J. La varieté Colombia un nouveau cultivar de **coffea arabica**, du type composite, resistant à **Hemileia vastatrix** Berk et Br. ASIC 12o. Colloque Montreaux p 657-668. 1987.

12. OROZCO C., F J. Estudio citológico y cromotográfico de un híbrido interespecífico en café. UN-ICA. Bogotá, Tesis MSc 115 p 1974.

13. OROZCO C., F. J. y CASSALETT. D., C. LA Fertilidad y el diámetro de los granos de polen en un híbrido interespecífico de café. Cenicafé 26(1): 38-48 1975.

14. OROZCO C., F. J. Utilización del híbrido triploide de **C. arabica** por **C. canephora** en cruzamientos interespecíficos. Cenicafé 27(4): 143-157. 1976.

15. OROZCO C., F. J. Caracteristicas de la variedad Erecta-Cenicafé nueva variedad de **C. arabica.** ASIC 9o. Colloque. Londres 1980 p 725-730.

16. OROZCO C., F. J. Comportamiento de introducciones de la especie **Coffea canephora** en Colombia. Diez años de investigación. Mecanografiado. 30 p. 1986.

17. VAN DER VOSSEN, H.A.M and WALYARO, D. J. The coffee breeding programme in Kenya coffee 46 (541): 113-130. 1981.

18. VAN DER VOSSEN, H.A.M. and OWUOR, J.B.O A programme of interspecific hybridization between arabica and robusta coffee in Kenya. Kenya coffee 46(541) 131-137. 1981.

19. VAN DER VOSSEN H.A.M. Coffee selection and breeding. **In** Coffea: Botany, Biochemistry and production of beans and beberage. CLIFFORD, M.N. and WILLSON K.C. (eds) AVI (USA) pp 48-96 1985.

20. VISHVESHWARA, S. and ANMED, J. Variability in coffee. II Studies on flower number in species. Indian coffee XXXIX: 268-273. 1975.

SUMMARY

We are based upon hypotesis described in 1976 about the genetic advantages, for de **Coffea arabica** breeders, when not duplicating the cromosomes of the diploid species and the use of the triploid hybrids.

Triploids increase the probability of cromosome exchange, by the necesary recombinations in meiosis of single cromosome sets of each species. There are minor number of caracteristics of diploid species without duplicating the diploid. The selection and breeding process is shorter in these case.

In CENICAFE, we have studied and developed a **Coffea arabica** breeding program with triploids from about 90 **Coffea canephora** selected trees from several origens and the caturra variety of **C. arabica**. We have F1, F2 and F 3 triploid progenies and F1, F2, F3 from RC1. There are more than 6.000 trees from these generations.

In few generations (F3) there are progenies with **C. arabica** fenotipe, selfcompatible, productive, parcial of total resistant to coffee rust (**H. vastatrix**),with good coffee berry characteristics like: size, a low percentage of abnormal grains, and cup taste similar to comercial varieties of **C. arabica**.These results demostrate the potential of this system in coffee breeding.

We have been using several techniques of **"in vitro"** tissue culture to support the interspecific hibridization programs, obtaining higher numbers of hybrid combinations and in some cases originating new combinations between diploid species and **C. arabica**

The triploid way is useful in **C. canephora** breeding and can be used with other interspecif combinations.

Résumé

Utilisation des hybrides triploïdes dans l'amélioration génétique du caféier.

Ce travail a été basé sur des hypothèses formulées en 1976 et concernant les avantages génétiques, pour les sélectionneurs de Coffea arabica, de l'utilisation des hybrides triploïdes qui résultent du croisement de l'espèce diploïde sans duplication de ses chromosomes avec l'espèce tétraploïde Coffea arabica.

Les triploïdes accroissent la probabilité d'échanges chromosomiques par les recombinaisons nécessaires au cours de la méïose des jeux de chromosomes isolés de chaque espèce. Le processus de sélection et d'amélioration est plus court, étant donné le nombre plus réduit de caractéristiques des espèces diploïdes sans duplication.

Un programme d'amélioration du Coffea arabica basé sur l'emploi de triploïdes a été mis au point et réalisé à Cenicafé. Ce programme a été mené à partir d'environ quatre-vingt-dix arbres Coffea canephora sélectionnés et issus d'origines diverses et de la variété Caturra de C. arabica. Il existe actuellement des descendances triploïdes F_1, F_2 et F_3 et des descendances F_1, F_2 et F_3 issues du rétrocroisement RC1. Plus de six mille arbres appartenant à ces générations existent.

Dans quelques générations, F3 de triploïdes ou F3 de RC1, il y a des descendances avec le phénotype de la variété Caturra de C. arabica, autocompatibles, productives, avec une résistance partielle ou totale à la rouille (Hemileia vastatrix), vigoureuses et avec de bonnes caractéristiques du grain telles que faible pourcentage de grains anormaux et qualité à la tasse semblable à celle des variétés commerciales de C. arabica. Ces résultats montrent le potentiel de ce système d'amélioration du caféier.

Plusieurs techniques de culture de tissus "in vitro" ont été utilisées en complément des programmes d'hybridation interspécifique. Des nombres plus importants de combinaisons hybrides et, dans certains cas, de nouvelles combinaisons entre espèces diploïdes et C. arabica ont ainsi été obtenus.

La voie triploïde est utile pour l'amélioration de C. canephora et peut être employée avec d'autres combinaisons interspécifiques.

ESQUEMA DE MEJORAMIENTO UTILIZANDO TRIPLOIDES

P	C. ARABICA	x	C. CANEPHORA
1	F1 Triploide		F1 de RC1
2	G2		F2 de RC1
3	G3		F3 de RC1
n	Gn		Fn de RC1

RESPUESTA AL ATAQUE DE ROYA

Generación	Resistencia Específica				Grados de resistencia parcial *			
	Resist.		Susc.		% de plantas			
	#	%	#	%	Resist. 0.5-2.0	Mod. Resis. 2.5-5.0	Mod. Susc. 5.5-7.0	Susceptible 7.5-9.0
F1 de RC1	270	35	510	65	15	20	45	20
F3 de RC1	10	3	280	97	18	43	27	12
G2	565	48	615	52	22	30	45	3
G3	115	35	210	65	18	18	20	44

* Adaptación de la escala de Eskes

TIPOS DE ARBOL EN F2

TIPO	Nº	%
T. Caturra	59	5
75 Cat.	378	31
Intermedio	418	34
75 Caneph.	324	27
T. Canephora	35	3
Total	1214	100

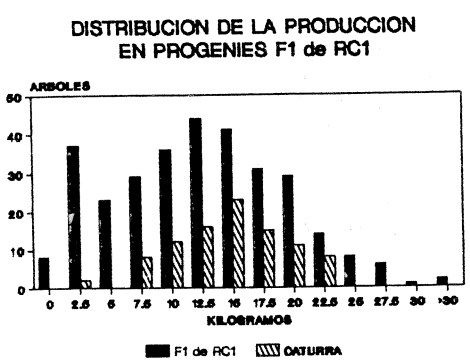
TIPOS DE ARBOL CON RELACION AL CATURRA EN GENERACIONES DE HIBRIDOS TRIPLOIDES

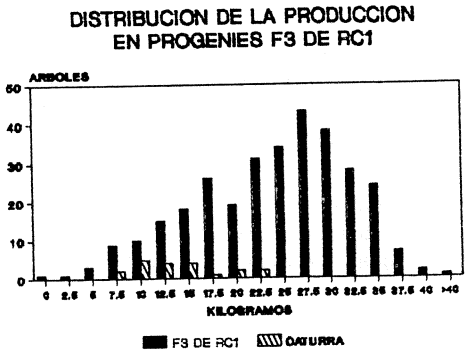
	RC1		F3 de RC1		F3 de TRIP.	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Tipo 1	0	0	0	0	0	0
Tipo 2	1	0.5	0	0	0	0
Tipo 3	1	0.5	0	0	1	0
Tipo 4	41	14	1	0.5	12	4
Tipo 5	31	10	1	0.5	5	1
Tipo 6	39	13	12	4	36	11
Tipo 7	54	18	97	34	55	17
Tipo 8	50	16	170	59	117	36
Caturra 9	86	28	6	2	102	31
	304	100	287	100	328	100

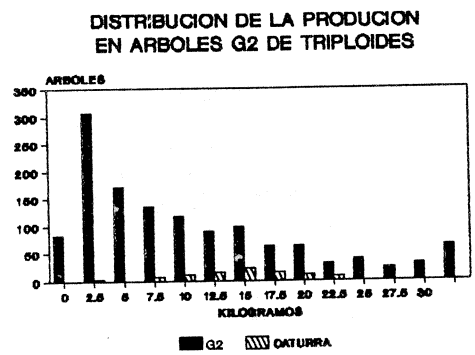
NUDOS CON FRUTOS Y FRUTOS POR NUDO

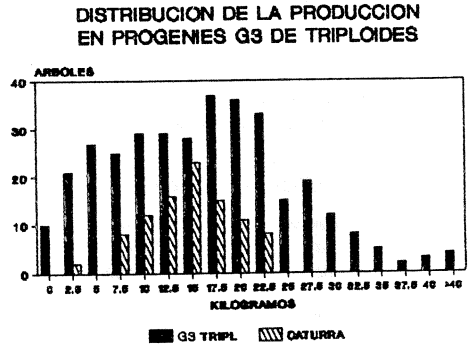
Generación	Promedio Nudos con frutos	Frutos por nudo		
		Promedio	Máximo	Mínimo
F2 de P.L.	12	10	29	4
F3 de P.L.	12	17	27	5
RC1	11	14	31	6
F3 de RC1	12	16	25	4
CATURRA	10	10	14	4
CANEPHORA	13	27	40	18

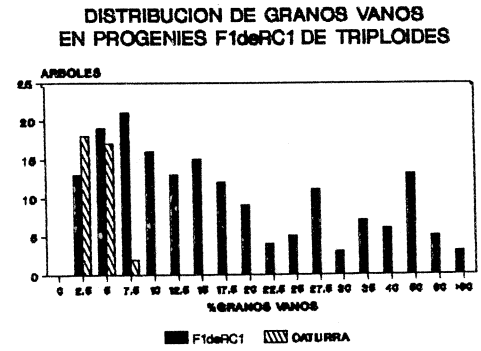
Tablas 1 a 5

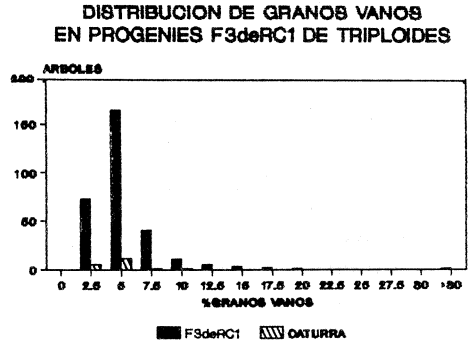

DISTRIBUCION DE LA PRODUCCION
EN PROGENIES F1 de RC1
ARBOLES
KILOGRAMOS
F1 de RC1
OATURRA

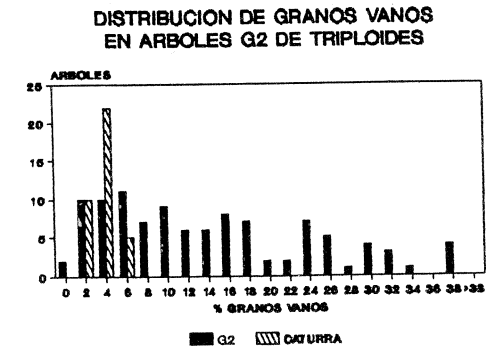

DISTRIBUCION DE LA PRODUCCION
EN PROGENIES F3 DE RC1
ARBOLES
KILOGRAMOS
F3 DE RC1
OATURRA

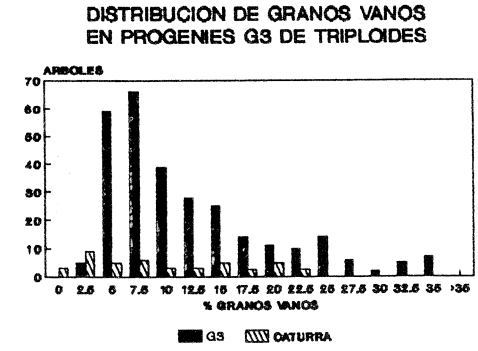

DISTRIBUCION DE LA PRODUCION
EN ARBOLES G2 DE TRIPLOIDES
ARBOLES
KILOGRAMOS
G2
OATURRA


DISTRIBUCION DE LA PRODUCCION
EN PROGENIES G3 DE TRIPLOIDES
ARBOLES
KILOGRAMOS
G3 TRIPL
OATURRA

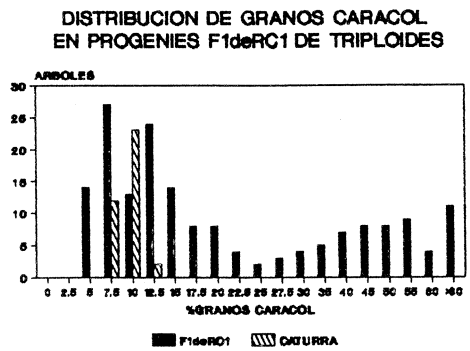

DISTRIBUCION DE GRANOS VANOS
EN PROGENIES F1deRC1 DE TRIPLOIDES
ARBOLES
%GRANOS VANOS
F1deRC1
OATURRA

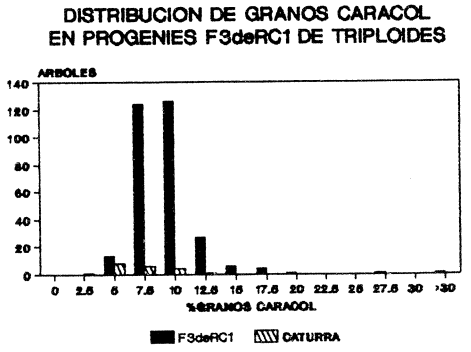

DISTRIBUCION DE GRANOS VANOS
EN PROGENIES F3deRC1 DE TRIPLOIDES
ARBOLES
%GRANOS VANOS
F3deRC1
OATURRA

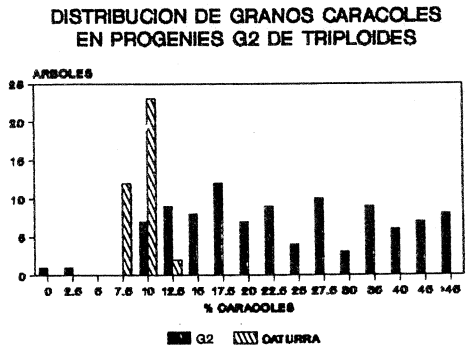

DISTRIBUCION DE GRANOS VANOS
EN ARBOLES G2 DE TRIPLOIDES
ARBOLES
% GRANOS VANOS
G2
OATURRA

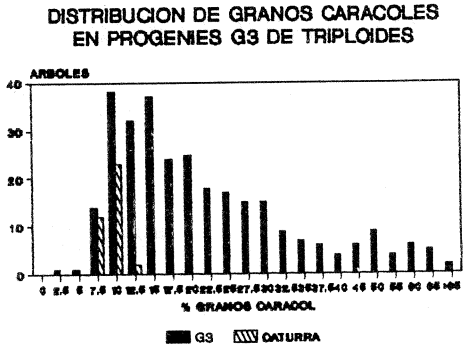

DISTRIBUCION DE GRANOS VANOS
EN PROGENIES G3 DE TRIPLOIDES
ARBOLES
% GRANOS VANOS
G3
OATURRA

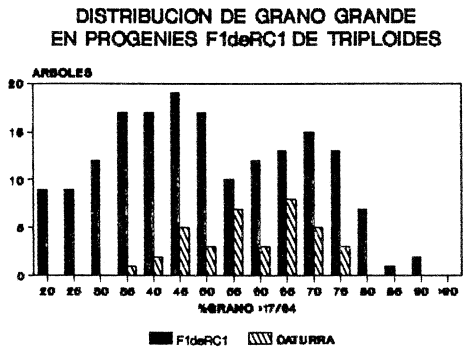
Figuras 1 a 8

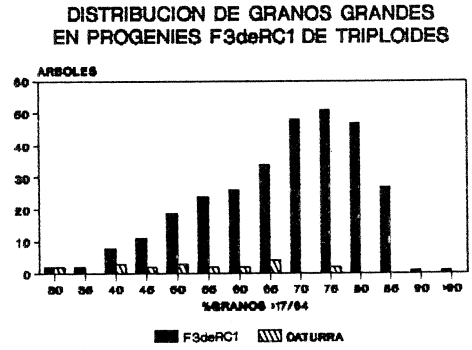


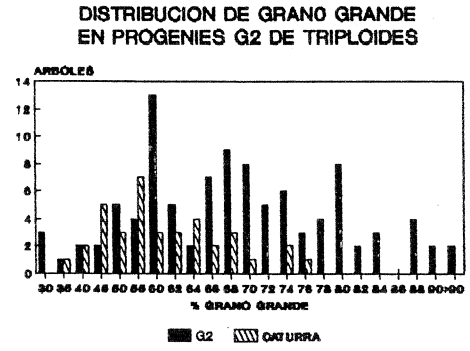


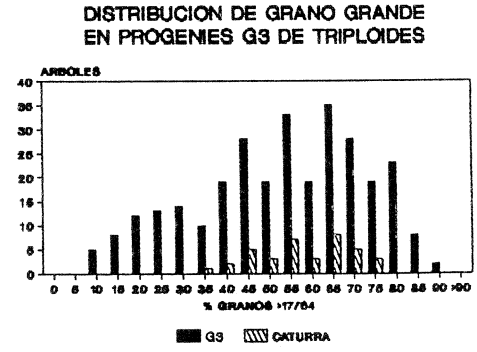












Figuras 9 a 16

MÉTHODOLOGIE DE LA SÉLECTION CAFÉIÈRE EN CÔTE D'IVOIRE

P. CHARMETANT, T. LEROY
IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

INTRODUCTION

Avant 1982, les essais de sélection caféière étaient menés en Côte d'Ivoire selon un dispositif en deux à huit blocs de Fischer composés de lignes de 8 à 12 pieds (3). Depuis cette date, et sur la recommandation du service de biométrie de l'IRCC (2), le dispositif adopté est la randomisation totale arbre par arbre.

A partir de l'expérience de ces quelques années, les auteurs exposent certains aspects des résultats d'analyses obtenus avec ce dispositif, et leur conséquence en amélioration des caféiers.

1. COMPARAISON DU DISPOSITIF EN LIGNE ET DU DISPOSITIF ENTIEREMENT RANDOMISE

11. Précision de l'essai

On peut, dans le tableau 1, comparer les caractéristiques des analyses effectuées dans un essai clonal sur le cumul des trois premières récoltes. L'essai est planté en lignes mais a été suivi arbre par arbre sur les trois premières récoltes.

On voit donc qu'avec un même nombre de plants au champ, l'analyse arbre par arbre permet de diminuer de près de moitié la différence significative et augmente donc sensiblement la précision de l'essai. De la même façon, pour une même précision, l'effectif à planter - donc la surface de l'essai - est bien inférieur dans le cas d'une analyse arbre par arbre.

Tableau 1 : Comparaison d'analyses par ligne et par arbre

	BLOCS DE FISCHER	ARBRE/ARBRE
Nombre de clones	18	18
Répétitions	4 lignes de 8 arbres	32 arbres
Coefficient de variation total	57%	62%
Coefficient de variation résiduel	27%	46%
F de Fischer	16,355	28,393
d.d.l.	17;54	17;557
Probabilité	0,0001	0,0001
Différence significative (kg/arbre) (N.& K.5%) (% de la moyenne)	4,3 64%	2,4 43%

On peut objecter que le dispositif de cet essai ne permet pas, en toute rigueur, une analyse en randomisation totale arbre par arbre. Un essai similaire (18 clones, 25 répétitions/clone) a été planté à Divo en randomisation totale. Sur le cumul de trois récoltes, on y observe un coefficient de variation global de 66%, un coefficient de variation résiduel de 47%, et une différence significative de 5,3 kg (43% de la moyenne).

12. Exemple d'inconvénient du dispositif en lignes

Dans le premier essai cité, il est apparu qu'un clone, très producteur dans d'autres essais, se révélait relativement médiocre.

Lorsqu'on rapporte la production de chaque ligne à la moyenne du clone qui y est planté, et qu'on calcule une moyenne mobile de ces écarts sur trois lignes, on obtient (figure 2) une assez bonne représentation de la macro-hétérogénéité du terrain. On constate alors que les quatre répétitions du clone en question sont situées dans des zones peu favorables.

Cette situation aurait pu être évitée par la réalisation, préalablement à la mise en place de l'essai, d'un essai à blanc - graminée ou plante de couverture - permettant de contrôler l'hétérogénéité du terrain.

En randomisation totale, cela a peu de chance de se produire, du fait du grand nombre de répétitions. Pour l'éviter, on peut avoir recours à la réalisation de "miniblocs" d'un arbre par objet, qui assurent une répartition homogène des objets dans l'essai (cela a été réalisé en 1988 en Côte d'Ivoire). On verra aussi plus loin les moyens dont on dispose pour contrôler cette hétérogénéité.

13. Puissance du test

La puissance du test correspond au risque de deuxième espèce, c'est à dire au risque de trouver une différence quand il n'y en a pas. Si l'on applique les calculs développés par LOTODE (2) à l'exemple ci-dessus, le nombre de répétitions nécessaires pour mettre en évidence une différence significative de 20% de la moyenne générale, avec un risque de deuxième espèce de 25%, serait, pour le dispositif en lignes, de 26 répétitions de 8 arbres, soit 208 arbres; pour le dispositif en randomisation totale, il serait de 75 arbres seulement. Ceci confirme l'économie de surface que permet la randomisation totale, pour une même efficacité de la sélection.

3. PRISE EN COMPTE DE LA VIGUEUR DANS LA SELECTION

Lorsqu'on prend pour covariable, dans une analyse de données de récolte, le diamètre au collet de chaque arbre (tableau 4), on constate que l'analyse de covariance, qui augmente elle aussi la précision de l'essai, modifie sensiblement le classement en défavorisant les clones vigoureux. Sa liaison avec la production n'est pas indépendante du facteur génétique, puisqu'il existe globalement une bonne liaison vigueur/production chez les caféiers Robusta. Ce type d'analyse présente cependant, pour le sélectionneur, l'avantage de pouvoir faire intervenir simultanément la vigueur et la productivité dans la sélection, qu'il recherche des plantes vigoureuses et productives (densités faibles) ou, au contraire, des arbres productifs mais relativement peu vigoureux (densités élevées, haies fruitières).

Dans le tableau 5, on peut d'ailleurs observer le résultat obtenu pour les quatres meilleurs clones du tableau 4 en tenant compte de la correction apportée par la covariable. On voit aussi que le simple calcul du rapport production/diamètre au collet donne le même résultat pour ces clones.

Tableau 5 : Effet de la prise en compte de la vigueur

CLONE	PRODUCTION kg cerises par arbre	VIGUEUR diamètre au collet	PROD /VIG	PRODUCTION CORRIGEE (covariable)
477	17,5	66	2,66	15,7
628	19,7	56	3,53	20,7
537	19,9	69	2,87	17,2
636	24,0	61	3,91	23,4

4.CONCLUSIONS

Le dispositif entièrement randomisé permet donc d'augmenter sensiblement la précision des essais ou de réduire leur surface, par rapport au dispositif en lignes. De plus, l'hétérogénéité du terrain peut être prise en compte dans les analyses. Enfin, le suivi arbre par arbre permet d'associer la vigueur à la productivité dans les analyses et d'orienter la sélection en conséquence :

Pour sélectionner des clones ou descendances producteurs mais moyennement vigoureux (augmentation des densités), ou le contraire,on utilisera la mesure de vigueur de l'arbre lui-même. Par contre, la covariable calculée sur les plus proches voisins ne servira qu'à préciser les classements grâce au contrôle de la microhétérogénéité.

La visualisation des différents objets testés, clones ou descendances, qui reste essentielle pour le sélectionneur, nécessite la plantation des objets en lignes dans les bordures de l'essai, ou dans une collection.

Enfin, il faut noter que l'utilisation systématique du dispositif en randomisation totale est très difficilement envisageable si l'on ne dispose pas d'un microordinateur et de logiciels adaptés aux besoins d'analyse.

BIBLIOGRAPHIE

1. CAUDRON J.L. Programme de traitement statistique des fichiers de type "MICROSTAT": cas de la randomisation totale et des effectifs inégaux par modalité. Document interne. IRCC Côte d'Ivoire. 1986.

2. LOTODE R., LACHENAUD P. Méthodologie destinée aux essais de sélection du cacaoyer. Café,Cacao,Thé (Paris); vol XXXII, n°4, oct.déc.1988, p.275-292.

3. I.F.C.C. Les principes de la sélection des caféiers canéphoroïdes et libério-excelsoïdes. Bulletin n°5. I.F.C.C. (Paris), février 1963.

4. CILAS C., LECOUSTRE R. Etude spatiale de la production d'une cacaoyère suivant la méthode des variables régionalisées. Café, Cacao, Thé, vol.XXXII, n°4, p.299-308.

5. I.T.C.F. STATITCF. Logiciel de gestion de données et d'analyses statistiques. Institut Technique des Céréales et des Fourrages (Paris), janvier 1987.

Résumé

Les auteurs montrent l'intérêt du dispositif entièrement randomisé par rapport au dispositif en lignes randomisées, en particulier pour améliorer la précision des essais.

La prise en compte de l'hétérogénéité du terrain par la méthode des plus proches voisins permet d'augmenter encore la précision des analyses.

Enfin, l'analyse de covariance associant la vigueur à la productivité permet d'orienter la sélection en fonction du mode de plantation souhaité, puisqu'elle favorise, à productivité égale, les matériels les moins vigoureux.

Summary

Methodology of coffee selection in Côte d'Ivoire . Value of the fully randomized design.

The authors demonstrate the value of the fully randomized design compared with the design with randomized rows, especially for improving the accuracy of the trials.

Taking account of the heterogeneity of the land by the closest neighbour method makes the analyses even more accurate.

Lastly, analysis of covariance combining vigour with cropping capacity makes it possible to plan selection work according to the desired planting method since, for equal productivity, it favours the less vigorous material.

LA SÉLECTION GÉNÉRATIVE DU CAFÉIER ROBUSTA AU CAMEROUN. ANALYSE DES RÉSULTATS D'UN ESSAI D'HYBRIDES DIALLÈLE QUASI COMPLET IMPLANTÉ EN 1981

P. BOUHARMONT (*) (**), J. AWEMO (**)

* IRCC, B.P. 2577, Yaoundé, Cameroun.
** IRA, B.P. 2123, Yaoundé, Cameroun.

1. Programme de sélection générative

1.1 Première étape

Le programme de sélection générative du caféier Robusta a débuté en 1972 au Cameroun, par la mise en place de six essais de descendances illégitimes (102 descendances), puis, au cours des trois années suivantes, par l'installation de neuf essais de descendances légitimes , dont cinq établis suivant des dispositifs en tables diallèles partielles ou triangulaires.

L'objectif premier poursuivi dans ce réseau d'essais est la comparaison d'un nombre important de descendances, qui doit conduire au choix d'un ou, de préférence, de quelques hybrides sélectionnés destinés à être diffusés. Un second objectif est l'étude du mode de transmission des caractères dignes d'intérêt, des clones géniteurs à leurs descendances.

Tableau 1. - Programme de sélection générative. Première étape

Essais d'hybrides	Choix des géniteurs pour l'essai d'hybrides diallèle 81 (a)
- 6 essais de descendances illégitimes (102 descendances)	B5, B11, B30
- 4 essais comparatifs d'hybrides légitimes (19 géniteurs ; 15 descendances)	B5, B11, B30, B41, C3, C7
- 2 essais d'hybrides en tables diallèles triangulaires (6 géniteurs ; 15 descendances)	B30, B41
- 3 essais d'hybrides en tables diallèles partielles (26 géniteurs ; 65 descendances)	B5, B11
Total : - 54 géniteurs de descendances légitimes - 102 descendances illégitimes - 105 descendances légitimes	B5, B11, B30, B41, C3, C7

BIBLIOGRAPHIE

1. CAUDRON J.L. Programme de traitement statistique des fichiers de type "MICROSTAT": cas de la randomisation totale et des effectifs inégaux par modalité. Document interne. IRCC Côte d'Ivoire. 1986.

2. LOTODE R., LACHENAUD P. Méthodologie destinée aux essais de sélection du cacaoyer. Café,Cacao,Thé (Paris); vol XXXII, n°4, oct.déc.1988, p.275-292.

3. I.F.C.C. Les principes de la sélection des caféiers canéphoroïdes et libério-excelsoïdes. Bulletin n°5. I.F.C.C. (Paris), février 1963.

4. CILAS C., LECOUSTRE R. Etude spatiale de la production d'une cacaoyère suivant la méthode des variables régionalisées. Café, Cacao, Thé, vol.XXXII, n°4, p.299-308.

5. I.T.C.F. STATITCF. Logiciel de gestion de données et d'analyses statistiques. Institut Technique des Céréales et des Fourrages (Paris), janvier 1987.

Résumé

Les auteurs montrent l'intérêt du dispositif entièrement randomisé par rapport au dispositif en lignes randomisées, en particulier pour améliorer la précision des essais.

La prise en compte de l'hétérogénéité du terrain par la méthode des plus proches voisins permet d'augmenter encore la précision des analyses.

Enfin, l'analyse de covariance associant la vigueur à la productivité permet d'orienter la sélection en fonction du mode de plantation souhaité, puisqu'elle favorise, à productivité égale, les matériels les moins vigoureux.

Summary

Methodology of coffee selection in Côte d'Ivoire . Value of the fully randomized design.

The authors demonstrate the value of the fully randomized design compared with the design with randomized rows, especially for improving the accuracy of the trials.

Taking account of the heterogeneity of the land by the closest neighbour method makes the analyses even more accurate.

Lastly, analysis of covariance combining vigour with cropping capacity makes it possible to plan selection work according to the desired planting method since, for equal productivity, it favours the less vigorous material.

Dans les cinq essais diallèles, 31 géniteurs et 80 descendances ont été étudiés. Les résultats d'un essai - l'essai d'hybrides diallèle partiel 1973 - ont été exposés au Congrès de l'ASIC à Lomé en 1985.

Les essais de descendances illégitimes ont conduit à une étude de l'aptitude générale à la combinaison d'un grand nombre de clones.

Les essais d'hybrides légitimes en tables diallèles partielles ou triangulaires ont permis d'étudier l'aptitude générale et l'aptitude spécifique à la combinaison des géniteurs utilisés.

1.2. Deuxième étape

A la suite des premiers enseignements fournis par l'ensemble de ce réseau d'expérimentation, les clones les plus prometteurs, en tant que géniteurs, ont été retenus ; ils ont été hybridés suivant toutes les combinaisons possibles, pour constituer une table diallèle complète - à l'exception des autofécondations - et les hybrides ont été plantés en champ en 1981, dans deux zones de culture.

Cette expérimentation a pour objectifs de réunir dans un même champ d'essai, les descendances de géniteurs - présumés les plus intéressants - qui figuraient auparavant dans des champs différents, et surtout, d'ajouter à l'étude des aptitudes générales et spécifiques à la combinaison, celle des effets maternels et réciproques. Des résultats obtenus dépendront en effet, le dispositif à adopter lors de la création des champs semenciers destinés à la production de semences hybrides sélectionnées, et les modalités de leur récolte, sur un seul ou sur les deux clones géniteurs plantés dans les champs semenciers biclonaux.

Quelques résultats obtenus dans l'un des essais établis en table diallèle quasi complète, réalisé à la station de Barombi-Kang, sont décrits dans cette communication.

2 - L'essai d'hybrides diallèle quasi complet 81 (a) de Barombi-Kang

Six géniteurs ont été utilisés ; ce sont les clones B5, B11, B30, B41 (originaires de Boukoko en République Centrafricaine), C3 (appartenant au groupe congolais et originaire de Côte d'Ivoire) et C7 (appartenant au groupe guinéen et originaire du même pays). Trente hybrides sont étudiés. L'essai est établi suivant un dispositif en blocs randomisés en cinq répétitions ; les parcelles utiles sont constituées de dix caféiers plantés en une seule ligne. L'essai, qui couvre une superficie de 1 ha 60, contient, en plus des trente hybrides, un objet témoin constitué de plants issus de graines récoltées sur du matériel végétal local. Les caféiers sont plantés à un écartement de 3 m 50 x 2 m 50 (1 143 pieds/ha) ; ils sont taillés en tiges multiples à croissance libre (quatre tiges) périodiquement régénérées par recépage sur tire-sève, et sont fertilisés chaque année au moyen d'engrais complexe 20.10.10 à la dose de 600 kg d'engrais/ha.

Les paramètres étudiés et présentés ici concernent les productions des hybrides au cours du premier cycle, certains critères de croissance et de vigueur des arbres (diamètre, hauteur et nombre de primaires des tiges), et le degré de sensibilité à l'anthracnose des feuilles.

Tableau 2. - Schéma de la table diallèle quasi complète (géniteurs et hybrides)

♀ \ ♂	C3	C7	B5	B11	B30	B41
C3	-	H128	H129	H130	H131	H132
C7	H133	-	H134	H135	H136	H137
B5	H138	H139	-	H19	H140	H141
B11	H142	H143	H144	-	H145	H146
B30	H73	H74	H147	H148	-	H149
B41	H70	H71	H150	H151	H66	-

D'autres caractères sont en cours d'observation, notamment ceux qui concernent la vigueur des arbres après régénération, la sensibilité à la rouille orangée, et les caractéristiques du café produit.

Pour bon nombre des paramètres étudiés, les caractéristiques des clones eux-mêmes sont connues, grâce aux études et aux observations réalisées dans les collections et dans divers essais comparatifs qui font partie du programme de sélection végétative du caféier Robusta. A la suite de l'étude des aptitudes générale et spécifique à la combinaison et des effets maternel et réciproque, réalisée par l'analyse des caractéristiques de leurs descendances observées dans l'essai d'hybrides, il a donc souvent été possible de calculer la corrélation existant entre les clones et leurs descendances, et de déterminer non seulement la capacité des géniteurs à fournir des hybrides dotés de tel ou tel caractère, mais aussi de préciser leur aptitude à transmettre à leurs descendances, leurs propres caractères.

3. Les productions

Le premier cycle de production comporte cinq années de récolte, y compris celle réalisée sur les tire-sève. Les données enregistrées chaque année ont été analysées statistiquement de même que leur cumul progressif. Les chiffres des productions cumulées sont inscrits dans le tableau 3.

Tableau 3a. - Productions cumulées du premier cycle
(kg café marchand/ha/an)

♀ \ ♂	C3	C7	B5	B11	B30	B41	Moyenne
C3	-	1175	1011	1195	1020	941	1068
C7	1018	-	1295	1260	1159	1181	1183
B5	870	1281	-	1026	834	1181	1038
B11	1028	954	1227	-	1092	1177	1096
B30	1093	1088	710	998	-	913	960
B41	1091	1167	1132	1170	1009	-	1114
Moyenne	1020	1133	1075	1130	1022	1079	1077

Tableau 3 (b) - Classement des géniteurs en fonction de leurs descendances
(essai diallèle 81) et des clones dans les essais clonaux

Géniteurs	C7	B11	B41	B5	C3	B30
AGC (gi)	20,1	8,9	4,8	-4,9	-7,9	-20,9
Productions	1158	1113	1097	1057	1040	993
Clones	B11	C7	B5	B41	B30	C3
% du témoin	210	177	155	142	140	35

- AGC - L'analyse statistique donne les résultats suivants.

Les AGC sont significatives. Trois groupes homogènes de géniteurs sont définis ; seuls les deux géniteurs classés aux deux extrémités du classement sont assez nettement séparés l'un de l'autre. L'écart entre les différents géniteurs, en ce qui concerne la production de leurs descendances, est relativement peu important. Ce résultat était prévisible, les géniteurs ayant été choisis après un premier tri réalisé dans le réseau d'essais antérieurs.

- ASC - Aucune différence significative n'apparaît pour les ASC. L'additivité des apports parentaux est donc prépondérante.

- Effets maternels et réciproques. Dans aucune des analyses de données, qu'il s'agisse des productions annuelles ou des productions cumulées, les effets maternels et les effets réciproques n'apparaissent significatifs. Les descendances obtenues par l'hybridation de chacun des géniteurs avec l'ensemble des autres ou avec l'un quelconque d'entre eux sont équivalentes lorsqu'il est utilisé comme partenaire mâle ou comme partenaire femelle.

- Corrélation clones-hybrides.

Les deux clones qui se sont montrés les plus productifs dans le programme de sélection végétative ont les AGC les plus élevées, et les deux clones les moins productifs ont les AGC les plus faibles. Bien qu'il soit positif, le coefficient de corrélation qui lie les productions des géniteurs et leurs AGC n'est pas significatif, sans doute parce que le nombre de couples de données (six) utilisé pour ce calcul est faible. Il n'y a pas non plus de corrélation significative entre la production des hybrides et la moyenne des productions de leurs deux parents.

4 - Caractères morphologiques et croissance des arbres

Deux ans après la plantation des caféiers, on a mesuré leur hauteur, ainsi que le diamètre de leurs tiges à 10 cm du niveau de leur insertion sur la souche, et compté le nombre de leurs primaires. La hauteur des caféiers a également été observée à l'âge de six ans, suivant une échelle d'estimation chiffrée de 1 à 9.

Les paramètres de croissance ont également été observés sur les clones utilisés comme géniteurs, dans un champ d'essai comparatif situé à la station de Barombi-Kang, où, figurent 130 clones répartis suivant un dispositif entièrement randomisé où chacun d'eux est représenté par quinze caféiers

4.1 - Hauteur des tiges

- AGC, ASC, effets maternels et réciproques.

L'étude des observations effectuées sur les hybrides dont les caféiers sont âgés de deux ans fournit les renseignements suivants. L'analyse statistique révèle que les différences entre les aptitudes générales à la combinaison des géniteurs sont très hautement significatives, alors que les différences entre les aptitudes spécifiques à la combinaison ne sont pas significatives. Aucune combinaison entre géniteurs ne produit donc une descendance significativement différente, pour le caractère considéré, de ce qui peut être attendu d'après la performance moyenne (AGC) de chaque parent. L'observation des hybrides permet d'établir le classement des géniteurs dans l'ordre de hauteur croissante des arbres de leurs descendances.

Dans le tableau 4, on peut lire les différences significatives qui existent entre les AGC des géniteurs. Deux groupes homogènes se distinguent et sont significativement différents l'un de l'autre ; ce sont, d'une part les descendances des clones B5 et B41 et, d'autre part, celles des clones C7, B30, C3 et B11.

Les effets maternels se montrent significatifs alors que les effets réciproques ne le sont pas. On distingue trois groupes homogènes. En réalité, on constate surtout que le clone C3 se comporte mieux comme géniteur mâle que comme géniteur femelle, et, dans une moindre mesure, que le clone B5 se comporte mieux comme géniteur femelle que comme géniteur mâle.

De nouvelles observations de la hauteur des caféiers ont été réalisées à l'âge de six ans. Comme pour les mesures effectuées sur caféiers âgés de deux ans, les différences entre les aptitudes générales à la combinaison des géniteurs sont très hautement significatives. Les aptitudes spécifiques à la combinaison et les effets réciproques ne sont pas significatifs. Quant aux effets maternels, qui s'étaient montrés significatifs pour les observations effectuées sur les arbres âgés de deux ans, ils ont disparu chez les caféiers adultes, ce qui semble indiquer qu'ils provenaient sans doute principalement d'une hétérogénéité des plants en pépinière ; ceci devrait être précisé par les observations effectuées sur les tiges produites après recépage des arbres.

Tableau 4a. - Hauteur (cm)des tiges des caféiers des différents hybrides de l'essai diallèle à l'âge de 2 ans

♀ \ ♂	C3	C7	B5	B11	B30	B41	Moyenne
C3	-	113,2	111,2	129,4	122,6	105,4	116,4
C7	130,2	-	116,2	126,6	126,6	115,6	123,0
B5	129,2	126,2	-	116,2	120,4	110,0	120,4
B11	126,4	122,2	114,8	-	120,0	108,2	118,3
B30	133,6	123,8	114,0	129,4	-	114,6	123,1
B41	117,6	124,2	97,4	108,8	111,6	-	111,9
Moyenne	127,4	121,9	110,7	122,1	120,2	110,8	118,9

Tableau 4b. - Hauteur (cm)des tiges des caféiers des différents hybrides de l'essai diallèle à l'âge de 6 ans

♀ \ ♂	C3	C7	B5	B11	B30	B41	Moyenne
C3	-	6,4	5,8	6,0	7,0	5,0	6,0
C7	6,8	-	7,8	6,6	7,8	5,2	6,8
B5	6,2	6,2	-	4,0	5,8	4,6	5,4
B11	5,0	5,6	5,0	-	4,6	3,4	4,7
B30	6,6	7,6	5,2	4,4	-	4,4	5,6
B41	4,8	6,0	4,4	2,6	3,8	-	4,3
Moyenne	5,9	6,4	5,6	4,7	5,8	4,5	5,5

Tableau 4c. - Classement des géniteurs en fonction de leurs descendances (essai diallèle 81) et des clones dans l'essai clonal

Géniteurs (2 ans)	B41	B5	B11	C3	B30	C7
AGC (gi)	-0,081	-0,036	0,016	0,029	0,030	0,042
Hauteur	111,3	115,6	120,2	121,9	121,7	122,5
Géniteurs (2 ans)	C3	B11	B41	C7	B30	B5
Effets maternels (mi)	-0,038	-0,012	0,002	0,003	0,010	0,034
Géniteurs (6 ans)	B41	B11	B5	B30	C3	C7
AGC (gi)	-1,333	-0,958	0,017	0,292	0,592	1,392
Hauteur	4,4	4,7	5,5	5,7	6,0	6,6
Clones (20 mois)	B41	B11	B30	C7	B5	C3
Hauteur	62	79	82	83	87	92

Dans le tableau 4c, on peut lire les différences significatives qui existent entre les AGC des géniteurs. Trois groupes homogènes, significativement différents l'un de l'autre, peuvent se distinguer : en tête le géniteur C7, au centre les géniteurs C3, B30 et B5, en fin de classement les géniteurs B11 et B41.

Corrélation clones-hybrides. A quelques exceptions près, le classement des clones, pour le critère étudié, suit un ordre assez semblable à celui de leurs descendances, la corrélation clones-hybrides n'est pas significative pour la première série d'observations (r = 0,65 pour n = 6 ; seuil de signification r = 0,81), mais elle n'en est pas éloignée pour la deuxième (r = 0,74, significatif au seuil de probabilité de 0,90 ou le r théorique = 0,75).

4.2 - Diamètre des tiges des caféiers âgés de deux ans

Pour ce paramètre également, comme pour la hauteur des tiges, les différences entre les AGC sont hautement significatives, les effets maternels sont significatifs, tandis que les ASC et les effets réciproques ne sont pas significatifs. Le classement des géniteurs, dans l'ordre croissant des valeurs du diamètre des tiges, figure dans le tableau 5. Le clone situé en tête (C3) et le clone situé en dernière position (B41) sont significativement différents des autres qui se rangent quant à eux en deux groupes homogènes peu distincts. A l'exception de la position du clone B5, le classement des clones, pour le caractère étudié, suit un ordre très semblable à celui de leurs descendances, ce qui avait déjà été mis en évidence pour la hauteur des tiges. Comme pour ce critère aussi, la corrélation entre les valeurs du diamètre des tiges des géniteurs et celles mesurées sur leurs descendances n'est pas significative (r = 0,40).

Les effets maternels sont significatifs. En réalité seul le clone C3 se comporte différemment suivant le sens du croisement dans lequel, il intervient ; le géniteur C3, parent maternel, donne des descendances aux tiges moins vigoureuses que lorsqu'il est utilisé comme parent paternel.

Tableau 5a. - Diamètre (mm) des tiges des caféiers des différents hybrides de l'essai diallèle, à l'âge de deux ans

♀ \ ♂	C3	C7	B5	B11	B30	B41	Moyenne
C3	-	16,5	17,8	19,2	17,7	15,5	17,3
C7	19,6	-	17,4	18,4	17,9	16,7	18,0
B5	20,0	17,7	-	15,8	16,3	15,2	17,0
B11	20,4	16,8	16,3	-	16,9	15,7	17,2
B30	19,9	17,3	15,7	18,4	-	16,2	17,5
B41	17,6	16,7	14,9	15,2	14,6	-	15,8
Moyenne	19,5	17,0	16,4	17,4	16,7	15,9	17,1

Tableau 5b. - Classement des géniteurs en fonction de leurs descendances (essai diallèle 81) et des clones dans l'essai clonal

Géniteurs (2 ans)	B41	B5	B30	B11	C7	C3
AGC (gi)	-0,096	-0,034	-0,003	0,015	0,030	0,088
Diamètre	15,9	16,7	17,1	17,3	17,5	18,4
Géniteurs (2 ans)	C3	B41	B11	B5	B30	C7
Effets maternels (mi)	-0,051	-0,004	-0,004	0,015	0,021	0,023
Clones (20 mois)	B41	B30	B11	C3	B5	C7
Diamètre	14,8	16,6	17,2	17,7	18,3	25,0

4.3 - Nombre de primaires des caféiers âgés de deux ans

Pour ce paramètre, seules les AGC présentent des différences hautement significatives. Ni les ASC, ni les effets maternels, ni les effets réciproques ne sont significatifs. Le classement des géniteurs figure dans le tableau 6.

Trois groupes homogènes se différencient ; ils rassemblent d'une part les deux premiers géniteurs, d'autre part le second et, le troisième, enfin les quatre derniers géniteurs. Les caféiers des descendances du clone C7 ont un nombre de primaires plus élevé que ceux des descendances des clones B11, B30, B5 et B41 ; ceux des descendances de C3 ont un nombre de primaires plus élevé que ceux des descendances de B30, B5 et B41.

Comme pour les deux paramètres de vigueur précédents, à l'exception de la position du clone B5, le classement des clones suit un ordre proche de celui de leurs descendances. Pas plus que pour les critères précédents, la corrélation entre les valeurs du nombre de primaires observé sur les géniteurs et celles de leurs descendances n'est significative (r = 0,58).

Tableau 6a. - Nombre de primaires des tiges des caféiers des différents hybrides de l'essai diallèle, à l'âge de deux ans

♀ \ ♂	C3	C7	B5	B11	B30	B41	Moyenne
C3	-	73,3	67,6	78,5	68,3	61,2	69,8
C7	71,7	-	70,5	73,2	77,2	70,0	72,5
B5	65,2	85,9	-	56,7	60,3	57,0	65,0
B11	81,1	64,4	61,5	-	60,5	58,6	65,2
B30	83,1	71,6	56,6	69,1	-	56,7	67,4
B41	73,5	75,0	53,7	54,0	46,8	-	60,6
Moyenne	74,9	74,0	62,0	66,3	62,6	60,7	66,8

Tableau 6b. - Classement des géniteurs en fonction de leurs descendances (essai diallèle 81) et des clones dans l'essai clonal

Géniteurs (2 ans)	B41	B5	B30	B11	C3	C7
AGC (gi)	-1,42	-0,83	-0,38	-0,12	1,16	1,58
Nombre primaires	60,6	63,5	65,0	65,8	72,3	73,3
Clones (20 mois)	B41	B11	B30	C7	B5	C3
Nombre primaires	16,3	18,3	19,4	20,0	21,9	23,3

5 - L'anthracnose des feuilles

L'anthracnose des feuilles du caféier Robusta se manifeste par des taches brun foncé de forme irrégulière, aux dimensions variables, bordées d'un liseré jaune. C'est une maladie de jeunesse, fréquemment rencontrée au Cameroun sur les caféiers âgés de moins de trois ans. Elle peut, dans les cas graves, provoquer la chute d'un grand nombre de feuilles et éventuellement retarder la croissance des jeunes plants. Sur les caféiers adultes, cette maladie est pratiquement inexistante, même chez les clones les plus sensibles, sur les tiges âgées comme sur les jeunes rejets de remplacement choisis lors de la régénération des arbres.

La sensibilité à l'anthracnose des caféiers hybrides a été étudiée dans une série d'observations : pourcentage de feuilles atteintes sur la totalité des feuilles des caféiers observés à l'âge de douze mois et de quinze mois, pourcentage de feuilles malades sur les

quatre primaires des cinquième et sixième rangs d'une tige des caféiers âgés de 18 mois, pourcentage de feuilles affectées par la maladie sur les quatre primaires des sixième et dixième rangs d'une tige âgée de trente mois.

Les informations les plus significatives sont celles qui résultent de l'observation de l'ensemble des feuilles des caféiers âgés de quinze mois. Les autres séries d'observations donnent cependant des résultats équivalents.

Tableau 7a. - Pourcentage de feuilles anthracnosées sur les caféiers des différents hybrides de l'essai diallèle, à l'âge de 15 mois

♀ \ ♂	C3	C7	B5	B11	B30	B41	Moyenne
C3	-	2,487	5,518	4,469	5,233	4,953	4,53
C7	5,179	-	11,569	5,852	4,674	20,373	9,53
B5	3,764	4,767	-	13,940	4,079	5,849	6,48
B11	1,558	15,990	8,005	-	19,390	37,422	16,47
B30	5,248	6,924	6,117	10,236		16,972	9,10
B41	6,659	8,758	11,465	31,731	22,002	-	16,12
Moyenne	4,48	7,79	8,53	13,25	11,08	17,11	10,37

Tableau 7b. - Classement des géniteurs en fonction de leurs descendances (essai diallèle 81) et des clones dans l'essai clonal au cours de la première année après la plantation

Géniteurs (15 mois)	C3	B5	C7	B30	B11	B41
AGC (gi)	-7,33	-3,58	-2,14	-0,36	5,61	7,81
% feuilles malades	4,51	7,51	8,66	10,09	14,86	16,62
Clones	C3	C7	B5	B30	B41	B11
% feuilles malades	11	18	21	30	31	34

- AGC - Les différences entre les AGC sont très hautement significatives. Le classement des géniteurs figure dans le tableau 7. On observe que les géniteurs se rangent dans trois groupes homogènes, significativement différents l'un de l'autre. Le clone C3 est significativement supérieur aux autres quant à la résistance de ses descendances à l'anthracnose des feuilles, les clones B11 et B41 sont significativement inférieurs aux quatre autres, et les clones B5, C7 et B30 constituent le groupe intermédiaire, significativement différent des deux autres groupes.

- ASC - Les différences entre les ASC sont hautement significatives, bien qu'à un niveau nettement inférieur à celui des AGC. Quatre groupes homogènes d'hybrides se différencient, qui se chevauchent très largement, exception faite pour le dernier d'entre eux qui, d'ailleurs, est constitué d'un seul hybride (B11 x B41), issu des deux clones les plus sensibles dont l'ASC est significativement supérieure à celle manifestée par tous les autres croisements. La sensibilité de cet hybride est supérieure à ce qu'on pouvait attendre d'un simple effet additif de ses deux parents.

- Effets maternels et réciproques. Pour le critère de sensibilité à l'anthracnose des feuilles, ni les effets maternels ni les effets réciproques ne sont significatifs.

- Corrélation clones-hyrbides.

En ce qui concerne la sensibilité des feuilles à l'anthracnose, le classement des clones est très semblable à celui de leurs descendances, et la corrélation entre leur sensibilité à la maladie et leur AGC est significative au seuil de probabilité de 98 % (r = 0,89).

D'autres études ont été réalisées concernant l'anthracnose des feuilles : pourcentage de feuilles malades et de feuilles saines par rapport à l'ensemble des feuilles présentes sur l'arbre ou sur certaines de ses primaires, ou par rapport au nombre total de noeuds de ces primaires, pourcentage de feuilles tombées, rapport entre le pourcentage de feuilles tombées et le pourcentage de feuilles malades parmi les feuilles restantes, etc. Ceci afin d'estimer l'influence de la maladie sur le niveau de défoliation des arbres et éventuellement sur le nombre de noeuds formés et donc sur la croissance et la vigueur des caféiers.

On constate, lorsqu'on observe le taux d'attaque dans chacune des parcelles, qu'il y a d'autant plus de feuilles tombées de l'arbre (sixième et dixième paires de primaires) que le taux d'attaque des feuilles restantes est plus élevé. L'anthracnose provoque donc la chute d'un certain nombre de feuilles. On observe aussi que le nombre de noeuds formé sur les branches (dixième paire de primaires) est moins élevé lorsque le taux d'attaque des feuilles restantes est plus élevé ; l'anthracnose peut donc freiner la croissance du bois fructifère.

Par contre, il n'existe pas de corrélation significative entre la sensibilité des hybrides à l'anthracnose et leur productivité (r = 0,03 pour n = 30) ; seuil de signification r = 0,51). Cette sensibilité n'a donc pas, ou seulement très peu d'importance parmi les facteurs qui régissent le potentiel de production des hybrides dans les conditions normales de culture. Ceci est sans doute dû au fait, que la durée de la maladie est limitée à la période de jeune âge des arbres. Il ne faut cependant pas ignorer que, dans les jeunes plantations mal entretenues, l'anthracnose peut entraîner la mort d'un certain nombre de plants.

Conclusion

Les aptitudes générales à la combinaison sont toujours significatives ou hautement significatives pour les caractères de la productivité, de la vigueur végétative des arbres, et de la sensibilité à l'anthracnose des feuilles.

Les aptitudes spéficiques à la combinaison sont significatives uniquement pour le caractère de sensibilité à l'anthracnose, un seul hybride se différenciant nettement des autres à cet égard.

Les effets maternels sont faiblement significatifs pour le caractère de vigueur des arbres : deux géniteurs s'y distinguent des autres.

Résumé

L'étude des résultats d'une série d'essais d'hybrides diallèles de caféiers Robusta, dont l'essai diallèle 73 analysé dans une communication au Congrès de l'ASIC de Lomé, a conduit au choix de géniteurs à utiliser pour la mise en place d'un essai d'hybrides diallèle quasi complet installé en 1981 à la station de Barombi-Kang au Cameroun.

Les résultats obtenus dans cet essai au cours du premier cycle de production sont analysés.

Six géniteurs, B5, B11, B30, B41, C3 et C7, sont utilisés ; trente hybrides sont étudiés.

Les principaux critères de sélection sont les suivants : productivité, vigueur des arbres (vitesse de croissance des tiges et des branches, diamètre des tiges), sensibilité à l'anthracnose des feuilles.

Les aptitudes générales à la combinaison sont toujours significatives ou hautement significatives pour les caractères de la productivité, de la vigueur végétative des arbres et de la sensibilité à l'anthracnose des feuilles.

Les aptitudes spécifiques à la combinaison sont significatives uniquement pour le caractère de sensibilité à l'anthracnose, un seul hybride se différenciant nettement des autres à cet égard.

Les effets maternels sont faiblement significatifs pour le caractère de vigueur des arbres ; un seul géniteur s'y distingue des autres.

Summary

Generative selection of Robusta coffee in Cameroon. Analysis of the results of an almost complete diallel hybrid trial set up in 1981.

After the results of a series of Robusta coffee diallel hybrid trials had been studied, including diallel trial 73 analyzed in a paper given at the ASIC Congress in Lomé, parent plants were chosen for use in an almost complete diallel hybrid trial set up on Barombi-Kang Station in Cameroon in 1981.

The results obtained in the first crop cycle of this trial have been analyzed.

Six parents: B5, B11, B30, B41, C3 and C7, have been used; thirty hybrids have been studied.

The main selection criteria are: cropping capacity, vigour of the trees (rates of growth of the stems and branches, diameter of the stems) and susceptibility to leaf anthracnosis.

The general combining abilities are always significant or highly significant for the following characters: cropping capacity, growth vigour of the trees and susceptibility to leaf anthracnosis.

The specific combining abilities are only significant for the character of susceptibility to anthracnosis and only one hybrid stands out from the others in this respect.

The maternal effects are slightly significant for the character of tree vigour: only one parent differs from the others on this point.

INNOVATIONS RÉCENTES EN MATIÈRE D'ÉTUDE DE LA PHYSIOLOGIE DU CAFÉIER

M. ANDRÉ *, D. BERRY **, M. DUCAMP **, D. BIEYSSE **, J. MASSIMINO *, R. MULLER **

* Agrophysiologie, Service de Radioagronomie, CEN, Cadarache F 13108 Saint-Paul-lez-Durance, France.
** Phytopathologie, IRCC/CIRAD, Val-de-Monferrand, B.P. 5035 F 34032 Montpellier Cedex 1, France.

1 - INTRODUCTION

Une approche quantitative de la physiologie de la croissance et de la productivité passe par l'étude de la photosynthèse, source primaire des éléments carbonés qui constitueront la biomasse de la plante et ses composants utiles. Indépendamment des facteurs nombreux qui régulent le développement (floraison, fructification) et dont l'homme n'est pas toujours maître, tout facteur qui affectera la photosynthèse et donc la croissance en biomasse, (ou encore la vigueur au sens horticole) affectera généralement la récolte. Mais l'étude quantitative de la photosynthèse ne peut raisonnablement, de nos jours, faire abstraction du phénomène antagoniste qu'est la photorespiration et, d'une manière générale, des réactions de l'oxygène sur le végétal.

Radmer et Kok (1) ont montré que, dans les premières minutes de l'éclairement d'une microalgue, la réduction de l'oxygène devançait et remplaçait la réduction du CO_2. Par la même méthode isotopique utilisant $^{18}O_2$ comme traceur Gerbaud et André (2,3) ont montré, pendant des journées entières en régime stationnaire que prise de CO_2 et prise d'oxygène se substituaient l'une à l'autre si l'on faisait varier la teneur en CO_2 dans l'atmosphère (Fig. 1). Ce phénomène a été appelé "effet miroir", la somme des deux phénomènes restant constante et égale au flux d'équivalents réducteurs produits dans les chloroplastes (énergie photoréductrice). Les modèles biochimiques, basés sur les propriétés de l'enzyme Rubisco, décrivent assez bien ce type de réponse, les deux substrats CO_2 et O_2 réagissant de façon compétitive sur cette enzyme qui initie les deux voies réductrice et oxydative du carbone (4,5,6).

Quand l'éclairement croît ce système miroir s'agrandit en restant homothétique. Mais quand s'amorcent les phénomènes de saturation de la prise de CO_2 par la lumière, les courbes deviennent dissymétriques au bénéfice de la prise d'oxygène (7). Pour la concentration en CO_2 normale la photosynthèse et la photorespiration évoluent selon la figure 2. La principale conséquence de l'effet de la lumière est déduite de la figure 2. Dans une atmosphère standard en CO_2 et O_2, lorsque la prise de CO_2 est saturée par la lumière, la prise d'oxygène augmente consommant précisément les équivalents réducteurs que la carboxylation ne peut utiliser. La photosynthèse brute, somme des deux phénomènes, croît linéairement avec l'irradiance. Ce sont ces deux types de relations décrites Fig. 1 et 2 qui vont nous servir dans ce qui suit pour l'analyse des variations de photosynthèse

chez le caféier. Notre étude prolonge celle de Berry et al (8) qui avait situé les premiers résultats obtenus à Cadarache parmi ceux de la littérature.

Nous nous réfèrerons à cette étude que nous tenterons de compléter dans 3 directions : analyse de la régulation en forme de cloche de la photosynthèse chez le caféier ; relations entre taux de défoliation et photosynthèse globale d'un plant ; réponse à l'éclairement et premières études de photoinhibition chez le caféier.

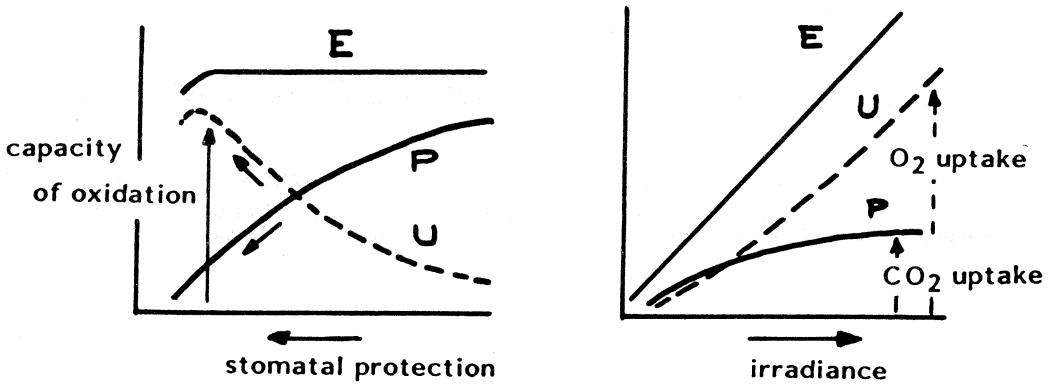


Figure 1 - Variation réciproque de la photosynthèse nette en CO_2 (P) et de la prise d'O_2 sous lumière (U) en fonction de la teneur en CO_2, la somme E restant constante (Effet miroir), d'après Gerbaud et André (2,3). Par hypothèse on admet que les variations de conductance stomatique peuvent provoquer de telles variations.

Figure 2 - Variation des échanges d'O_2 et de CO_2 lorsque l'éclairement croît jusqu'aux valeurs saturant la prise de CO_2 (mêmes notations que Fig.1), d'après Canvin et al 7 .

2 - MATERIELS ET METHODES

2.1. Matériel

Les différentes expériences ont été effectuées sur des caféiers (Coffea arabica L. var. Caturra Rojo) issus de graines et recépés depuis 2 ans ou plus fréquemment sur des plants obtenus par micro-bouturage et sevrés depuis 6 mois à deux ans. Sans mention contraire ces caféiers ont été cultivés en cellules climatiques (éclairement 150 µE $m^{-2}s^{-1}$; photopériode 12h/12h ; température 25°C ; 70-95 % d'hygrométrie) sur solution nutritive en milieu liquide, l'aération de la solution a été effectuée par micro-bullage. Le niveau est complété fréquemment et la solution totalement renouvelée tous les 15 à 21 jours (8).

Certains lots ont été cultivés en serre sur terreau avec apport de fertilisants. La température était maintenue à 25°C le jour et 23°C la nuit. L'ombrage automatisé maintenait l'éclairement inférieur à 350 avec une moyenne de 250 µ$Em^{-2}s^{-1}$.

2.2. Mesure des échanges gazeux

Les échanges gazeux sont mesurés en continu pendant des périodes de une semaine à plusieurs mois dans des Chambres de Culture Automatique en Atmosphère Artificielle (Système $C_2$3A) conçues pour l'étude de la physiologie sur plante entière (9,10,2,3). Ces chambres ont un volume de 700 l avec des échantillons de 3 à 9 plants ou un volume de 10 à 30 l pour étude sur plant unique avec mesures de prise d'O_2 par $^{18}O_2$ et spectrométrie de masse (3). Dans ce cas les racines sont isolées du compartiment aérien (8).

En condition standard, sauf exceptions notées sur les figures, les expériences ont été réalisées avec le climat suivant : Eclairement 150 µ$m^{-2}s^{-1}$ (PAR), Photopériode 12h/12h, Température 26 $\pm$ 1°C Jour/24 $\pm$ 1°C Nuit, Humidité relative comprise entre 70 et 100 %.

Dans ces chambres l'air circule à grand débit sur des échangeurs maintenus au point de rosée. L'eau condensée est pesée sur des balances électroniques pour donner l'évapotranspiration. Dans une autre méthode décrite Fig. 3, les plants sont posés sur les balances qui mesurent la perte par transpiration. Des circuits prélèvent en boucle continue l'atmosphère des chambres pour successivement effectuer des analyses (IRGA pour le CO_2 ; Spectrométrie de masse pour $^{16}O_2$ et $^{18}O_2$) et recevoir les injections de CO_2 + N_2 qui compensent (et mesurent) la photosynthèse et maintiennent l'atmosphère à 20 % d'O_2.

L'ensemble est géré par ordinateur qui stocke les données physiques et les activités physiologiques sur fichiers (11) et les reconstitutions sous forme de courbes (12).

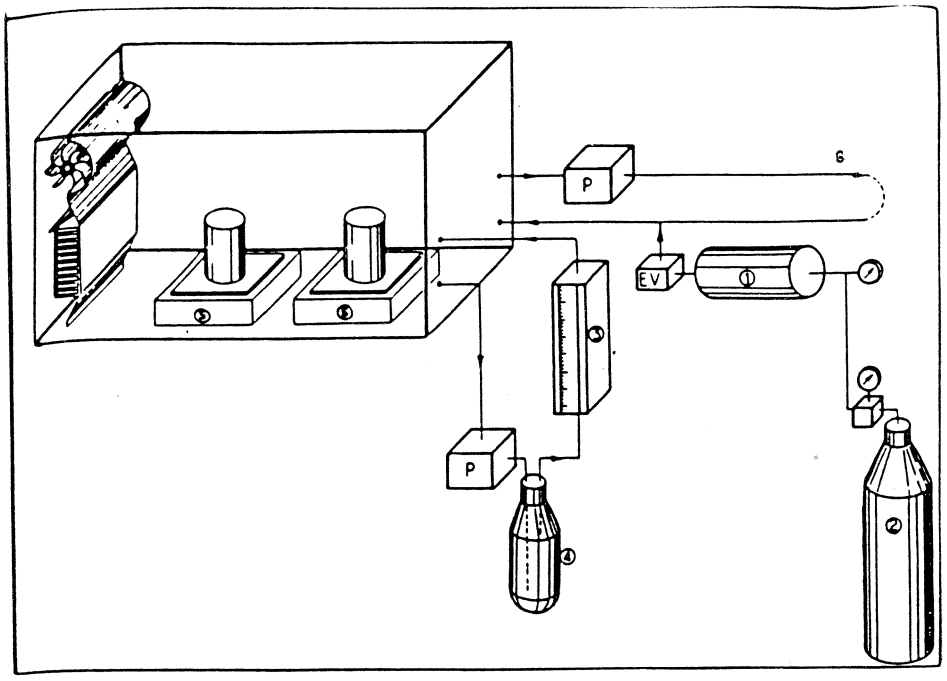


Figure 3 - Schéma des grandes chambres de culture C_23A.P : pompes, Ev : électrovanne d'injection, T : réservoir tampon, 2 : bouteille de mélange 20% CO_2, 80% N_2 ; 3 : débitmètre ; 4 : piège à CO_2 ; 5 : balances électroniques ; 6 : circuit vers l'analyseur de CO_2.

3 - RESULTATS

3.1. Réponses de la photosynthèse et de la photorespiration aux variations de CO_2 externe.

Un résultat type est présenté figure 4. On remarque que pour une concentration de CO_2 normale de 340 $\mu l l^{-1}$ la photorespiration a une valeur voisine de la photosynthèse. On observe souvent l'égalité des deux valeurs déjà signalées par Berry et al (8). Comparées aux végétaux de type C_3 dans des conditions similaires d'éclairement et de température, les valeurs de prise d'O_2 sont légèrement plus fortes ce qui indiquerait chez le caféier une plus forte résistance à la diffusion du CO_2. La symétrie des deux courbes notée pour des conditions modérées d'éclairement et en particulier pour l'éclairement de croissance (2,3,7) n'est pas respectée pour le caféier dans l'intervalle entre la concentration atmosphérique de CO_2 et les faibles concentrations. C'est encore une indication que des limitations existent soit dans la diffusion du CO_2 soit dans la réaction d'oxygénation qui devrait complémenter l'emploi des équivalents réducteurs non utilisés dans la réduction du CO_2. Une étude est en cours, à l'aide du modèle enzymatique (13,14), pour analyser plus finement ces courbes.

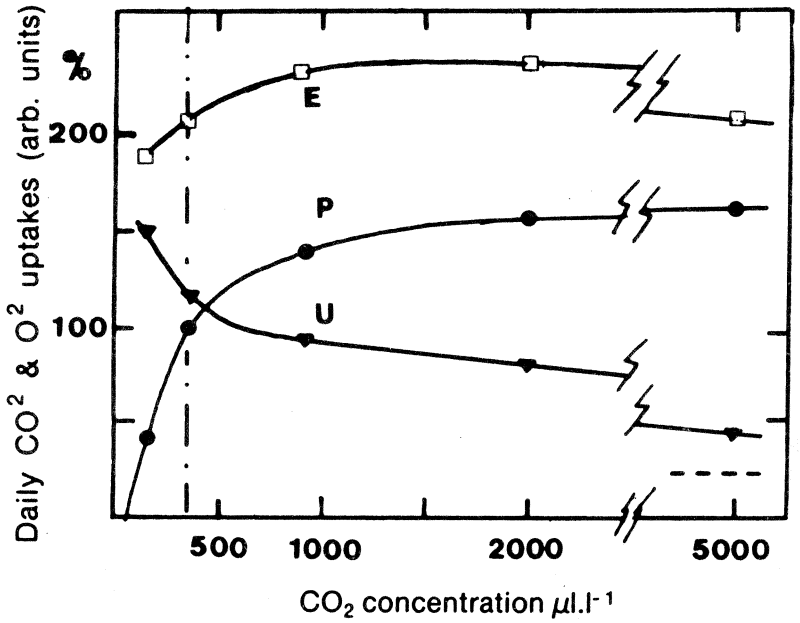


Figure 4 - Variation de la photosynthèse nette en CO_2 (P) de la prise d'oxygène sous lumière (U) et de leur somme (E) en fonction de la concentration en CO_2 dans l'air. Chaque point est le bilan d'une journée. Les vitesses d'échanges sont normalisées sur la photosynthèse nette en CO_2 en conditions atmosphériques standard (—— · ——).

3.2. Nouvelles données sur la régulation de photosynthèse à l'échelle horaire

La variation en cloche de la photosynthèse pendant la période lumineuse a été rencontrée quels que soient l'origine et le mode de culture des caféiers (8). En fin de journée la photosynthèse décroît de 40 à 50 % par rapport à son maximum en condition standard. Cette chute s'accentue à température plus élevée (Cf. Muller et al, même congrès). La figure 5 montre que la photorespiration s'accroît alors que P décroît ; le rapport U/P qui est voisin de 1 en moyenne sur la journée passe en fait de la valeur 0,6 en milieu de journée à près de 2 pour la dernière heure de lumière. La somme P + U, qui mesure on l'a dit, l'énergie photoréductrice disponible, reste en plateau. On retrouve ici une illustration de l'intérêt de l'effet miroir de la figure 1. La régulation de photosynthèse est en fait une répartition variable entre carboxylation et oxygénation. La cause n'est pas un effet stomatique simple comme le laisserait penser la variation parallèle de la transpiration déjà signalée (8). En effet une variation concomitante du flux de CO_2 et de vapeur d'eau se traduit par une variation concomitante de la conductance et de la photosynthèse. Cela se traduirait par une valeur constante du CO_2 dit "interne". Or si le rapport U/P augmente c'est qu'il s'agit d'une baisse du CO_2 au niveau enzymatique. Il ne peut s'agir que d'une réduction de la conductance mésophyllienne ou de l'effet d'une fermeture stomatique en zones (patchworking). Dans ce dernier cas le résultat global est la somme, d'une part des échanges des zones où P/T reste constant, le CO_2 interne de ces zones restant inchangé ; et d'autre part des zones où la fermeture totale des stomates annule P CO_2 et fait augmenter U, prise d'O_2, qui s'effectue toujours grâce à la perméabilité cuticulaire (Renou, comm. pers.). Globalement, il en résulte que P/T reste constant mais que U/P augmente. Les zones où les stomates sont fermés seraient des zones très sensibles à la photoinhibition.

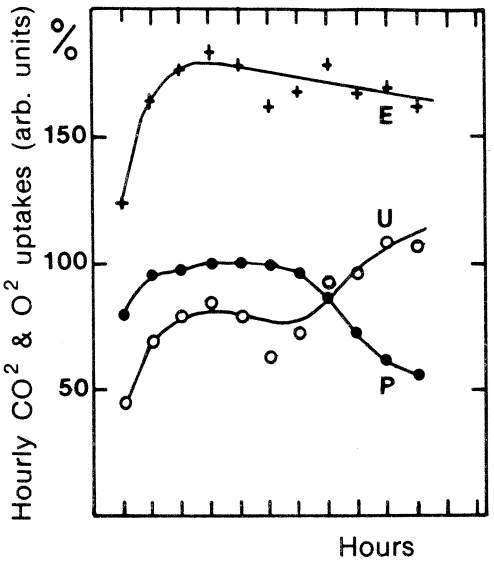


Figure 5 - Variation respective de la photosynthèse nette en CO_2 (P) et de la prise d'O_2 (U) au cours d'une journée en conditions standard. Les vitesses d'échange sont normalisées sur le maximum de P.

Le fait que la courbe en cloche est accentuée lorsque la température augmente stimulant également la photorespiration confirme la validité de régulation par répartition (Ducamp, comm. pers.). L'effet du CO_2 élevé qui supprime l'effet cloche (Fig. 6) en réprimant la photorespiration confirme ce modèle de régulation. Ce dernier fait serait plutôt en faveur de l'hypothèse d'une action à partir de la variation de la résistance mésophyllienne.

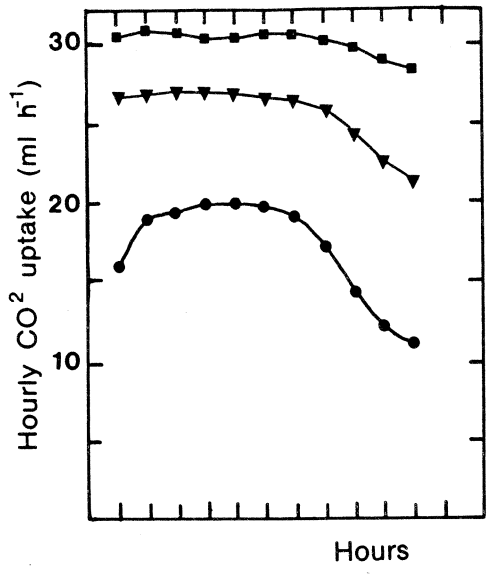


Figure 6 - Variation de la photosynthèse nette en CO_2 au cours de la journée en conditions standard de CO_2, 340 µl l^{-1} (●) ; sous 1800 µl l^{-1} (▼) ; et sous 4 000 µl l^{-1} CO_2 (■).

3.3 Photosynthèse et surface foliaire Effet de défoliation

L'étude de la photosynthèse à l'échelle de la plante entière est primordiale pour connaître l'accroissement de biomasse (croissance pondérale) sous l'effet des facteurs de l'environnement. La comparaison avec les données obtenues à l'échelle foliaire pose des problèmes du fait de l'auto-ombrage du feuillage. Il avait été signalé par Berry et al (8) que l'effet sur la photosynthèse de l'attaque d'un parasite peut être sous estimé, la photosynthèse exprimée par unité de surface étant surestimée lorsque

le parasite entraîne une défoliation. Pour quantifier ces effets on a étudié la relation entre photosynthèse globale et pourcentage de défoliation sur des plants sains (15). L'effet est calculé par rapport aux mesures faites sur des témoins dans une chambre jumelle, ceci pour tenir compte de la croissance, l'opération durant jusqu'à 30 jours.

Lorsque la défoliation est opérée "par le bas", en enlevant les feuilles par couche d'âge décroissant, on obtient le résultat figure 7. On voit que la perte de 50 % de surface foliaire ne réduit que de 23 % la photosynthèse des plants. La transpiration et la respiration ne sont pratiquement pas affectées. Il faut enlever 75 % de la surface foliaire pour réduire la photosynthèse de 50 %.

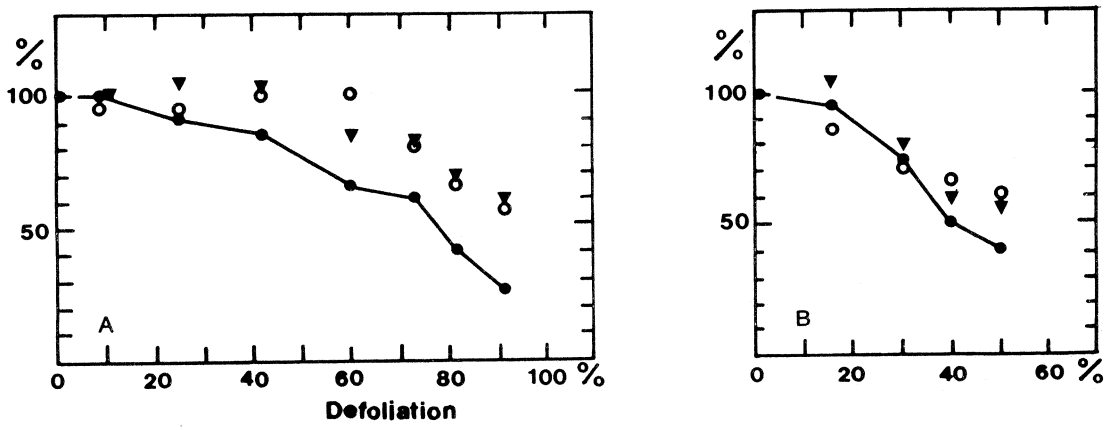


Figure 7 - Effet de la défoliation, effectuée manuellement, sur les échanges gazeux du caféier. Photosynthèse journalière en CO_2 (•), respiration nocturne (o), transpiration (▼). A) Défoliation par le bas ; B) Défoliation par le haut, à partir des feuilles les plus jeunes, d'après Gaubiac (15).

Lorsque la défoliation est effectuée "par le haut", à partir des feuilles les plus jeunes, l'effet est beaucoup plus rapide (Fig.7B). On a évidemment l'effet presque inverse : 50 % de perte foliaire réduit la photosynthèse de 60 % et la respiration, comme la transpiration, de 40 %. On voit cependant que la perte des premiers 15 % de surface, qui n'est pas négligeable, ne fait baisser la photosynthèse que de 5 %. Ces deux types de résultats sont en accord avec le rôle important de la partie la plus jeune de la surface foliaire qui est adaptée à la réception de la lumière et dont le métabolisme, mesuré par la respiration, est de loin le plus actif. A l'inverse la contribution respiratoire des 50 % des plus âgées est très faible. Il semble que cette population joue un rôle de réserve assez statique qui pourrait être mobilisée en cas de carence ou de stress. De ces données ont été tirés des coefficients de correction pour améliorer les évaluations des effets d'agression parasitaire sur la photosynthèse rapportée à la surface foliaire (15).

3. 4. Réponse de la photosynthèse à la lumière.

Une normalisation des variations de photosynthèse sous l'effet de l'éclairement a été tentée pour regrouper les nombreuses expériences de variation de lumière effectuées au laboratoire. La courbe de Berry et al (8) a été utilisée comme hyopothèse de départ permettant de situer les points de référence de chaque expérience par rapport au point de référence général choisi et dont la photosynthèse est posée égale à 100 pour un éclairement de 150 $\mu E\ m^{-2}s^{-1}$. Les points calculés se regroupent généralement sur la courbe initiale qui est ainsi validée et prolongée (Fig. 8). Les points obtenus, à partir d'expériences conduites sur un lot élevé différemment se situent sur la courbe. Il s'agit de 9 plants élevés en serre sur terreau et sous des éclairements deux fois plus élevés que notre standard (250, 350 au lieu de 150 $\mu E\ m^{-2}s^{-1}$). D'après les travaux effectués sur une plante herbacée (16) on pourrait s'attendre à un type de réponse différent, avec une saturation plus tardive. On peut en déduire déjà une difficulté d'adaptation

aux forts éclairements que l'on va étudier par la suite. Il est remarquable que la valeur assymptotique de photosynthèse maximum soit le double de la valeur obtenue avec l'éclairement standard. La courbe type se trouve ainsi assez bien définie si on ajoute que 90% de cette valeur maximum est obtenue pour 600µE $m^{-2}s^{-1}$.

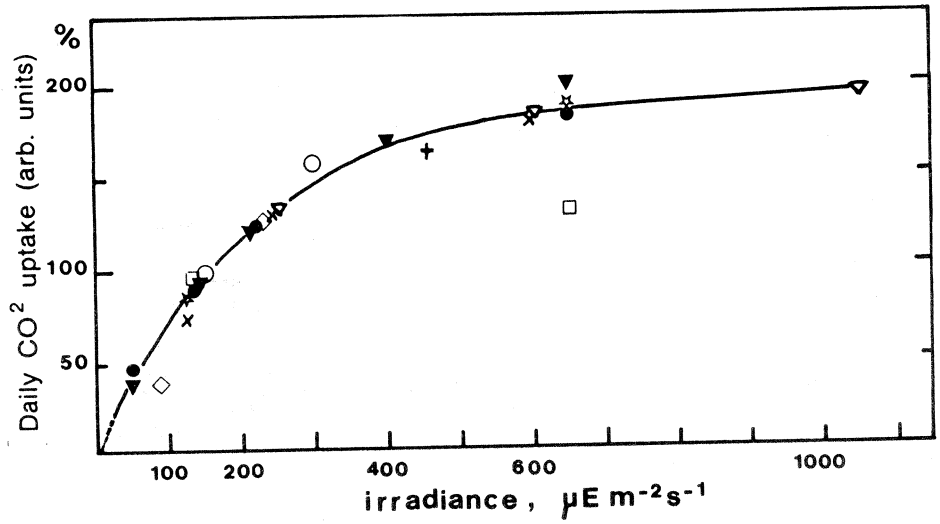


Figure 8 - Réponse de la photosynthèse journalière en CO_2 (P) à une augmentation de lumière. La courbe résume 7 expériences différentes normalisées à partir de la courbe de Berry et al (8) (●) elle-même normalisée sur la valeur P = 100 pour 150 µE $m^{-2}s^{-1}$. La méthode consiste à placer le point d'éclairement standard d'une expérience sur la courbe initiale et à placer les points de lumières différentes dans cette même échelle.

3.5. Tolérance et intolérance à la forte lumière. Photoinhibition.

La photoinhibition est observable quand l'énergie photoréductrice engendrée par la lumière dans les membranes chloroplastiques dépasse les possibilités d'utilisation par la plante (17).

Lors du passage de l'éclairement de croissance à un éclairement plusieurs fois plus élevé, différents comportements sont observés. Si le traitement est imposé un seul jour, l'effet est généralement réversible dans la gamme d'éclairement pratiqué. C'est le cas des points (jours) expérimentaux situés sur la courbe Fig.8 et en particulier celui obtenu à partir de la figure 9A (point ☆). D'autres cas peuvent se présenter si la plante ne tolère pas la forte lumière dès le premier jour, la valeur normalisée de la photosynthèse de ce jour sera située en dessous de la courbe générale. C'est le cas de l'expérience décrite Fig. 9B et portée figure 8 (point □). Le retour à la lumière standard fait apparaître une baisse de photosynthèse qui mesurera la photoinhibition subie. Si la valeur du premier jour est sur la courbe, les points des jours suivants peuvent s'en écarter, selon l'intensité et la durée du traitement.

Les conditions qui peuvent expliquer la tolérance ou l'intolérance à la forte lumière chez cette même plante sont en cours d'étude. Il semble déjà que le niveau d'éclairement d'acclimatation (190 ou 250µE $m^{-2}s^{-1}$) ne joue pas un rôle majeur. L'augmentation de température pendant le traitement, qui d'après la littérature (19) devrait sensibiliser à la photoinhibition, ne semble pas en cause si la température reste inférieure à 30 °C. Il est par contre acquis (Fig. 9B) qu'une infection racinaire aggrave considérablement la photoinhibition, probablement à travers les limitations (nutrition, eau) imposées à la plante.

Osmond (20) a montré que le régime de nutrition en azote modifiait les caractéristiques de réponse à la lumière chez une Solanée. une limitation modifiant le comportement de plante de lumière en plante d'ombre. Avec l'influence de l'état pathogène, c'est ce type de facteur qui est en cours d'étude, avec les effets du stress hydrique (21) qui sensibilise également à la photoinhibition.

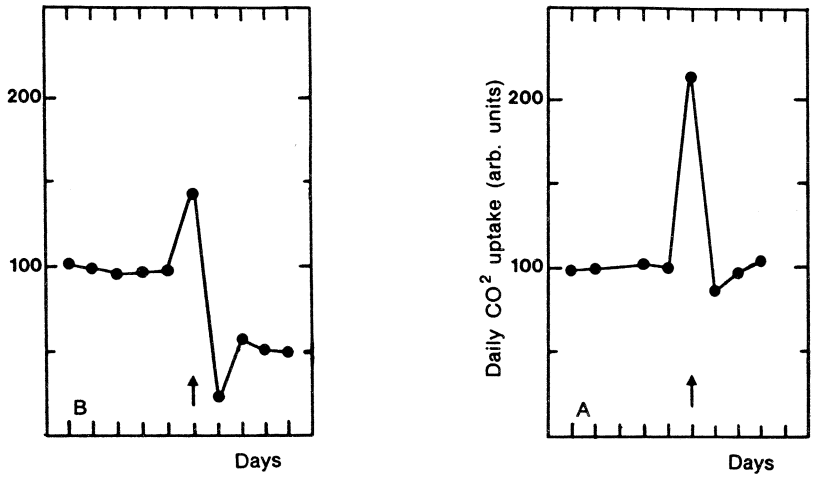


Figure 9 - Réponse de la photosynthèse à l'augmentation de lumière. Différence dans la tolérance à la forte lumière imposée 1 jour (↑) (650 au lieu de 120 µE $m^{-2}s^{-1}$). A) bonne tolérance : effet réversible. B) Mauvaise tolérance : réponse plus faible et photoinhibition observée après retour aux conditions standard.

3.6. Réponse à la forte lumière et photorespiration.

La saturation de la prise de CO_2 par une forte lumière s'accompagne, à l'inverse, d'une forte stimulation de photorespiration. Ce phénomène découvert par Canvin et al (7) chez une plante C_3, et confirmé chez deux plantes CAM par Thomas et al (22) avait été signalé par Berry et al (8) chez le caféier. Ces premiers résultats sont confirmés et l'on peut observer figure 10A que la prise d'O_2, mesurée par $^{18}O_2$, utilise deux fois plus d'énergie photoréductrice que l'assimilation du CO_2 pendant le traitement sous forte lumière. Cette dérivation d'énergie semble jouer un rôle dans la tolérance aux fortes lumières (23). Ce rôle devrait être également important dans les circonstances qui stimulent la prise d'oxygène. Il s'agit particulièrement, et en combinaison avec la lumière, de l'élévation de température et des attaques parasitaires étudiées par Muller et col. dans ce même colloque. On note Fig. 10B qu'un état pathogène du système racinaire augmente la photorespiration sous lumière normale mais surtout sensibilise la plante à la photoinhibition.

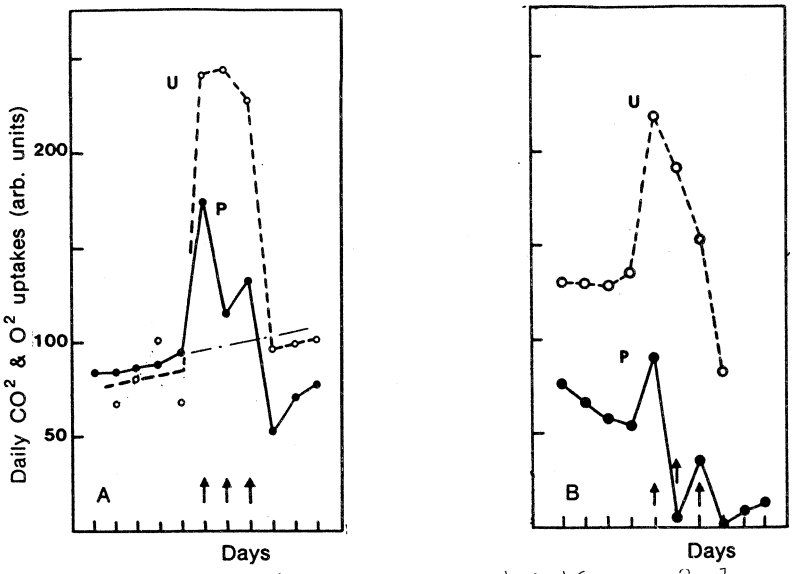


Figure 10 - Effet d'un accroissement d'irradiance de 124 à 460 µE $m^{-2}s^{-1}$ pendant 3 jours (↑) sur la photosynthèse journalière en CO_2 (P, •) et sur la prise d'O_2 à la lumière (U, o). A) plant sain. B) Plant ayant les racines infectées par un fusarium ; on note dans ce cas une forte prise d'O_2 sous lumière et une intolérance beaucoup plus importante à la forte lumière.

REFERENCES

1. RADMER, R.J., KOK, E. 1976. Photoreduction of O_2 primes and replaces CO_2 assimilation. Plant Physiol. 58 : 338-340.
2. GERBAUD, A., ANDRE, M. 1979. Photosynthesis and Photorespiration in whole plants of wheat. Plant Physiol. 64 : 735-738.
3. GERBAUD, A., ANDRE, M. 1980. Effect of CO_2, O_2 and light on Photosynthesis and Photorespiration in wheat. Plant Physiol. 66 : 1032-1036.
4. LAING, W., OGREN, W., HAGEMAN, R. 1974. Regulation of soybean net photosynthetic CO_2 fixation by the interaction of CO_2, O_2, and ribulose 1,5-Diphosphate Carboxylase. Plant Physiol. 54 : 678-685.
5. TOLBERT, N.E. 1971. Leaf peroxisomes and photorespiration. In "Photosynthesis and Photorespiration", M.D. Hatch, C.B. Osmond and P.O. Slatyer eds, Wiley Interscience 458-471.
6. LORIMER, G.H. 1981. The carboxylation and oxygenation of ribulose 1,5-Bisphosphate : The Primary Events in Photosynthesis and Photorespiration. Ann. Rev. Plant Physiol. 32 : 349-83.
7. CANVIN, D.T., BERRY, J.A., BADGER, M.R., FOCK, H., OSMOND, C.B. 1980. Oxygen exchanges in leaves in the light. Plant Physiol. 66 : 302-307.
8. BERRY, D. et al. 1987. Photosynthèse et Photorespiration du caféier (Coffea arabica L.) : Effets d'une attaque de rouille (Hemilia vastatrix Berk et Br.) In : XIIè conférence de l'ASIC, Montreux.
9. ANDRE, M. et al. 1979a. Le Laboratoire $C_2$3A. Un outil au service de la physiologie de la plante entière. I. Les chambres de culture et les systèmes de mesures associés. Ann. Agron. 30 (2) : 135-151.
10. ANDRE, M. et al. 1979b. Ibid. II. Possibilités de la mini-informatique et premiers résultats. Ann. Agron. 30 (2) : 153-166.
11. ANDRE, M. et al. 1985. The $C_2$3A system, an example of quantitative control of plant growth associated with a data base. In "Proceeding of fifteenth intersociety conference on Environmental System". San Francisco Calif. July 15-17-85. Publisher : SAE The Engineering Resource for Advancing Mobility, rapport n°85 1395 et Rapport NASA TM 88 215.
12. THIERY, J.M. 1985. "VOYONS", programme de simulations conversationnelles en Physico-chimie et en Agronomie. In "Logiciels pour la chimie" COME, G.M., DUCLOY, J., SOULIE, E., THIERY, J.M. eds, Soc. Fr. Chimie (Paris) et Assoc. Nat. Logiciel (CNRS, Nancy), pages 156-157.
13. FARQUHAR, G.D., von CAEMMERER S. and BERRY J.A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves in C_3 species. Planta 149 : 78-90.
14. ANDRE, M., MASSIMINO, J. 1984. Study of some paradoxal responses of Photorespiration and Photosynthesis to CO_2 and O_2. Proceeding Bruxelles 6th Int. Cong. on Photosynthesis.
15. GAUBIAC, A.M. 1988. Relations entre surface foliaire et échanges gazeux chez le caféier. Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA). Université des Sciences et Techniques du Languedoc (Montpellier).
16. BOURDU, R., PRIOUL, J.L. 1984. Réponses photosynthétiques de type adaptatif aux climats lumineux de croissance : étude théorique, applications et diagnostic précoce. Physiol. Veg. 12 (1) : 35-51/1.
17. POWLES, S.B. 1984. Photoinhibition of Photosynthesis induced by visible light. Ann. Rev. Plant Physiol. 35 : 1-14.
18. OSMOND, C.B. 1981. Photorespiration and photoinhibition. Some implications for energetics of photosynthesis. Biochem. Biophys. Acta, 639 : 77-98.
19. KYLE, D.J., OSMOND, C.B., ARNTZEN, C.J. 1987. Photoinhibition. In "Topics in photosynthesis", Barber J., ed. Elsevier, Amsterdam. Vol. 9, 315 p.
20. OSMOND, C.B. 1983. Interactions between irradiance, nitrogen nutrition and water stress in the sun-shade responses of Solanum dulcamara. Oecologia, 57 : 316-321.
21. BJORKMAN, O., POWLES, S.B., FORK, O.C., OQUIST, G. 1980. Interaction between high irradiance and water stress on Photosynthesis reaction in Nerium Oleander. Carnegie Institut. Year Book.
22. THOMAS, D.T. et al. 1987. Oxygen and carbon dioxide exchange in CAM plant. II : Effects of CO_2 concentration and irradiance. Plant Physiol. Biochem. 25 (2) : 95-103.
23. ANDRE, M. et al. 1989. Photoinhibition by high light in a shade plant. Role of O_2 concentration. VIIIth International Congress on Photosynthesis. Stockholm.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons une vive reconnaissance au personnel du Laboratoire d'Agrophysiologie pour l'aide instrumentale apportée. Les personnes ayant plus directement participé aux études de défoliation (A-M. Gaubiac), de rythme de photorespiration, (P. Lustière), d'effet lumière (D. Massimino, M. Vidaud, C. Porcher) sont particulièrement remerciées.

RESUME

L'augmentation de la pression partielle de CO_2 dans l'atmosphère stimule la prise de CO_2 au détriment de celle d'O_2, la somme des deux phénomènes (énergie photoréductrice disponible) restant constante. Chez le caféier, à l'échelle de la journée et sous lumière constante, la régulation en forme de cloche de la photosynthèse correspond à une répartition variable entre carboxylation et oxygénation. L'explication pourrait être des variations de conductance mésophylienne, ou stomatique en zones. L'expression de la photosynthèse à l'échelle de la plante entière fait intervenir la surface foliaire. Des expériences de défoliation confirment le rôle important des feuilles les plus jeunes, les plus âgées servant plutôt de réserve mobilisable en cas de carence. Ces résultats permettront de quantifier les effets d'agressions parasitaires sur la photosynthèse exprimée par unité de surface. Les réponses de la photosynthèse à des éclairements variant de 100 à 1000 µE m-2 s-1 font apparaître une difficulté d'adaptation du caféier aux fortes lumières. L'intensité et la durée du stress lumineux peuvent provoquer une photoinhibition mesurable lors du retour aux conditions normales. Cette intolérance est aggravée par une infection racinaire. La forte stimulation de la photorespiration accompagnant la saturation de la photosynthèse par une forte lumière permet de consommer l'énergie photoréductrice excédentaire, responsable de la photoinhibition. Cette dérivation d'énergie par la prise d'O_2 pourrait jouer un rôle important dans les situations d'augmentation de température ou d'attaque parasitaire associées à la forte lumière, où sont notées également des fortes augmentations de photorespiration.

SUMMARY

High CO_2 stimulates the CO_2 uptake to the detriment of that of O_2. The sum of the two phenomenons (available photoreducing energy) remains constant. In Coffee-tree, at day range and with constant irradiance, the bell-shaped regulation of photosynthesis corresponds to a variable distribution between carboxylation and oxygenation with a constant gross photosynthesis. An explanation could be the changes in mesophyll conductance, or in stomatal conductance by patching effect. The leaf surface intervenes in the expression of the total plant photosynthesis. Defoliation experiments corroborate the prominent part of the youngest leaves, the oldest ones serving as reserve in case of deficiency. These results will be used to quantify the parasitic agression effects on photosynthesis expressed per surface unit. The photosynthesis responses to irradiance varying from 100 to 1000 µE m-2 s-1 show a difficult adaptation of Coffee-tree to high light. The light stress intensity and duration can induce photoinhibition that can be measured when returning to standard conditions. Root infection increases this intolerance. The great stimulation of photorespiration, when photosynthesis is saturated by high irradiance, permits the consumption of photoreducing energy in excess, responsible for photoinhibition. That energy diversion by O_2 uptake could play a prominent part in case of interaction between high light and temperature increase or parasitic aggression, in which great rises of photorespiration are also noticed.

MODÉLISATION ET SIMULATION DE LA CROISSANCE ET DE L'ARCHITECTURE DU CAFÉIER

Ph. de REFFYE *, J. SNOECK **, M. JAEGER *

*** GERDAT/CIRAD, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.**
**** IRCC/CIRAD, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.**

INTRODUCTION

La présente communication est une synthèse des travaux effectués en modélisation sur l'architecture du Caféier Robusta dans les plantations de l'IRCC en Côte d'Ivoire entre 1974 et 1980. Ces travaux ont abouti par la suite à une théorie générale de la modélisation de la croissance des plantes et a eu des applications sur d'autres espèces tropicales (cotonnier, litchi, hévéa) et tempérés (abricotier, merisier,...).

L'analyse quantitative de la croissance d'une plante est, par essence, pluridisciplinaire. Elle repose d'abord sur une étude architecturale et morphologique de la plante sur le plan qualitatif. On se place dans le cadre de la méthode de HALLÉ et *al.* (1970), OLDEMAN (1974) qui définissent les notions de modèles architecturaux et de réitération. Ces notions permettent de classifier et hiérarchiser d'une façon cohérente les différents types d'axes végétatifs, et d'adapter les méthodes de mesures sur le terrain à

---

[1] Laboratoire de Modélisation du GERDAT

[2] IRCC (Institut de recherches du café, du cacao, et autres plantes stimulantes)

l'analyse quantitative. L'approche Botanique préliminaire est donc nécessaire.

Une plante pousse par l'allongement de ses axes végétatifs. Ces allongements sont dus à l'élongation des entre-noeuds préformés dans les méristèmes. Le nombre d'entre-noeuds formés entre deux pauses d'un méristème défini l'Unité de Croissance (U.C.). L'analyse quantitative de la croissance d'une plante est l'étude des lois d'élongation des entre-noeuds. Trois grands processus sont rencontrés : les processus de croissance, de mort et de ramification. Ces processus sont, par essence, stochastiques et font appel au calcul des probabilités. L'observation d'un clone montre bien à la fois l'homogéniété globale d'une plante à l'autre et l'hétérogénéité locale.

Il est évident que les lois de probabilités observées dans le fonctionnement des méritèmes sont le résultat de l'interaction entre la plante et son environnement. Cela en fait tout l'intérêt.

On peut ainsi observer les réactions de la plante si l'on fait varier cet environnement d'une façon contrôlée (densité, engrais,...). En particulier si l'on s'intéresse à des réponses de la plante qui sont directement liées à son architecture, on pourra envisager des méthodes d'optimisation plus fine que les méthodes classiques actuelles (analyse de variance). La modélisation permet en définitive de contrôler toutes les étapes biologiques qui conduisent au rendement en plantation.

Une fois les lois mathématiques connues, il est possible de simuler la croissance de la plante et son architecture si l'on intègre les données géométriques (longueurs d'entre-noeuds, phyllotaxie, angle de branchement,...). La simulation est d'un grand intérêt car elle permet de mettre en évidence d'éventuelles lacunes de la modélisation et donc de la pousser plus loin. Elle permet aussi de comparer les échantillons observés et calculés, donc de contrôler la validité des paramètres du modèle.

LE MATERIEL VEGETAL

Le Caféier Robusta correspond au modèle architectural de ROUX (HALLÉ, OLDEMAN, 1970). Le tronc orthotrope porte une ramification continue disposée en paire de branches plagiotropes équivalentes à chaque entre-noeud. Dans un tel arbre l'unité de croissance est l'entre-noeud, ce qui est très particulier. Il se forme environ un étage de branches supplémentaire toutes les trois semaines. La notion de réitération est particulièrement spectaculaire chez cette plante à cause du dimorphisme tronc-branche qui correspond à des bourgeons dont le fonctionnement est différent (orthotropie, plagiotropie). La conduite en champ des caféiers étudiés a été faite sur 4 tiges et 1300 pieds/ha, et on élimine continuement (égourmandage) les réitérations qui apparaissent notoirement lors de l'affaissement des tiges principales. Les branches basses meurent et s'élaguent. Le caféier se dégarnit progressivement à partir de la base.

Dans la phase linéaire de croissance du caféier, les branches plagiotropes sont identiques, aux aléas près, compte tenu de leur apparition dans le temps. Trois clones Robusta ont été étudiés (N°182, 126, 197).

ETUDE DES PROCESSUS DE CROISSANCE DU TRONC ET DES BRANCHES

La croissance d'un axe végétatif peut être mesurée de deux façons: soit on prend en compte l'allongement en longueur, soit l'apparition des nouveaux entre-noeuds émis par le méristème terminal. Dans ce dernier cas, la croissance est un processus discret au sens mathématique. La mise en place de nouveaux éléments (entre-noeuds, feuilles, fleurs) est d'ordre topologique. Leur emplacement dans l'espace est d'ordre géométrique (longueur d'entre-noeuds, angles de branchement, phyllotaxie).

Nous nous intéressons ici en premier lieu à la mise en place de la struture topologique.

Cette structure peut être abordée encore de deux différentes manières: soit on établit une cinétique moyenne de la production de nouveaux entre-

noeuds, en fonction du temps, soit on établit la distribution statistique de l'accroissement en nouveaux entre-noeuds, pour un point de vue aléatoire plus complet. Ces deux aspects seront successivement abordés.

Etude de la croissance des tiges

La croissance des tiges en entre-noeuds est régulière et de forme classique sigmoidale. On peut considérer qu'elle est linéaire en fonction du temps entre 2 et 6 ans.

Sur le tableau 1 les accroissements observés sont comparés avec la fonction théorique $N = 1.014 \times T^{1.02} \times (12 - T)^{2.64}$ où T est en année, pour le clone 126. Les valeurs calculées sont bonnes.

Tableau 1 Accroissement annuel en entre-noeud du Robusta 126

année	accroissements	
	observés	calculés
1	8.05	8.01
2	12.35	12.60
3	14.80	14.41
4	14.00	14.14
5	12.40	12.46
6	10.00	9.97
7	recépage	-

Dans une même année, la croissance peut être aussi considérée comme linéaire (Fig.1).

Etude de la croissance des rameaux

La croissance des branches plagiotropes est de type amortie. L'émission de nouveaux entre-noeuds est constante au début, puis diminue progressivement au cours du temps. La branche atteint une longueur limite même si le bourgeon terminal n'avorte pas.

L'équation cinétique du nombre d'entre-noeuds formés en fonction du temps en mois s'écrit (Fig. 1):

$$X = 32(1-\exp(-0.059)t)$$

Le tableau suivant donne le bon accord avec les observations:

Tableau 2 Nombre d'entre-noeuds formés dans un rameau plagiotrope en fonction du temps.

mois	Nb entre-noeuds	
t	observés	calculés
0	0	0
2.5	5.2	4.38
5	9	8.2
7.5	11.2	11.4
10	14	14.3
12.5	18.4	16.7
15	19.8	18.8
20	22.4	22.2
22.5	23.4	23.5

Il existe donc un fonctionnement cinétique différent entre le tronc et les branches. La connaissance de la production oyenne du nombre d'entre-noeuds formés par un méristème d'un âge donné, permet de construire un caféier moyen. Par simulation les zones à feuilles et à fruits peuvent être déduite de la cinétique, compte tenu de leur âge d'apparition et de leur durée de vie. Ainsi les feuilles ont une durée de vie moyenne de 10 mois. Par suite du ralentissement du rythme d'émission des feuilles, les vieilles branches ne portent plus que quelques feuilles à leur extrémité.

Les fleurs n'apparaissent que sur des noeuds âgés d'au moins 6 mois et de moins de 20 mois. Cela permet donc de délimiter la zone fructifère de chaque branche en fonction de son âge.

Application du modèle cinétique

3 types d'applications ont été développées pour ce modèle.

1) Liaison architecture/rendement

A un âge donné (Fig. 2), on peut estimer les zones de production dans l'arbre.

Le calcul de la liaison entre le potentiel de production et la production réelle au cours du temps est donc possible. Cette liaison est excellente puisque les rendements moyens sur station et les potentiels de

production du caféier étudié affichent une corrélation de R = 0.98.

2) Influence de l'engrais sur l'architecture de l'arbre

Les essais d'engrais ont permis d'observer également l'influence de l'architecture et de la croissance sur la production de l'arbre. L'engrais donne un surcroît de noeuds fructifères grâce à une croissance plus vigoureuse (Fig. 3).

3) Influence de la charge en fruits sur l'équilibre statique des tiges du caféier

La stabilité des tiges en fonction du poids de la récolte dépend des caractéristiques mécaniques du bois et de l'emplacement de la charge.

Il a été montré que l'on peut associer à chaque clone un module d'élasticité du bois vert caractéristique (Module de Young). L'instabilité en champs des caféiers hybrides Arabusta est due au fait que leurs modules de Young sont deux à trois fois plus faibles que chez les parents Robusta. Il existe toutefois une variabilité génétique importante qui permet d'envisager une sélection de la résistance à la verse (Fig. 4).

LE MODELE STOCHASTIQUE

Le modèle cinétique permet de bien décrire le développement moyen de l'architecture du caféier au cours du temps (Fig. 5). Cependant les irrégularités locales ne sont pas prises en compte. La distribution de phénomène est riche d'enseignements. Par exemple, les rameaux secondaires apparaissent de façon aléatoire. Les branches meurent à tous les stades de leur développement. Tous les méristèmes ne produisent pas de nouveaux entre-noeuds en même temps et leurs pauses semblent réparties au hasard. Il est important de pouvoir modéliser finement l'interaction entre la plante et son environnement et cela implique une théorie basée sur les processus aléatoires qui rende compte des accroissements des pauses et des morts de

méristèmes.

Le modèle mathématique choisi associe des probabilités d'état de croissance et de mort à un méristème pendant un interval de temps fixe. Le temps est donc dans ce modèle discrétisé et la durée de fonctionnement du méristème sera caractérisé par un nombre entier appelé dimension. Chaque étape est appelée unité de dimension.

Appelons b(i) la probabilité de faire un entre-noeud à l'étape i. La moyenne et la variance du nombre d'entre-noeuds formé seront dans une population de rameaux de même âge et sans mortalité à la dimension N:

$$M = \sum_1^n b(i) \qquad V = \sum_1^n b(i)(1-b(i))$$

Pour que la théorie soit applicable, une condition nécessaire est que:

$V<M$

Pour b constant, on retombe sur la loi binomiale classique

avec

$M=Nb$ et $V=Nb(1-b)$ pour moyenne et variance

et $P(k) = C_N^k\, b^k(1-b)^{N-k}$ qui est la probabilité d'avoir un rameau de k entre-noeuds.

La mortalité qui touche une population de rameaux en croissance va figer en l'état, instantément des sous populations en proportion. Ce qui fait que la distribution finale sera un mélange de rameaux arrêtés de la dimension 1 à N, en proportion f(i) pour la dimension N(i). On peut définir la viabilité C_i du bourgeon à la dimension i. La proportion de mort à la dimension N est:

$$f_n = \prod_1^n C_i(1-C_{n+1})$$

les survivants à l'étape N étant

$$F(N) = 1 - \prod_1^n C_i$$

La combinaison du processus de croissance et de mort donne la distribution finale. Dans le cas simple où les probabilités de croissance et de mort b et c sont contantes, la fonction génératrice de la loi de

probabilité du nombre d'entre-noeuds par axe végétatif s'écrit:

$$G(z) = \frac{(1-c)(1-(c(1-b+bz)^N)}{1-c(1-b+bz)} + c^N(1-b+bz)^N$$

Cette loi passe continûment de la loi géométrique à la loi binomiale quand c varie de 1 à 0.

On peut calculer les paramètres de croissance et de mortalité de plusieurs façons sur une plante. Les techniques ont été explicitées dans les articles cités en bibliographie (liaison moyenne-variance, analyse des cimes, calcul de distribution). Nous rappellerons les principaux résultats sur le caféier ici.

- Les tiges ont une croissance de type linéaire. La variance de la distribution du nombre d'entre-noeuds formés est proportionnelle à la moyenne.

On trouve pour le Robusta 126: $V = 0.076 * M$

Cela montre que la dimension est proportionnelle au temps. Le facteur de proportionnalité est $N = 1.5 * t$ où t est en mois.

La probabilité de faire un entre-noeud pour le méristème est

$P = 1 - V/X = 0.92$ par unité de dimension.

- Les rameaux ont une croissance de type amortie.

A la dimension N la probabilité de faire un nouveau rameau vaut

$$b(N) = b^N$$

La liaison entre la moyenne et la variance est de type quadratique. On trouve $V = 0.0166(X+X^2)$.

Ceci permet de calculer la valeur de la probabilité d'accroissement à la dimension N: $b^n = (0.97)^n$

Le nombre d'entre-noeuds moyens fabriqués à l'étape N vaut en moyenne:

$$M = \frac{b(1-b^n)}{(1-b)}$$

Sous cette forme on voit que la notion de dimension des rameaux est également liée linairement avec le temps. En effet l'équation de la cinétique de croissance était pour les rameaux

$$X = N_0(1-\exp(-ct))$$

une comparaison des deux modèles donne

$$N_0 = \frac{b}{1-b} = 32 \qquad \text{et} \qquad \exp(-ct)=b^N$$

d'où $$N = \frac{-ct}{\text{Log } b} \quad 2t.$$

Ceci montre que pour une même unité de temps la dimension des rameaux est plus grande que celle des tiges. Le rapport de rythme étant

$$W = 2/1.5 = 1.3$$

Le modèle stochastique confirme donc les résultats du modèle cinétique. Cependant il est plus complet puisqu'il donne les distributions des évènements et non pas seulement les moyennes (Fig. 6).

Résultat de la méthode des cimes pour la croissance

Le suivi de croissance permet d'établir les paramètres du modèle stochastique par la méthode de la liaison moyenne-variance. Cependant cette méthode est lourde à mettre en oeuvre car elle nécessite des contrôles fréquents sur le terrain.

Or l'architecture est le résultat figé de la croissance à un moment donné. Il est donc possible si l'on ne connait pas le suivi du fonctionnement de l'arbre de retrouver ses lois de croissance et de mortalité à partir de son architecture.

L'analyse des cimes est une de ces méthodes. Plaçons nous à k étages du sommet du caféier dans la phase linéaire de croissance de l'arbre. Le couple de rameaux trouvés donne une "variance interne"

$$V_k = \frac{(X_{1k}-X_{2k})^2}{2}$$

et une moyenne

$$mk = \frac{X_{1k}+X_{2k}}{2}$$

où X_1 et X_2 sont le nombre d'entre-noeuds de chacun des rameaux.

Pour T caféiers ont obtient une "variance interne" et une moyenne

$$v = \frac{\sum_1^T Vk}{T} \qquad \text{et} \qquad m = \frac{\sum_1^T (X_{1k} + X_{2k})}{2T}$$

On définit parallèlement la "variance externe" de la population de rameaux mélangés:

$$V = \frac{\sum_1^T (X1_k^2 + X_{2k}^2) - 2Tm^2}{2T - 1}$$

Si P est la probabilité d'accroissement de la tige, b l'amortissement des rameaux, W le rapport de rythme et N la dimension à k étages du sommet, on montre que

$$b = \frac{m^2 + m - v}{m^2 + m + v} \qquad WN = \frac{\text{Lob}(1 - \frac{(1-b)}{b} m)}{\text{Log } b}$$

$$P = 1 - \frac{K(V - v)}{(WNb^{(WN+1)})^2} \qquad N = K/P \qquad W = WN/N$$

Cette méthode redonne bien les mêmes valeurs que le suivi des accroissements.

Le tableau suivant donne les valeurs trouvées pour 4 clones de caféier Robusta par la méthode des cimes.

Tableau 3 Paramètres du fonctionnement de la cime d'un caféier

N° clone	Probabilité d'accroissement P	Amortissement des rameaux b	Rapport de rythme W
126	0.9	0.970	1.3
197	0.83	0.984	0.9
182	0.95	1	1.2
181	0.87	0.98	1.0

Cette technique statistique permet donc en une prise de données de retrouver tous les paramètres dynamiques de la croissance. Il y a donc une économie de mesures en volume et en temps qui rend la méthode particulièrement applicable.

Normalement la mortalité n'affecte pas les méristèmes des tiges. On suppose donc que leurs viabilités est de 1. Par contre les rameaux ont une mortalité qui peut survenir à n'importe quel moment de leur existence. La

cause est due en grande partie à une surcharge de production locale en fruits du caféier qui fait mourir le rameau (die-back). Cette production étant aléatoire et dépendant grandement du climat et de l'environnement (pluie, nutrition, densité), la mortalité est une donnée très changeante d'une année à l'autre, alors que les paramètres de croissance sont restés stables pour un même clone d'une station à l'autre, d'une année sur l'autre.

Pour paramétrer le nombre de rameaux morts pendant la période d'observation, on a choisi un type de loi de Weibull dont la forme sigmoide est particulièrement souple pour l'ajustement.

Ainsi à la dimension N, le pourcentage annuel de rameaux morts vaut sur le Robusta 126:

$$F(N) = 1 - \exp(-4x10^{-7}xN^4)$$

La viabilité du méristème valant par déduction:

$$C_N = \exp(-4x10^{-7}((N-1)^4 - (N-2)^4))$$

On peut donc entièrement caractériser le fonctionnement des méristèmes axillaires des caféiers en terme de processus de croissance et de mort.

Tableau 4 Caractéristique du fonctionnement des méristèmes axillaires du clone Robusta 126

Dimension	Probabilité de croissance $(0.97)^N$	Viabilité $\exp(-4x10^{-7}((N-1)^4 - (N-2)^4))$
0	1	1
5	0.854	0.999
10	0.730	0.999
20	0.533	0.989
30	0.389	0.964
60	0.151	0.726

On peut se poser la question de l'indépendance entre les processus de croissance et de mort. Il est facile de simuler par la méthode de Monté Carlo, avec des nombre au hasard, le fonctionnement de ces méristèmes selon l'organigrammme de la figure 7.

La vérification de cette question est faite sur un grand échantillon de rameaux comptés à 35 étages du sommet sur le Robusta 126. On a relevé 1999 branches dont 262 vivantes et 1737 mortes. Les histogrammes du nombre

d'entre-noeuds réalisés par branche de ces deux populations ainsi que les simulations numériques effectuées à partir des probabilités calculées sur l'échantillon sont sur la figure 8. On peut voir la parfaite concordance entre thèorie et observation ce qui montre bien l'indépendance entre processus de croissance et de mort.

Remarque sur les axes tertiaires du caféier.

Abondants sur les arabica et les sténophylla, ils sont peu représentés sur le Robusta. Leur positionnement a été étudié dans les articles cités en bibliographie. Leur importance n'excédant pas 10% dans l'architecture du Robusta, ils ne figurent pas dans cette synthèse.

Sur la planche 9, on peut visualiser des simulations en 2D qui reconstruisent la topologie du caféier avec une géométrie sommaire, en trois étapes successives:

1 - le processus de croissance aléatoire à l'état pur,

2 - le rajout du processus de mortalité et de l'élagage qui en résulte,

3 - le placement des organes végétatifs (feuilles, fruits) selon leur probabilité d'apparition dans le temps.

SIMULATION DE LA CROISSANCE ET DE L'ARCHITECTURE D'UN CAFEIER

Les méthodes de simulation sont en général utilisées lorsqu'il n'est pas possible d'obtenir un résultat numérique par une simple formule. C'est le cas naturellement si l'on veut faire une synthèse globale du fonctionnement topologique issue du modèle stochastique paramétré, combiné aux données géométriques intégrant les mesures de longueur d'angles et d'élasticité. En 1979 nous disposions d'un calculateur H.P. avec une table traçante. Il fallait 10 heures pour "venir à bout" d'un caféier de six ans cultivé sur trois tiges. Dix ans plus tard la théorie mathématique n'a pas vieilli. Elle

a, au contraire, pu se développer et s'adapter aux arbres à unité de croissance comprenant plusieurs entre-noeuds, tropicaux (litchi, hévéa) et tempérés (merisier, abricotier, peuplier,...). Par contre les méthodes de simulation ont considérablement évolué. Le programme écrit par un agronome a été repris par un informaticien qui en a notablement amélioré les performances. Le matériel informatique graphique a évolué en station graphique pour faire des images de synthèse réalistes.

Sur la figure 10 on peut mesurer tout le chemin parcouru entre la thèse de Ph. de REFFYE et celle de M. JAEGER. Le même caféier se dessinera en quelques minutes au lieu de 10 heures.

CONCLUSION

Il existe maintenant une théorie éprouvée qui permet de mesurer et contrôler le développement d'une plante dans son environnement. Les probabilités d'état des méristèmes (ramification, croissance, mortalité) et leur évolution au cours du temps peuvent être calculées à partir des données de terrain.

Les nouveaux programmes de simulation écrits au laboratoire de modélisation du CIRAD, peuvent maintenant permettre d'espérer que l'outil informatique aidera l'agronome à optimiser les espacements de ses plantes en champs, la taille de ses arbres et même les dates d'intervention pour les différents traitements.

BIBLIOGRAPHIE

CHAVANEAU C. - Modélisation de la croissance et de l'architecture de l'abricotier - D.A.A., spécialité: Agronomie Méditerranéenne, ENSA Montpellier,1989 - 77 p.

COSTES E. - "Analyse architecturale et modélisation du Litchi (Litchi chinensis Sonn.). Contribution à l'étude de son irrégularité de production à l'île de la Réunion. - Thèse de Doctorat, U.S.T.L. Montpellier, 1988 - 210 p.

COSTES E. - Modélisation de l'architecture de Hévéa - Convention IRCA/CIRAD - Rapport de mission en cours de publication

FOURNIER D. - Modélisation de la croissance et de l'architecture du Merisier (*Prunus avium* L.). Application à une sylviculture à large espacement - D.E.A., spécialité: Agronomie Méditerranéenne, ENSA Montpellier, 1989 - 91p.

HALLÉ F., OLDEMAN R.A.A., TOMLINSON P.B. - Tropical trees and forests. An architectural analysis - Springer Verlag, Berlin, 1978 - 441 p.

HALLÉ F., OLDEMAN R.A.A. - Essai sur l'architecture et la dynamique de croissance des arbres tropicaux - Masson et Cie, 1970

JAEGER M. - Représentation et simulation de croissance des végétaux - Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 1987

OLDEMAN R.A.A. - L'architecture de la forêt guyannaise - Ménoire n°73, O.R.S.T.O.M., Paris, 1974, 204 p.

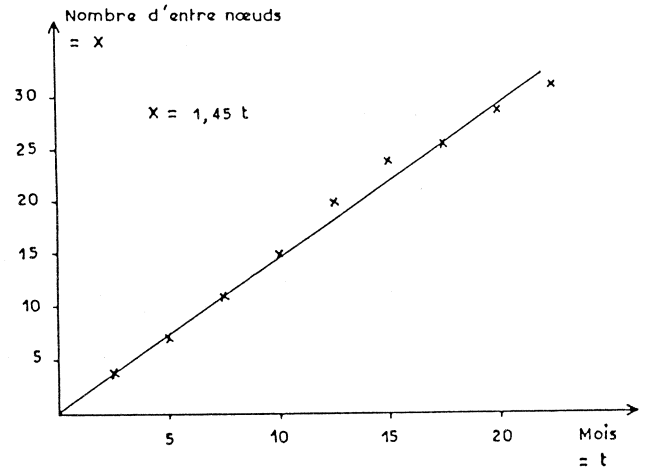
de REFFYE Ph. - Modélisation et simulation de la verse du caféier à l'aide de la théorie de la résistance des matériaux - Café-Cacao - Vol. XX n°1 Oct-Déc. 1976

de REFFYE Ph. - "Modélisation de l'architecture des arbres par des processus stochastiques. Simulation spatiale des modèles tropicaux sous l'effet de la pesanteur. Application au Coffea robusta - Thèse d'Etat, Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, Septembre 1979 - 195 p.

de REFFYE Ph., SNOECK J.- Modèle mathématique de base pour l'étude et la simulation de la croissance et de l'architecture du Coffea robusta - IFCC Café-Cacao-Thé, Vol. XX n°1, Janv-Mars 1976

ETUDE DU NOMBRE D'ENTRE NOEUDS ORTHOTROPES FORMES EN FONCTION DU TEMPS

(POUR LE CLONE ROBUSTA 126)



ETUDE DU NOMBRE D'ENTRE NŒUDS PLAGIOTHOPES FORMES EN FONCTION DU TEMPS

(POUR LE CLONE ROBUSTA 126)

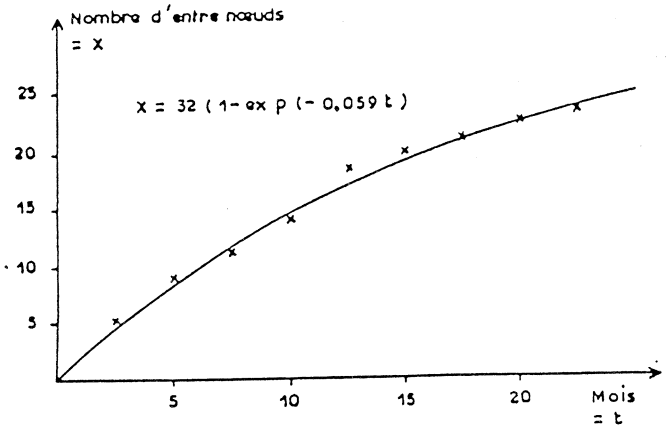


Figure 1

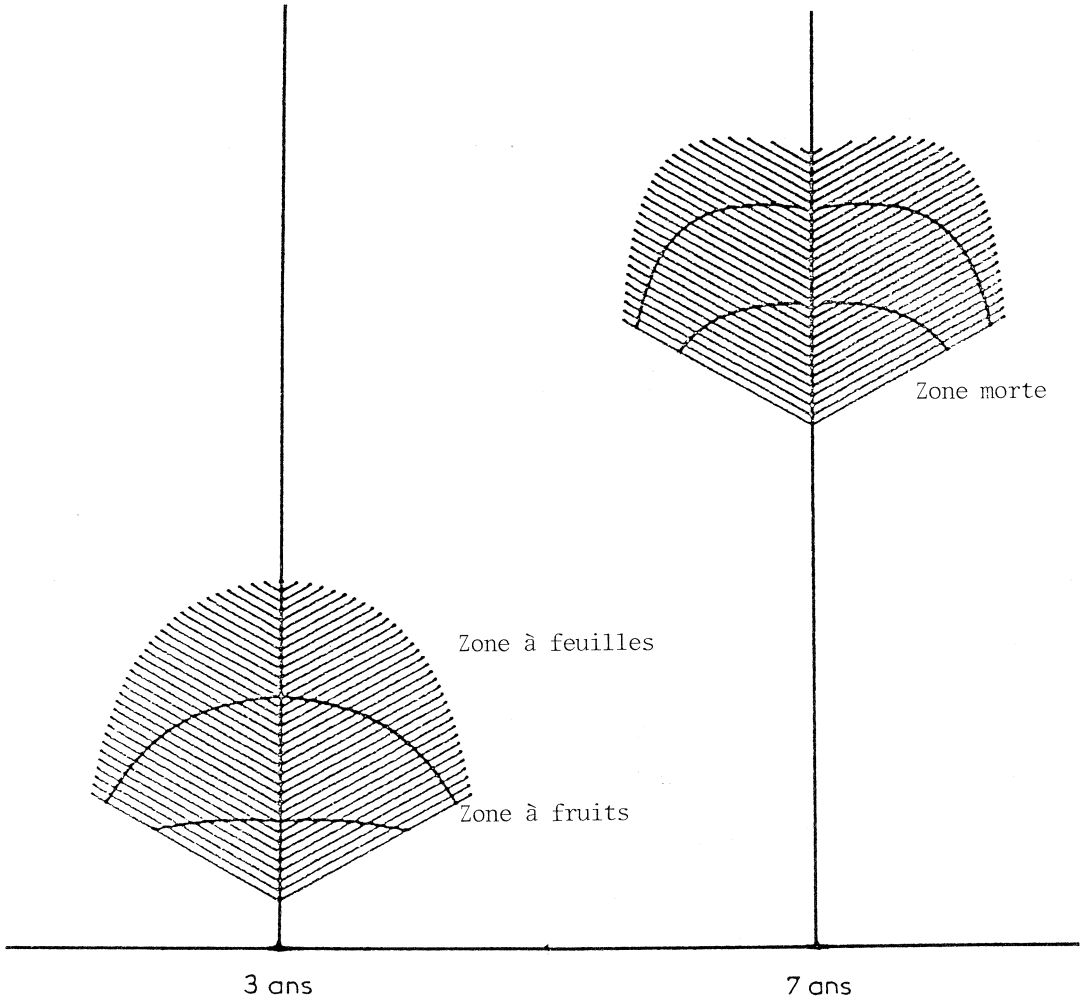
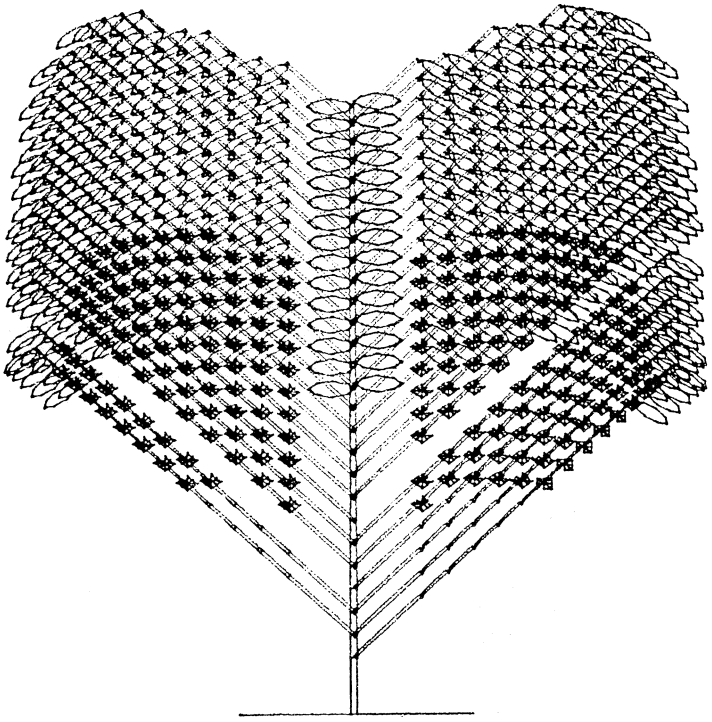
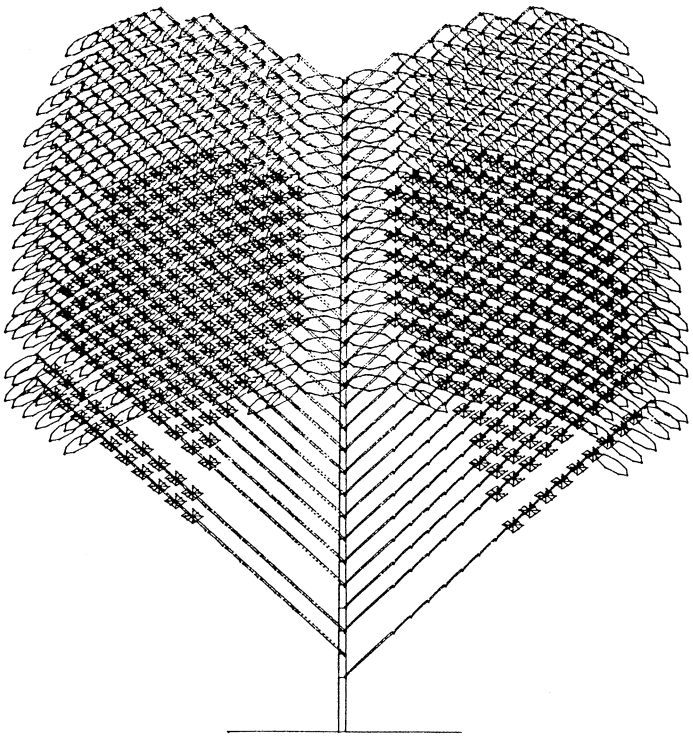


Figure 2: Tracés d'un caféier âgé de 3 ans et de 7 ans (par le traceur de courbe) avec ses zones de production

Figure 3: Influence de l'engrais sur l'architecture de l'arbre Robusta 182



Sans engrais



avec engrais

Figure 4: Flambage d'un caféier de 8 ans à tige conique (dessin exécuté par le traceur)

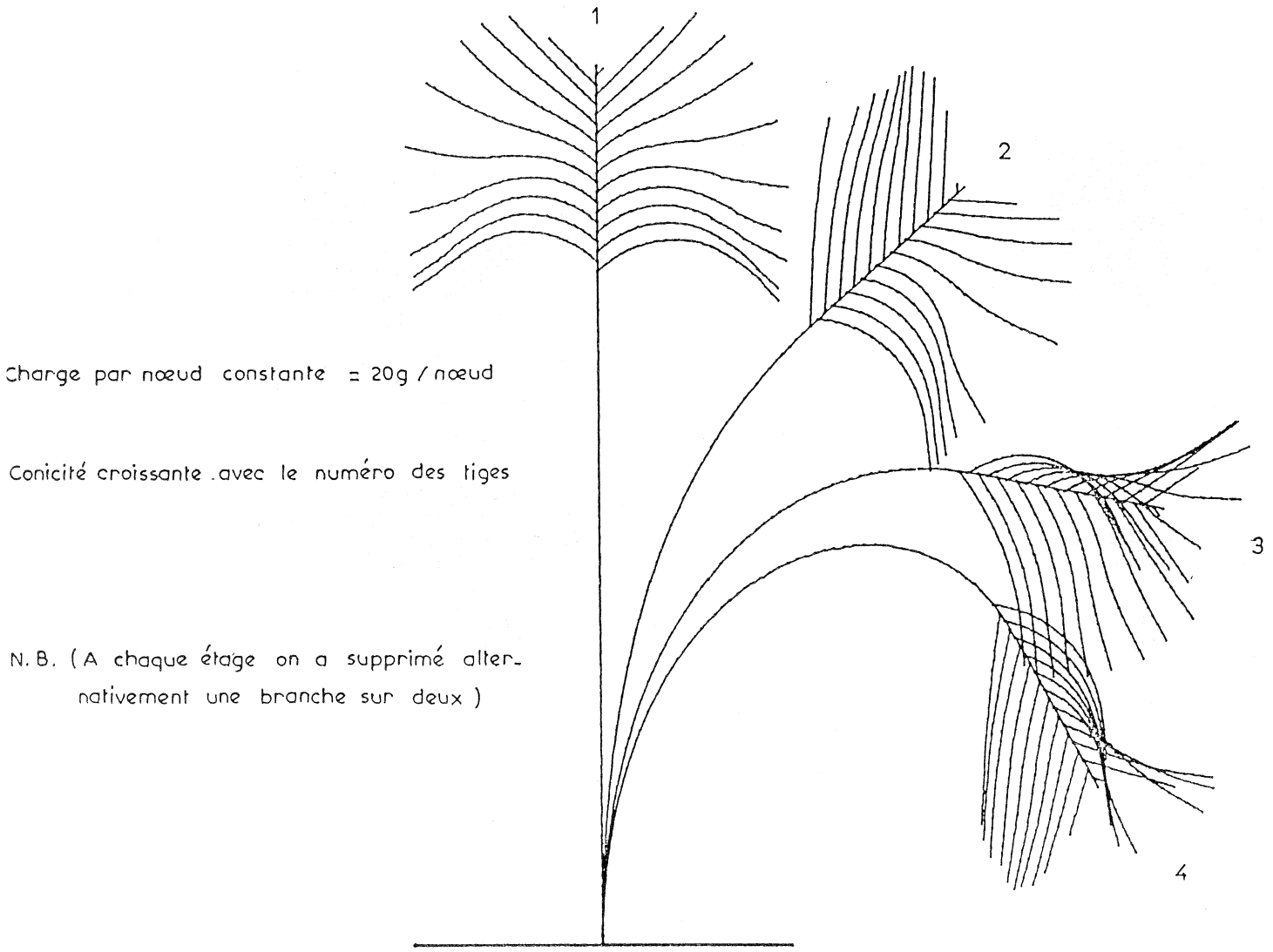
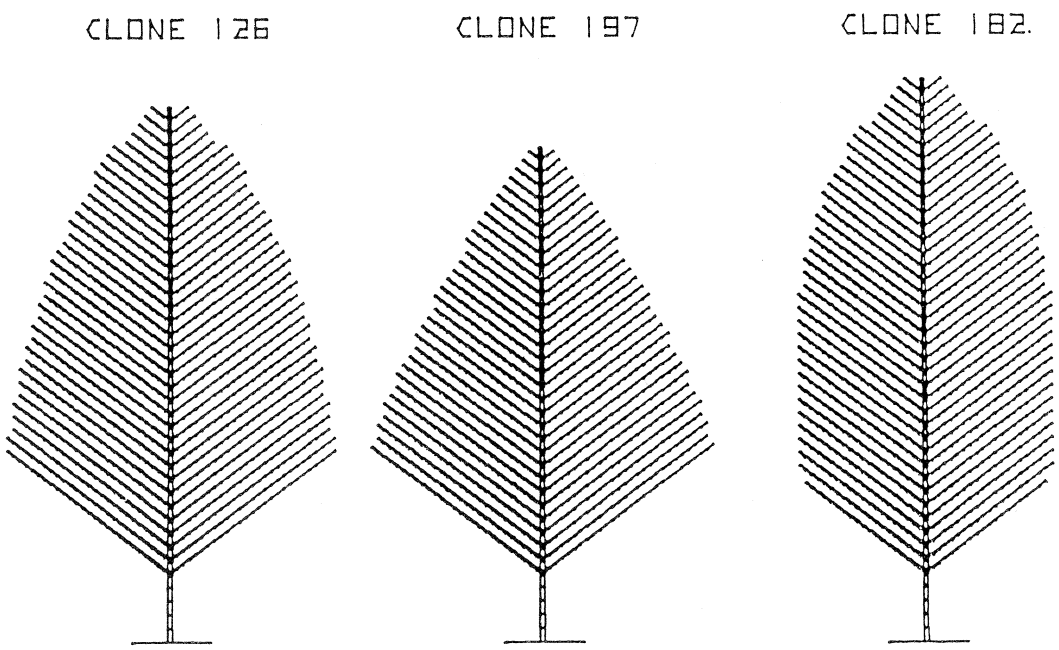


Figure 5: ARCHITECTURE MOYENNE DE 3 CLONES ROBUSTA (DIMENSION 45)



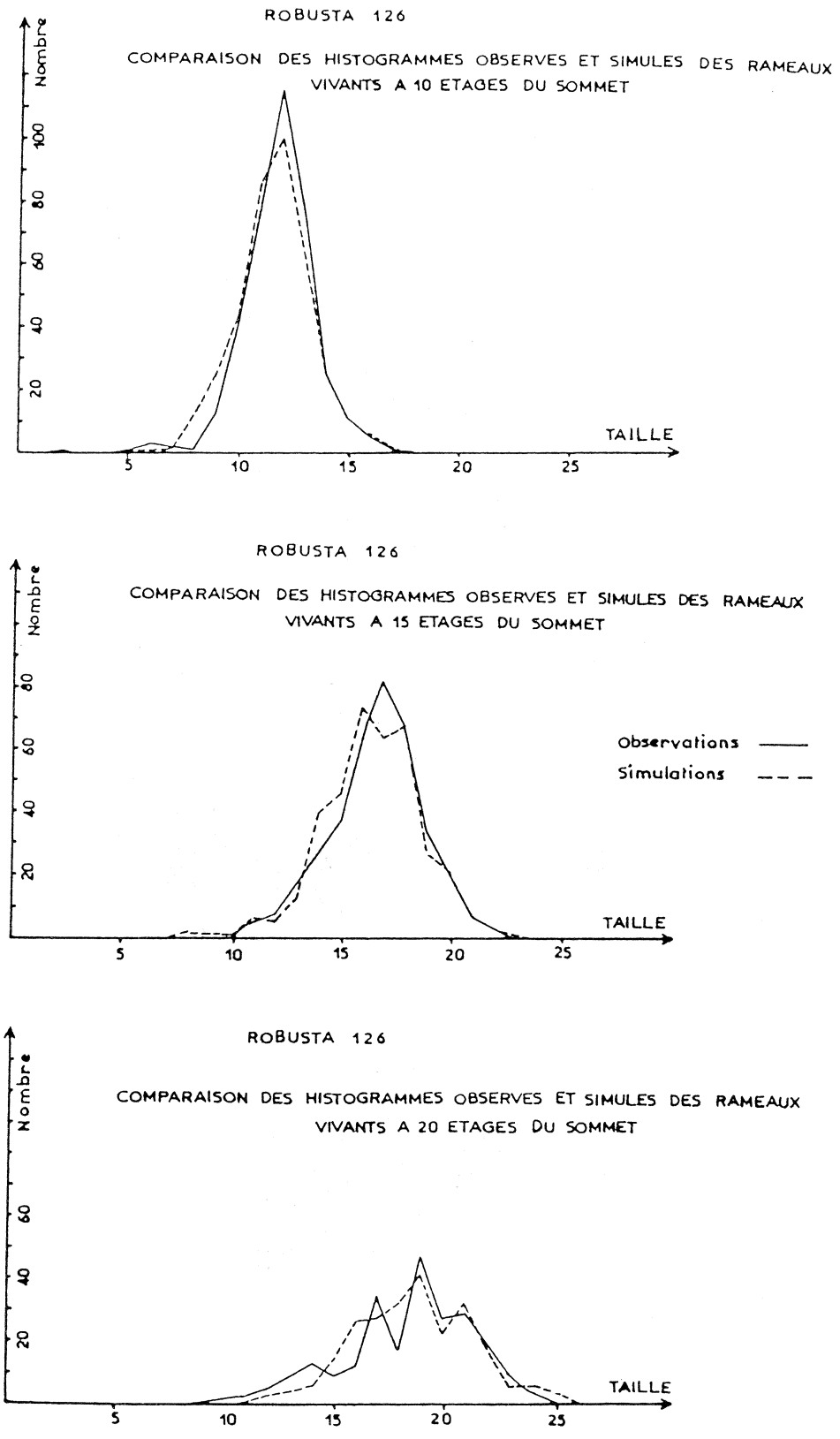

ROBUSTA 126
COMPARAISON DES HISTOGRAMMES OBSERVES ET SIMULES DES RAMEAUX VIVANTS A 10 ETAGES DU SOMMET
Nombre
20
40
60
80
100
TAILLE
5
10
15
20
25
ROBUSTA 126
COMPARAISON DES HISTOGRAMMES OBSERVES ET SIMULES DES RAMEAUX VIVANTS A 15 ETAGES DU SOMMET
Nombre
20
40
60
80
Observations
Simulations
TAILLE
5
10
15
20
25
ROBUSTA 126
COMPARAISON DES HISTOGRAMMES OBSERVES ET SIMULES DES RAMEAUX VIVANTS A 20 ETAGES DU SOMMET
Nombre
20
40
60
TAILLE
5
10
15
20
25

Figure 6

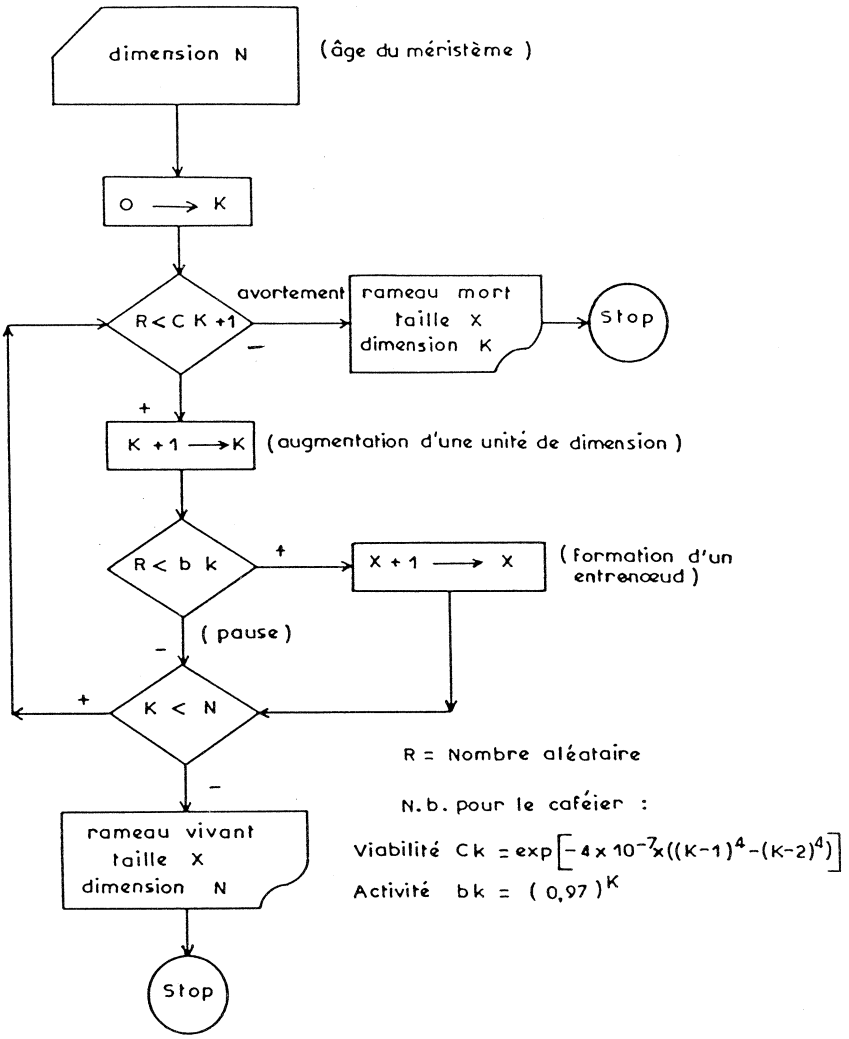
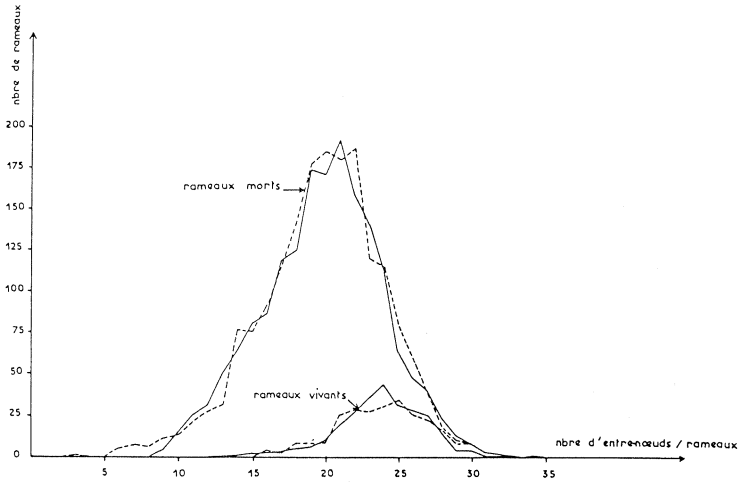
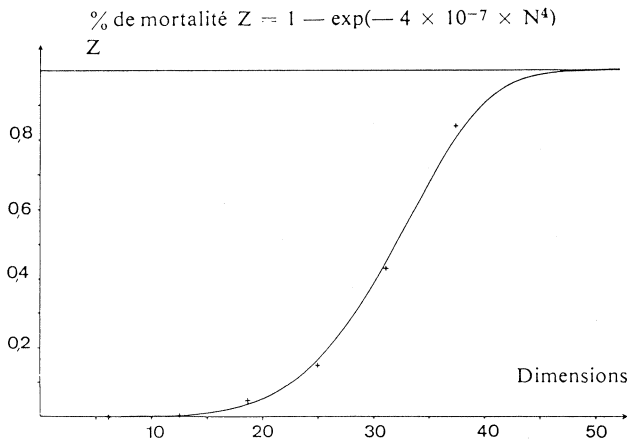


Figure 7: Organigramme de la croissance d'un méristème d'activité bK, viabilité Ck et de dimension N

Distributions des longueurs en entre-nœuds dans les populations de rameaux morts et vivants chez le Robusta 126 à trente-deux étages à partir du sommet (courbes observées : ———, simulées : ------)





— Evolution de la mortalité de rameaux en fonction de la dimension chez le Robusta 126

Figure 8

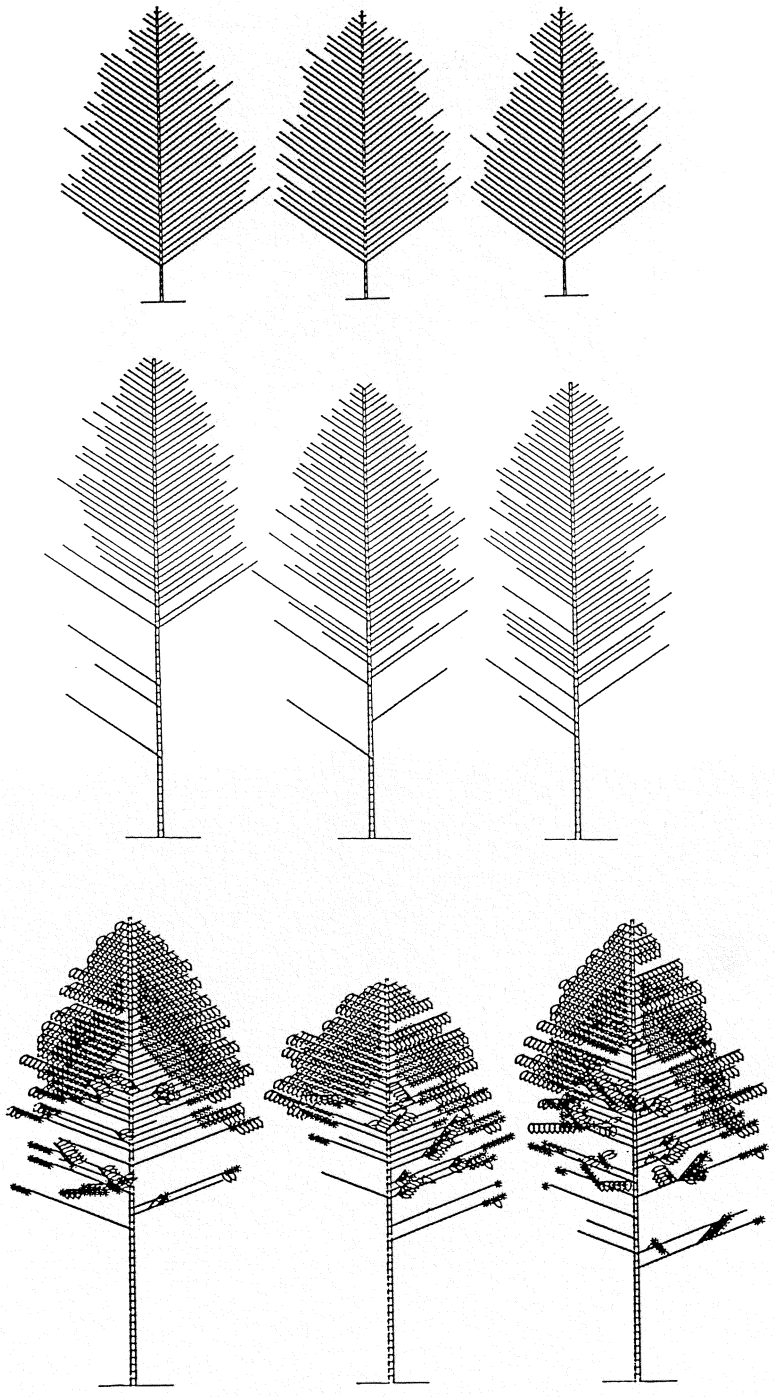
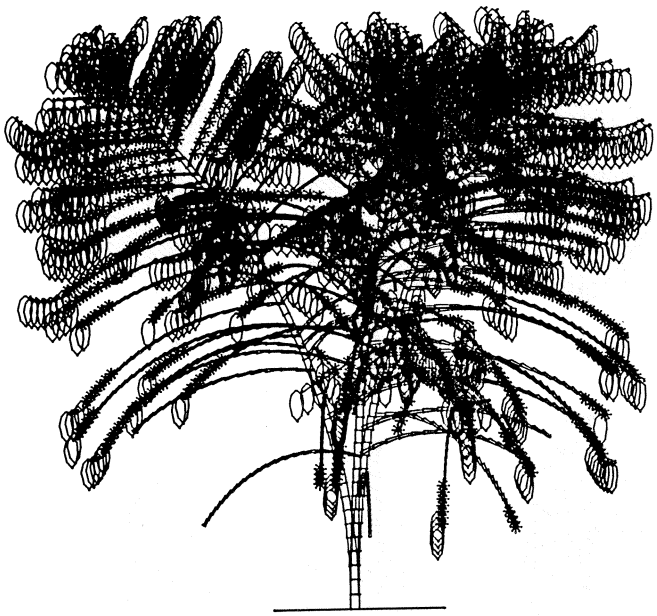


Figure 9: Etapes de la reconstitution topologique des éléments végétatifs et reproducteurs d'un caféier



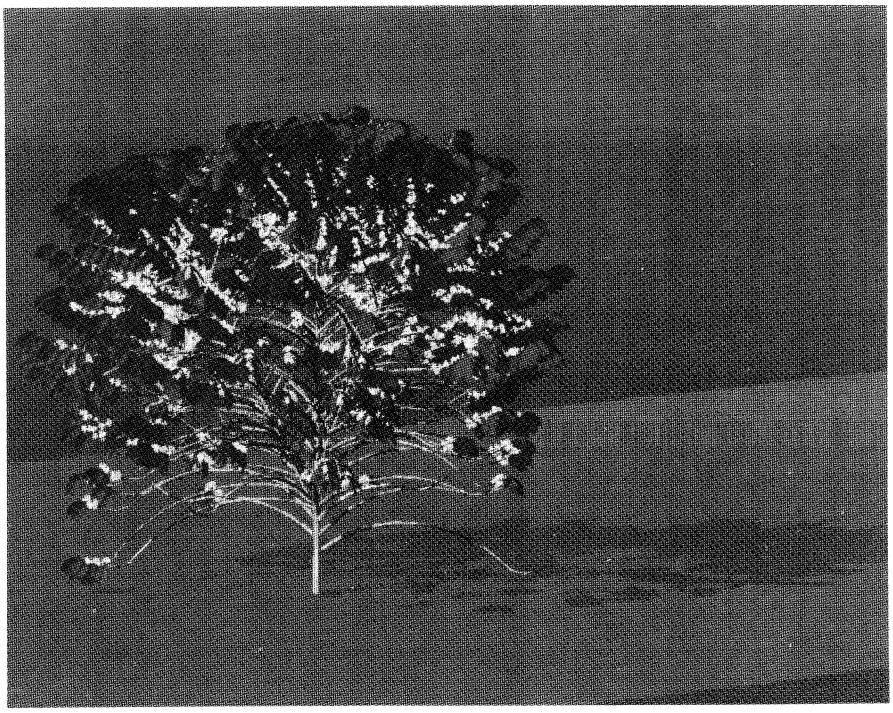


Figure 10: Evolution de la simulation en 3D, en 10 années
1979: calcullateur HP9825
1989: Station graphique IRIS Silicon graphics

LA FERTILIZACIÓN DEL CAFETAL SEGÚN EL ANALISIS DE SUELOS

G. VALENCIA ARISTIZÁBAL, F. CARRILLO PACHÓN I., L. I. ESTRADA HOYOS *

*** Ing. Agrónomo Master en nutrición de plantas, Químico e Ing. Químico respectivamente de Química Agrícola del Centro Nacional de Investigaciones de Café « Pedro Uribe Mejía », CENICAFE, Chinchiná (Caldas), Colombia.**

SUELO

Es el producto natural de transformación gradual de las rocas, sirve como medio de anclaje para las plantas y les suministra elementos nutricionales. Es un ente dinámico y complejo en el cual se suceden numerosos procesos físicos, químicos y biológicos.

Muchos de los nutrimentos que las plantas requieren para su desarrollo, se encuentran en el suelo en cantidades variables y a veces insuficientes para su adecuada alimentación.

Se sabe que el cultivo del café sin sombra ofrece altas producciones pero exige el cuidadoso y fiel cumplimiento de definidos planes de fertilización y la ejecución de numerosas labores, tales como desyerbas, control de plagas, control de enfermedades. Con la siembra de Variedad Colombia se ha incrementado grandemente la adopción de tecnología del cultivo, lo cual lógicamente se traducirá en mayor demanda de fertilizantes, de los cuales su producción está copada en el país.

La contínua fertilización de los cafetales con productos químicos escasos y costosos que en su mayoría tienen efecto residual acidificante, ha traído como consecuencia una disminución del pH, aumento del aluminio y del manganeso intercambiables y disminución del calcio y magnesio intercambiables, y la consiguiente pérdida de efectividad de los fertilizantes aplicados.

Análisis de suelos

Para saber si hay necesidad de agregar al suelo fertilizantes y/o enmiendas, es indispensable el análisis de fertilidad de ese suelo a fin de lograr óptimos resultados con el uso de estos insumos.

Como avance en la tecnología de análisis de suelos surge la necesidad de disponer de mayor

número de relaciones entre nutrimentos y grados de fórmulas completas, más ajustadas a las necesidades de los cultivos y a la diversidad de los materiales que originan suelos de diferente fertilidad.

Condiciones físicas del suelo

Una buena condición física del suelo es tanto o más importante que la misma aplicación de fertilizantes y se refleja en buena aireación, buen drenaje interno, buena capacidad de retención de agua, desarrollo normal de raíces, buena y oportuna respuesta a la fertilización, buena actividad biológica.

Si el suelo no proporciona el medio físico adecuado para el cultivo, la fertilización que en él se haga será un gran despilfarro.

Las características físicas más importantes de analizar en los suelos son: textura, estructura, consistencia, densidad real y aparente, rentención de humedad, estabilidad de los agregados y profundidad efectiva. Con este conjunto de condiciones físicas, se puede determinar la productividad y la susceptibilidad del suelo a la erosión y deducir el uso y manejo adecuado del suelo. Después de las condiciones de clima, las condiciones físicas del suelo son las que determinan qué uso y qué manejo se le deben dar.

Desde el punto de vista físico, un suelo **"ideal"** según Murphy es aquel que tiene su volúmen distribuído así: 50% de sólidos (minerales y materia orgánica). 50% de espacios porosos repartidos por igual entre aire y agua.

Equilibrio químico del suelo

Desde el punto de vista químico, un suelo equilibrado según McLean es aquel en que en términos de porcentaje de saturación de cationes tiene entre: 60 a 75% de calcio, entre 15 y 20% de magnesio, entre 3 y 7% de potasio, entre 10 y 15% de hidrógeno y 5% de micronutrimentos.

Teniendo en cuenta este balance, se clasifican las primeras capas de suelos de los 777 perfiles muestreados por Prodesarrollo hasta 1986 en la zona cafetera colombiana; éstos se agruparon también según los materiales de origen del suelo.

En la tabla 1 se presenta la frecuencia de suelos según el material de origen y los porcentajes de suelos con porcentajes de saturación de bases menor de 40%, con porcentaje de saturación de potasio, de calcio y de magnesio menores de 10%, de 60% y de 20% respectivamente.

TABLA 1. Porcentaje de saturación de bases, de K, de Ca, de Mg en muestras de suelos de Prodesarrollo. 777 perfiles.

Material de origen	Frecuencia %	Porcentaje de Saturación %Sat.B < 40%	%Sat.K. < 10%	%Sat.Ca < 60%	%Sat.Mg < 20%
Cenizas volcánicas	34.8	87	49	46	46
Basaltos-Gneis-Diabasas	6.4	60	75	62	25
Anfibolitas-Cuarcita	14.0	--	100	33	67
Lutitas	2.5	39	88	50	38
Esquistos-serpentina	6.0	--	100	30	20
Arenisca-Arcillolitas	15.4	81	69	44	38
Granito-Sienita-Riodacita	3.6	47	80	56	20
Andesitas	1.6	--	50	100	--
Aglomerados-Conglomerados	2.5	--	100	100	--
TOTAL	86.8				

Según estas agrupaciones, por su baja fertilidad (menos de 40% de saturación de bases) se destacan los suelos derivados de cenizas volcánicas y los derivados de areniscas y de arcillolitas.

Con menos de 10% de saturación de potasio son la mayoría de los suelos, se destacan los provenientes de anfibolitas, de esquistos y de serpentina, de aglomerados y conglomerados.

Con menos de 60% de saturación de calcio sobresalen los derivados de andesitas y de aglomerados y conglomerados.

En el caso del magnesio, los suelos provenientes de anfibolitas y de cuarcita serían los más desprovistos de este elemento, seguidos de los derivados de cenizas volcánicas.

Alteración el balance químico

El balance químico del suelo ha sido grandemente modificado por el uso contínuo durante años de fertilizantes químicos, como se puede observar en las tres muestras tomadas al azar, de los reportes de análisis de suelos de la Sección de Química Agrícola de CENICAFE en 1982. Se presentan los valores obtenidos en el laboratorio para pH - P - K - Ca - Mg - Al en cada par de muestras de suelos de un mismo cafetal (Tabla 2).

Se destaca que en la muestra correspondiente a la zona de raíces (zona fertilizada) al compararla con los respectivos valores obtenidos en la muestra de la zona no fertilizada ha ocurrido en aquella disminución de pH, aumento de P, aumento de K, disminución de Ca y aumento de Al.

TABLA 2. Servicio de análisis de suelos. Muestras pareadas de suelos (calle y zona de raíces) CENICAFE 1982.

Nº de Lab.	pH	P	me/100g de suelo			
		ppm	K	Ca	Mg	Al
4138	5.2	2	0.33	4.8	0.8	0.2
4139	4.2	839	1.60	1.5	1.0	0.9
4414	5.2	2	0.42	2.3	0.4	0.4
4415	4.4	95	0.75	0.8	0.2	1.8
4784	5.5	13	0.28	7.8	2.7	0.2
4785	4.5	205	0.62	1.9	0.7	4.7

Toma de muestras para análisis

Aunque el suelo está constituído por una muy compleja mezcla de sustancias y elementos, los métodos de análisis empleados en el laboratorio tienen muy buena precisión y son aplicables a un amplio rango de condiciones de suelos y de cultivos, pero definitivamente lo que hace posible el éxito de las recomendaciones derivadas del análisis químico es la correcta toma de muestras para esta finalidad.

Suelos adecuados para cafe

A continuación (Tabla 3) se dan los **"rangos adecuado"** de suelos aptos para café y los diferentes procentajes de éstos obtenidos en los muestreos de suelos de los estudios de zonificación del área cafetera colombiana hechos por PRODESARROLLO en 777 perfiles (fertilidad natural).

TABLA 3. Parámetros **"rangos adecuados"** y porcentaje de éstos en 777 perfiles muestreados por PRODESARROLLO. CENICAFE 1987.

Parámetro	Rango adecuado	Porcentaje
pH	5.0 - 5.5 ± 0.1	30
% Materia orgánica	12 ± 0.6 ó más	14
K meq/100 g de suelo	0.35 ± 0.06 ó más	24
Ca meq/100g de suelo	2.1 ± 0.5 ó más y $<$ 4.2	18
Mg meq/100g de suelo	0.7 ± 0.2 ó más	56
K: Ca: Mg	1 : 6 : 2	--
ppm P	10 ± 4 ó más	18
% Arcilla	$\geqslant$8 y $\leqslant$ 41	70
Textura	Francos	72
cm Profundidad	30 ó más	56

Los porcentajes en esta tabla muestran que por condiciones físicas hay altos porcentajes de suelos aptos, pero que existe un porcentaje bajo de suelos con adecuados niveles de pH, de materia orgánica, de potasio y de fósforo, lo cual explica las respuestas a la fertilización obtenida en producciones de café, pués de 36 cosechas experimentales en 8 localidades diferentes de la zona cafetera colombiana, 69% de las respuestas fueron a nitrógeno, 11% a fósforo y 42% a potasio.

Suelos "manejables" para café

Son los que permitirían llegar a los **"rangos adecuados"** con altas probabilidades de éxito.

A continuación se dan los parámetros, sus condiciones mínimas exigidas y los respectivos porcentajes obtenidos en los muestreos de los estudios de zonificación de suelos del área cafetera colombiana (777 perfiles), hechos por PRODESARROLLO (Tabla 4).

TABLA 4. Parámetros, rangos mínimos y porcentaje de suelos **"manejables"** para café en 777 perfiles muestreados por PRODESARROLLO. CENICAFE 1987.

Parámetro	Rangos	Porcentaje*
Ph	4.5 - 6.0	75
% Materia orgánica	$>$4.0	67
Ca meq/100g	$<$ 4.2	61
Ca : Mg	Ca $>$ Mg	87
% Arcilla	$\geqslant$8 $\leqslant$ 41	70
Textura	Francos	72
cm profundidad efectiva	30	56

* Estos valores están todos por encima del 50%, lo que indica una frecuencia alta de suelos "manejables" para llegar a los rangos adecuados para café.

Al considerar los suelos "manejables" y los suelos "aptos" para café, se tiene que la profundidad, el porcentaje de arcilla (textura) y el contenido superior de calcio y la relación: calcio : magnesio, son iguales en ambos tipos de suelos y se pueden considerar fijos puesto que son de difícil modificación, por lo tanto queda la alternativa de trabajar en pH, porcentaje de materia orgánica, contenido de potasio, calcio, magnessio y fósforo para definir el tipo de producto a usar y la dosis respectiva.

Interpretación de resultados de análisis de suelos

La interpretación de los resultados de un análisis de suelos es simplemente la traducción a términos de significado biológico o de interés para el cultivo, de los frios datos numéricos que generalmente entregan los laboratorios.

Para ayudar a esta interpretación de resultados y con base en numerosos resultados experimentales y algunas referencias bibliográficas se establecieron en una primera aproximación

los niveles adecuados para café, y la relación potasio:magnesio, que se presentan en la tabla 2.

La verdadera e importante dimensión de los análisis de suelos se obtienen cuando se hace la correcta interpretación de los resultados de aquel análisis, al permitirnos hacer ajustadas y oportunas recomendaciones de fertilizantes y/o enmiendas para el cultivo, con la consiguiente disminución de costos de producción.

Fertilizantes simples y compuestos

El uso de fertilizantes simples permite no solamente obtener fórmulas de grado similar a las que se producen en el país (genéricas), sino que pueden lograrse las mezclas en las proporciones de nutrimentos específicos requeridos por el cultivo en cada finca o región, de acuerdo con los resultados de análisis de suelos.

La substitución de fertilizantes granulados (mezcla química), puede hacerse de varias formas:

a) Aplicación de fertilizantes simples por separado.
b) Mezcla mecánica en la finca.
c) Mezcla mecánica a granel (Bulk blend).
d) Mezcla física y compactación de fertilizantes simples.

Pensando en esta substitución, la Sección de Química Agrícola de CENICAFE a sus recomendaciones de fertilizantes compuestos da otras alternativas de ajuste en la fertilización de cafetales.

Con el fin de especificar las recomendaciones de fertilización para cada lote o finca, se diseñó un programa para computador que codifica 8 parámetros y dá un total de 15.120 combinaciones posibles y para cada muestra de suelo dá dos o tres alternativas (Tabla de decisiones) para el manejo de la fertilización del cafetal durante dos años. (Anexo 1).

Es necesario concluír que la fertilización del cafetal por bien ajustada que se haga a las necesidades del cultivo, no resuelve otros problemas originados por inadecuadas condiciones físicas del suelo, ni de clima, ni de manejo del cafetal. Por tanto para el éxito de sus decisiones de fertilización deben tenerse las siguientes consideraciones:

a) Que sea un cafetal en zona de clima óptimo y en suelos con profundidad efectiva de 30 centímetros o más (profundidad efectiva es la que permite el crecimiento y desarrollo de raíces sin ninguna limitación química o física).

b) Que se realicen oportunamente las renovaciones, podas, desyerbas y controles sanitarios requeridos, así como las prácticas necesarias de conservación de suelos.

c) Que la muestra de los suelos haya sido debidamente identificada, tomada un mes antes de la fertilización, en zona de raíces, a 20 centímetros de profundidad, con varias submuestras por unidad de muestreo, evitando contaminaciones. El muestreo de suelos para análisis en un mismo lote o finca puede hacerse cada dos años.

d) Las alternativas de fertilización para cafetales están basadas en los resultados experimentales de CENICAFE, a plena exposición solar y con densidades iguales o mayores a 2500 plantas por hectárea.

e) Se debe consultar al técnico del Comité de Cafeteros de la zona, sobre las variaciones en las alternativas de aplicación de fertilizantes simples o compuestos, debido a las incompatibilidades que puedan presentarse.

f) Las dosis recomendadas son para cafetales en producción. Sie el cafetal tiene menos de 12 meses, se aplicará una tercera parte repartida en 4 ó 5 aplicaciones; y hasta los 24 meses se aplicará la mitad de la dosis repartida en 3 ó 4 aplicaciones. En estos casos no es necesario aplicar potasio.

REFERENCIAS

FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA. 1987. Informe anual de labores julio 1986 - Junio 1987 de la Sección de Química Agricola de CENICAFE. Agrupaciones de suelos de la zona cafetera colombiana según parámetros de fertilidad.

GOMEZ, A.A. et al. s.f. Como hacer un buen muestreo de suelos para análisis. Avance Técnico CENICAFE Nº 132.

GRISALES, G. A. 1977. Suelos de la zona cafetera. Clasificación y uso. Edic. Fondo Cultural Cafetero. 180 p.

SUAREZ, V. S. 1987. Caracterización física de los suelos. In Tecnología del cultivo del café. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. pag. 143.

VALENCIA, A.G. 1987. Deficiencias minerales en el cafeto y manera de corregirlas. Boletín Técnico Nº 1 CENICAFE 16 p.

VALENCIA, A. G. 1987. Interpretación de análisis de suelos. In Tecnología del cultivo del café. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. p. 133 - 142.

VALENCIA, A. G. 1988. Degradación química y encalado de suelos. Revista Agronomía. Facultad de Agronomía. Universidad de Caldas. ASOCIA 2 (2): 2-7.

RESUMEN

Se define el suelo y su importancia para los cultivos; se explica porqué pueden ocurrir en él empobrecimiento y/o degradación de la fertilidad y la consiguiente necesidad de hacerle adiciones de nutrimentos y/o enmiendas, las cuales solo pueden definirse con los resultados de los análisis de suelos.

Se explica que es un suelo "ideal" desde el punto de vista físico y la relación entre sus condiciones físicas, el desarrollo de raíces y la retención de humedad en el suelo. Se habla luego del equilibrio de cationes en el suelo y con base en este balance se dá la frecuencia de suelos con deficiencias nutricionales o de baja fertilidad

Se dan instrucciones para el muestreo de suelos y se clasifican estos en "adecuados" o "manejables" para café.

De acuerdo con los resultados experimentales de CENICAFE en muchos años, se hace la interpretación de los resultados de los análisis de suelos para café y de acuerdo con estos se dan algunas alternativas de ajuste en la fertilización de cafetales, las cuales incluyen fertilizantes compuestos y/o fertilizantes simples.

Se dan ejemplos de interpretación de análisis y de alternativas de ajuste en la fertilización.

SUMMARY

COFFEE FERTILIZATION ACCORDING WITH SOIL ANALYSIS

The soil and its importances is defined for growing crops. It is expalained why soil fertility degradation may occur, and also the need for amendments which can only be defined throughout soil analysis.

Explanation is given on "Ideal Soil" from the point of view of soil physical conditions related with root development and water retention in the soil. Also, on cation equilibriun in the soil and according with the frequency of soils of low fertility or nutrient deficiency.

Soil sampling intructions are give. The soils are clasified as "adecuados" or "manejables" for coffee production.

According with coffee research carried out for many years at CENICAFE, soil analysis interpretation and some alternatives including some examples on compound and simple chemical fertilizers recomendations are given for coffee production.

Résumé

La fertilisation de la caféière basée sur l'analyse des sols.

Le sol et son importance pour les cultures sont définis ; celles-ci peuvent intervenir dans l'appauvrissement et/ou la dégradation de la fertilité ; il peut, en conséquence, être nécessaire d'apporter au sol des éléments nutritifs et/ou des amendements qui peuvent être choisis d'après les résultats des analyses de sols.

La définition d'un "sol idéal", basée sur les conditions physiques de ce sol et sur leur répercussion sur le développement des racines et la rétention hydrique dans le sol, est donnée. Les équilibres des cations dans le sol sont étudiés et leur rôle dans la fréquence des sols marqués par des carences en éléments nutritifs ou de basse fertilité est abordée.

Des recommandations sont données pour l'échantillonnage de sols et ceux-ci sont classés en "adéquates" ou "adaptables" au caféier.

En fonction des résultats expérimentaux obtenus par CENICAFE au cours de nombreuses années, l'interprétation des résultats des analyses de sols à caféiers permet de donner quelques possibilités de rectifications de la fertilisation des caféières, rectifications qui comprennent des engrais composés et/ou des engrais simples.

Des exemples d'interprétation d'analyses et de possibilités d'ajustement de la fertilisation sont présentés.

FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA
Centro Nacional de Investigaciones de Café "PEDRO URIBE MEJIA"
Química Agrícola

No. de Orden	281	Fecha de Recibo	1989.03.09
No. de Laboratorio	1094	Fecha de Reporte	1989.04.19
Finca	0	Propietario	FANNY JARAMILLO DE RESTREPO
Vereda	0	Municipio	17174
Referencia	EL TRANSFORMADOR		

TABLA PARA DEFINIR FECHAS Y SELECCIONAR FERTILIZANTES O FUENTES

- Se sugieren CUATRO aplicaciones con alternativas de fertilizantes o fuentes para distribuir en los 24 meses siguientes y OTRA relacionada a encalado o adiciones de Calcio y Magnesio.
  Estas sugerencias tendrán resultados positivos si se cumplen las CONSIDERACIONES PARA EL EXITO DE LA FERTILIZACION DE CAFETALES que se anexan.

- Fije las fechas en todos los casos según las indicaciones.

ALTERNATIVAS:

CUATRO aplicaciones 2 meses antes de cada una de las cosechas y
de cada una de las traviesas en:
FECHAS: _____, _____,
_____ y _____.
Con las siguientes cantidades:
220 Kg/ha de Urea y 300 Kg/ha de KCl;
ó 530 Kg/ha de una mezcla de Urea : KCl en la relación 2:3.

UN encalado 2 meses después de una fertilización o 4 meses antes
de la siguiente.
Postergar el encalado un semestre si el cafetal tiene poco follaje.
FECHA: _____ con:
800 Kg/ha de Caliza Dolomítica con 15% mínimo de MgO.

FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA
Centro Nacional de Investigaciones de Café "PEDRO URIBE MEJIA"
Química Agrícola

No. de Orden	281	Fecha de Recibo	1989.03.09
No. de Laboratorio	1094	Fecha de Reporte	1989.04.19
Finca	0	Propietario	FANNY JARAMILLO DE RESTREPO
Vereda	0	Municipio	17174
Referencia	EL TRANSFORMADOR		

REPORTE E INTERPRETACION DE ANALISIS DE SUELOS PARA CAFE

	RESULTADOS		RANGO ADECUADO	
pH	4.8		5.0	5.5
M. Org.	10.9	%	11.4	12.6
P	36	ppm.	6	14
K	0.35	me/100 g.	0.30	0.40
Ca	2.6	me/100 g.	1.8	2.4
Mg	0.7	me/100 g.	0.6	0.8
Al	0.9	me/100 g.	0.0	1.1
Sat Al	19.78	%	0.00	60.00
Textura		FRANCO-ARENOSO		FRANCOS

METODOS: pH=Potenciométrico en agua 1:1 P=BRAY II Al=YUAN - Absorción Atómica
M Org.=WALKLEY BLACK Bases=Absorción Atómica Textura=Al Tacto

COMENTARIOS: El Resultado de su Análisis es SATISFACTORIO si las Barras horizontales están dentro del RANGO ADECUADO y lleva FRANCO en su textura.
El Aluminio no debe sobrepasar de 1.1 me/100 g. ni de 60 % de Saturación de Aluminio (Sat Al) y no se determina cuando el pH es superior a 5.5

Revisó

NOUVELLE MÉTHODE POUR L'ÉTUDE DE LA FERTILISATION MINÉRALE DES CAFÉIERS BASÉE SUR L'ANALYSE DU SOL

J. SNOECK *, P. JADIN **

*** Chef du service d'agronomie, ** chef de la division d'agropédologie de l'IRCC à Montpellier**

B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

1. INTRODUCTION

Un premier programme informatisé pour la détermination des besoins en engrais minéraux pour les caféiers arabica et robusta à partir des analyses du sol a été proposé en 1987 et 1988. Ce programme est basé sur l'évaluation de la composition chimique du sol en fonction d'équilibres entre sa texture (argile + limon) et les éléments minéraux majeurs dans le sol (C, N, K, Ca, Mg). Le phosphore total et assimilable, la capacité d'échange, la saturation et le pH ont été considérés comme peu ou non dépendants de la texture. Des seuils ont été proposés en tenant compte d'expérimentations en champs dans divers pays et par divers organismes de recherche, tant sur caféier robusta que sur caféier arabica.

En prenant également en compte les équilibres entre cations, le programme proposait des formules générales :

- soit azote seul si la capacité d'échange est supérieure à 5 meq % et si la saturation est supérieure à 40 % , pour autant qu'il n'y ait pas de déficit marqué en phosphore et/ou en potassium;

- soit des formules N - P, N - K ou N - P - K - (Mg), s'il apparaît un déficit en phosphore ou en potassium dans le sol, ou s'il y a un déficit en phosphore et en potassium et éventuellement en magnésium.

Un chaulage pouvait être conseillé sur sol très acide à forte teneur en aluminium échangeable.

Le programme modulait les équilibres N - P, N - K, N - P - K ou N - P - K - Mg, en fonction de l'évaluation qui avait été faite au début et proposait donc diverses formules qui n'étaient pas strictement liées aux teneurs en éléments dans le sol.

Les doses étaient recommandées en se basant sur des essais faits dans des stations de recherches voisines ou d'écologie similaire.

Il apparaît donc que ce premier programme pouvait être amélioré en calculant les doses d'engrais à partir des valeurs chimiques trouvées dans le sol, de manière à atteindre les niveaux considérés comme "normaux" dans la partie du sol qui reçoit les engrais, afin d'assurer de bonnes productions de café.

2. RAPPEL DU MODE D'ECHANTILLONNAGE DU SOL

Le système racinaire du caféier est composé essentiellement d'un pivot, de racines latérales profondes d'ancrage portant peu de chevelu, et de racines latérales superficielles très ramifiées pour la nutrition minérale. La plupart des auteurs estiment que 80 à 90 % des racines absorbantes se trouvent dans les 20 à 30 premiers centimètres du profil.

Nous considérerons donc qu'il faut corriger une épaisseur de 0,20 m de terre et que les échantillons pour analyse doivent être prélevés dans cette couche de terre. Pour réduire la variabilité du sol, il convient de prendre une trentaine de carottes de terre dans le champ, de les mélanger soigneusement pour en obtenir un échantillon composite.

Les échantillons composites de l'horizon de surface (0 à 20 cm) doivent être prélevés, non pas comme cela avait été écrit précédemment, uniquement dans la zone fertilisée, mais l'idéal est de prélever deux séries d'échantillons, l'un dans la zone fertilisée et l'autre dans la zone entre les caféiers ne recevant pas d'engrais. En effet, il apparaît que malgré le lessivage des bases échangeables dû aux apports d'azote dans la zone fertilisée, les caféiers répondent aux formules déterminées à partir du sol non fertilisé. L'essai J 11 à Abengourou, en Côte d'Ivoire, reçoit des engrais depuis 28 ans. Il a été commencé en 1960. Les analyses chimiques des couronnes fertilisées indiquent des pertes en cations K, Ca et Mg. Malgré ces pertes, les caféiers continuent de donner les meilleures réponses à l'azote seul. L'analyse des parcelles témoins n'ayant jamais reçu d'engrais indique bien que l'azote seul est l'engrais nécessaire pour ces caféiers cultivés sur un sol bien équilibré et bien pourvu en bases échangeables et en phosphore. Il semble que les caféiers se nourrissent des engrais reçus et prélèvent les cations dans la zone non fertilisée du sol, là où les cations n'ont pas été déplacés par l'azote.

3. DETERMINATION DES DOSES D'ENGRAIS

3.1. Surface, volume et poids de terre modifiés par les apports d'engrais

Surface :

Les engrais sont généralement épandus en couronne sous la jupe des caféiers. Dans le jeune âge cette couronne est proche du tronc. Plus tard, lorsque les caféiers entrent en production, l'engrais est épandu sous la jupe, sur une couronne de 0,40 à 0,75 m de rayons, de surface de 1,260 m2, ou éventuellement en demie couronne sur sol en pente.

Les épandages peuvent aussi être faits en bandes de part et d'autre des lignes de caféiers. Ce mode d'épandage est surtout pratique dans les plantations à haute densité. Les apports d'engrais sont faits sous les jupes. La surface de sol couverte par les engrais dépend des écartements dans les lignes de caféiers.

Volume :

Le caféier exploitant principalement l'horizon humifère de surface, nous considérerons qu'il ne faut corriger qu'une épaisseur de terre de 0,2 m.

V en m3 = 0,2 m x surface recevant l'engrais

Rappelons que les analyses de sol sont faites sur des échantillons composites de surface, prélevés de 0 à 20 cm de profondeur.

Poids de la terre modifiée par les engrais :

Il est nécessaire de connaître ce poids pour déterminer la quantité d'engrais à apporter. Le poids de terre est fonction de sa densité. A défaut d'information précise, on peut adopter une valeur moyenne de 1400 kg par m3 de terre pour un sol moyennement argileux.

Ainsi, sur 1 hectare la terre pèse :
(10000 m2 x 0,2 m) x 1400 kg/m3 = 2 800 000 kg

et le poids du volume de terre recevant des engrais pèse :
(V en m3) x 1400 kg/m3

En effet, la dose d'engrais calculée ne sera pas répartie sur tout l'hectare, mais seulement sur une partie de cette surface, correspondant aux cercles, aux couronnes ou aux bandes entourant chaque caféier.

L'ordinateur peut être programmé pour diverses densités de terre et diverses surfaces à corriger.

3.2. Calcul des doses de correction

Sauf pour l'azote, les doses d'engrais sont calculées de manière à corriger les déficits existants dans le sol. Les valeurs données par les analyses sont comparées aux normes. S'il y a déficit ou déséquilibre, une certaine quantité d'élément minéral doit être apportée.

Nous passerons en revue la méthode pour chaque élément.

Azote :

Dans l'état actuel de nos connaissances, il ne nous est pas possible de proposer des doses d'engrais azoté à partir des analyses de l'azote total du sol. Nos recherches s'orientent vers l'analyse d'autres formes d'azote dans le sol et leur évolution.

Pour le moment, pour connaître les doses d'azote, il est indispensable de se référer à des essais d'engrais minéraux implantés dans des conditions écologiques voisines de celles de la plantation analysée.

Les expérimentations de l'IRCC ont montré que sur les sols ferrallitiques, dans les conditions écologiques et économiques de Côte d'Ivoire, les clones sélectionnés de caféiers robusta donnent les accroissements de production les plus rentables pour 115 unités d'azote par hectare et par an, en deux applications.

Au Cameroun, dans divers essais sur caféiers arabica,la dose la plus économique est d'environ 240 unités d'azote par hectare et par an. En revanche, au Burundi, compte tenu du prix élevé de l'urée, la dose la plus économique n'est que de 60 N/ha.an dans les conditions écologiques suboptimales de haute altitude et de basses températures nocturnes.

La quantité proposée dans le programme informatisé est exprimée en unités d'azote par hectare. Elle doit être divisée par le nombre de caféiers par hectare. Elle ne tient pas compte de la surface corrigée, parce que la dose provient de résultats d'expérimentations avec ces quantités réelles.

Phosphore :

Les apports d'engrais phosphatés enrichissent significativement le sol en phosphore total et en phosphore assimilable. Il est donc possible de calculer la dose d'engrais nécessaire pour atteindre un seuil désiré.

Pour corriger un déficit en phosphore dans un poids de terre correspondant à la partie fertilisée entourant les caféiers sur 0,2 m d'épaisseur, le calcul est le suivant :

P assimilable moyen vaut 45 ppm (Olsen-Dabin) ou
22,5 ppm (Truog ou Bray 2)

le déficit en P2O5 %. = (45 ppm - P assim sol) x 0,0022912

ou (22,5 ppm - P assim sol) x 0,0022912

si P total est exprimé en ppm, le niveau normal est de 440 ppm ;

si P total est exprimé en P2O5 %., le niveau normal est de 1 %. ;

S'il s'avère que le sol est déficitaire en phosphore total et qu'on ne dispose pas d'analyse du phosphore assimilable, on apporte 40 ppm de phosphore ou (40 x 0,0022912) = 0,092 P2O5 %.

Le poids d'oxyde élémentaire nécessaire se calcule comme suit :

g/plant P2O5 = (déficit en P2O5 %.) x (Poids de terre x FU)

où FU est le facteur d'utilisation de l'engrais phosphaté compte tenu de la nature du sol (1 pour des sols ferrallitiques, 2 pour des sols fixateurs de phosphore).

Le poids d'engrais dépend de la concentration en oxyde de l'engrais choisi :
superphosphate triple 44 % P2O5 et 20 % CaO,
superphosphate simple 18 % P2O5 et 28 % CaO,
phosphate naturel 35 % P2O5 et 45 % CaO.

Dans un sol pauvre, à faible capacité d'échange (C.E.C. < 5 méq %) ou à faible saturation (V < 40 %), il convient d'apporter du phosphore.

Potassium :

Pour la production des caféiers, les teneurs favorables dépendent de la texture du sol. La figure 1 rappelle les normes proposées par FORESTIER.

Si le potassium, exprimé en méq % ou en % de la somme des bases échangeables, est déficitaire, il est nécessaire d'apporter un engrais potassique.

Le poids d'oxyde élémentaire nécessaire pour la correction du sol autour d'un caféier se calcule comme suit :

g/plant K2O = ((K méq % moyen - K méq % sol) x (Poids de terre) x 47,1)/100 x 2

(diviser par 100 pour transformer des méq % g en g d'oxydes
(47,1 = nombre de mg d'oxyde (K2O) contenu dans 1 méq K)
(2 est le facteur d'utilisation de l'engrais.

Le facteur d'utilisation de l'engrais potassique est estimé à 2, pour tenir compte des pertes par lessivage, immobilisation et rétrogradation. Il faut donc doubler la quantité d'oxyde calculée ci-dessus. Le lessivage est principalement dû aux apports d'azote, qui appauvrit le sol en potassium et également en calcium et en magnésium.

Le poids d'engrais dépend de la concentration en oxyde de l'engrais choisi :
chlorure de potasse 60 % K2O;
sulfate de potasse 48 % K2O.

Calcium :

Les essais de chaulage ont rarement donné des résultats économiques. A Madagascar, sur des alluvions fluviatiles de pH = 5, les caféiers robusta et congusta n'ont pas réagi à des amendements calcaires, dolomitiques ou de scories. Sur caféiers arabica, au Cameroun, dans un sol à pH = 5, avec 3,23 méq % de bases échangeables et un taux de saturation de 17 %, les apports de chaux et de kiesérite n'ont donné aucune augmentation de production sur 9 récoltes.

En Colombie, Valencia A.G. rapporte l'absence d'effet de diverses doses de chaux éteinte et de carbonate de calcium dans un sol à pH = 5,5. Néanmoins, des augmentations de production ont été enregistrées au Brésil sur des sols des **cerrado** à faible capacité d'échange ou très désaturés, ne contenant que 1 à 2 méq % de cations. Sur de tels sols, des chaulages ou des apports de dolomie sont efficaces. Sur caféiers arabica au Burundi, l'ISABU a installés des essais d'amendements dolomitiques sur des sols contenant

0,22 méq % de bases échangeables et 2,4 méq % d'aluminium pour une C.E.C. de 4,45 meq % et un pH de 4,5.

Les caféiers auraient besoin de chaux s'ils sont cultivés sur des sols très désaturés, pauvres en bases échangeables, à pH inférieur à 4,5. FORESTIER a établi une relation entre la texture du sol et des valeurs de Ca méq % dans le sol (figure 2).

Le calcul des besoins en chaux ou en dolomie peut être fait soit en se basant sur la teneur en alumine, soit en remontant le taux de saturation à une valeur de 60 % . Nous avons préféré la seconde méthode.

Calcul en se fixant une saturation de 60 % :

Pour une saturation de 60 %, la somme des bases doit égaler
(C.E.C. x 0,6).
Les équilibres entre les cations ne sont pas encore bien connus. FORESTIER proposose les valeurs moyennes suivantes :

K = 5 % de la somme,
Ca = 80 % de la somme,
Mg = 15 % de la somme.

Dans cette hypothèse, le poids d'oxyde CaO nécessaire pour corriger le déficit du sol devient :

kg/ha CaO = ((C.E.C. x 0,6 x 0,8) - Ca méq % sol) x 28 x 28,1

où : 0,6 = saturation hypothétique,
0,80 = Ca en % de la somme de bases,
28 = poids de la terre divisée par 100 000 pour transformer les méq % g en mg d'oxydes,
28,1 = nombre de mg d'oxyde CaO contenu dans 1 méq Ca.

Le poids d'engrais dépend du type de chaux choisie :
chaux agricole 67 % CaO
dolomie teneurs en CaO et en MgO variables suivant les gisements.

Dans le cas d'un amendement calcaire, nous considérons qu'il faut enrichir la surface totale de la plantation et non pas uniquement les cercles, les couronnes ou les bandes entourant les caféiers.

Les épandages se feront uniformément à la volée.

Si le sol est très désaturé, à faible pH et pauvre en magnésium, il sera préférable d'utiliser de la dolomie.

Magnésium :

Les symptômes foliaires de carence en magnésium s'observent souvent. Malgré cela, la littérature rapporte peu de résultats significatifs de réponses aux engrais magnésiens.

Sur caféiers arabica recevant régulièrement du paillis, les teneurs en potassium dans le sol augmentent considérablement et induisent des symptômes foliaires de déficit en magnésium chez les caféiers. Dans le sol le rapport Mg/K devient inférieur à 1, signifiant qu'il y a plus de potassium que de magnésium dans l'horizon de surface.

La figure 3 représente les relations entre la texture du sol et des teneurs moyennes en méq % de Mg, d'après les travaux de FORESTIER.

Par ailleurs, dans la littérature, il est souvent fait mention de l'importance du rapport Mg/K dans le sol. Ce rapport serait optimum pour des valeurs comprises entre 2 et 5.

Le calcul des besoins en magnésie peut se faire soit à partir de la relation proposée par FORESTIER, soit à partir de la teneur en potassium. Les résultats devraient être peu différents, car les moyennes de FORESTIER pour le potassium (figure 1) et pour le magnésium (figure 3) sont dans un rapport Mg/K variant entre 3 et 4 pour une même texture du sol.

Si Mg méq % du sol est déficitaire ou si le rapport Mg/K est inférieur à 2, il convient d'apporter un engrais magnésien.

Le poids d'oxyde élémentaire nécessaire pour corriger le sol ou le déséquilibre se calcule comme suit :

g/plant MgO = ((Mg méq % moyen - Mg méq % sol) x (Poids de terre) x 20,16)/100

ou encore :
g/plant MgO = ((K méq % sol x 3) - Mg méq % sol) x (Poids de terre) x 20,16)/100

(diviser par 100 pour transformer des méq % g en g d'oxydes
(20,16 = nombre de mg d'oxyde (MgO) contenu dans 1 méq Mg)

Dans les sols très désaturés, à pH bas, qui doivent recevoir un amendement dolomitique, il conviendra de réduire la dose calculée ci-dessus proportionnellement aux apports de magnésie provenant de la dolomie.

Le poids d'engrais dépend de la concentration en oxyde de l'engrais choisi :

kiesérite	27 % MgO,
dolomie	teneurs en CaO et en MgO variables suivant les gisements.

Si de la dolomie est utilisée, il convient de calculer l'apport concomitant de CaO, de le transformer en méq % de Ca et de recalculer l'équilibre des bases échangeables et le taux de saturation.

3.4. Dose de correction et dose d'entretien

Les doses calculées ci-dessus, sauf pour l'azote, sont des **doses de correction.**

La question est de savoir en combien de temps la correction doit être faite pour être efficace et rentable. Des expérimentations devront être mises en place pour y répondre. Ces nouvelles expériences seront conduites suivant la nouvelle méthodologie proposée dans cette note. Quelques essais ont débuté en Côte d'Ivoire sur caféiers robusta et au Burundi sur caféiers arabica.

En attendant, nous nous basons sur les essais de fertilisation minérale classiques. On peut suggérer que, sur les sols moyennement désaturés, les doses annuelles de potassium ne devraient pas dépasser les doses d'azote, puisqu'il existe un antagonisme N - K. Sur les sols très désaturés (saturation $\leq$ 20 %) et/ou pauvres en potassium, le rapport K2O/N des formules pourrait aller jusqu'à 2. Pour respecter ces équilibres, on module la durée de correction.

Doses d'entretien : Une fois que la correction en phosphore et en cations est atteinte dans la partie fertilisée du sol, il est probablement inutile de continuer à mettre de fortes doses d'engrais minéraux autres que de l'azote. En effet, il y a danger d'accumulation excessive de phosphore qui pourrait bloquer l'assimilation du zinc et induire des carences en zinc, ou du potassium qui entraînerait un déséquilibre Mg/K. Il convient donc de faire des analyses de sol dans la partie fertilisée pour en connaître le statut chimique. A partir de ces analyses, on pourra décider s'il est nécessaire de poursuivre la correction ou si l'on peut passer à une formule d'entretien et de restitution.

Ceci n'empêche qu'il faille également contrôler l'évolution chimique du sol entre les caféiers, dans la zone non fertilisée.

La formule d'entretien servira à compenser le lessivage des éléments minéraux, leur rétrogradation et leur fixation dans le complexe adsorbant. La formule de restitution compensera les exportations en éléments minéraux par les récoltes qui sont, pour 1000 kg/ha de café marchand :

- 33,4 kg d'azote (N),
- 6,1 kg/ha d'acide phosphorique (P_2O_5),
- 44,0 kg/ha de potasse (K_2O),
- 5,4 kg/ha de chaux (CaO),
- 4,2 kg/ha de magnésie (MgO).

4. CONCLUSION ET RESUME

Il a été montré par divers auteurs que l'analyse chimique du sol d'une caféière permet de déterminer les besoins en engrais des caféiers.

Dans un premier temps, nous avions proposé une simple identification des formules d'engrais à partir des analyses du sol. Les doses étaient déduites d'essais réalisés dans des conditions écologiques voisines. Les nouvelles expérimentations mises en place en se basant sur ces recommandations nous ont amenées à tenter de préciser les doses en les calculant à partir du statut chimique du sol.

Pour l'azote, nous n'avons pas, jusqu'à présent, de données nous permettant de déterminer une dose adéquate. Seuls des essais de doses peuvent indiquer la rentabilité des apports. Pour le phosphore total et assimilabe, pour le potassium, le calcium et le magnésium, les normes de FORESTIER ont été adoptées. Elles permettent de calculer des doses de correction. Une fois le sol corrigé, on peut diminuer les doses d'engrais, sauf l'azote, pour se contenter de compenser les pertes diverses par lessivage, rétrogradation, fixation et exportation par les récoltes.

De nouveaux essais ont été installés récemment pour vérifier le bien-fondé de cette méthodologie, qui, si elle s'avère efficace, permettra de simplifier énormément la conduite des essais de fertilisation minérale sur les caféiers et la gestion des apports d'engrais sur les plantations.

BIBLIOGRAPHIE

FORESTIER (J.). - Relations entre l'alimentation du caféier Robusta et les caractéristiques analytiques des sols. Institut Français du Café et du Cacao (Paris), Bulletin n° 4, 1962, 48 p.

GARCIA (A.W.R.). - Calagem para o cafeeiro. In Nutriçào e adubaçào do cafeeiro,Instit. Internat. da Potassa (Suiça), Jan. 1981, 226 p.

SNOECK (D.) et SNOECK (J.). - Programme informatisé pour la détermination des besoins en engrais minéraux pour les caféiers Arabica et Robusta à partir des analyses du sol. Café, Cacao,Thé, XXXII, 3, 1988, p 201- 218.

VALENCIA (A.G.). - Nutricion mineral del cafeto. In Technologia del cultivo del café, CENICAFE, Enero 1988, 2da edic., p 113-142.

Summary

Calculation method to study mineral fertilization of coffee trees based on soil analyses.

Various authors report of the possibility to determine fertilizer requirements for coffee trees through soil analyses.

In a first paper, we had proposed a straightforward identification of formulas working from soil analyses. Doses were deduced from trials planted in regions with similar ecological conditions. New experiments planted out with these recommendations have incited us to try to give more precise doses calculated from the chemical status of the soil.

Up to the present, for nitrogen, we have no soil data enabling us to determine adequate doses. Only trials can indicate the economical dose. For total and available phosphorus, for potassium, calcium and magnesium, the norms proposed by FORESTIER have been adopted. They allow a calculation of correction doses. Once the soil has been corrected, the doses are reduced, except for nitrogen. Afterwards enough fertilizers are applied to compensate for the various losses by leaching, retrogradation, fixation and exportation by harvest.

New trials were planted out recently to verify the accuracy of this methodology, which if proven efficient, will simplify greatly coffee fertilizer trial management and prevision of fertilizer requirements on coffee estates.

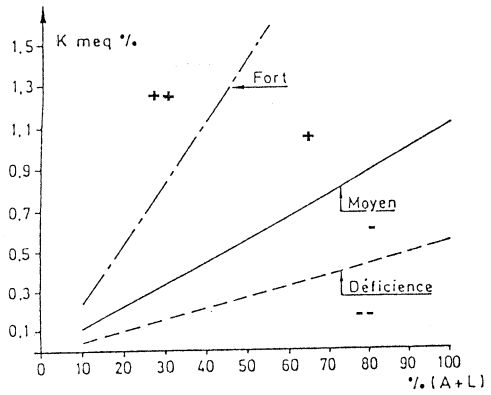


Fig. 1 — Potassium échangeable. Exchangeable potassium

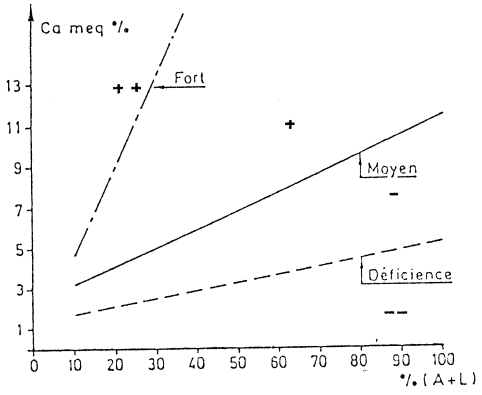


Fig. 2 — Calcium échangeable. Exchangeable calcium

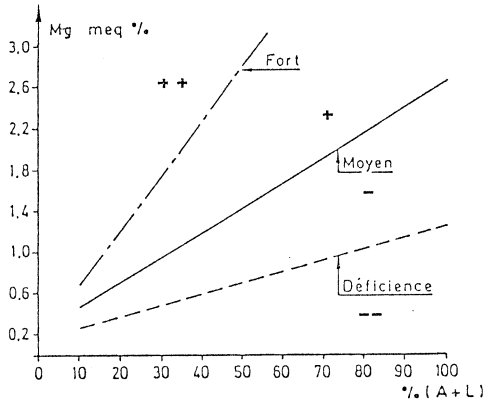


Fig. 3 — Magnésium échangeable. Exchangeable magnesium

Analyse de sol pour Caféiers: AVOCAT.SERIES

DATE : 28-NOV-89

			Classe
Argile +Limon (%)	:	45.000	
Carbone (%)	:	0.500	--
Azote (%)	:	0.070	--
P Tot (ppm)	:		
P assim (ppm)	:Truog-Bray2	3.000	--
K (méq %)	:	0.080	--
Ca (méq %)	:	1.100	--
Mg (méq %)	:	0.900	-
Somme des Bases	=	2.080	
C.E.C. (méq %)	:	7.900	-
pH		4.800	-
Saturation	=	26.33	-
K (% de la somme)	=	3.85	
Ca(% de la somme)	=	52.88	
Mg(% de la somme)	=	43.27	
Rapport Ca/K	=	13.75	
Rapport Mg/K	=	11.25	TROP FORT
Rapport Mg/Ca	=	0.82	TROP FORT

Apports annuels d'engrais		en grammes/caféier
Azote %	46.00	156.50
Phosphate %	44.00	17.50
Potasse %	60.00	200.50
Pas besoin de calcium.		
Kiesérite %	27.00	89.00

Correction sur 2 ans.
Caféiers de 10 ans.

Couronne fertilisée,grand rayon	1.00	m.
petit rayon	0.60	m.
Epaisseur du sol	0.20	m.
Densité apparente du sol	1400.00	kg/m3
Production estimée	0.80	Tonne/ha.
Nombre de caféiers	1111.00	par hectare.

EFFETS DU CHLORE SUR LE COMPORTEMENT DE QUELQUES CLONES DE CAFÉIERS ROBUSTA SUR LE LITTORAL IVOIRIEN

K. N'GORAN
IRCC, 01 B.P. 1827 Abidjan 01, Côte d'Ivoire

I - INTRODUCTION

Une étude antérieure (10) a permis de mettre en évidence une absorption rapide du chlore, et une accumulation de cet élément dans les feuilles du caféier Robusta suite à des apports fractionnés du chlorure de potassium.

Mais son effet sur la production n'a pu être distingué de celui du potassium qui exercerait une action dépressive sur certains clones (11). D'où l'intérêt du présent travail afin de vérifier cette hypothèse, de déterminer le seuil de toxicité à Bingerville, station située près du littoral, et recevant annuellement 100 kg environ de chlore par hectare et par an des vents marins et des pluies (4).

II - MATERIEL ET METHODES

Les observations portent sur 6 clones vulgarisés plantés en 1980 à la densité de 1905 caféiers/ha à 3 m x 1,75 m. L'essai compare , après recépage en 1986, trois traitements répétés 6 fois chacun.

A = Sulfate de potassium à 150 kg K20/ha ;
B = Chlorure de potassium à 300 kg K20/ha ;
C = Chlorure de potassium à 150 kg K20/ha.

Ils reçoivent uniformément 200 kg N/ha soit 435 kg d'urée par an épandus, en même temps que les engrais potassiques, en mars-juillet-septembre. Il n'y a pas d'apport de phosphore, le sol étant déjà bien pourvu. Les épandages des différentes formules ont commencé en 1987 et se poursuivent.

Afin d'apprécier l'influence du chlore, plusieurs analyses chimiques ont été effectuées sur les paires de feuilles de rang 4, les coques et les fèves de cerises à maturité, la granulométrie, et sur les eaux de pluies pour la détermination de la quantité de chlore.

Les fèves des cerises, préalablement séchées au soleil, sont broyées après dessication à l'étuve à 103°C pendant 15 heures, puis dosage des protéines brutes par la méthode de Kjeldahl, des matières grasses par extraction à l'ether diéthylique, de la cellulose par extraction en milieu acide et en milieu alcalin (méthode de Weende). Les cendres sont obtenus par incinération à 550°C, et les extractifs non azotés (sucres, amidon...) par différence.

Par ailleurs, les Tableaux 1 et 2 donnent quelques caractéristiques du climat et du sol du centre de Bingerville situé à 7 km environ de la mer (Océan Atlantique).

Au cours des trois années d'observation, de 1986 à 1988, la pluviométrie annuelle est marquée par un premier semestre peu humide par rapport à la normale avec des radiations plus intenses de mai à juillet. De façon générale l'intensité des radiations diminue de juin à septembre.

Quant au sol, il est formé sur les sables tertiaires du littoral : riche en phosphore, pauvre en bases échageables avec une capacité d'échange de l'ordre de 3,5 meq %, un pH acide et une mauvaise nitrification.

TABLEAU 1 : Pluviométrie en mm et radiations en Joules/cm2/j du Centre de Bingerville

Mois	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	TOTAL
Pluie 1986-1988	11,3	25,7	123,9	104,3	194,9	346,7	112,2	80,9	213	221,4	88,6	29,2	1552,2
Moy. 34 ans	22,9	68,9	117,1	141,2	293,7	614,5	246,7	57,3	98,9	174,8	128,8	84,3	2049,1
Radiation 1986-1988	1534	1831	1851	1903	1721	1358	1310	1150	1282	1586	1687	1427	1553,3
Moy. 16 ans	1602	1775	1861	1907	1630	1397	1242	1128	1330	1576	1653	1468	1539

TABLEAU 2 : Caractéristiques chimiques du sol de l'essai

ANNEE	C%.	N%.	P2O5 %.	K	Ca	Mg	S	CEC	V%	pH	Cl	Al
1980	8,37	0,641	0,924	0,055	1,34	0,71	2,11	3,55	59	4,41	-	-
1986	7,08	0,836	0,786	0,042	0,66	0,374	1,076	3,69	29	4,32	-	-
1988	9,37	-	59 ppm	0,097	1,197	0,383	1,67	4,42	37,8	5,30	39,9	0,13

(*) Méthode Dyer, Cl en ppm, Al en meq %

III - RESULTATS

1 - EFFETS DU CHLORE SUR LA PRODUCTION

Le dosage mensuel des échantillons d'eau de pluie de 1986 et 1987 donne des concentrations moyennes de chlore respectives de 2,11 mg/litre et 2,67 mg/litre, soit des apports de 35,6 et de 47, 9 kg/hectare/an de chlore par les pluies.

Les concentrations par litre sont plus élevées de juillet à septembre. A partir du mois de septembre, période de maturation des clones précoces et de début des nécroses marginales sur les feuilles des caféiers, 83 % en

moyenne des dépots de chlore dus aux pluies sont déjà reçu par les caféiers, auxquels s'ajoutent la totalité du chlore contenu dans les engrais potassiques, et celui des vents marins non déterminé dans cette étude.

L'analyse statistique des récoltes de 1987 et 1988 ne décèle aucune différence significative entre les sources d'engrais potassiques. (Tableau 3). La production de l'année 1987 pouvant être obtenue par différence, l'on constate que le rendement sont respectivement de 2534, 2502 et 2676 kg de café marchand par hectare pour les traitements A, B et C.

TABLEAU 3 : Effets des engrais chlorurés ou non sur la production en kg de café marchand/hectare.

N° Clones	1988			Cumul 1987/1988		
	A	B	C	A	B	C
461	3109	3558	3000	6919	7246	6716
197	2520	3137	2670	5657	6012	5802
182	2301	2312	2018	5093	5246	5054
477	1072	1398	1296	3827	3780	4046
126	2016	1772	1219	2950	3371	2910
107	1086	1196	969	2860	2734	2698
Moy.	2017	2229	1862	4551	4731	4538
CV %	Engrais : 40,1			26,6		
	Clones : 24,6			17,2		

A = K2SO4 150 kg K2O B = KCl 300 kg K2O C = KCl 150 kg K2O

Trois clones 461, 197 et 182 se détachent de façon significative des autres. Mais la constance des niveaux de production d'un traitement à l'autre, indique que les facteurs de rendement comme la croissance , la floraison et la nouaison ne sont pas influencés par les quantités de chlore reçues par les caféiers. La différence s'expliquerait par les caractères propres aux clones dont certains sont regis par le milieu nutritif d'absorption.

Des réactions différentielles de caféiers aux apports d'engrais potassiques ont déjà été rapportées : la réaction négative du clone 126 à des apports de 180 kg K20/ha à Bingerville (11), l'effet dépressif de 300 kg K20/ha de chlorure et 120 kg K20/ha de sulfate sur des clones dans des essais factoriels à Divo et Abengourou où les sols sont bien pourvus en bases. (9) (12).

2 - COMPOSITION MINERALE DES FEUILLES

Les résultats des analyses chimiques effectuées sur les paires de feuilles de rang 4 de 4 clones au cours du mois de septembre dès l'apparition des nécroses, sont consignés dans les Tableaux 4 et 5.

Les teneurs des différents éléments, exception faite du chlore et du soufre, ne sont pas influencées par les formes potassiques et les doses appliquées ; observations déjà faites par ailleurs sur Robusta en Côte d'Ivoire (10). Elles sont équivalentes entre elles et permettent de dire que la dose de 150 kg K20 est largement suffisante dans ce sol très pauvre en potasse (0,097 meq%).

En 1988, l'absorption du soufre a été plus faible dans les traitements B et C ; il y aurait compétition entre chlore et soufre.

TABLEAU 4 : Effet des engrais sur les teneurs des 4ème paires de feuilles en éléments minéraux

% M.S.	N		P		K		Ca		Mg		Cl		S	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
A	2.63	2.63	0.14	0.13	1.13	1.45	1.95	1.90	0.43	0.40	0.42	0.67	0.22	0.21
B	2.58	2.70	0.14	0.13	1.28	1.58	1.90	1.81	0.44	0.39	1.01	1.37	0.20	0.13
C	2.58	2.69	0.14	0.13	1.20	1.58	1.98	1.83	0.40	0.38	0.86	1.08	0.22	0.13
CV %	9	7.2	10.5	10.4	20.3	20.3	12	19.2	30	37.5	35.8	20	15.2	22.8
	NS		NS		NS		NS		NS		**		NS	**

1 et 2 = Septembre 1987 et 1988 ; ** Différence significative (Keuls)

Cependant ces teneurs varient selon les clones, et les différences sont hautement significatives. D'après la distinction entre groupes de l'espèce C. Canephora fondée sur l'analyse de la variabilité enzymatique (1), les formes guinéennes et leurs hybrides ont des feuilles plus riches en azote, calcium et en soufre que les formes congolaises. Elles sont presque constantes pour le magnésium dans les deux groupes mais variables pour le phosphore, le potassium et le chlore.

Le chlore s'accumule en quantité importante dans les feuilles des traitements avec KCl tout en provoquant des nécroses marginales ; l'interaction est positive. Parmi les clones analysés, 126 et 477 arrivent en tête du classement, même dans le traitement avec sulfate de potassium.

Mais sur un effectif de 186 caféiers, recensé en janvier 1989 , (108 pour B et 78 pour C), les caféiers à feuilles nécrosées sont essentiellement repérés sur le clone 126 avec 60 %, clone 461 non analysé avec 21,5 % et le clone 197 avec 9,7 % ; soit 91,2 %. Les nécroses visibles sur le clone 477 sont faibles 7,5 % , malgré les concentrations élevées en chlore presque équivalentes à celles du 126.

TABLEAU 5 : Influence du matériel végétal sur les concentrations des feuilles

% M.S.	N		P		K		Ca		Mg		Cl		S	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
H. 126	2.80	2.88	0.14	0.13	1.27	1.57	2.09	1.96	0.41	0.38	0.82	1.31	0.23	0.18
G. 197	2.72	2.83	0.14	0.13	1.16	1.35	2.10	2.14	0.42	0.38	0.75	0.98	0.24	0.20
C. 477	2.52	2.54	0.12	0.14	1.33	1.66	1.76	1.64	0.42	0.40	0.85	1.07	0.20	0.14
C. 182	2.35	2.44	0.12	0.12	1.05	1.45	1.83	1.65	0.44	0.38	0.62	0.80	0.17	0.12
CV %	5.2	7.5	5	7.1	12.4	13.6	9.2	11.7	13.1	13.1	25.8	11.1	7	14
	**		**		**		**		NS		**		**	

H. Hybride ; G. : Guinéens ; C. : Congolais

3 - INFLUENCE DU CHLORE SUR LES CERISES

3-1 Granulométrie

Sur le poids de 100 fèves du mélange de l'ensemble des clones à 12 % d'humidité, les engrais appliqués n'exercent aucune influence ainsi que sur le grade 1, résultats déjà obtenus par Verlière dans d'autres conditions (13). Le poids moyen de 100 fèves de ces mêmes clones observé pendant 11 ans est de 14,45 grammes ; ce caractère étant beaucoup plus sous de la dépendance de la

nutrition hydrique que minérale (2) . Cependant, l'examen du Tableau 6 met en évidence une réaction différente des clones pris isolément : effet négatif du chlorure de potasse sur le grade de 107 et 182 mais effet positif sur celui du clone 477.

TABLEAU : 6 Effet des engrais sur la granulométrie des cerises

Clones	Poids de 100 fèves (g)			% grades 1		
	A	B	C	A	B	C
Hybride 107	12.62	12.25	12.18	27.12	17.83	18.01
Hybride 126	16.26	15.50	15.78	63.56	62.38	60.60
Congolais 182	12.34	12.17	12.17	12.62	8.34	7.10
Hybride 461	13.49	13.93	13.50	36.94	35.81	35.13
Congolais 477	18.82	19.0	18.97	67.89	77.07	72.32
Guinéen 197	11.49	12.17	11.33	17.87	23.20	12.96
Moyenne	14.17	14.17	14.06	37.66	37.44	34.35

3-2 Composition chimique des cerises

Aussi bien dans les coques (mésocarpe + endocarpe) que dans les fèves, on note une amélioration de l'ordre de 7 à 10% des protéines dans les traitements recevant le chlorure de potasse. Ceci se traduit dans les fèves par une légère baisse du taux des extractifs non azotés (sucres , amidon....)

Les autres éléments comme la matière grasse, la cellulose varient très peu en fonction des formes potassiques. Le potassium des fèves représente en moyenne 73 % de celui des coques.

TABLEAU : 7 Eléments chimiques des coques et des fèves

% Matières sèches	Coques			Fèves		
	A	B	C	A	B	C
Cendres	5.61	6.65	6.42	4.96	4.86	4.40
Prot. brutes x 6,25	6.89	7.37	7.31	14.78	15.93	16.30
Matière grasse	1.32	1.743	1.77	9.62	9.35	9.62
Cellulose	26.25	26.52	25.46	22.06	22.94	23.0
Extractifs non azotés	59.93	57.71	59.02	48.58	46.50	46.6
Potassium	2.05	2.45	2.25	1.66	1.67	1.58

Mais le Tableau 8 ci-dessous indique que seules les teneurs en protéine de 3 clones subissent l'influence des engrais : diminution due au chlorure de potasse chez le 182 et augmentation chez les clones 461 et 197.

Les modifications des autres constituants comme les extractifs non azotés et la cellulose sont variables selon les clones et ne sont pas néces-

sairement consécutives à celles des protéïnes. La réaction des caféiers aux engrais est très divergente et fortement influencée par leurs caractéristiques propres comme signalée par Forestier en Centrafrique sur d'autres caféiers. (6). Les clones 107 et 126 ont des teneurs en matières grasses plus élevées que les autres clones.

TABLEAU 8 : Effet du matériel végétal sur les constituants du grain.

Clones	Protéines brutes x 6,25			Extractifs non azotés			Matières grasses		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
107	16.10	15.86	16.10	46.71	43.37	47.25	11.25	11.14	11.66
126	16.17	16.10	16.95	48.06	43.17	46.11	10.06	10.63	10.19
182	15.26	13.47	14.34	47.47	48.67	48.33	9.13	8.62	8.20
461	15.20	16.06	17.04	45.99	48.30	45.73	9.30	8.05	8.30
477	15.23	15.15	15.17	47.62	51.99	49.49	8.50	8.15	9.48
197	10.71	18.85	18.23	54.62	44.94	43.05	9.49	9.54	9.88
Moy.	14.78	15.93	16.30	48.58	46.90	46.66	9.62	9.35	9.62

IV - DISCUSSION

Les caféiers observés sont très hétérogènes tant au niveau de leurs constituants chimiques que de leurs réactions au milieu. En se basant sur le degré des nécroses foliaires, le clone 126 apparait le plus sensible au chlore mais celui-ci ne pertube ni ses constituants protéiniques et en matières grasses, ni sa granulométrie et son pourcentage de grade 1 par rapport aux autres clones notamment le clone 182.

Les nécroses apparaissent chez le 126 dès que les niveaux de chlore sont supérieurs à 0.85 % de la matière sèche ; ce qui n'est pas le cas de 182 comme l'indique le Tableau ci-dessous.

L'ion chlore se déplaçant facilement dans les tissus (8), ces nécroses seraient-elles dues à des liaisons chlore-depsides lors de leurs biosynthèses (3), chlore-composés phénoliques, ou chlore-cellulose ? Ou bien s'agit-il d'une concurrence entre les fruits devant assurer leur maturité et les feuilles pour des éléments nutritifs ? Ces questions appellent des observations complémentaires pour déterminer les différents mécanismes.

TABLEAU 9 : Niveaux de chlore dans les feuilles de 4 clones.

N° Clones	A		B		C	
	1	2	1	2	1	2
126	0.46	0.85	1.10	1.77	0.89	1.32
182	0.33	0.54	0.88	1.08	0.67	0.79
197	0.44	0.64	0.98	1.24	0.84	1.06
477	0.43	0.67	1.08	1.39	1.05	1.16

1 = 1987 ; 2 = 1988

S'agissant de l'effet du chlore sur la production, nous avons pu noter (Tableau 3) que chlorure et sulfate sont équivalents, entre eux. Si le

milieu d'absorption a une influence sur la production comme l'indique le Tableau 10, les facteurs génétiques jouent-ils aussi un rôle important. En effet, Ph. de Reffye et Snoeck comparant les clones 182 et 126 ont montré que ces clones sont bien différents l'un de l'autre (5).

Le clone 182 à développement végétatif plus restreint atteint sa production maximum à 3 ans et demi alors que le 126 à 4 ans et demi après l'entrée en production, c'est-à-dire à cinq ans et six ans et demi. A sept ans, au moment du recépage, le clone 126 aurait encore près de 75 % de sa capacité de production totale.

Il est donc en ce moment difficile de situer l'action du chlore. Cependant l'effet dépressif de la potasse, qu'elle soit sous forme de chlorure ou de sulfate dans certains sols saturés à moyennement saturés et bien pourvus en potassium, a été maintes fois signalé (9) (10) .

Les résultats ci-dessous montrent bien, que les besoins des clones étudiés sont très variables, notamment en rapprochant ceux du Tableau 3. De façon générale ces besoins semblent peu marqués pour le potassium malgré un sol pauvre en cet élément.

TABLEAU 10 : Effet du milieu sur les clone
Production en kg café marchand/ha dans B11 avant recépage.
Cumul des récoltes 1982 + 1983 + 1985.

N° Clones	Témoin	Azote seul	Azote + KCL
461	1568	2883	2738
126	2312	2628	3034
197	2565	3356	2919
477	1748	2530	2415
182	1134	1359	1621
107	1320	2156	2133
Moyenne	1575	2485	2477

Azote : 100 kgN/ha ; KCl : 50 kgK2O/ha

V - CONCLUSION

Au stade actuel des observations, aucune influence n'est décelée sur les productions, et le poids des fèves. Mais des réactions très variables des clones liées en grande partie aux facteurs génétiques ont été relevés : nécroses foliaires, amélioration du taux de protéines brutes dans les fèves de certains clones, baisse ou augmentation du taux de sucres et amidons ou de cellulose chez d'autres grâce aux absorptions de chlore. Cependant cette variabilité est masquée lorsque les observations portent sur le mélange clonal car il y a compensation entre les pertes et les gains dus au chlore.

Les caractéristiques influencées par l'engrais doivent permettre d'orienter l'utilisation rationnelle de ces clones, l'amélioration génétique des caféiers et la réduction des doses d'engrais potassiques contenant du chlore. A cet égard, la quantité maximum de potassium échangeable, tant dans les 20 premiers centimètres du sol que dans les engrais, ne doit pas excéder 200 kg de K2O/ha soit 0,15 meq% près du littoral ivoirien.

Enfin le chlore bien que bénéfique pour les protéines des fèves, est associé au potassium dans les engrais; il conviendrait également de déterminer le rôle effectif de l'ion potasse dans les caféiers.

BIBLIOGRAPHIE

1 - Berthaud J.- Propositions pour une nouvelle stratégie d'amélioration des caféiers de l'espèce C. canephora, basée sur les résultats de l'analyse des populations sylvestres. ASIC, 11è colloque, 1985, Lomé.

2 - Charmetant P., Leroy T. - Etude de l'influence de différents facteurs agronomiques et génétiques sur la granulométrie du café Robusta ASIC, 11è colloque, 1985 - Lomé.

3 - Colonna J.P. - L'acide chlorogénique et les depsides de divers caféiers africains et malgaches : leur participation au métabolisme et leur signification biologique.
Travaux et documents de l'ORSTOM n°102, 1979, Paris.

4 - Delmas (R.), Djouka (A). - Etude des apports atmosphériques de chlore aux sols en basse Côte d'Ivoire. Oléagineux, vol 38, n°7, 1983 - Paris.

5 - de Reffye Ph., Snoeck J. - Modèle mathématique de base pour l'étude et la simulation de la croissance et de l'architecture du coffea Robusta. Café cacao thé, vol XX, n°1, 1976.

6 - Forestier J - Sélection et nutrition minérale du caféier Robusta. Café, cacao, thé, vol V, n°4 , 1961.

7 - Loué A. - Etudes carences et déficiences en potassium, calcium et magnésium chez le caféier Robusta. Bulletin n°4 IFCC, 1962 - Paris.

8 - Loué A. - Les oligoéléments en agriculture
Agri-Nathan International, 1977 - Nouvelle édition.

9 - Rapport annuel IRCC - Amélioration du caféier Canephora, Tome II, 1980 - Côte d'Ivoire.

10 - Snoeck D., N'goran K., Snoeck J. - Etude des formes de potassium sur le chimisme foliaire des caféiers Robusta en Côte d'Ivoire - Influence du chlore.
Café cacao thé, vol XXX, n°1, 1986.

11 - Snoeck (J.) - Méthodologie des recherches sur la fertilisation minérale du caféier Robusta en Côte d'Ivoire - Influence du matériel végétal.
ASIC, 10° colloque, 1982, Salvadore (Bahia).

12 - Verliere G. - La nutrition minérale et la fertilisation du caféier sur sols schisteux en Côte d'Ivoire - Influence de la fertilisation minérale sur les rendements.
Café, cacao, thé, vol. XVII, n°3, 1973.

13 - Verlière G. - La nutrition minérale et la fertilisation du caféier sur sol shisteux en Côte d'Ivoire . Influence de la fertilisation minérale sur la composition du fruit.
Café, cacao, thé, vol XVII, n°4, 1973.

Résumé

Des travaux antérieurs ont pu montrer l'effet cumulatif des teneurs des feuilles de caféiers en chlore à la suite d' apports répétés d'engrais potassiques contenant cet élément.

Il a été aussi mis en évidence des dépôts de chlore de l'ordre de 100 kg/ha en bordure de mer par des vents marins.

L'effet conjugué de ce chlore est étudié sur la production et la composition des feuilles et des fruits de six clones de caféiers Robusta recevant, annuellement, 150 à 300 kg/ha de K_2O sous forme de sulfate de K ou de chlorure de K.

Après deux récoltes, si aucune différence significative n'est encore décelée entre les productions, il n'en va pas de même pour la composition des feuilles et des fruits. Ces résultats attirent une attention particulière sur le rôle des ions K^+ et Cl^- dans les caféiers.

Summary

Effects of chlorine on the behaviour of some Robusta coffee clones in coastal areas in Côte d'Ivoire.

Previous work had shown the cumulative effect of the chlorine contents in coffee leaves resulting from repeated dressings with potassium fertilizers containing this element.

In coastal areas, the chlorine deposits from sea winds had been found to amount to about 100 kg/ha.

Work has now been carried out on studying the combined effect of this chlorine on the yields and the composition of the leaves and fruits of six clones of Robusta coffee which are given, each year, 150 to 300 kg/ha of K_2O in the form of K sulfate or K chloride.

Although, after two harvests, no significant difference has been found between yields, the same is not true for the composition of the leaves and fruits. These results draw special attention to the part played by K^+ and Cl^- ions in coffee plants.

LE PROBLÈME DE LA CARENCE EN ZINC SUR CAFÉIER ARABICA AU BURUNDI

Ch. LAMBOT
Ingénieur agronome A.I.GX.
ISABU, B.P. 795, Bujumbura, Burundi

DEFINITION DU PROBLEME

L'Institut des Sciences Agronomiques du Burundi (ISABU) développe depuis 1979 un programme de recherche sur le caféier arabica dont la culture représente, en valeur, plus de 85 % des exportations du pays. L'extension de la recherche à des terrains qualifiés de modérément aptes à l'arabicaculture a permis d'identifier de nouveaux problèmes, notamment l'importance de la carence en zinc sur les caféiers arabica.

L'attention des chercheurs a d'abord été attirée par des symptômes de carence très intenses apparus dans plusieurs essais effectués dans la région naturelle du Kirimiro (Fig.1). L'observation des symptômes permit de formuler un diagnostic provisoire de carence en zinc.

Afin de ne pas biaiser les essais par une mauvaise croissance des caféiers, la carence présumée fut traitée par des pulvérisations foliaires de sulfate de zinc heptahydrate. Deux applications à 0,3 % furent réalisées à 30 jours d'intervalle et permirent aux caféiers de retrouver rapidement un aspect normal. Quelques neuf mois plus tard les symptômes réapparurent et nécessitèrent une nouvelle pulvérisation.

Il devint vite évident que la carence en zinc ne se limitait pas aux essais menés par l'ISABU, mais qu'elle se manifeste au contraire très fréquemment et intensément dans les parcelles des paysans du Kirimiro et du Bweru et de façon sporadique et plus légère dans les autres régions.

LES SYMPTOMES DE CARENCE

L'identification de la carence à partir des symptômes visuels est aisée. Elle affecte la croissance des feuilles, des rameaux et des fruits. Les feuilles présentent le plus souvent les signes d'une chlorose internervienne des limbes qui prend l'aspect d'une mosaïque formée de très petites plages jaunâtres délimitées par un réseau de fines nervures vertes. Elles sont anormalement petites, très étroites et lancéolées ; elles peuvent également se courber et prendre la forme d'une faucille (Coffee Research Foundation, 1977).

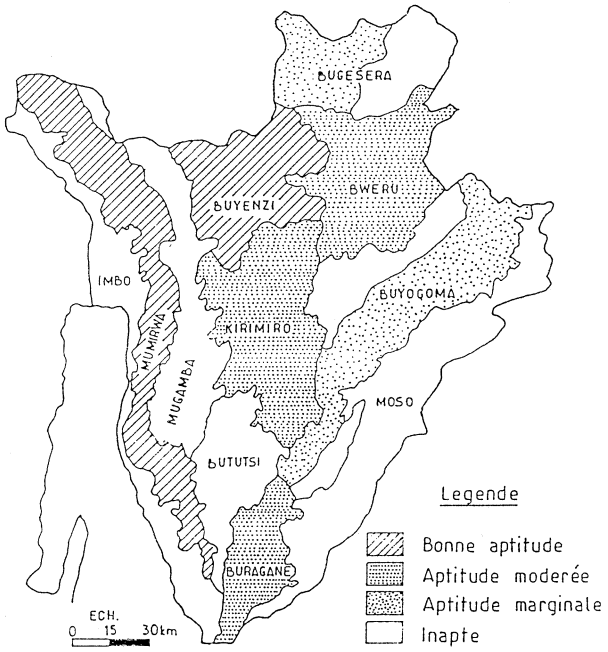


Fig. 1: Aptitude des terres du Burundi à l'arabicaculture

Les entre-noeuds des rameaux deviennent courts. Il y a très peu de feuilles sur la partie médiane des branches, par contre elles ont tendance à s'agglomérer au sommet présentant un aspect de rosette. Une carence importante induit une défoliation et un die-back des rameaux (Fig. 2).

Fig. 2 : Symptômes de carence en zinc

Ces symptômes sont l'expression d'un déséquilibre du métabolisme de la plante. Le zinc est un composant nécessaire de plusieurs systèmes enzymatiques, il influence aussi directement la synthèse de l'ARN et la formation ultérieure des protéines. Mais une de ses fonctions les plus importantes est son effet sur la régulation de la croissance par le contrôle de la synthèse du tryptophane, acide aminé précurseur de l'acide indol acétique (auxine). Cette diminution de la production en auxines est responsable de l'absence d'allongement de la tige provoquant le symptôme très caractéristique de rosette terminale (Dartigues, 1964 ; Loue, 1986).

ANALYSE FOLIAIRE ET ENQUETE

L'étude approfondie du problème nécessitait au préalable une confirmation chiffrée du diagnostic. C'est pourquoi des échantillons foliaires furent prélevés sur des parcelles carencées selon la méthode décrite par Culot et Van Wambeke (1958). Les teneurs en zinc des feuilles prélevées variaient, selon les échantillons, de 5 à 7 ppm sur matière sèche, valeurs inférieures aux normes données par Willson (1985) qui définit le seuil de carence à 10 ppm et la normale entre 15 et 30 ppm.

L'étendue et l'intensité de la carence furent ensuite évaluées par une enquête réalisée en 1987 dans sept communes du Kirimiro. Elle permit de confirmer l'importance présumée de la carence dans les communes prospectées en déterminant qu'en moyenne trois caféiers sur quatre présentent des symptômes et que plus d'un caféier sur dix est fortement carencé. L'enquête mis aussi en évidence qu'une forte charge graveleuse du sol et un mauvais entretien des parcelles sont associés à des symptômes importants, tandis que l'ombrage atténue l'intensité de la carence.

ORIGINE DE LA CARENCE

Les causes possibles de carence en zinc découlent, soit d'un niveau en zinc insuffisant dans le sol, soit d'un processus de fixation qui retient cet élément sous une forme peu utilisable par la plante, ou bien de facteurs d'ordre physiologique entraînant une mobilisation du zinc absorbé par la plante (Dartigues, 1964).
Une forte acidité (pH H20 inférieur à 5,0) associée à des taux de saturation en bases très faibles et des quantités importantes d'aluminium échangeables caractérisent les sols où la carence a été identifiée. En condition de sols acides il est hautement probable que la carence soit induite par de très faibles teneurs en zinc total. En effet l'assimilabilité du zinc par les plantes augmente avec l'acidité du sol et devient maximale à pH 4 (Dartigues, 1964 ; Loué 1987). Des analyses de sol semblent confirmer cette hypothèse, en effet sur 57 échantillons de sol prélevés dans des parcelles carencées, les teneurs en zinc dosées après extraction par HCL 0,1 N varient de 1 à 4 ppm avec une moyenne égale à 1,8 ppm. La méthode d'extraction par HCL 0,1 N est considérée comme fiable pour les sols acides, elle donne une idée correcte du zinc disponible pour les plantes. Les seuils critiques de carence avec cette méthode varient de 1,0 à 7,5 ppm, influencés principalement par le pH du sol et la susceptibilité des plantes (Loué, 1987). Le seuil de carence pour le caféier arabica dans les conditions écologiques et pédologiques du Burundi reste toutefois à déterminer.

INFLUENCE DE LA CARENCE SUR LA PRODUCTION ET LA QUALITE DU CAFE

La carence en zinc réduisant la surface foliaire et perturbant les mécanismes métaboliques, il peut en résulter une diminution de la production en quantité et en qualité. D'après Ananth (1976), sur caféier arabica la production devient faible et les fruits de dimension extrêmement petite. En général les arbres fruitiers carencés en zinc produisent peu et des petits fruits souvent déformés (Dartigues, 1964).

Devant l'importance du problème de la carence en zinc sur caféier arabica au Burundi, il était impératif d'estimer quelle est son influence sur la production et la qualité du café avant d'envisager un programme de correction chez les paysans. Un essai a été entrepris dans ce but en 1987 et a déjà donné deux années de récoltes et d'observations.

METHODOLOGIE

L'essai comporte deux objets répétés trente deux fois selon un dispositif en parcelles couplées. Chaque répétition est une plantation paysanne homogène de minimum 50 caféiers âgés de 3 à 5 ans et carencés en zinc. Cette plantation est divisée en deux parcelles dont une constitue le témoin qui ne reçoit pas de traitement et l'autre l'objet traité par 3 pulvérisations foliaires annuelles de chélate de zinc (Chélal zinc) à 4 l/ha et à une concentration de 0,5 %. Le Chelal zinc contient 90 g/l de Zn métal combiné à l'éthylène diamine.

Les observations effectuées ont porté sur l'intensité visuelle des symptômes de carence, sur la production en fruits des caféiers, l'analyse chimique des feuilles et biochimique des grains de café, les caractéristiques générales des fruits et des grains, les rendements d'usinage et la qualité organoleptique de la liqueur.

RESULTATS

Deux mois après la première pulvérisation foliaire les symptômes de carence avaient pratiquement totalement disparus, toutefois malgré la répétition des traitements il en subsiste toujours quelques-uns, très rares et peu intenses.

L'analyse des échantillons foliaires prélevés dans 11 répétitions du dispositif permet de conclure après étude statistique que le traitement ne modifie pas les teneurs minérales moyennes des feuilles excepté pour celle du zinc qui augmente de façon très hautement significative de 5,6 ppm à 14,5 ppm de la matière sèche soit une teneur presque normale (Tableau 1).

Tableau 1

Teneurs minérales moyennes des feuilles des deux objets par rapport à la matière sèche

Objets	N %	P %	K %	Ca %	Mg %	Mn ppm	Zn ppm
Témoin	2,44	0,14	2,70	0,67	0,19	199,9	5,6
Traitement	2,46	0,13	2,66	0,74	0,19	190,4	14,5

La production des caféiers n'a pas été influencée d'une façon significative par le traitement au cours des deux premières années de l'essai, l'objet traité n'ayant produit en moyenne que 4 pour-cent de mieux sur le total des deux années (Tableau 2).

Tableau 2

Productions moyennes des deux objets en kg de fruits/ha

Objets	Année				Total	en % du T
	1988	en % du T	1989	en % du T		
Témoin	3682	100	3712	100	7394	100
Traitement	3908	106	3768	101	7676	104

Par ailleurs, des observations ont été réalisées afin d'estimer l'influence de la carence sur les caractéristiques des fruits ainsi que sur les qualités organoleptiques du café. Des échantillons de 100 fruits ont été prélevés dans les deux objets de chacune des répétitions et ceci 3 fois au cours de la récolte. Le poids des fruits et le nombre de caracolis de l'objet traité sont très hautement significativement différents de ceux du témoin. Le poids des fruits du traitement est supérieur à celui du témoin. Le nombre de caracolis, graine déformée qui résulte d'une mauvaise fécondation des fleurs (Cannell, 1985) a été fortement diminué en deuxième année par les traitements. Cela permet d'avancer l'hypothèse que la carence en zinc à une influence négative sur la fécondation (Tableau 3 et Fig.3).

Tableau 3

Observations réalisées sur les échantillons de 100 fruits

Objets	Poids en g de 100 fruits		Nombre de caracolis sur 100 fruits	
	1988	1989	1988	1989
Témoin	135,2	138,1	19,7	18,6
Traitement	152,6	161,0	20,7	13,5

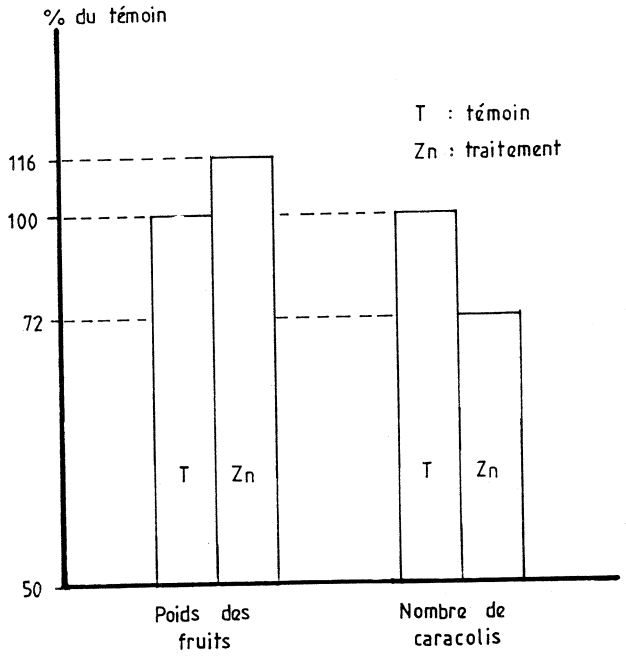


Fig.3: Observations sur 100 fruits en 1989

Il est étonnant de constater que la différence importante enregistrée dans le poids des fruits en faveur de l'objet traité ne se retrouve pas dans les chiffres de récolte. Nous pensons pouvoir l'expliquer par une incidence constatée plus grande de Colletotrichum coffeanum sur les fruits des caféiers traités avec le Chelal zinc par rapport à ceux du témoin, cette augmentation d'anthracnose sur fruits entraînant une perte de production. Mais il ne s'agit que d'une hypothèse qui devra encore être confirmée par des observations chiffrées.

Des échantillons de fruits plus importants (3 à 5 kg) ont été recueillis en pleine période de récolte pour évaluer les paramètres d'usinage et de qualité du café. Les résultats obtenus sur les deux années d'essai sont repris dans le tableau 4 et la figure 4.

Tableau 4

Paramètres d'usinage et de qualité du café

	Rendement café marchand/drupes		Granulométrie : fraction retenue au tamis 6,7 mm en %		Densimétrie : café lourd en %	
Objets	1988	1989	1988	1989	1988	1989
Témoin	0,17	0,15	45	49	62	58
Traitement	0,17	0,16	50	55	66	60

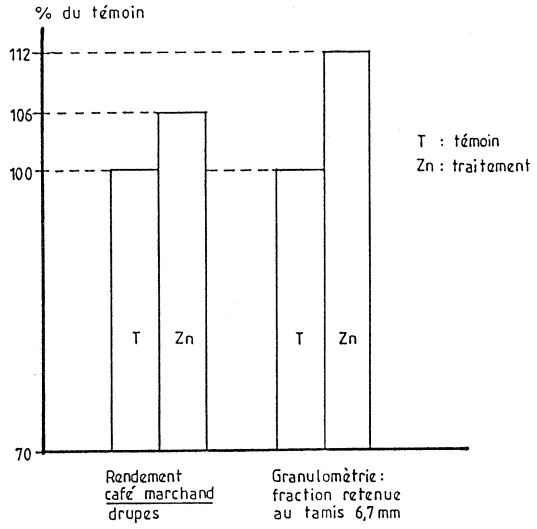


Fig. 4 : Rendement d'usinage et granulometrie

Le rendement et la granulométrie sont améliorés par le traitement de façon très hautement significative en deuxième année d'essai, tandis que le pourcentage de café lourd ne diffère pas significativement entre le témoin et le traitement.

La dégustation de la liqueur obtenue à partir du café marchand de chacun des objets a montré en première année une supériorité systématique du traitement dans toutes les répétitions. En moyenne le témoin a donné un café assez jaunâtre, dont la liqueur est assez légère, l'acidité moyenne et le corps moyen à léger ; tandis que le traitement a produit un café assez grisâtre dont la liqueur est bonne à franche, l'acidité bonne et le corps bon.

Une analyse biochimique effectuée par le laboratoire de l'IRCC sur deux échantillons composites a donné les résultats indicatifs suivants (exprimés par rapport à la matière sèche) :

		Témoin	Traitement
Matière grasse	%	15,2	14,9
Acides Chlorogéniques	%	6,9	6,3
Acides aminés totaux	%	7,02	7,37
Tryptophane	%	0,10	0,15
Zn (ppm)		9,5	13,2

La correction de la carence en zinc a donc permis d'augmenter les teneurs en tryptophane et en acides aminés totaux, molécules dont la synthèse est favorisée par cet oligo-élément.

CONCLUSION

La carence en zinc sur caféier arabica au Burundi est très fréquente et souvent intense dans les régions considérées comme modérément aptes à la culture. La correction par des applications foliaires de chélate de zinc (Chelal zinc) permet de déceler l'action très défavorable de la carence en zinc sur la qualité du café tant au niveau des fruits et des grains que de la liqueur. Ceci confirme l'action négative de la carence généralement reconnue sur la qualité des fruits des arbres fruitiers (Dartigues, 1964). Elle semble aussi influencer négativement la fécondation des fleurs. Par contre, l'essai n'a pas pu mettre en évidence d'influence sur la production après deux années d'observations, sans doute en raison d'une susceptibilité plus grande au Colletotrichum des fruits des caféiers traités.

L'essai sera poursuivi pendant encore une année et complété par une étude comparative de l'efficacité et de la rentabilité d'autres formulations du zinc (sulfate de zinc et oxyde de zinc). Le mode de correction de la carence par application au sol sera également envisagé ainsi que sa prévention par apport de zinc au moment de la plantation.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette étude et tout particulièrement Messieurs J. Gourdin du Laboratoire de l'ISABU, C. Otoul du service de Biométrie et R. Duchêne du Laboratoire de l'OCIBU.

BIBLIOGRAPHIE

Ananth, B.R. (1976).

Zinc deficiency in coffee.
Planters Chronicle, IxxI, 6, 209-210.

Cannell, M.G.R. (1985).

Physiology of the coffee crop.
In Coffee : botany, biochemistry and production of beans and beverage.
Ed. by M.N. Clifford and K.C. Willson
Croom Helm, London p 127.

Coffee Research Foundation, Ruiru (1977).
An atlas of coffee pests and diseases.
Ed. by The Coffee Board of Kenya p 55 et 145.

Culot, J.P. et Van Wambeke, A. (1958).
Contribution à l'étude des déficiences minérales du caféier d'Arabie au Kivu.
INEAC, 1958, série scientifique n° 73, pp. 105

Dartigues, A. (1964).

Les déficiences en zinc chez les végétaux et leurs causes.
Annales agronomiques 15, 6, 667-691.

Loué, A. (1986).

Les oligo-éléments en agriculture.
Agri-Nathan International pp 339.

Loué, A. (1987).

Le diagnostic sol pour les oligo-éléments.
SCPA Mulhouse - Département recherche et agronomie pp 12.

Willson, K.C. (1985).

Mineral nutrition and fertiliser needs.
In Coffee : botany, biochemistry and production of beans and beverage.
Ed. by M.N. Clifford and K.C.Willson
Croom Helm, London p 150.

LAMBOT (Ch.) - Le problème de la carence en zinc sur caféier arabica au BURUNDI

La carence en zinc apparaît comme étant un problème majeur à la culture du caféier arabica (Coffea arabica) dans les régions d'aptitude modérée du BURUNDI. Plus précisément dans le Kirimiro trois caféiers sur quatre y présentent des symptômes de carence et 13 % sont considérés comme fortement carencés. Les analyses foliaires ont confirmé que les teneurs en zinc sont inférieures au seuil de carence généralement admis, tandis que les analyses pédologiques ont mis en évidence le très faible niveau de zinc dans le sol ce qui compte tenu de leur acidité étaye l'hypothèse d'une carence d'origine tellurique.

Un essai de correction de la carence en zinc par des pulvérisations foliaires de chélate de zinc (Chelal zinc) a été initié afin d'estimer l'impact de cette carence sur la production et la qualité du café. Deux années d'observations montrent que les pulvérisations entraînent une disparition rapide et quasi complète des symptômes. Les teneurs en zinc des feuilles par rapport à la matière sèche augmentent de 5,6 ppm avant les pulvérisations à 14,5 ppm après. La composition biochimique des grains est modifiée par l'application de chélate de zinc, les teneurs en tryptophane et en acides aminés totaux sont augmentées. Le traitement favorise la fécondation des fleurs. Les fruits des caféiers traités sont plus lourds avec de gros grains et présentent un meilleur rendement d'usinage que les caféiers carencés. Les qualités organoleptiques de la liqueur des plants traités sont fortement améliorées. L'influence du traitement sur la production n'a pas pu être mise en évidence, probablement en raison d'une action perturbatrice de l'anthracnose des fruits.

Ces résultats indiquent que la carence en zinc a une action très défavorable sur la qualité des fruits et la liqueur des caféiers.

LAMBOT, (Ch.) - The zinc deficiency problem in arabica coffee in Burundi.

Zinc deficiency has appeared as a major problem in arabica coffee (Coffea arabica) in the moderately adapted regions of Burundi. In the Kirimiro region, for example, three out of four coffee bushes show deficiency symptoms and 13 % are considered highly deficient. Foliar analyses have confirmed that zinc levels are below the generally recognized threshold for deficiency. Soil analyses indicate very low levels of zinc in these acid soils, lending support to an hypothesis of a soil-derived deficiency.

A field experiment using foliar applications of chelated zinc ("Chelal zinc") to correct zinc deficiency in coffee was initiated to determine the effect of the deficiency on production and quality. Two years of observations indicate that spraying with chelated zinc results in rapid and almost complete disappearance of deficiency symptoms. Foliar zinc levels increased from 5.6 ppm dry matter before application to 14.5 ppm dry matter after. Zinc application increased the levels of tryptophan and total amino acids in the beans. Zinc treatment improved pollination. Fruit from treated bushes were heavier with larger beans and a greater processing efficiency than those from deficient bushes. The coffee liquor from treated plants had greatly improved taste and aroma compared to that from deficient plants. Zinc treatment had no effect on coffee yield, but yield potential was probably limited by an anthracnose infection.

These results indicate that zinc deficiency has a strong, adverse effect on the quality of coffee fruit and liquor.

COFFEE SURVEY IN PDR YEMEN

A. B. ESKES
Head Plant Breeding Service
IRCC, B.P. 5035
34032 Montpellier Cedex 1, France

A. W. O. MUKRED
Director of the Research and Extension Departement
Ministry of Agriculture
PO Box 1161, Aden, PDR Yemen

INTRODUCTION

The name of coffee has always been related to that of Arabia, the first region to cultivate and commercialize Coffea arabica. The Yemenese highlands can be considered as a secondary center of origin of C. arabica, from where it was introduced into Sri Lanka and Indonesia by the Dutch at the end of the 18 th century (Sylvain, 1956). Only little published information on genetic variation of Yemenese coffee is avaible so far. Sylvain (1956), in his travel report to North Yemen, describes coffee types containing bronze or green flushes, which resemble the Arabica (Typica) variety and the Harar coffee type, and also green flushing varieties resembling the Bourbon variety or the Irgalem coffee type. Cambrony et al. (1975), White (1975) and Wallyaro (1984) describe some caracteristics of coffee types found in North Yemen and cite locally used names : Udayni, Dohaïri, Toufahari, Matari, Hamadi, Jaari, Shibreghi and Shoutaeli, some of these types being apparently more or less similar (Cambrony et al., 1975). The authors recognize the lack of knowledge on the real genetic variability and recommend further studies including variety trials. Wallyaro (1987) describes morphological variation encountered during a brief visit to some coffee valleys in PDR Yemen and gives recommendations on coffee research including the creation of variety collections, to avoid further genetic erosion.

The present coffee survey was organised by IBPGR, Rome, on the request of the Ministry of Agriculture of PDR Yemen. The objective was to identify and describe the different coffee types growing in the country and to preserve the germplasm in collections. IRCC was asked to collaborate to the mission to offer expertise on variety identification. The survey was held from 15 April to 7 May 1989.

COFFEE CULTIVATION IN PDR YEMEN

Growing Conditions and Production

Coffee cultivation started in PDR Yemen at least 3 to 4 centuries ago. Very old coffee trees can be found in traditional coffee growing valleys. Coffee grows on terraces in deep valleys at altitudes ranging from 700 to 2,000 meters, but mostly from 1,200 to 1,800 meters. No data on rainfall in the coffee growing areas are available. However, rainfall is too limited and erratic to allow for rainfed coffee cultivation. Most coffee is flood-irrigated but in many areas supplemental well irrigation is applied in the dry season (October to February).

Coffee production in PDR yemen has decreased during the last decades due to periodic droughts, destruction of terraces by floods, and competition for arable land with food crops and qat. The present increased interest in the coffee crop is due to the relative high prices paid. Consequently, many young coffee plantations are present. Statistics on coffee cultivation have become available from the 1984/85 census. Total area under cultivation was estimated to be about 1,250 ha, with the number of trees being about 750,000. However, the tree number is probably underestimated as farmers tend to inform lower than real figures. No statistics are available on production. Productivity figures given by farmers range from 0.5 to 2.0 kg. of clean coffee per tree, therefore, the production capacity of coffee in PDR Yemen might be somewhere between 800 to 1,500 tons per year. Some potential exists for expansion of the coffee area, especially when funds become available for reconstruction of flood damaged terraces. In some areas, new valleys can be occupied.

Coffee is sold by the farmers as dried berries for about 3 dinar per kg (official rate 1989 : 0,29 D = 1 US $). Part of the crop used to be smuggled to other Arab countries, however in 1989 the government started buying coffee from the farmers in order to obtain export revenues. The coffee land and trees are highly valued in PDR Yemen ; one tree plus its land may be worth from 250 to 500 dinars.

Flowering and Harvest

Flowering of coffee occurs at the beginning of the two short rainy periods, in March/April and July/August, being more advanced at lower altitudes. Consequently, a small harvest is obtainded in Novembrer-December-January, the main harvest being from February to April. At lower altitudes development and ripening of the berries is quicker, the main harvest being in February/March. Due to this cropping pattern, at the time of the present mission ripe berries were found only from 1,600 m upwards. Most of the coffee was already harvested, but remaining ripe berries were often present.

Harvest is carefully done by picking individuel ripe fruits by hand, usually using ladders to reach the branches. The sweetnesss of the berries is a remarkable feature, which seems to be related to the dry climate and high sun light intensity. The harvested berries are dried on top of house roofs and commercialized as volume units of dried berries.

Cultural practices

Cultural methods used in PDR Yemen comprise planting of about 9 months old bare-rooted or bagged seedlings grown in small private nurseries which are often overshaded and lack fertilizer. Consequently, the seedlings are weak and need heavy shading after transplanting to the field. When replanting old coffee trees, large planting holes are usually prepared, in some instances up to 1.50 m deep and 1.00 m in diameter. The holes are filled with fresh soil which surely is of great importance for the development and longevity of the trees. Planting densities applied vary from about 2 x 2

to 4 x 4, or even 4 x 5 meters. Vigourous and strong varieties, like Tessawi and Odaynii, are planted at large distances providing enough space and light to the plants to grow up individually in a cylindrical shape to a height of 5 to 6 meters. Less vigourous varieties or varieties with more flexible branches normally are planted at higher density and a closed canopy is obtained when plants grow older. Varieties of short stature and more compact growth, as those found in the Ludia valley in the Dhala district, are planted at densities of about 2 x 2 meters.

Farmers induce multiple stems by bending young plants. Plants are never pruned back completely. Old plantations are mainly made up of trees with multiple stems. Each stem contains several heads, forced by farmers by cutting off the growing point at about 1.5 m height (for varieties with stiff branches) or, naturally, by bending down of branches. Consequently the shape of the plants varies according to the pruning applied and the flexibility of the branches.

Irrigation is practiced by flooding of the terraces in rainy periods and as supplemental well irrigation in the dry periods. One flood irrigation seems to provide enough water to maintain adult plants for 3 to 4 months. The floods carry new soil deposits to the terraces, which increase slowly in height. Incoming sand at the beginning of the terraces is periodically removed from the plantation. The base of the stems of old trees is generally 30 - 40 cm below the level of the soil.

Most soils are sandy-loam alluviates, with pH of 7.5 to 8.0. Due to the high pH and leakage of minerals at heavy floods, strong mineral deficiencies have been observed in most wadies ; iron, nitrogen and zinc deficiencies being more frequent. Also symptoms which resemble toxicity of chlore, with necrosis of the leaf tips, have been observed.

Most farmers do not apply fertilizers. Some reasoned that fertilization may cause over-bearing and die-back of branches. However, others use 20 to 40 l of cattle manure per tree in one application per year. In the El Hanashy valley (Rusud district), where exceptionally very light sandy soils are present, fertilization is apparently a common practice. One farmer applied three bags of manure per plant per year. Consequently no deficiencies were present in this valley and plant growth was abundant.

Most of the coffee plantations grow without shading, only very few plantations were partly shaded by Ziziphus trees. However, due to the steepness of the valleys, a certain amount of side shade is provided by the mountain ranges. Exposure to full sun does apparently not adversely affect development of plants, at least not when nutrition is sufficient. Intercropping of coffee with annual crops is a common practice, especially in young plantations. The annual crop is often planted too close to the coffee plants, thus causing competition for water and nutrients. This practice, and lack of fertilisation, appears to be the main reasons for the bad development of many young plantations.

Diseases and pests

Fungal leaf diseases of coffee are rare in PDR Yemen. Although coffee rust has been reported in a few valleys in North Yemen (Cambrony et al., 1975), this disease was not found during our survey ; probably the dry season is too prolonged in PDR Yemen for the rust to complete its live cycle. Only slight attacks of Cercospora were present. Die-back of a few coffee trees has been observed on two terraces, the cause of which is unknown.

Pests are of more importance, mostly the coffee berry borer and coffee leaf miner. The berry borer has reportedly been identified as Virachola bimaculata and,

according to local observations, losses due to this pest may amount to 20 %. V. bimaculata is a Lepidopterous pest and has also been reported in many African countries, but not in South America (Le Pelley, 1968). Intensity of coffee leaf miner was generally mild but in some valleys, like in Yahar, severe attacks were observed. In this valley also white mites were seen, damaging the coffee leaves, which could be related to usage of inproper insecticides. Furthermore, some incidence of fruit fly was observed, whose attack may depreciate the value of the coffee husk used for preparation of the local coffee beverages Kishr or Kahaa.

Research and Extension

At present no research structure for coffee exists in the country. Funds may possibly become available shortly to create a small research center in one of the coffee growing areas. The government operates two nurseries, one in the Rusud area and one in Laudar, which provide a few thousand seedlings per year to be distributed freely to the farmers. Private farmers sometimes maintain nurseries, especially in traditional coffee valleys like Ayasa and Shaab el Arab. Two extension workers are based in the coffee areas, however available information on current coffee growing practices in other countries is very limited.

COFFEE AREAS VISITED

The two major coffee areas in PDR Yemen, the Yaffaa and Rusud districts, are localized about 100 km North from Aden, in the governorates of Lahej and Abyan, repectively. Both areas contain a similar amount of coffee trees (about 350 000) and are geographically adjacent being connected by one coffee producing valley.

A third coffee area of less importance is the Dhala district (also in the Lahej governorate, but more to the west). Only a few coffee producing valleys exist in this district, and the number of coffee trees has been reduced in recent years due to droughts and competition of qat.

The main coffee producing valleys, specially the traditional ones containing old plantations, have been visited during the survey. The number of valleys visited were six in Yaffaa, 14 in Rusud and three in Dhala. Some important valleys, like the Ayasa valley, could not be fully surveyed due to its partial inaccessability. A further limitation was the lack of sufficient ripe berries at lower altitudes (below 1 500 m) due to the advancement of the harvest in these areas.

METHODOLOGY APPLIED FOR VARIETY IDENTIFICATION

The variation of the coffee populations was studied by observing the following plant characteristics :

. tree : - shape (conical, intermediate, cylindrical)
- growth habit (open, normal, compact)
- height (tall = over 4 meters, medium = 3 to 4 meters, small = lower than 3 meters)
- number of stems or heads (one, few, many)

. primaries : - angle of 10 th node (semi erect = about 45°, nearly horizontal = about 67° and horizontal = about 90° angle with main stem)
- secondary branding (profuse, normal, slight)
- internode length (long, medium, short, very short)
- strength (thin-drooping, average, thick-strong)

. leaves : - colour of flushes (bronze, light bronze, green)
- colour of adult leaves (dark green, normal, light green)
- size (large, medium, small)
- shape ("typica", intermediate, "bourbon")
- surface (ondulated, intermediate, flat)

. fruits : - number per axil (many, average, few)
- size (large, medium, small)
- shape (pointed, elongated, elliptic, rounded)
- size of disc (large, medium, small)

. beans : - size (large, medium, small)
- shape (pointed, elongated, elliptic, rounded)
- % pea berries (many, few, none)
- % elephant beans (high, medium, low, none)

The above observations have been completed by the information given by farmers, mainly on local naming of coffe types, fertilizer usage, vigour and production capacity.

Many of the observed characters are affected by environment. Therefore, the description of the main coffee types given hereafter should be considered only as indicative, and would need further confirmation by observation in the collections to be established with the seed samples.

MAJOR COFFEE TYPES FOUND

The more distinct coffee types described hereafter represent coffee populations which have several important characteristics in common. Within each type variants may be found, which could be considered as varieties or land races. The description of the six major coffee types identified is as follows :

A. ESSAII

Coffee type occurring mainly in old plantations, predominant in several valleys of the Yaffaa district like Yahar, Dinakheb and Tullub. The meaning of Essaii is "from Ayasa", which is a traditional valley in the Yaffaa area for production of coffee seedlings.

The Essaii type is considered by the farmers as a regular bearer, quite productive and rather vigourous. Trees are of medium size, growing to about 4 meter height. A typical characteristic is the great flexibility of its stems, each forming multiple heads due to bending of productive branches. The shape of the young tree (with one stem) is conical, with quite open growth. Old trees grow bushy, with multiple stems and many small heads showing frequent die-back of short primaries after bearing. Primaries are relatively thin and may break easily, specially of younger plants and at lower altitudes. The angle of the primaries with the main stem is nearly horizontal to semi-erect. The internode length is intermediate.

The young leaf flushes are light bronze to green. The leaf shape is that of "typica" (narrow and pointed), but a certain variation can be found. Leaf size is average. The fruits are medium sized to small, with elliptic rounded shape. The seeds are relatively small, with elliptic or elliptic rounded shape. Some variants show a certain percentage of elephant beans.

Several characteristics of the Essaii type resemble those of the Arabica (Typica) variety, except its smaller, more rounded fruits and lighter bronze or green leaf flushes.

B. ODAYNII

Variable coffee type, most widely found in all coffee areas visited. Odaynii means "coming from Udayni", a coffee area in the Yemen Arab Republic (YAR). Its characteristics are however different from the Udayni variety reported in YAR as described by Cambrony et al. (1975).

This type is vigourous and apparently highly productive when young, but less adapted to the no-pruning system, becoming less productive when aged. It is an irregular bearer (more pronounced bienniel bearing), showing severe symptoms of die-back of branches after years of high production. The tree is slightly taller than Essaii, with fewer and less flexible main stems, which tend to break easier and form fewer heads than Essaii.

The primaries are nearly horizontal. Young leaf flushes are green to light bronze, the size of adult leaves is average to large, with shape intermediate between that of "bourbon" and "typica". The leaf surface is quite flat. Fruits have a similar shape than Essaii (elliptic rounded), but may vary considerably in size, normally being slightly bigger than those of Essaii. The beans are normally medium sized, elliptic-elongated and variation for the percentage of elephant beans can be found, generally being quite low. The endosperm is often incompletely developed, irregular shaped and with quite deep furrows.

Considerable variability within this coffee type can be found in certain valleys, as in Shaeeb el Arab, whereas in other valleys the Odaynii type is more fixed (e.g. Hamoma).

C. TESSAWI

This vigourous coffee type is preferred by the farmers to establish new plantations in the Rusud area and also, less frequent, in Yaffaa. Tessawi means "from Tessa", a valley in the Rusud area uniformly planted with this type.

The Tessawi type was identified by some farmers as "Matari", but this name should not be adopted as the Matari variety reported in the Yemen Arab Republic is definitely a different type (Cambrony et al., 1975).

The characteristic features of Tessawi are its great vigour and productivity, rather compact cilydrical growth, tall size (reaching 5 to 6 meters in 12 years) strong stems and primaries, bronze coloured leaf flushes and large dark green adult leaves, bold fruits with medium to large discs and large irregulary formed seeds. A typical feature is the high percentage of elephant beans found in all representatives of this type (50 to 80 %).

D. KATII

Katii means "coming from Katy", which is the higher part of the Shaeeb el Ermy valley (Rusud area) where it occurs quite uniformly in old plantations.

This seems an interesting type because of is productivity, nice elongated bean shape and low percentage of elephant beans. The plant growth is somewhat intermediate

between Odaynii and Essaii. Branches are quite flexible, resulting in multiple stems and heads for old plants. The angle of primaries varies from nearly horizontal to semi-erect. Leaf flushes are bronze to light bronze. Adult leaves are of intermediate shape between "bourbon" and "typica" types and of average size. The fruits are large, elongated elliptic, with small to medium sized discs. The seeds are also large and uniformly elongated elliptic. Elephant beans are normally absent.

E. LUDIA COMPACT

This type was only found in plantations in the lower part of the Ludia valley (Dhala district). As no local name existed, it was called "Ludia Compact".

This type resembles a more compact Essaii type. Plants are less vigourous with short stature. Tree shape is conical with thin drooping primaries. The angle of the 10th node is nearly horizontal. Internode length is short. Leaf flushes are light bronze, leaves are small and of "typica" shape. Fruits and beans are small, elliptic rounded. Very few elephant beans were present.

F. HEWLE COMPACT

This type was named after the Hewle valley (side valley of Ludia, Dhala district) the only place where it was found. It resembles a more compact Odaynii type, but could also be related to Tessawi.

Plants are vigourous with compact growth, and apparently good production capacity. Main stems are strong. Primaries are nearly horizontal. Leaf flushes are light bronze, adult leaves dark green and quite large with shape resembling the "bourbon" type. Fruits are medium sized to large, elliptic rounded with average to small discs. Seeds are medium sized to large, elliptic rounded with a rather high percentage of elephant beans.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Production of coffee in PDR Yemen has decreased during the last decades due to competition for suitable land with food crops and with qat, and due to periodical droughts or destruction of terraces by heavy floods. This tendendy endangers the conservation of genetic variability. Therefore, the objective of the present mission was to identify and describe different coffee types and to preserve the germplasm in collections.

Variation was observed for most characters, like plant type, growth habit, plant height, angle of primaries, colour of leaf flushes, shape of leaves, size and shape of fruits and beans and presence of elephant beans. Little variation was found for fruit colour (red) and percentage of pea berries (low). Vigour and productivity under Yemenese conditions can be considered as average to good.

Based on the observed morphological variation and on information supplied by the farmers, six distinct coffee types were identified. In total 22 seed samples were taken, 15 of which represent the six coffee types while seven samples were obtained from local variants or from very old coffee plantations. Within the main coffee types residual variation has been observed, wich would permit for selection, specially so among the more variable Odaynii type.

The variability observed in PDR Yemen appears to have resemblance with caracteristics of the cultivars Arabica and Bourbon. Some traits of the Arabica cultivar are certainly present, like flexibility of the stems (Essaii, Katii), leaf shape (Essaii, Ludia Compact), fruit shape and size (Katii) and thin fragile primaries (Essaii). Other types show more similarity with the Bourbon variety, like stiff branches and smaller rounder fruits and beans (Odaynii). The resemblance in traits would not necessarily mean that the fixed Arabica and Bourbon varieties, as present in other countries, would exist in the same form in PDR Yemen, but it certainly strengthens the idea that both varieties originated from Yemen.

Also, a certain relationship between coffee types of PDR Yemen and those described in the Yemen Arab Republic can be expected. In fact, the types indicated by Cambrony et al. (1975) may be related to those found in our survey ; resemblance could exist respectively between Essaii and "Udayni", Odaynii and "Dahaïri", Katii and "Touhafari" and between Tessawi and "Shibreghi". The coffee characteristics of the Arabica and Bourbon varieties and Harar or Irgalem coffee types, as noted in YAR by Sylvain (1956), would also be in accordance with the type of variability found during our survey. Exchange of coffee varieties between YAR and PDR Yemen and establishment of regional collections and variety trials would be of interest to determine the exact relationship between the coffee types present in both countries.

ACKNOWLEDGEMENTS

The IBPGR, Rome, is to be acknowledged for the general arrangements and financial support of the mission. The numerous coffee growers in PDR Yemen are thanked for their valuable information and hospitality. Thanks go to the Deputy Director of the Research and Extension Department of the Ministry of Agriculture of PDR Yemen, Dr. ABDULLA Ali Abdulla, to the Director of the El-Kod Research Center, Dr. Ab.S. Mu'allem, to Mr. Moustapha M. Saqqaf for his participation in the survery, to the Directors of Agriculture in the Rusud and Yaffaa districts, Mrs. Ali Salem and Adbul-Rab Saleh ALi, respectively, to the extension agents in these areas, to the coffee grower Mr. Ahmed Sales Hanash for his information and hospitality and, last but not least, to the driver Mr. Surur whose enthusiasm and great ability to drive on the difficult highland tracks made the trip more pleasant and less unconfortable.

REFERENCES

CAMBRONY, H.R. ; VINCENT, J.C. and WIERER, C., 1975. Coffee in Yemen, 1975. Technical Report to FAO/UNDP and Government of the Yemen Arab Republic, April/May 1975, FAO, Rome.

LE PELLEY, R.H., 1968. Pests of Coffee, Longmans (London), 590 pp.

WALLYARO, D.J.A., 1984. Yemen, Recommendations for Variety Collection. Research and Development. Mission Report, F.A.O., Rome, 44pp.

WALLYARO, D.J.A., 1987. Peoples Democratic Republic of Yemen. Coffee Production and Development. Mission Report, F.A.O. Rome, 23 pp.

WHITE, R.G., 1975. Coffee Production in the Yemen Arab Republic. Mission Report. FAO, Rome. 10pp.

SYLVAIN, P.G., 1956. Le café du Yemen. L'Agronomie Tropicale XI (1) : 62-73.

COFFEE SURVEY IN PDR YEMEN

A.B. ESKES and A.W.O' MUKRED

SUMMARY

Results are presented on a coffee survey held in PDR Yemen during April/May 1989 organized by IBPGR (Rome), the Ministry of Agriculture of PDR Yemen in Aden, and IRCC (France). The objective was to identify, describe and preserve local coffee types (Coffea arabica). Firstly, background information is presented on coffee production and cultural practices. Six distinct coffee types were identified based on variation for morphological characters and named according to local usage or valley of origin. Totally, 22 seed samples were obtained for establishment of collections. The possible relationship of the six coffee types with the Arabica (Typica) and Bourbon varieties are discussed, as well as with coffee types reported to occur the the Yemen Arab Republic.

PROSPECTION DU CAFEIER EN PDR YEMEN

A.B. ESKES et A.W.O' MUKRED

RESUME

Les résultats présentés sont ceux d'une prospection réalisée en PDR Yemen pendant les mois d'avril et mai 1989 et organisée par l'IBPGR (Rome), le Ministère de l'Agriculture de PDR Yemen en Aden et l'IRCC (France). L'objectif de la prospection était d'identifier, de décrire et de collecter des types locaux du caféier Coffea arabica. D'abord, la production de café et les méthodes de culture sont brièvement discutées. Six types ont été distingués sur la base des observations morphologiques et identifiés suivant les noms locaux ou les vallées d'origines. Au total, 22 échantillons de semences ont été récoltés pour établir des collections. Les relations possibles des six types identifiés avec les variétés Arabica (Typica) et Bourbon , comme aussi avec des types du caféier décrites en République Arabe du Yemen sont discutées.

MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL CAFÉ EN VENEZUELA : ENSAYOS INSTALADOS

N. GARCÍA ANDRADE
Apartado de Correo 4, Bocono, edo Trujillo, Venezuela

MATERIALES Y METODOS

Los primeros trabajos inciden sobre 45 introducciones, portadoras de genes para resistencia a roya, cuya identificación, generación de los híbridos en la progenie, porte y resistencia a Hemileia vastatrix son presentados en el cuadro N°1.

CUADRO N°1

Introducción UCV, designación y generación del híbrido en la progenie, porte y resistencia a Hemileia vastatrix, de selecciones de café recibidas en 1982 de la UFV, INMECAFE, PROMECAFE e IAC (1)

Introducción UCV	Designación	Generación del híbrido	Porte genotipo	Grupo O GEN SH
UCV 101	CATUAI ROJO IAC/UFV=2144	F_n	Ctct	E = SH5
" 102	CAVIMOR CIFC/UFV =3400	F_3	CtCt	A,1,2,3,Ró4
" 103	" " " =3539	F_3	Ctct	"
" 104	" " " =3603	F_3	Ctct	"
" 105	CATIMOR " " =2344	F_5	"	"
" 106	" " " =2345	"	"	"
" 107	" " " =2346	"	"	"
" 108	" " " =2860	"	Ctct	"
" 109	" " " =2862	"	Ctct	"
" 110	" " " =2864	"	"	"
" 111	" " " =3864	"	"	"
" 112	" " " =3865	"	Ctct	"
" 113	" " " =3867	"	Ctct	"
" 114	" " " =4030	"	Ctct	"
" 115	" " " =4031	"	"	"
" 116	" " " =4040	"	"	"
" 117	" " " =4041	"	"	"
" 118	" " " =4050	"	"	"

CONTINUACION CUADRO Nº1

Introducción UCV	Designación	Generación del hibrido	Porte genotipo	Grupo O GEN SH
UCV 119	CATIMOR CIFC/UFV =4051	F_5	Ctct	A,1,2,3,R64
" 120	" " " =4264	"	Ctct	"
" 121	" " " =4265	"	Ctct	"
" 122	" CENICAFE/PN =4642	F_4	Ctct	"
" 123	" " " =4652	"	Ctct	"
" 124	" " " =4670	"	Ctct	"
" 125	" " " =4673	"	Ctct	"
" 126	" " " =4690	"	Ctct	"
" 127	" " " =4694	"	Ctct	"
" 128	" " /UFV =4709	"	Ctct	"
" 129	" CIFC=Población 1;CIFC 7960	F_6	CtCt	A y 1
" 130	" CIFC=Población 3;CIFC 7962	"	"	"
" 131	GARNICA (INMECAFE)	$F_?$	"	E = SH5
" 132	CATIMOR CIFCH46=INMECAFE 8934	F_3	"	A,1,2,3,R64
" 133	SANCHIMOR CIFCH361=INMECAFE 8934	F_3	"	"
" 134	CATIMOR CENICAFE " 8944	"	"	"
" 135	S 12 Kaffa " 8953	S_n	Ctct	SH1 - SH4
" 136	Blue Mountain x HT INMECAFE 8959	F_3	"	A,1,2,3,R64
" 137	S 12 Kaffa D & A alghe, CIFC H 69	"	"	SH1 - SH4
" 138	BE-5 Wuch W x s 288-23, CIFC H 81	"	"	SH1-SH3-SH4-SH5
" 139	KP 423 x S.12 Kaffa INMECAFE 8977	"	"	SH1-SH2-SH4-SH5
" 140	Dilla & A x B.A. 16 INMECAFE 8999	"	"	SH1-SH2-SH3-SH5
" 141	K 7 x S.12 Kaffa INMECAFE 9707	"	"	SH1-SH2-SH4-SH5
" 142	SARCHIMOR CIFC H361=INMECAFE ?	"	"	A,1,2,3,R64
" 143	Blue Mountain x H.T,INMECAFE 9334	"	ctct	A,1,2,3,R64
" 144	CATIMOR Col A, PROMECAFE	?	CtCt	"
" 145	HIBRIDO DE TIMOR, PROMECAFE 5319 (2-3)		ctct	"

UFV = UNIVERSIDAD FEDERAL DE VICOSA (M.G. BRASIL)
CENICAFE = CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DEL CAFE (Chinchiná, Colombia)
CIFC = CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS ROYAS DEL CAFETO (Oeiras, Portugal)
IAC = INSTITUTO AGRONOMICO DE CAMPINAS, BRASIL
INMECAFE = INSTITUTO MEXICANO DEL CAFE (Xalapa, Mexico)
P.N. = ESTACION EXPERIMENTAL PONTE NOVA (EPAMIG, Brasil)
CtCt = Porte pequeño homocigoto (Caturra, Catuai, ETC)
Ctct = Porte pequeño heterocigoto (Caturra, Catuai, ETC)
ctct = Porte normal homocigoto (Bourbón, Mundo Novo, etc.)

Las evaluaciones en vivero permitieron descartar, por no corresponder al tipo Catimor, las siguientes introducciones: UCV 108, UCV 112, UCV 120 y UCV 128 y no germinaron las introducciones UCV 144 y UCV 145. Las introducciones fueron colocadas en 7 ensayos regionales. En las localidades de Caripe, Villanueva, Biscucuy y Cataurito, con un diseño experimental de bloques al azar, 4 repeticiones y 5 plantas por parcela, una planta por hoyo y dos hileras de bordura de Garnica. En las localidades de Boconó y El Laurel con un diseño experimental totalmente alectorizado, con 14 repeticiones, 1 planta por hoyo y 2 hileras de bordura de Garnica. En la localidad de Bramón, por pérdida de la mayor parte del material en fase de vivero, se instaló un campo de observación y selección con número variable de plantas por introducción. Todos los ensayos fueron sembrados con sombra permanente de guamos (Inga sp.) y sombra provisional de quinchoncho (Cajanus cajan) con una fertilización moderada y sin controles fitosanitarios. Las evaluaciones se realizaron mediante los siguientes parámetros: producción acumulada por planta, porcentaje de frutos vanos, vigor mediante escala de 10 puntos, porte y conformación de la planta, color de los frutos y color de los brotes, en lo que respecta a características fenotípicas. En cuanto al comportamiento a plagas y enfermedades las evaluaciones se hicieron sobre minador (Leucoptera coffeella Green), escamas (Coccus viridis, Lepidosaphes beckii, Saissetia hemisphaerica, Yceyra purchasi), áfidos (Toxoptera spp.) cóccidos (géneros de Neorhizoeccus, Toumeyella, Pseudococcus, Geococcus), ácaros (Oligonychus yothersi Mc. Gregor) nemátodos (Meloidogyne incognita y Meloidogyne exigua), cercospora (Cercospora coffeicola

Berk y Cooke), derrite (Phyllosticta coffeicola Speg.), antracnosis (Colletotrichum coffeanum) arañera (Corticium koleroga (Cook) Von Honnel) y llaga negra (Rosellinea bunodes (Berk y Br.) Sacc.) mediante escalas apropiadas. Cuando las plantas entraron en producción se inicio la selección de las mejores para ser sometidas, mediante su progenie, a pruebas de resistencia a la roya en el CIFC. En el periodo 1984-1985 se hicieron nuevas introducciones que fueron puestas en ensayos en la Estación Experimental "Jaime Henao Jaramillo", El Laurel, de la Universidad Central de Venezuela y en la Hacienda San Giusto, Boconó, Edo. Trujillo, según se especifica a continuación:

- Evaluación de híbridos F1 "Cavimor" , "Catimor x Catuaí" y "Catuaí x Catimor", sintetizados en el CIFC.

- Campos de observación y selección de híbridos F1 "Cavimor".

Estos híbridos fueron sintetizados en el CIFC con la idea de transferir al Catimor las bondades del Catuaí especificamente alta producción, vigor y posiblemente factores poligénicos para resistencia a Hemileia vastatrix. Estos trabajos buscan evaluar su comportamiento a fin de que aquellas combinaciones F1 que se muestren promisorias puedan ser multiplicadas por via vegetativa o sexual a escala comercial. Los materiales en estudio y sus especificaciones se hallan en los Cuadros N°2 y 3 respectivamente.

- Estudio de competición de progenies F5 y F6 "Catimor" y líneas del cultivar "Catuaí".

Se pretende con este trabajo evaluar el potencial agronómico de las cinco poblaciones CIFC del híbrido Catimor y varias líneas del Catuaí, contra dos selecciones locales de Catuai, El Laurel y Las Lomas, esta última con un comportamiento excepcional en el país (Cuadro N°4).

- Estudio de progenies F3 de "Catimor" CENICAFE, "Catimor", "Sarchimor", "Cavimor", CIFC y otros híbridos resistentes a la roya.

En este ensayo se busca evaluar las progenies de estos híbridos, en su mayoria F3, para hacer selección familiar e individual y luego pasar a un siguiente ciclo de selección. Las especificaciones se hallan en el Cuadro N°5.

- Ensayos de progenies de Icatú y otros materiales de porte normal.

Este trabajo tiene como principal objetivo la evaluación y selección familiar e individual de genotipos resistentes y estudiar la posibilidad de uso de algunos de ellos a escala comercial. Los materiales en estudio y especificaciones se presentan en el Cuadro N°6.

- Campo de observación y selección de genotipos resistentes a la roya.

Este campo está formado por híbridos resistentes a Hemileia vastatrix (Catimor, Sarchimor, Cavimor e Icatú) cuyas progenies no poseían suficiente número de plantas para ser puestas en ensayo. Se busca evaluar el comportamiento de estos híbridos para efectuar selección (Cuadro N°7).

- Campos de evaluación y observación de materiales resistentes a la roya, entregados a los productores en 1985.

En 1985 debido a la presión por semilla resistentes se hicieron tres mezclas de Catimor para ser entregados a los productores: Mezcla 1, formada por semillas de plantas de fenotipo similar, del híbrido Catimor, de frutos rojos. Mezcla 2, formada por semillas de plantas de fenotipo similar al híbrido Catimor CENICAFE, de frutos amarillo. Mezcla 3, igual que la mezcla 1 pero de porte alto. Se busca evaluar en parcelas semicomerciales el comportamiento de estos materiales. Las plantas que formaron parte de las mezclas y sus características se hallan en el Cuadro N°8. Los ensayos fueron sembrados a 2,5 m x 1,5 m en bloques al azar con 6 repeticiones y 4 plantas por tratamientos. Dos hileras de bordura general y separación entre tratamientos de una planta, con la selección Las Lomas del cultivar Catuaí. Todos los ensayos tienen dos testigos del cultivar Catuaí, selecciones El Laurel y Las Lomas con y sin tratamiento fitosanitario. Simultáneamente se sembró sombra provisional de quinchoncho. Estos ensayos serán conducidos a pleno sol. Los parámetros a ser evaluados son: vigor vegetativo (escala 1:10), porte, color de frutos, producción acumulada por seis cosechas, porcentaje frutos vanos, análisis granumétrico de la semilla y comportamiento a las principales plagas y enfermedades. Eventualmente se harán estudios de calidad de la bebida a aquellas selecciones sobresalientes.

- Comportamiento de progenies de híbridos Catimor, Cavimor, Sarchimor y otros, a las principales zonas de café en Venezuela. Ensayo en Boconó, Edo. Trujillo.

- Comportamiento de las poblaciones Catimor y otras selecciones resistentes a Hemileia vastatrix Berk. y Br. en Boconó, Estado Trujillo, Venezuela.

Mejoramiento genético del cafeto en Venezuela, ensayos instalados en El Laurel en 1986. "Evaluación de híbridos F1 Cavimor - Catimor x Catuaí y Catuaí x Catimor - sintetizados en el CIFC".

CUADRO Nº2 - Introducción UCV, tratamientos y especificaciones.

Introducción UCV		Tratamiento Nº	Especificaciones	
UCV	165	01	CIFC	H718
"	169	02	"	H726
"	171	03	"	H728
"	189	04	"	H761
"	210	05	"	H774
"	211	06	"	H788
"	213	07	"	H798
"	214	08	"	H799
"	215	09	"	H805
"	216	10	"	H806
"	217	11	"	H807
"	148 *	12	CIFC POBLACION 3	
"	148 **	13	" " "	
"	EL 269 *	14	CATUAI SELEC. EL LAUREL	
"	EL 269 **	15	" " " "	
"	249 *	16	CATUAI SELEC. LAS LOMAS	
"	249 **	17	" " " "	

* Testigos con tratamiento fitosanitario
** " sin " "
CIFC : CENTRO DE INVESTIGACAO DAS FERRUGENS DO CAFEEIRO, OEIRAS, Portugal
UCV : UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Mejoramiento genético del cafeto en Venezuela, ensayos instalados en El Laurel en 1986. "Campo de observación y selección de híbrido F1 Cavimor sintetizados en el CIFC".

CUADRO Nº3 - Introducción UCV, especificaciones y número de plantas sembradas.

Introducción UCV		Especificaciones		No. Plantas
UCV	165	CIFC	H718	13
"	166	"	H719	14
"	167	"	H720	06
"	168	"	H724	08
"	169	"	H726	13
"	170	"	H727	09
"	172	"	H729	12
"	174	"	H734	11
"	175	"	H737	08
"	176	"	H738	06
"	177	"	H739	04
"	179	"	H743	02
"	180	"	H744	07
"	181	"	H746	10
"	182	"	H747	04
"	183	"	H749	11
"	187	"	H756	07
"	189	"	H761	02

CONTINUACION CUADRO N°3

Introducción UCV		Especificaciones		No. Plantas
UCV	210	CIFC	H774	23
"	211	"	H788	26
"	212	"	H797	11
"	213	"	H798	15
"	214	"	H799	11
"	215	"	H805	19
"	216	"	H806	07
"	217	"	H807	26

CIFC : CENTRO DE INVESTIGACAO DAS FERRUGENS DO CAFEEIRO, OEIRAS, Portugal
UCV : UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Mejoramiento genético del cafeto en Venezuela, ensayos instalados en El Laurel en 1986. "Estudios de competición de progenies F5 y F6 de Catimor y líneas de Catuaí".

CUADRO N°4 - Introducción UCV, tratamientos y especificaciones.

Introducción UCV		Tratamiento No.	Especificaciones
UCV	146	01	CIFC POBLACION 1, CATIMOR F6
"	147	02	" " 2, " "
"	148	03	" " 3, " "
"	149	04	" " 4, " "
"	218	05	5175 - 3,1 " F5
"	107	06	UCV 107-155 EPI.2 " F6
"	218	07	5175 - 3,1 " F5
"	219	08	11670 - 2 " F4 o F5
"	222	09	CH 2077-2-5-81 Catuaí rojo
"	223	10	CH 2077-2-5-37 " "
"	224	11	CH 2077-2-5-86 " amarillo
"	199	12	CH 2077-2-5-84 " rojo
"	EL 269 *	13	Catuaí rojo selección El Laurel
"	EL 269 **	14	" " " "
"	249 *	15	Catuaí amarillo, selección L. Lomas
"	249 **	16	" " " "
"	219	17	11670 - 2 Catimor F4 o F5

UCV 218 y UCV 219 están repetidos por sustitución de la población 5 y Villa Sarchi respectivamente por no haber plantas suficientes.
* Testigos con tratamiento fitosanitario
** " sin " "
5175 y 11670: Numeros del Banco de Germoplasma del PROMECAFE

Mejoramiento genético del cafeto en Venezuela, ensayos instalados en El Laurel en 1985. "Estudios de progenies F3 de Catimor CENICAFE y otros híbridos resistentes a Hemileia vastatrix Berk. y Br.".

CUADRO N°5 - Introducción UCV, tratamientos y especificaciones.

Introducción UCV		Tratamiento No.	Especificaciones
UCV	151	01	CENICAFE PL 870, Catimor F3
"	152	02	" " 930, " "
"	155	03	" " 1323, " "
"	156	04	" " 1339, " "
"	158	05	" " 698, " "

CONTINUACION CUADRO Nº5

Introducción UCV	Tratamiento No.	Especificaciones
UCV 159	06	CENICAFE PL 779, Catimor F3
" 162	07	" " 1871, " "
" 163	08	" " 1891, " "
" 164	09	" " 1902, " "
" 102	10	UCV 102-312 EPI.2, " F4
" 228	11	IAC C 2525, " F?
" 254	12	" C 1668-14, " "
" 229	13	" C 2546-4, SL14 x Catimor F?
" 220	14	5305, Catimor F3
" 221	15	5296, Sarchimor F3
" 249 *	16	Catuaí selección Las Lomas
" 249 ++	17	" " Las Lomas

* Testigos con tratamiento fitosanitario
** " sin " "
5305 y 5206: Numeros del Banco de Germoplasma del PROMECAFE
CENICAFE : CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFE, Chinchiná, Colombia
IAC : INSTITUTO AGRONOMICO DE CAMPINAS, Brasil
UCV : UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Mejoramiento genético del cafeto en Venezuela. Ensayos instalados en El Laurel en 1986. "Estudio de progenies Icatú y otros materiales de porte normal".

CUADRO Nº6 - Introducción UCV, tratamientos y especificaciones.

Introducción UCV	Tratamiento No.	Especificaciones
UCV 230	01	IAC H4782-13 C 378 ICATU
" 231	02	IAC H4782-10 C 826 "
" 233	03	IAC H4782- 7 C1977 "
" 234	04	IAC H3851- 2 C 775 "
" 255	05	IAC H4782-10 C 358 "
" 253	06	IAC Híbrido de Timor COLECCION
" 252 *	07	IAC LCP 379-19 Mundo Novo
" 252 ++	08	IAC " " " " "
" 143	09	UCV 143-330 EPI.2
" 140	10	UCV 140-335 EPI.2
" EL 269	11	CATUAI Selección EL LAUREL
" 249	12	" " LAS LOMAS

* Testigos con tratamiento fitosanitario
++ " sin " "
IAC: INSTITUTO AGRONOMICO DE CAMPINAS, Brasil
UCV: UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Mejoramiento genético del cafeto en Venezuela, ensayos instalados en El Laurel en 1986. "Campo de observación y selección de genotipos resistentes a la roya".

CUADRO Nº7 - Introducción UCV, especificaciones y numero de plantas.

Introducción UCV	Especificaciones	No. Plantas
UCV 200	IAC C 1669-31 EP272 C 571 SARCHIMOR	03
" 202	" C 1669-13 EP272 C2501 "	05
" 203	" C 1669-7-12 EP209 C3286 "	04
" 204	" C 1669-18 EP209 C3410 "	04

CONTINUACION CUADRO N°7

Introducción UCV		Especificaciones		No. Plantas
UCV	221	PROMECAFE 5296 - 1,1	SARCHIMOR	10
"	255	IAC H 4782-10 C 358	ICATU	10
"	231	" H 4782-10 C 826	"	10
"	230	" H 4782-13 C 378	"	10
"	193	" H 13488	CATIMOR	06
"	194	" H 13491	"	02
"	107	UCV 107-155 EPI.1	"	10
"	253	IAC HIBRIDO DE TIMOR COLECCION		07
"	152	CENICAFE pl. 930	CATIMOR	10
"	153	" " 934	"	07
"	154	" " 1314	"	07
"	156	" " 1339	"	10
"	157	" " 967	"	08
"	158	" " 698	"	04
"	159	" " 779	"	10
"	160	" " 1843	"	02
"	161	" " 1845	"	10
"	162	" " 1871	"	10
"	163	" " 1891	"	07
"	220	PROMECAFE 5305-1,5	CAVIMOR	10
"	102	UCV 102-312 EP1.2	"	10
"	171	CIFC H 728	"	04
"	EL 269	CATUAI SELECCION EL LAUREL		10
"	249	CATUAI SELECCION LAS LOMAS		10

CENICAFE: CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACION DEL CAFE, Chinchiná, Colombia
CIFC : CENTRO DE INVESTIGACAO DAS FERRUGENS DO CAFEEIRO, Oeiras, Portugal
IAC : INSTITUTO AGRONOMICO DE CAMPINAS, Brasil
PROMECAFE: PROGRAMA COOPERATIVO REGIONAL PARA LA PROTECCION Y MODERNIZACION DE LA CAFEICULTURA EN MEXICO, CENTROAMERICA Y PANAMA, San José, Costa Rica
UCV : UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Mejoramiento genético del cafeto en Venezuela, ensayos instalados en El Laurel en 1986. "Campo de observación y evaluación de materiales entregados a los productores resistentes a la roya".

CUADRO N°8 - Introducción UCV y especificaciones

Introducción UCV		Especificaciones	
UCV	143	UCV 143-330 EP1.2	PORTE ALTO
"	140	" 140-335 "	" "
"	N	" MEZCLA 3 CATIMOR	" "
"	N	" " 1 "	" BAJO
"	N	" " 2 "	" "
"	148	CIFC P3 "	" "
"	149	" P4 "	
"	249	CATUAI SELECCION LAS LOMAS	

N : Mezcla de semillas de distintos cafetos pero con características semejantes.
CIFC : CENTRO DE INVESTIGACION DE LAS ROYAS DEL CAFETO (Oeiras, Portugal)
UCV : UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos del ensayo "Comportamiento de las poblaciones Catimor y otras selecciones resistentes a Hemileia vastatrix Berk. y Br. en Boconó, Edo. Trujillo, Venezuela" permiten concluir que las poblaciones Catimor CIFC P1, P2, P3, P4, y P5 constituyen una alternativa válida en la sustitución de nuestros cafetales por cultivares resistentes a la roya.

En cuanto al ensayo "Comportamiento de progenies de híbridos Catimor, Cavimor, Sarchimor y otros, en Boconó, Edo. Trujillo, Venezuela" se puede señalar que el proceso de selección permitio identificar y seleccionar familias homogénias para porte, con producciones superiores a los testigos y con un comportamiento aceptable en cuanto a plagas y enfermedades y con resistencia a la roya (cuadro Nº5).

Estas familias que sólo requieren ser sometidas a un proceso de selección negativa, deberán, previo análisis de las progenies en vivero, ser puestas en ensayos regionales a fin de estudiar la posibilidad de su uso como cultivares de café resistentes a la roya y altamente productivos.

Igualmente el proceso de selección en este ensayo permitió seleccionar plantas muy valiosas (cuadro Nº4) las cuales deberán ser autofecundadas, analizadas sus progenies en viveros y previa selección puestas en ensayos de progenies.

En resumen como una solución a corto plazo al problema de la roya en Venezuela, desde el punto de vista de mejoramiento genético, podemos señalar a las poblaciones Catimor CIFC P1, P2, P3, P4 y P5 como los materiales en fase más avanzada de mejoramiento y con características agronomicamente deseables.

Más a mediano plazo (8 a 10 años) las familias Catimor F4 y F5 seleccionadas previa selección intrafamiliar, autofecundación y análisis de progenies en vivero, y luego puestas en ensayos de localidades podrán proporcionar materiales muy valiosos.

Por último las plantas exepcionales seleccionadas podrán a largo plazo venir a constituirse en excelentes respuestas a uno de los principales problemas de la caficultura venezolana.

RESUMEN

Los programas de mejoramiento genético del cafeto a nivel mundial están orientados principalmente hacia el desarrollo de variedades de porte bajo, alta productividad, buena calidad en taza y resistencia a plagas y enfermedades, especialmente a roya y CBD.

Los centros de investigación que conducen estos programas, especialmente el Centro de Investigaciones de la Royas del Cafeto (CIFC), Oeiras, Portugal; Instituto Agronómico de Campinas, Brasil; Universidad Federal de Viçosa, Brasil; Centro Nacional de Investigaciones de Café, Chinchiná, Colombia; Instituto Mexicano del Café, Xalapa, México y el Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, San José, Costa Rica, entre otros, han generado una serie de selecciones portadores de factores genéticos para las características antes mencionadas, muy valiosas, para producir variedades con resistencia duradera a la roya y con las bondades antes mencionadas. Un considerable número de estas selecciones fueron introducidas al país desde 1.981 y puestas en ensayos en estaciones y campos experimentales de las principales zonas productoras de café.

Estos materiales y otros introducidos posteriormente, constituyen el fruto de muchas investigaciones de los principales centros agronómicos del mundo. Debido a la cooperación y a las buenas relaciones entre las naciones y los investigadores del área le fue posible a Venezuela contar con ellos. En conjunto forman un reservorio de genes muy valiosos y constituyen para Venezuela el material necesario para darle continuidad a los trabajos de mejoramiento genético del café que debe tener como meta el logro de variedades de porte bajo, productivas, de buena calidad en taza, ampliamente adaptadas y portadores de resistencia duradera a la roya y a otras plagas.

RESUME

Amélioration génétique du caféier au Venezuela. Essais actuels.

Les programmes d'amélioration génétique du caféier au niveau mondial sont principalement orientés vers l'obtention de variétés caractérisées par un port bas, une productivité élevée, une bonne qualité à la tasse et une résistance aux déprédateurs et aux maladies, particulièrement à la rouille et à l'anthracnose (CBD).

Les centres de recherches, grâce auxquels ces programmes sont réalisés, ont mis au point une série de sélections porteuses de facteurs génétiques responsables des caractéristiques ci-dessus

mentionnées, d'une grande valeur et qui serviront à la production de variétés présentant une résistance durable à la rouille et les qualités recherchées. Un nombre considérable de ces sélections a été introduit au Venezuela depuis 1981 et mis à l'épreuve dans des stations et champs expérimentaux des principales zones productrices de café.

Ces matériels, et d'autres introduits ultérieurement, constituent le fruit de nombreuses recherches réalisées par les principaux centres agronomiques du monde. Grâce à la coopération et aux bonnes relations entre les nations et les chercheurs intéressés par ce sujet, le Venezuela a pu compter sur ces matériels. Ils forment, ensemble, un réservoir de gènes de grande valeur et constituent pour le Venezuela le matériel nécessaire à la réalisation future de travaux d'amélioration génétique du caféier qui doit avoir comme objectif l'obtention de variétés porteuses des caractéristiques citées plus haut.

MODERNIZACIÓN DE LA CAFICULTURA COSTARRICENSE

G. GUTIÉRREZ ZAMORA
Asesor técnico
Federación de Cooperativas de Caficultores
San José, Costa Rica

INTRODUCCION DEL MATERIAL GENETICO AL PAIS

Aunque la llegada del café a Costa Rica se ubica entre **1773** y **1793**, no es sino hasta el año **1808** en que el entonces Gobernador de la Provincia, **Don Tomás de Acosta** se propuso adquirir en Cuba semillas de la variedad **Typica**, con las cuales se inicia el desarrollo del cultivo del café en nuestro país.

AREAS DE CULTIVO

Como se ha indicado, las primeras semillas de café, llegadas a Costa Rica, pertenecieron a la variedad **Typica.**

Esta a su vez forma parte de la especie **Coffea Arabica** que requiere para su uso o explotación comercial, de las siguientes condiciones de suelo y clima.

a. Suelo: Sueltos, ricos en materia orgánica, nitrógeno y potasio.

b. Clima: Temperatura 17-23°C
Humedad relativa 80/90%
Horas luz 1.500-2.500/año
Precipitación 1.500-2.500 mm

Con un período seco no mayor a 90 días al año.

Basta citar estas características **ecológicas** para comprender el por qué estos cafetos se ubicaron tan rápida y eficientemente en la zona comprendida entre los 800 y 1.700 metros de altura sobre el nivel del mar.

Cabe por lo tanto destacar que no fue únicamente la decisión de los agricultores la que los llevó al establecimiento de este cultivo, sino las condiciones y características del clima y el suelo que prevalecen en esta parte del país y los que a su vez requiere este tipo de material genético.

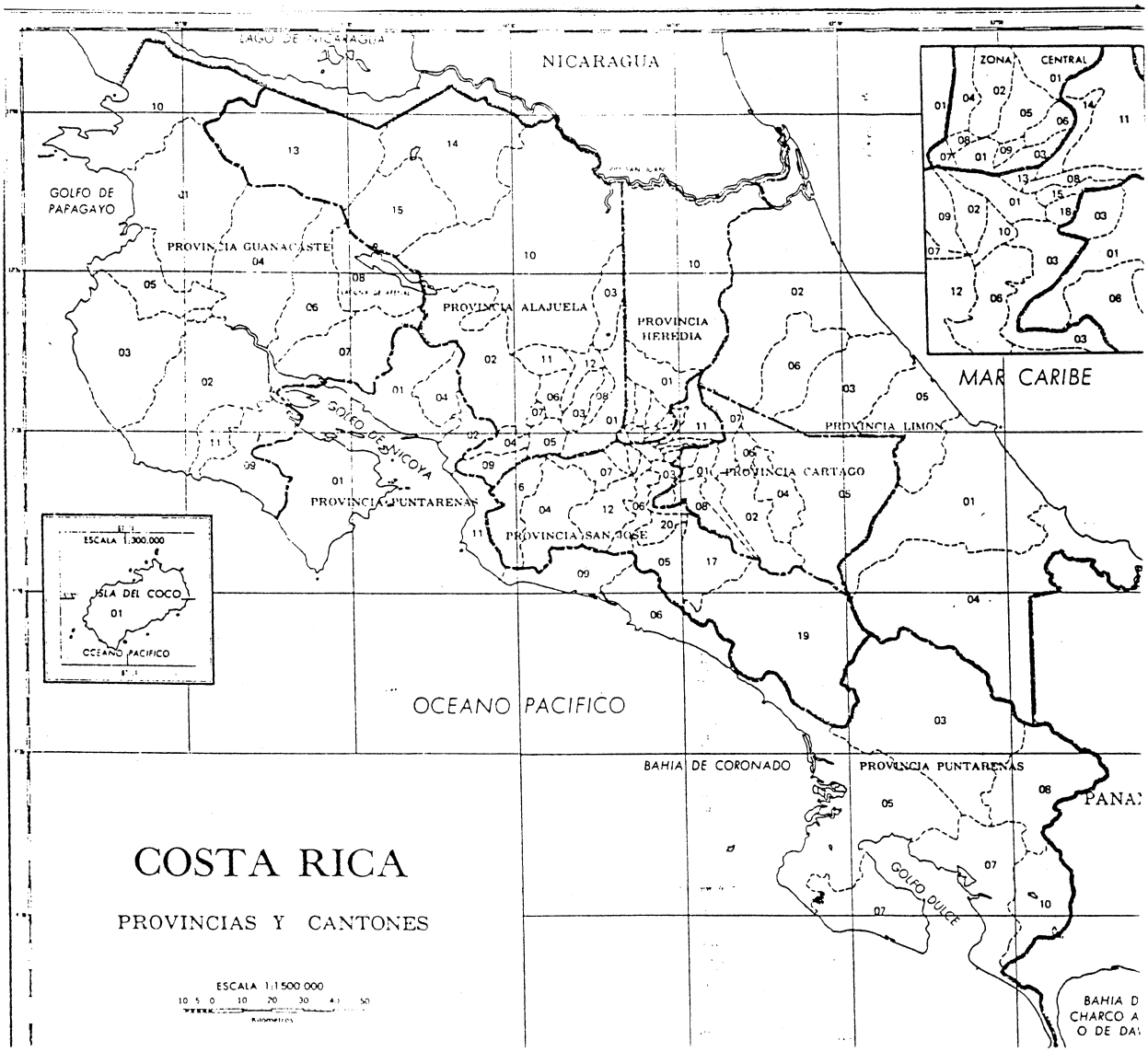
En la actualidad y con motivo del espectacular avance logrado con la introducción, selección y mejoramiento de materiales genéticos, el cultivo del café se ha extendido a las siete Provincias que conforman el territorio costarricense. (Mapa adjunto)

ORGANIZACION DEL SECTOR CAFE

Como se ha indicado, Costa Rica inició el cultivo del café a partir del año **1808.**

Dada la importancia cada vez mayor de esta actividad en la vida del costarricense, los esfuerzos por mejorar la producción han sido realizados tanto por los propios agricultores, como por los Entes y Organismos de Estado.

Tales esfuerzos estan manifiestos con la creación de la **Escuela Nacional de Agricultura** en **1926** y el **Centro Nacional de Agricultura** en **1928.** De estos Centros de Enseñanza salieron los pioneros de la labor de capacitación agrícola, los cuales al distribuirse por las diferentes



zonas rurales, llevaron no sólo el mensaje técnico, sino también el entusiasmo por hacer de la actividad agrícola una fuente de trabajo y de paz.

En **1933**, el Gobierno de la República en cumplimiento de lo dispuesto al respecto por la **Asamblea Legislativa,** creó el **Instituto de Defensa de Café,** con lo cual se dio un paso de trascendental importancia para la actividad cafetalera del país, al encargársele las labores de promoción y protección del cultivo, así como la fiscalización y asesoramiento en los aspectos de procesamiento y comercialización del producto. Muchas son

las acciones positivas realizadas por su personal técnico en pro de la caficultura, algunas de las cuales y a pesar del tiempo transcurrido, todavía tienen vigencia. Al efecto basta citar los trabajos sobre **Producción de materia orgánica**, el uso del encalado de los suelos y la corrección de algunas deficiencias nutritivas.

En **1941** la **Escuela Nacional de Agricultura** es reorganizada y pasa a formar parte de la **Universidad de Costa Rica** con rango de Facultad Agronómica.

En **1942** se da otro paso de gran importancia para el Sector Agrícola Nacional y por ende para el sub-sector café al establecerse la **Secretaría de Agricultura y Ganadería.**

En **1948** se crea el **Consejo Nacional de Producción**

organismo que procuró la importanción de semilla **C. arabica**, variedad Bourbon de El Salvador, con el propósito de establecer viveros y almacigales y distribuirlas entre los agricultores a precio de costo. Así mismo se preocupó por la elaboración y distribución de **"abono orgánico"** y por la producción y distribucion de fuentes de calcio.

En **1950** el **Ministerio de Agricultura y Ganaderia (M.A.G.)** establece la **Sección de Café,** como parte del Departamento de Agronomía, con lo cual se origina todo un cambio en la programación de la investigación y transferencia de Tecnología para el cultivo del café.

Párrafo aparte le debemos dejar a la labor de incontables beneficios que realizó en el área cafetalera Nacional, el **Servicio Técnico Interamericano de Cooperación Agrícola, STICA.** Establecido en el año 1948, generó por medio de sus Agencias de Extensión Agrícola, uno de los avances más espectaculares de la agricultura Nacional. Puede decirse, sin lugar a equivocarse que de esta acción y de la mística, capacidad y responsabilidad de muchos de sus tecnicos, se logró despertar la inquietud y establecer la necesidad de investigar y resolver mediante pruebas de campo y laboratorio una apreciable cantidad de problemas que por décadas afectaron el desarrollo y el rendimiento del cafeto en nuestro país.

RENDIMIENTO POR UNIDAD DE SUPERFICIE

PROBLEMAS

A pesar de los esfuerzos realizados, Costa Rica mantuvo hasta la década del 50, uno de los promedios de producción más bajos de América Latina.

Entre las causas principales de esa situación cabe citar las siguientes·

a. Uso extensivo de una variedad poco productiva.
b. Poca cantidad de cafetos por unidad de superficie.
c. Uso excesivo del sombrío.
d. Prácticas inadecuadas de conservación de suelos.

e. Poco o ningún control de plagas y enfermedades, especialmente del follaje.

A su vez y como consecuencia del sistema de cultivo indicado, el uso de la fertilización química era poco e inadecuado, con resultados económicos negativos.

En síntesis bajo tales condiciones el país registró por largo tiempo un promedio de **460 Kg/ha de café Oro,** con lo cual no era posible para el pequeño y mediano propietario, obtener su justo y necesario tributo.

Por otra parte su participación en el desarrollo de su comunidad, era casi nulo, pues su capacidad contributiva no lo permitía.

En esta forma los recursos naturales, como el suelo y el clima se usaron inadecuadamente y no dieron su verdadera respuesta.

INCREMENTO DE LA PRODUCCION

Durante muchos años el sistema de explotación de las fincas se caracterizó por el uso de gran cantidad de árboles de sombra, un número relativamente bajo de cafetos por área, un exceso de mano de obra, etc. La mecanización resulta casi imposible, especialmente en el aspecto de recolecta y aún del mismo cultivo. El uso de sombrío y la naturaleza de los terrenos que en su mayor parte son de pendiente muy pronunciada, no permitían mecanizar estas plantaciones. Actualmente es posible aplicar la mecanización aunque en grado mínimo, porque las prácticas o modalidades de cultivo han sufrido cambios radicales, debido a la investigación realizada y la divulgación de los conocimientos adquiridos. Con ello se ha logrado reducir en gran parte el empleo de un exceso de mano de obra, conservar y mejorar la condición de fertilidad de los suelos, aprovechar mejor el efecto de los fertilizantes aplicados y aumentar los rendimientos.

Actualmente un alto porcentaje de las fincas de café

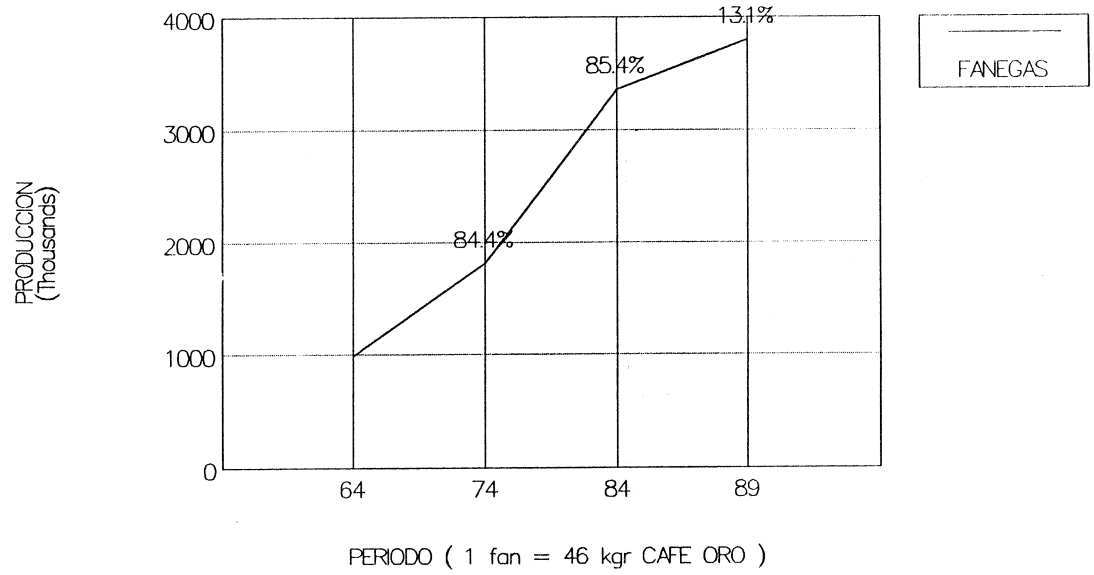
utilizan nuevas variedades, fertilizantes, fungicidas, insecticidas, herbicidas y nematicidas. Por otra parte el uso de cafetos por área, han traído como consecuencia un mejoramiento en la productividad de las fincas y lógicamente un aumento en los rendimientos por área cultivada, los cuales en los últimos años han llegado a colocarse entre los más altos de América Latina. Sin embargo esto no indica que estemos seguros que pueden superarse impulsando la investigación y especialmente enseñando a un mayor número de caficultores a usar las nuevas técnicas de producción. Queda una gran labor por realizar, el **40%** de los caficultores, especialmente los más pequeños, apenas producen un **40%** de la cosecha total del país. Unido al esfuerzo de los técnicos y especialistas del cultivo está la ayuda del Sistema Bancario Nacional y la Empresa Privada, con lo cual el caficultor costarricense, especialmente el pequeño, cuenta con los medios económicos necesarios, que le permiten poner en práctica las nuevas modalidades de cultivos. (Ver cuadro y gráficos adjuntos).

PRODUCCION TOTAL DE COSTA RICA EN LAS ULTIMAS 26 COSECHAS (Fanegas)

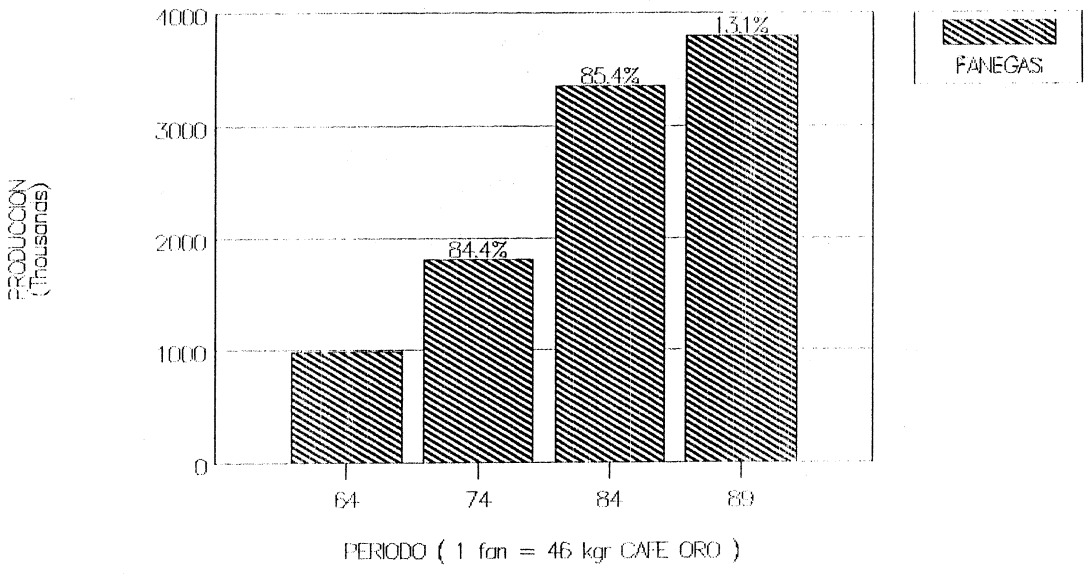
1964-1965		982,540
1965-1966		1,221,868
1966-1967		1,423,719
1967-1968		1,605,953
1968-1969		1,474,106
1969-1970		1,771,683
1970-1971		1,559,988
1971-1972		1,903,117
1972-1973		1,691,339
1973-1974		2,051,334
1974-1975		1,812,265
1975-1976		1,700,178
1976-1977		1,691,549
1977-1978		2,025,001
1978-1979		2,299,064
1979-1980		1,970,121
1980-1981		2,645,335
1981-1982		2,260,251
1982-1983		2,731,667
1983-1984		2,607,074
1984-1985		3,360,266
1985-1986		2,000,000
1986-1987		3,225,000
1987-1988		3,185,479
1988-1989		3,700,000
1989-1990	(Estimada)	3,318,100

NOTA : 1 Fanega equivale aproximadamente a 258 Kgr Fruta L 14/ prod26

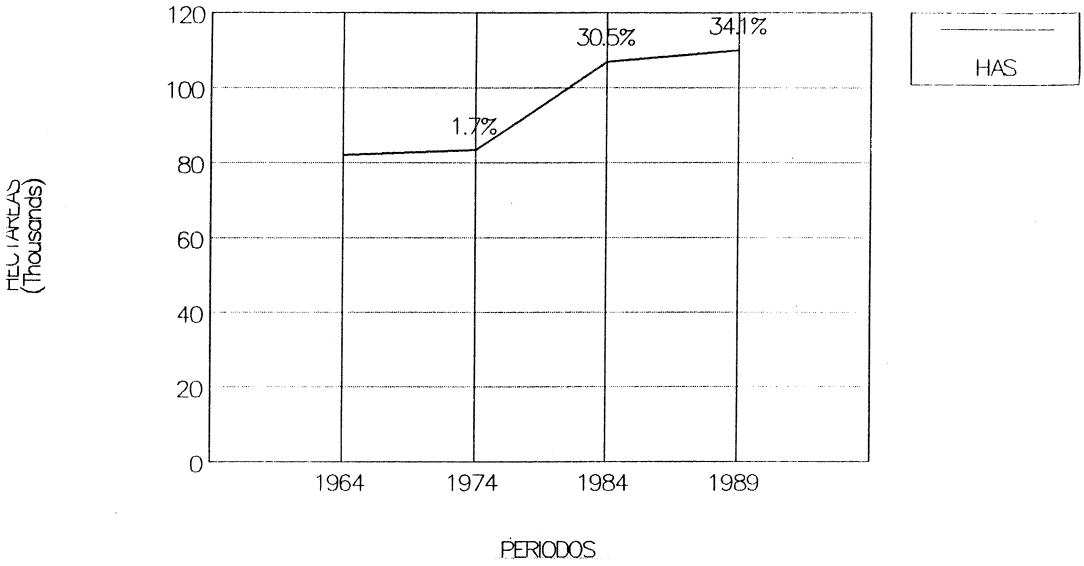
PRODUCCION TOTAL DE COSTA RICA
ULTIMAS 26 COSECHAS



PRODUCCION TOTAL DE COSTA RICA
ULTIMAS 26 COSECHAS



INCREMENTO PORCENTUAL DE AREA ACUMULADO 1964–1989



ASISTENCIA TECNICA

En la actualidad, se han puesto en práctica planes de mejoramiento cafetalero, facilitando préstamos y exigiendo que el agricultor presente un plan de trabajo que haya sido elaborado por un profesional en Agronomía. Este plan de trabajo debe ser cumplido a cabalidad por el caficultor para que tenga derecho a usar el total del dinero prestado. Esto demuestra claramente que hay una absoluta confianza en los resultados obtenidos de la investigación y la necesidad de ponerlos en práctica en gran escala.

Además de la ayuda netamente financiera proveniente del Sistema Bancario, la actividad cafetalera costarricense se beneficia con la asistencia técnica que suministran tanto dependencias oficiales, como organismos internacionales y la actividad privada.

PROGRAMAS DE INVESTIGACION

El **Ministerio de Agricultura** cuenta con varios Departamentos que dedican toda o parte de su actividad, al mejoramiento de este cultivo. Concretamente el Departamento de Café investiga aspectos de nutrición, mejoramiento genético, herbicidas selección de semilla, modalidades de cultivo, etc. Parte de su tiempo está programado para atender campos demostrativos y dar asistencia técnica al personal de las Agencias de Extensión Agrícola, del Sistema Bancario Nacional y a los mismos agricultores. La Universidad de de Costa Rica presta una gran colaboración especialmente a los profesionales dedicados a solucionar problemas específicos de este cultivo. Otros Departamentos como el de **Fitopatología, Entomología y Suelos** dan valioso apoyo a este cultivo, investigando problemas específicos y asesorando al personal técnico de otras dependencias; El **Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A.** y el **Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza** (**CATIE**), cooperan mediante sus programas de investigación y capacitación de personal técnico. El **Instituto del Café** tiene un Programa Cooperativo para el establecimiento de campos experimentales y demostrativos con el **Departamento de Café del M.A.G.**; y mantiene un programa de selección y distribución de semilla de alta producción. Las casas comerciales dan un gran servicio de asistencia técnica por medio de sus Departamentos especializados, en los cuales trabajan un buen número de Ingenieros Agrónomos, en su mayoría muy capaces y bien entrenados por el Servicio de Extensión Agrícola del Ministerio de Agricultura y Ganadería.

Otro sector de gran importancia para la modernización del cultivo del café, lo representa la Federación de Cooperativas de Caficultures R.L., que agrupa a 43.000 pequeños productores y mantiene un Programa de Renovación de Cafetales con un grupo de 10 especialistas en cultivo y 60 técnicos regionales.

Este conjunto de acciones ha permitido que los rendimientos por unidad de superficie hallan pasado de 460

kilos de café Oro por hectárea en el período 50/51 a 1.566 en el período 88/89.

PRINCIPALES LOGROS

Como se ha indicado las mejoras que se han introducido derivan principalmente de los programas de investigación que se inician a partir de **1950.** Estos programas comprenden básicamente los siguientes aspectos: Nutrición, Mejoramiento Genético, Combate de Plagas, enfermedades, malas hierbas, Prácticas culturales.

FERTILIZACION QUIMICA

La respuesta del cultivo a los fertilizantes ha sido altamente significativa y en su mayor parte se realiza con asesoramiento técnico, constituyendo en la actualidad una de las prácticas más generalizadas, especialmente en plantaciones grandes y medianas. Puede decirse que el 80% del fertilizante usado en el país se destina al café. Antes de **1950** solo unas pocas fincas aplicaban fertilizantes. Estos eran a base de **N-P-K** y se aplicaban a razón de **225 gramos** por cafeto al año. El uso excesivo del sombrío, la falta de poda y la carencia de otros minerales hacían que esta fertilización no produjera resultados positivos. Muchos suelos del área cafetalera carecen de elementos como el **zinc, boro, magnesio, manganeso, calcio,** y en casos especiales **hierro y azufre.** Esto además de **nitrógeno, fósforo y potacio.** Actualmente la investigación ha permitio hacer recomendaciones sobre el uso de fertilizantes para las principales zonas cafetaleras del país, utilizando fórmulas que incluyen los elementos básicos, algunos secundarios y menores. Los resultados obtenidos, pueden sintetizarse en la siguiente forma:

a. Suelos volcánicos: Respuesta positiva a las aplicaciones de **nitrógeno** y en casos especiales al **fósforp, potasio y calcio**

b. **En suelos lateriticos:** Respuesta positiva a la combinación **nitrógeno-fósforo** y en casos especiales al **calcio y potasio.**

c. **En suelos aluviales y fluvio lacuestres:** Respuesta positiva al **nitrógeno y potasio;** y en casos especiales al **fósforo, y calcio**

La deficiencia de **boro** es de las más comunes en Costa Rica, manifestándose con diferentes grados de intensidad en las regiones central y occidental de la Meseta Central; en la región oriental se encuentra con menor densidad.

La deficiencia del **zinc** ocurre en forma generalizada en toda el área cafetalera del país.

El **magnesio** aparece deficiente en suelos de muy diversas condiciones, tanto en la Zona Norte, como en la Sur, Occidnetal y Oriental.

El **manganeso** no es muy frecuente y no parece tener gran influencia sobre la producción, lo mismo ocurre con el hierro y por lo consiguiente no tiene la significación económica de los otros elementos.

MEJORAMIENTO GENETICO

La introducción de materiales de mejoramiento genético, ha sido el factor de mayor impacto en el cambio tecnológico de la caficultura costarricense. Cultivares como **Caturra, Villa Sarchi y Catuai**, en sus formas amarillo y rojo, han revolucinado violentamente no sólo el número de cafetos por unidad de superficie, sino que han variado radicalmente los conceptos y sistemas de poda o recepa. El número de cafetos por hectárea se ha incrementado de 1.600 en **1950** a 2.270 en **1965** a 7.085 en **1980** con dos ejes por cafeto.

Esta, tan alta densidad nos permite en el caso del **Catuai** alcanzar al tercer año de edad producciones de 5.750

kilos de café Oro (Green Coffe) por hectárea. Con **Caturra y Villa Sarchí** la producción llego a 4.600 kilos de Café Oro, al tercer año de edad, usando luego los sistemas de poda o recepa en ciclos de 3, 4 o 5 años.

Esto permite racionalizar el uso de fertilizantes, al poderlos dosificar de acuerdo a la edad de los ejes producidos por la poda o recepa, eliminar tejidos dañados y disminuir rápidamente la fuente de inóculo de los patógenos que atacan el follaje. Un excelente ejemplo de esta labor lo constituye la lenta diseminación de **HEMILEIA VASTATRIX**, enfermedad que habiéndose detectado en diciembre de 1983, no alcanzó a la fecha índices de carácter preocupante desde el punto de vista de daño económico al productor o al país.

Aún así, en la actualidad se realizan con el mayor esfuerzo y dedicación muy serios trabajos de introducción, adaptación y pruebas regionales con **Catimores** y **Sarchimores**, mateirales que en algunos casos son de gran promesa para la Resistencia Genética a plagas y enfermedades y capaces de producir altas cosechas.

A todo lo anterior hay que agregarle la labor altamente importante de Selección, Certificación y Distribución de semillas, las cuales se obtienen de **"Campos de Multiplicación"** establecidos en las diferentes zonas cafetaleras del país y bajo la responsabilidad de un especialista en mejoramiento genético. (Ver cuadros y gráfico adjuntos).

SEMILLA SELECCIONADA DE CAFE PREPARADA POR EL INSTITUTO DEL CAFE EN EL PERIODO DE 1977 A 1988 EN KILOGRAMOS

AÑO	VARIEDAD					TOTAL	INCREMENTO PORCENTUAL
	CATURRA	MUNDO NOVO	CATUAI ROJO	CATUAI AMARILLO	OTRAS		
1977	10.554,00	1.230,00				11.784,00	82,40
1978	11.397,00	1.212,00				12.609,00	7,00
1979	21.388,00	358,00			585,00 1/	22.331,00	77,10
1980	27.528,00	2.710,00			270,00 2/	30.508,00	36,60
1981	26.108,00	628,00	3.482,00	1.684,00	82,00 2/	31.984,00	4,84
1982	12.403,00	197,00	15.408,00	5.632,00	123,00 3/	33.813,00	5,70
1983	6.401,00	222,00	21.139,00	961,00	36,00 3/	28.759,00	(14,90)
1984	4.639,50	184,00	22.289,00	1.165,50	102,00 4/	28.380,00	(1,30)
1985	12.650,00	406,50	33.041,00	2.166,00	165,00	48.428,50	70,60
1986	25.109,00	574,50	37.882,00	2.084,50	75,00	65.725,00	35,70
1987	26.991,00		37.926,00			64.917,00	(1,24)
1988	24.131,00		22.849,00			46.980,00	(27,63)

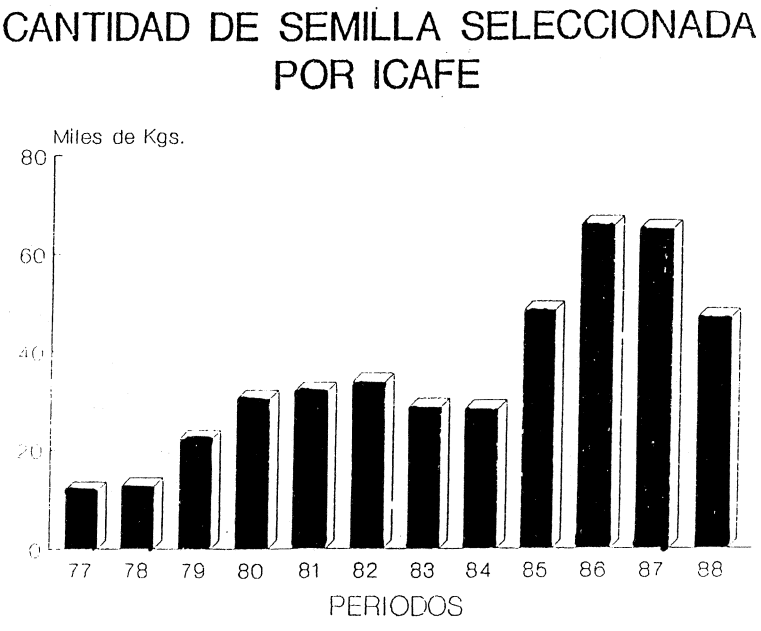
1/ *Incluye Catuaí Rojo y Amarillo, H-33 y Geisha*

2/ *Incluye únicamente H-33 y Geisha*

3/ *Sólo H-33*

4/ *Sólo Catimor*

FUENTE: Instituto del Café de Costa Rica



DATOS DE PRODUCCION DE CATUAI AMARILLO, CATUAI ROJO Y CATURRA EN 15 EXPERIMENTOS

PRODUCCION FANEGA x HA			Nº DE COSECHAS
CATUAI A.	CATUAI R.	CATURRA	
-	79	68	8
-	90	83	8
-	71	61	8
47	46	44	5
73	80	68	5
70	-	57	5
112	101	111	5
112	100	91	5
64	64	46	5
77	80	69	5
108	-	90	4
59	68	55	4
-	73	77	4
59	71	59	3
-	59	52	3
78	76	69	
113	110	100	

CONTROL QUIMICO DE MALAS HIERBAS

Dentro de los trabajos de investigación lo relativo al uso de los herbicidas ha merecido especial atención. A pesar de que su aplicación en otros países se realiza desde principios de siglo, en Costa Rica esto es relativamente reciente. Puede decirse que es a partir del año **1954** que este trabajo se viene efectuando en forma definida. Los resultados obtenidos se han extendido rápidamente y cada día hay más agricultores que los usan, especialmente los propietarios de fincas grandes y medianas. Ha venido su uso a constituir entre otras ventajas, una gran economía de mano de obra y de costos de producción. Actualmente hay más de 75.000 hectáreas bajo tratamiento. Siendo Costa Rica uno de los países cafetaleros en donde la mano de obra es más cara, su aplicación tendrá que ser cada vez mayor.

CONTROL FITOSANITARIO

El combate de emfermedades y plagas que atacan al cafeto, son aspectos en los cuales la investigación realizada y la que se mantiene en avance, le han producido grandes beneficios al país. En la actualidad, se combaten eficazmente enfermedades como el **Ojo de Gallo (Mycena Citricolor)** que en años atrás fue el factor que más serios daños causó al productor, la **Chasparria (Cercospora Coffeico), Moho de Hilachas (Pellicularia koleroga), Enfermedad Rosada (Corticium Salmonicolor), Derrite (Phoma Costarricensis), Mal de Talluelo (Rhizoctonia Solani), Llaga Macana (Ceratocystis Fimbriata), Maya de la Raíz (Rosellinia bumodes), Roya (Hemileia rastatrix)**, etc. Lo mismo podemos decir de las plagas insectíles y otras que atacan los cafetos. La divulgación de estos conocimientos ha permitido combatir estos problemas en forma tal que ya no constituyen el serio daño que presentaron en el pasado.

En lo que respecta a plagas de la raíz y el follaje, únicamente constituyen problema de cáracter económico **Phyllophaga, Planococcus citri, Agrotis spp y Nemátodos del género Protylenchus spp y Meloidogyne sp.**

PRACTICAS CULTURALES, MODALIDADES DE CULTIVO

Sombrío: La forma típica de cultivar el café en Costa Rica ha sido bajo sombrío. A partir de **1955**, se venido operando un cambio acelerado en lc respecta a la densidad de la sombra, llegó ose a establecer las épocas del año en que debe casi eliminarse y en las que debe de mantenerse; toc esto de acuerdo con la fisiología del cafeto y sus hábitos de producción.

Conservación de Suelos: Es una labor de gran significación que ha sido realizada por el Servicio de Extensión Agrícola a partir del año **1948.** Su mayor actividad ha estado en la Meseta Central, que

por razón de su topografía resultaba ser la más afectada por la erosión. Siembra a contorno, canales de ladera, construcción de terrazas, franjas vegetativas, etc, son sistemas hoy día muy corrientes en el área cafetalera del país, a los cuales el caficultor les ha puesto gran dedicación y entusiasmo.

LA INVESTIGACION, LA PRODUCCION Y LOS RENDIMIENTOS

Puede decirse, casi sin temor a equivocación que el cultivo del café en Costa Rica, a pesar de tener más de 150 años de establecido, presenta desde el punto de vista de la investigación y su proyección sobre los rendimientos, dos fases bien definidas. Antes y después de 1950. Si bien es cierto que antes de esta fecha ya se habían iniciado considerables trabajos de investigación sobre algunos aspectos del cultivo del café, estos no tuvieron continuidad ni llegaron al conocimiento del caficultor en forma tal que los aplicara en la escala o intensidad necesaria. Basta decir que el promedio Nacional para esa fecha apenas era de 460 kilos de café Oro y café verde por hectárea. El sistema de cultivo era de tipo extensivo y no tenía el concurso de las técnicas mejoradas de producción, de hoy día, que permiten obtener rendimientos altamente económicos como los ya citados (1656 kilos de café Oro como promedio Nacional).

AGRADECIMIENTO

El autor agradece sinceramente la invitación que la Asociación Científica Internacional del Café y la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, le han girado para que exponga las causas y efectos que se han aunado para la "MODERNIZACION DE LA CAFICULTURA COSTARRICENSE".

Mi personal reconocimiento a los Doctores René Coste, Secretario Administrativo Permanente de A.S.I.C. y Mario Quijano Rico, Presidente de A.S.I.C. 1987/1989, por haberme dado una nueva oportunidad de exponer los logros y resultados de la investigación y transferencia de tecnología aplicados en Costa Rica al cultivo del café.

ESSAIS DE MÉCANISATION DU RECÉPAGE

D. DURIS
Ingénieur agronome
IRCC, 01 B.P. 1827, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

INTRODUCTION

La Côte d'Ivoire a lancé depuis 1980, un programme de régénération caféière portant sur 100.000 ha. Après 9 ans d'activités, on constate que les objectifs de recépage n'ont pas été atteint et surtout que les planteurs acceptent difficilement de procéder à un recépage périodique des plantations. Outre la chute de production au moment du recépage, le paysan met souvent en avant, la pénibilité du travail pour effectuer le recépage.

En effet, afin de minimiser les coûts, le développement a opté pour la scie à recéper pour couper les troncs des caféiers, bien que des moyens mécaniques soient disponibles.

On se propose donc de tester tous les outils susceptibles d'être utilisés pour le recépage.

MATERIELS UTILISES

RECEPAGE MANUEL :

Scie égoïne : Il s'agit d'une petite scie avec une lame assez flexible d'une longueur de 30 cm. Cette scie travaille uniquement en traction. Le coût de cet outil est d'environ 3000 FCFA et nécessite l'achat d'une lime (2500 FCFA) pour l'affûtage de la lame.

RECEPAGE MECANISE :

Scie à chaîne ou tronçonneuse : 2 types de tronçonneuses ont été utilisées lors des essais :

* Tronçonneuse avec un moteur 2 temps de 85 cm3, un guide chaîne de 73 cm et un poids de 6,5 kg environ. La capacité du réservoir de carburant est d'environ 250 cm3, et celle du réservoir d'huile pour lubrifier la chaîne, d'environ 140 cm3.
* Tronçonneuse avec un moteur 2 temps de 28 cm3, un guide chaîne

de 30 cm et un poids de 3,8 kg. Les capacités des réservoir sont respectivement de 200 cm3 pour le carburant et de 140 cm3 pour le lubrifiant.

Débroussailleuse : Cet outil sert habituellement à faucher la végétation adventice dans les caféières et est équipé d'une lame à 3 dents entrainée par un moteur 2 temps de 24 cm3. Le réservoir de carburant a une capacité de 0,6 litre. Son poids est d'environ 6,5 kg. L' appareil est porté en bandoulière par l'utilisateur. Pour le recépage des caféiers, la lame de fauchage a été remplacée par une lame de scie de 255 mm de diamètre.

Sécateur hydraulique : Un chariot mobile porte un moteur à essence d'une puissance de 2 cv qui entraine un groupe hydraulique capable de fournir une pression de 130 à 180 bars. Deux sorties alimentent deux sécateurs pouvant travailler simultanément. Chaque sécateur est fixé au bout d'une perche rigide d'environ deux mètres et est relié au chariot par un tuyau flexible d'une dizaine de mètres. L'ensemble porté pèse environ 5 kg. Le réservoir d'essence contient environ 3 litres d'essence. Le sécateur peut couper des tiges de 10 à 12 cm de diamètre.

Tableau 1 : Cout d'achat des 3 matériels

Matériel	Prix neuf en FCFA
Scie à chaîne 1	265.000
Scie à chaîne 2	225.000
Débroussailleuse	165.000
Sécateur hydraulique	
groupe moteur	1.200.000
1 sécateur equipé	450.000

PLANTATIONS A RECEPER

Pour l'ensemble des essais, on a travaillé sur des caféiers en fin de cycle ou recépés l'année précédente (coupe du tire-sève), que ce soit des caféiers Robusta ou Arabusta. En général, le caféier Robusta a un bois un peu plus dur que l'Arabusta mais les tiges ont un diamètre inférieur à celui de l'Arabusta.

Pour les essais, on a pratiqué un recépage avec ou sans tire-sève, suivant les parcelles. On notera toutefois que sur certaines parcelles où le dispositf expérimental de l'essai précédent devait être respecté, les temps de travaux ont été légèrement surévalués du fait des déplacements.

Tableau 2 : Surfaces recépées au cours des essais

		1986	1987
Recépage manuel	Abengourou	0,43 ha	-
	Divo	0,23 ha	1,00 ha
Recépage mécanique			
Tronçonneuse	Abengourou	-	1,11 ha
	Divo	0,68 ha	0,33 ha
Sécateur	Abengourou	0,67 ha	1,00 ha
	Divo	1,48 ha	4,60 ha
Débroussailleuse	Abengourou	-	0,10 ha
	Divo	-	1,04 ha

EXPERIMENTATION ET RESULTATS

1 - Campagnes d'essais :

Les essais se sont déroulés sur deux campagnes agricoles, 1986 et 1987. La première année, on a comparé le recépage manuel au recépage mécanisé (tronçonneuse + sécateur hydraulique). Cette première campagne a également

servi à adapter le secateur hydraulique aux conditions de travail africaines. La débroussailleuse a été testée en 1967.

2 - Mesures des temps de travaux :

Les temps de travaux ont été relevés. Ils prennent en compte, d'une part, le temps de travail effectif avec les déplacements dans la parcelle et d'autre part, pour le recépage mécanisé, les temps d'arrêt sur la parcelle pour effectuer les réparations ou les pleins de carburant.

Les temps de travaux présentés ci-après, représentent le temps de fonctionnement des différents outils utilisés. On verra ensuite les besoins en main-d'oeuvre pour recéper un hectare de caféiers.

21 - Recépage manuel :

Les résultats sont extrêmement variables d'une station à l'autre. En effet, lorsque le recépage est fait à la main, le manoeuvre reçoit une tâche journalière qui varie de 80 caféiers simplement coupés à 220 caféiers coupés et ébranchés afin de pouvoir contrôler les travaux. Lorsque le manoeuvre n'a pas de tâche attribuée, son rendement journalier est très faible.

Tableau 3 : Temps de travaux en recépage manuel

Tâche journalière		Tiges /café	Temps par manoeuvre et par caféier (en secondes)			
			M1	M2	M3	M4
80 caféiers	STS	3,6	26,3	42	46,5	44,3
Pas de tâche	STS	4,4	Moyenne 4 manoeuvres :			38,5
Pas de tâche	CTS	1,0	Moyenne 3 manoeuvres :			34,3

STS : Recépage sans tire-sève
CTS : Coupe des tire-sève

La coupe du tire-sève nécessite un peu plus d'attention que le recépage pour éviter de casser les jeunes rejets mais la différence dans les temps de travaux est inexplicable si ce n'est le fait que le manoeuvre juge sa quantité de travail à la surface et non pas au nombre d'arbres à tailler.

En recépage manuel, et suivant les contrats donnés, on peut estimer les besoins pour le recépage entre 6 et 17 journées et pour la coupe des tire-sève entre 4 et 12 journées.

La qualité du travail, en recépage manuel est très bonne. Les souches sont propres, sans arrachement d'écorce. La coupe est franche et nette.

22 - Recépage mécanique :

221 - Recépage à la tronçonneuse :

On n'a pas noté de différences sensibles avec l'une ou l'autre des tronçonneuses utilisées concernant les temps de travaux malgré les poids différents. Par contre les consommations horaires passent du simple ou triple suivant la cylindrée de la machine utilisée.

Tableau 4 : Temps de travaux

Nbre de caféiers	Tiges/ caféier	Temps 1 (en s) par caféier	Temps 2 (en s) par caféier	Type de recépage
547	2,6	16,1	18,5	ATS
446	2,7	38,9	46,1	ATS
432	3,7	19,7	34,1	STS
533	3,7	15,0	15,6	STS
381	3,8	20,2	25,2	STS
446	3,7	38,9	46,1	STS
282	1,0	10,9	11,3	CTS
Moyenne		26,3	30,9	ATS
		22,7	29,0	STS

ATS : Recépage avec tire-sève Temps 1 : temps de travail
STS : Recépage sans tire-sève Temps 2 : temps de présence
CTS : Coupe des tire-sève

Les différences constatées en temps de travail et temps de présence correspondent aux arrêts pour faire le plein et la maintenance des tronçonneuses. Les temps de dépalcements sont supposés égaux quel que soit le type de recépage.

En ne comptant que le temps de travail (Temps 1), on constate que la différence entre recépage avec et sans tire-sève est imputable a/ au choix du tire-sève, b/ à l'attention que doit porter le tronçonneur pour ne couper que 3 tiges sur 4. Cela représente environ 13 % du temps de travail.

222 - Recépage à la débroussailleuse :

La débroussailleuse commence à être utilisée par les paysans pour nettoyer les plantations. Equipée d'une lame à trois dents, elle permet le fauchage des herbacées et des ligneux de petits diamètre. Pour couper des troncs de caféiers, la lame de débroussaillage doit être remplacée par une lame de scie. Il est tentant de vouloir utiliser cet outil pour le recépage au lieu de le réserver uniquement pour le nettoyage où il n'est utilisé qu'une dizaine de jours par an pour un hectare de plantation.

Tableau 5 : Temps de travaux

Nbre de caféiers	Tiges/ caféier	Temps 1 (en s) par caféier	Temps 2 (en s) par caféier	Type de recépage
398	2,9	35,0	50,2	ATS
121	2,8	49,6	49,6	ATS
382	3,8	30,2	44,5	STS
	Moyenne	38,4	50,1	ATS

La formation du personnel pour le recépage avec la débroussailleuse a été longue et malgré cela, les résultats obtenus montrent que l'utilisation de cet outil n'est pas aisée. Pour le recépage sans tire-sève, les temps de travaux sont acceptables mais dès qu'on veut garder un tire-sève, les temps de travaux augmentent de plus de 20 %, ceci à cause d'un maniement délicat de l'appareil pour éviter de blesser le tronc qu'on garde.

223 - Sécateur hydraulique :

L'emploi du sécateur hydraulique a nécessité de nombreuses heures d'essais et des modifications techniques importantes avant de pouvoir être testé. Ainsi, il a fallu ajouter un radiateur pour le refroidissement de l'huile, revoir la composition des aciers et l'usinage de la lame de coupe pour minimiser les risques de casse. En 1986, on a donc testé le matériel et en 1987, on a pu procéder aux essais en champ.

Tableau 6 : Temps de travaux

Nbre de caféiers	Tiges/ caféier	Temps 1 (en s) par caféier	Temps 2 (en s) par caféier	Type de recépage
a/ Un seul sécateur en service sur le groupe				
276 *	2,9	16,5	18,0	ATS
99 *	3,6	16,4	21,2	STS
463 *	3,6	17,1	18,9	STS
287 *	3,7	33,4	35,9	STS
392 **	3,9	28,8	36,9	STS
96 **	3,1	26,9	-	STS
31 **	4,1	35,8	-	STS
71 *	1,0	16,1	17,7	CTS

Tableau 6 : Temps de travaux (suite)

Nbre de caféiers	Tiges/ caféier	Temps 1 (en s) par caféier	Temps 2 (en s) par caféier	Type de recépage
b/ Deux sécateurs en service sur le groupe				
1314 **	3,0	18,4	21,7	STS
1190 **	4,1	18,5	-	STS
1809 **	2,8	25,0	26,5	ATS
719 **	2,9	15,7	-	ATS
128 **	1,0	12,5	-	CTS

L'utilisation du sécateur hydraulique requiert un apprentissage afin d'optimiser les mouvements de déplacements et de positionnement autour du caféier. Très vite, les manoeuvres apprennent à se placer dans les meilleures conditions pour rendre le travail peu pénible et les temps de coupe par caféier sont pratiquement divisés par 2.

Les observations faites sur la station IRCC d'Abengourou (*) et sur la station de Divo (**) montrent des différences importantes quant à l'habileté du personnel. Ceci est surtout sensible quand on utilise qu'un seul sécateur sur le groupe moteur.

A Divo, on a essayé de faire fonctionner 2 sécateurs en même temps. Cela exige une bonne entente au sein de l'équipe afin qu'il y ait un minimum de temps mort. Dans ces conditions, on gagne environ 25 % du temps sur l'utilisation de la machine.

3 - Pénibilité du travail :

Le recépage manuel est relativement pénible mais il a été impossible de faire des études de temps de travaux suivant les heures de la journée. En effet, si on donne une tâche, le travail est exécuté très rapidement (moins de 2 heures) et si on ne fixe pas de tâche, le rythme de travail est peu soutenu et identique pendant toute la journée.

En recépage mécanique, le travail à la tronçonneuse devient fatiguant à cause, d'une part du poids de la machine et d'autre part, de la position courbée que doit avoir le scieur. Avec la débroussailleuse, on n'a pas fait de mesures compte-tenu des rendements extrêmement faibles. Toutefois, il semble que la pénibilité du travail soit faible avec cet outil.

Avec le sécateur hydraulique, des mesures de temps de travaux ont été faites suivant les heures de la journée.

Tableau 7 : Temps de travaux en fonction de l'heure

	8 h	9 h	10 h	11 h
Temps/caféier	18,4	18,3	16,9	
(en secondes)	25,3	23,1	22,9	23,0

Ces mesures faites avec 2 équipes différentes montrent qu'il n'y a pas de ralentissement du rythme de travail au cours de la journée. On note simplement que le rendement dépend essentiellement de l'équipe observée.

4 - Temps de travaux par hectare de caféiers :

Les données présentées dans les tableaux précédents ne prennent en compte que les temps d'utilisation du matériel. Si pour le recépage manuel, chaque ouvrier a un outil, il n'en est pas de même dès qu'on utilise des moyens mécaniques (aide pour les déplacements, pour faciliter la coupe, etc...). En termes de coût, il faut connaître le nombre de journées de manoeuvres qui ont été effectivement payées pour réaliser un travail. Le tableau 8 présente, pour les différentes techniques, les coûts en main-d'oeuvre.

Les temps de travaux présentés sont calculés sur la base de 5

heures de travail effectif par jour, la journée de travail étant normalement de 8 heures.

Tableau 8 : Temps de travaux en J.T./ha

Techniques	Nombre de manoeuvres	Temps/caf. (en sec.)	J.T./ha
Mécanique			
1 - Sécateur hydraulique			
STS 1 sécateur	2	22,3/33,7	3,3/5,0
STS 2 sécateurs	2	17,6/20,7	2,6/3,1
STS 2 sécateurs	3	14,4	3,2
ATS 1 sécateur	2	15,7/18,1	2,3/2,7
ATS 2 sécateurs	3	26,5	5,9
CTS 1 sécateur	2	16,1	2,4
CTS 2 sécateurs	3	12,5	2,8
2 - Débroussailleuse			
STS Outil individuel	2	44,5	6,6
ATS Outil individuel	2	49,6/50,2	7,3/7,4
3 - Tronçonneuse			
STS Outil individuel	1	15,0/25,2	1,1/1,3
ATS Outil individuel	1	16,1/40,1	1,2/3,4
CTS Outil individuel	1	16,3	0,6
Manuelle			
STS Tâche : 60 caféiers		1,7/3,4	10,2 (*)
STS Jours fériés		1,7/3,4	10,2
CTS Jours fériés			5,1/10,2
ATS Exploitation			1 (*)

ATS : Recépage avec tire sève STS : Recépage sans tire sève
CTS : Coupe du tire-sève
(*) : La tâche est de 150 caféiers/manoeuvre/jour avec ébranchage et rassemblement des troncs coupés tous les 2 interlignes. L'enlèvement des troncs de la parcelle représente 10 à 12 journées de travail supplémentaires.

En ce qui concerne le recépage manuel, on constate que le travail à la tâche ne représente que 15 à 20 % de la journée de travail. Lorsque le manoeuvre n'a pas de tâche précise, il travaille généralement moins, bien que les mesures faites montrent un rendement supérieur. Dans ce cas précis, le fait d'avoir un observateur en permanence sur le chantier, a modifié le comportement des manoeuvres. Le recépage des caféiers, à savoir la coupe des troncs demande donc entre 10 et 17 journées de travail suivant les tâches, auxquelles il faut ajouter 10 à 15 journées pour dégager le terrain.

COMMENTAIRES

Le recépage des caféiers comprend la coupe des troncs et leur enlèvement de la parcelle après ébranchage. Cette deuxième phase dans le recépage ne sera pas prise en compte pour les comparaisons entre les différentes techniques.

Le recépage avec tire-sève s'échelonne sur 2 années consécutives. La première année, on laisse un seul tronc qui portera une petite récolte et l'année suivante on coupe le tire-sève. Avec le recépage sans tire-sève, cette deuxième opération n'existe plus, ce qui réduit d'autant les temps de travaux totaux pour la régénération du caféier.

Tableau 9 : Comparaison recépage avec ou sans tire-sève

Techniques	Temps de travaux (en J.T/ha) Année 1	Année 2	Total
Manuel ATS	11 à 17	8 à 10	19 à 27
Manuel STS	11 à 17	-	11 à 17
Sécateur ATS	3 à 6	2 à 3	5 à 9
Sécateur STS	3 à 5	-	3 à 5
Tronçonneuse ATS	2 à 3	1	3 à 4
Tronçonneuse STS	1 à 2	-	1 à 2

RECEPAGE MANUEL :

Cette technique demande un investissement faible mais exige beaucoup de journées de travail. Si les caféiers sont recépés régulièrement, les troncs ont un diamètre moyen de 8 à 15 cm et la coupe des troncs à la main ne demande pas d'effort particulier. Par contre, sur les vieilles caféières ivoiriennes, il est pratiquement impossible de couper des souches de 20 à 50 cm de diamètre. Le planteur qui démarre une opération de recépage sur vieux caféiers abandonne rapidement s'il ne dispose que d'une scie égoïne. Les temps de travaux n'ont jamais été mesurés en milieu paysan mais il est certain que recéper 1 ha de vieux arbres, même à faible densité, demandera beaucoup d'efforts.

La vulgarisation a tenté de développer l'usage de la scie. Cet outil, mal adapté dans les conditions ivoiriennes, a été abandonné au profit de la tronçonneuse ou alors le planteur a refusé de recéper ces caféiers.

RECEPAGE MECANIQUE :

Le tableau 10 présente les coûts du recépage en FCFA/ha ainsi que la surface minimum qu'il faut recéper chaque année pour amortir le matériel. Dans tous les cas, le recépage mécanique est couteux et les exploitations caféicoles de Côte d'Ivoire sont trop petites pour être mécanisées si la mécanisation est faite uniquement pour le recépage. Pour la tronçonneuse, les données proviennent d'essai en milieu paysan. Pour la débroussailleuse, les estimations ont été faites d'après les normes du fabricant et les observations faites sur fauchage des adventices. Enfin, pour le sécateur hydraulique, les coûts de remplacements des pièces d'usure ont été établis à partir des essais faits sur station lorsque le matériel a été efficient.

La tronçonneuse : Cette machine est largement diffusée en milieu paysan et sert au défrichement des parcelles et à la coupe du bois de chauffe. Généralement, le planteur possède une tronçonneuse plus puissante que celle recommandée par l'IRCC. Dans ces conditions, les coûts de fonctionnement sont plus élevés et surtout la tronçonneuse ne peut être amortie que pour 20 hectares de recépage annuels si l'investissement n'est fait que pour cette opération.

La qualité de la coupe n'est pas très bonne et très souvent la tige éclate quand elle tombe. La souche est fréquemment abîmée, ce qui peut être une source d'infestation pour les maladies cryptogamiques.

Malgré cela, la tronçonneuse est l'outil qui convient le mieux pour le petit planteur car elle permet de couper des caféiers âgés aux troncs bien développés.

On peut observer depuis quelque temps, le développement de petits entrepreneurs qui font du travail à façon pour le planteur. Le coût du recépage est actuellement de 45000 FCFA/ha environ.

La débroussailleuse : Cet appareil commence à être diffusé chez les planteurs. Pour le recépage, il n'est pas très pratique et nécessite une aide pour diriger la chute des troncs. Dans ces conditions son emploi peut être

Tableau 10 : Récapitulatif et Coût/ha

Prix de la journée de travail 1500 FCFA

RECEPAGE MANUEL

Main-d'oeuvre	16 J.T./ha		
Investissement			Durée de vie
	Scie égoine	3000 FCFA	2 ans
	Lime	2500 FCFA	1 an
	Coût en FCFA/ha	28000	

RECEPAGE MECANIQUE

1 - Tronçonneuse

Main-d'oeuvre	3 J.T./ha		
Investissement			
	Tronçonneuse	106225 FCFA	3 ans
Fonctionnement	Entretien	20% soit	7082 FCFA
	Carburant		5625 FCFA
	Chaîne		6000 FCFA
	Huile		3600 FCFA
	Divers		1075 FCFA
	Coût de fonctionnement/an/ha + M.O		20800 FCFA
	Surface à recéper/an		6 ha/an

2 - Débroussailleuse

Main-d'oeuvre	8 J.T./ha		
Investissement			
	Débroussailleuse	165000 FCFA	3 ans
Fonctionnement	Entretien	20% soit	11000 FCFA
	Carburant		6500 FCFA
	Lame		3000 FCFA
	Divers		1150 FCFA
	Coût de fonctionnement/an/ha + M.O		22650 FCFA
	Surface à recéper/an		10 ha/an

3 - Sécateur Hydraulique

Main-d'oeuvre	3 J.T./ha		
Investissement			
	Groupe moteur	1200000 FCFA	
	Sécateur	950000 FCFA	3 ans
Fonctionnement	Entretien moteur	5% soit	15833 FCFA
	Carburant		3100 FCFA
	Pièces d'usure		5000 FCFA
	Divers		2000 FCFA
	Coût de fonctionnement/an/ha + M.O		14600 FCFA
	Surface à recéper/an		55 ha/an

dangereux car la maîtrise du positionnement de la partie coupante est difficile à la cime de la couronne. La débroussailleuse a été essayé uniquement sur des caféiers recépés régulièrement avec des troncs dont le diamètre est compris entre 6 et 10 cm. Les caféières paysannes, jamais recépées, ont des troncs plus gros et il est certain que les difficultés d'utilisation seront accrues ce qui rend l'emploi de cet outil peut intéressant pour le recépage.

La qualité du travail est excellente.

Tant pour la tronçonneuse que pour la débroussailleuse, les fabricants proposent actuellement un moteur avec des outils adaptables tels que scie à chaîne, débroussailleuse, tarière. Dans ces conditions, il est probable que ces kits multi-fonction sont bien adaptés pour le paysan ivoirien. De plus, la maintenance peut être assurée dans chaque village.

Le développement du travail à façon par de petits entrepreneurs est peut-être le début d'une mécanisation de la caféiculture.

Le sécateur hydraulique :

Cet appareil est probablement le mieux adapté pour la taille de recépage mais son coût élevé ne permet pas une diffusion chez les planteurs ivoiriens. Les estimations montrent qu'il faut recéper au minimum 55 ha/an pour amortir la machine. Même pour un entrepreneur agricole, il n'est pas possible d'envisager sa diffusion.

Le diamètre de coupe ne dépasse pas 10/12 cm, ce qui limite son utilisation aux caféiers recépés régulièrement.

Les meilleurs rendements ont été obtenus avec 2 sécateurs travaillant simultanément, le chariot étant déplacé par les opérateurs. La présence d'un troisième ouvrier pour dépalcer le chariot augmente les coûts et ne permet pas un travail plus rapide.

La plantation doit être en ligne et surtout les interlignes doivent être bien dégagés pour faciliter la circulation du chariot.

La présence de tuyaux pour l'alimentation en huile des sécateurs nécessite une bonne coordination des opérateurs et le risque de sectionner un tuyau n'est pas négligeable.

La maintenance du sécateur hydraulque ne peut pas être faite dans les villages sans formation préalable de mécaniciens et sans équipements spéciaux pour la partie hydraulique.

Malgré un coût de fonctionnement relativement faible, on ne peut pas recommander le sécateur dans les conditions ivoiriennes. Toutefois, le constructeur propose un kit comprenant une tarière, une débroussailleuse et un vibreur pour la récolte du café. Des études économiques devraient être faites au cours des prochaines années et dans ces conditions, l'ensemble hydraulique peut s'avérer intéresssant, surtout pour un entrepreneur de travaux agricoles.

CONCLUSION

Le recépage manuel est la technique la plus simple et la plus facile à développer. La mécanisation est cependant un phénomène d'actualité qui permettra de maintenir les jeunes à la terre. Dans ces conditions on ne peut que recommander la tronçonneuse pour le recépage des caféiers ou mieux encore, le kit moteur 2 temps + débroussailleuse + scie à chaîne + tarière.

Le sécateur hydraulique ne peut trouver une application qu'avec une grosse exploitation ou une entreprise de travaux agricoles et à condition que le kit complet soit uitilisé. Il existe des ensembles hydrauliques à monter sur la prise de force ou utilisant le circuit hydraulique du tracteur. Dans ces conditions, il est possible de concevoir tout un ensemble d'opérations qui limiterait au minimum, les interventions sur une parcelle.

BIBLIOGRAPHIE

Capot (J) : Régénérationet taille des caféières en Cote d'Ivoire (CCT 1966 Vol 10 n° 1 p 3-16)

Deuss (J) : La régénération des caféières et les facteurs de production : couverture du sol, engrais (CCT 1971 Vol 15 n° 2 p 115-128)

Bouharmont (P) : Expérimentation sur le renouvellement de l'appareil végétatif du caféier par recépage : caféier ROBUSTA (CCT 1977 Vol 21 n° 2 p 99-110)

Résumé

Le recépage du caféier afin de régénérer la partie aérienne, est une opération de taille classique. En agriculture moderne, la taille est très souvent mécanisée. Aussi, des études sur la mécanisation ont été conduites à l'IRCC en 1987 et 1988, afin de déterminer, d'une part si la mécanisation est applicable au recépage et, d'autre part, quel est le type de matériel le mieux adapté. Pour cela, on a comparé le recépage manuel au recépage mécanisé et on a testé 3 types de matériels différents : le sécateur hydraulique, la débroussailleuse et la scie à chaîne.

Il ressort de ces différentes expérimentations que le recépage est mécanisable et que les coûts directs sont sensiblement les mêmes, tant en manuel qu'en mécanisé. Par contre, il semble que la scie à chaîne est l'outil le plus approprié pour le recépage dans les conditions ivoiriennes de petites exploitations familiales. En fait, dans le cadre d'une motorisation de l'ensemble des travaux agricoles en caféiculture, il faudrait plutôt envisager l'utilisation d'un groupe moteur sur lequel on peut adapter plusieurs outils, tels que débroussailleuse, tarière, scie à chaîne.

Summary

Mechanized stumping trials.

Stumping coffee trees, in order to regenerate the aerial parts, is a standard pruning operation. In modern agriculture, pruning is often mechanized. Studies were therefore carried out on mechanization at IRCC in 1987 and 1988, in order to determine whether mechanization could be used for stumping and what type of equipment was the most suitable. Manual stumping was compared with mechanized stumping, and 3 types of equipment were tested: hydraulic cutters, bush cutters and chain saws.

From these different experiments, it has been found that stumping can be mechanized and the direct costs are virtually the same for both manual and mechanized stumping. The chain saw, however, appears to be the most appropriate tool for stumping under the conditions on the small family holdings in Côte d'Ivoire. In fact, within the framework of modernization of all agricultural work involved in coffee-growing, it would be more advisable to plan using a power unit to which several tools can be fitted, such as brush cutters, augers and chain saws.

MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE-DÉVELOPPEMENT DANS LE BASSIN CAFÉIER XALAPA/COATEPEC, MEXIQUE

B. SALLÉE
IRCC/CIRAD. Apartado postal 391, 91000 Xalapa (Ver), Mexique

R. G. PASQUIS
DSA/CIRAD, même adresse

F. BERHOCOIRIGOIN
Coopération MAE, même adresse

Depuis une dizaine d'années, de nombreux pays de caféiculture ont lancé des programmes de recherche-développement et de transfert de technologie, afin de réduire l'écart entre ce que la recherche caféière en général sait faire et peut proposer, et la situation réelle de la caféiculture et des caféiculteurs. Au niveau social, économique et politique, l'enjeu est capital.

D'autre part, les problèmes internationaux du café incitent les gouvernements à promouvoir des systèmes de production plus rentables permettant aux petits producteurs d'amortir les futurs à-coups du marché.

Dans cette optique, et dans le cadre de la coopération franco-mexicaine, un observatoire scientifique de la zone caféière Xalapa-Coatepec a été mis en place en 1983[1]. Cette opération s'achevait en 1987/1988 avec la création du projet actuel, signé entre la SARH (Secretaria de Agricultura y Recursos Hidraulicos de México) et le CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement), orienté vers le transfert de technologie, sur la base des nombreux acquis scientifiques de l'observatoire. Pour le CIRAD, deux départements travaillent conjointement, l'IRCC, institut de recherche sur le café et le cacao, et le DSA, département des systèmes agraires.

1 CARACTERISTIQUES GENERALES DE LA ZONE ET DU SYSTEME DE PRODUCTION

La région de Xalapa-Coatepec est située au Centre-Ouest de l'Etat de Veracruz.

1. L'observatoire LIDER, Laboratorio de Investigación y Desarollo Regional, né d'une convention entre l'ORSTOM (Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération) et l'INIREB (Instituto Nacional de Inverstigaciones sobre REcursos Bioticos)

L'espace régional est dominé par le Cofre de Perote, volcan qui culmine à 4200m d'altitude. Sur son versant oriental se trouve la zone caféière, divisée en trois sous ensembles:

1. Les zones basses (400 à 900m), à fort déficit hydrique, sur sols pauvres, souvent hydromorphes; c'est le front de colonisation du café.
2. Le coeur caféier de 900 à 1200m avec peu de déficit hydrique, une bonne influence du froid, des sols ferralitiques classiques et peu de fortes pentes.
3. Les zones hautes (1200m à 1500m) à fort risque de gel, sur andosols, sans déficit hydrique.

Les limites altitudinales sont très précises et la région est marquée par un hiver froid (19 degré Nord) avec de longues périodes de brouillard et crachin.

Hors zones basses, l'écologie générale du bassin caféier est très favorable à la culture du café. Sur les marges, les limites de l'extension de la zone caféière sont: le gel en altitude et l'importance du déficit hydrique en dessous de 900m. Pourtant la zone caféière s'étend inexorablement, au détriment des autres cultures présentes sur la zone (canne à sucre, maïs, élevage, etc.).

Depuis le début des années 60, les termes d'intensification de la production de café et de diversification des productions, sont présents dans toutes les politiques de développement des institutions locales et nationales. Très peu de tentatives dans ce sens ont été réellement réalisés dans la zone.

Sur le plan foncier, 80% des exploitations ont une superficie inférieure à 5 ha et 95% inférieure à 10 ha.

Par rapport à la moyenne mexicaine, la caféiculture locale obtient de bons rendements (740 kg de café marchand/ha contre 540 kg), mais qui restent encore inférieurs à ceux que l'on pourrait attendre dans une telle région.

Le système technique de production actuellement présent dans la zone est peu productif, peu intensif mais logique (B.Sallée, 1986).

Les plantations sont le plus souvent sur des versants de vallées. Les pentes peuvent être assez abruptes. Vu de loin les caféiers sont peu visibles. On remarque surtout l'aspect forestier des étages d'ombrage.

Les caféières sont constituées d'un mélange de cultivars, aux architectures et aux comportements très hétérogènes. Elles sont ombragées (Inga spp. et bananiers) et les caféiers sont conduits en multicaulie à croissance libre avec recépage individuel, incomplet, par axe. Les densités sont très faibles (entre 1000 et 1600 caféiers/ha), mais cohérentes avec la conformation "buissonnante" des caféiers. L'entretien est manuel (à la binette plutôt qu'à la machette), l'ombrage maintenant les adventices à un niveau acceptable. A terme les caféiers ferment l'espace et constituent un sous-étage forestier aménagé.

Toutes les variantes de ce système existent, depuis la plantation en plein soleil jusqu'à l'abandon total.

2 LES OBJECTIFS DU PROJET

Objectif général

Tenter d'induire la modernisation des systèmes de production en augmentant le revenu des producteurs et en améliorant la rentabilité du travail; intensifier la production de café, diversifier les productions, améliorer la commercialisation et la gestion , dans le sens d'une certaine "professionnalisation".

Objectifs particuliers

Il est proposé d'effectuer une opération de recherche des modalités de la modernisation des systèmes de production dans leur intégralité.

1. Elaborer un diagnostic à différents niveaux, afin de déterminer les blocages les plus évidents de la modernisation.
2. Proposer et tester des possibilités d'amélioration.
3. Fournir des outils de développement sur ces thèmes, sectoriels mais intégrés, et modéliser une approche globale du développement d'un bassin caféier au Mexique.

3 METHODOLOGIE DE RECHERCHE DU PROJET

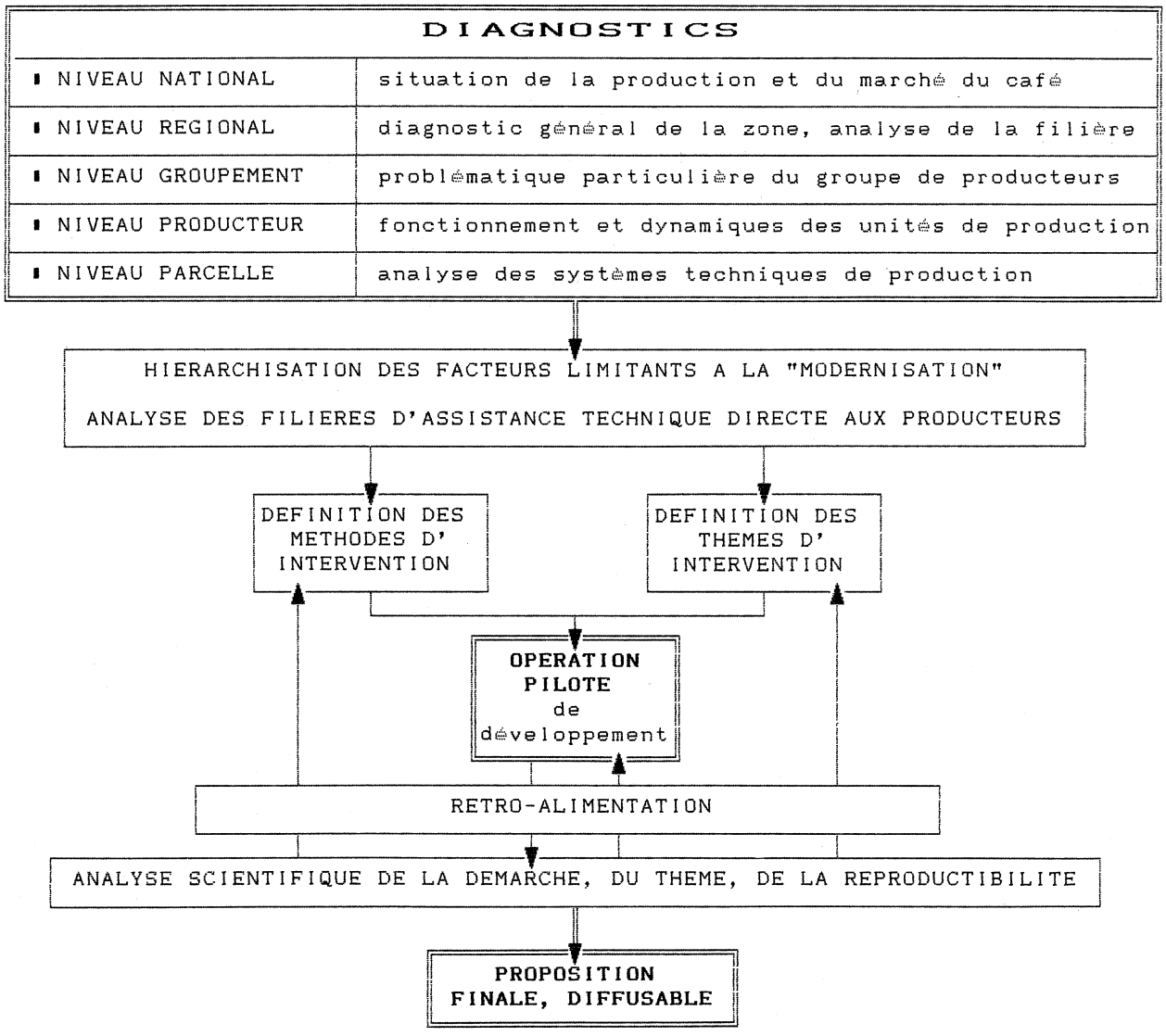


Figure 1: Méthodologie d'expérimentation des interventions de développement. Projet Xalapa-Coatepec. Mexique.

Sur la base de diagnostics à chaque niveau, national, régional, exploitation et parcelle, une hiérarchisation des facteurs limitants de la modernisation est définie. Une série de solutions est alors proposée puis testée en accord avec les groupements de producteurs (cf figure nº 1).

Le niveau d'intervention est le groupement de producteurs, sous quelque forme que ce soit (groupe bancaire, groupe ejidataire, groupe de travail), mais les propositions sont individualisées. Par exemple les plans de financement sont calculés pour un groupement de producteurs, sur la base de stratégies individuelles et de calculs par parcelles. Il faut donc fournir des outils rapides, automatisés qui prennent en compte ces 3 niveaux d'approche.

D'autre part le groupe de recherches SARH/CIRAD ne doit pas s'impliquer dans le développement, mais agir comme catalyseur des forces en présence, en générant sa future substitution. Il doit s'appuyer sur l'assistance technique réellement en place, sur le terrain, afin d'assurer le suivi et la pérennité des actions. Toutes les interventions doivent intégrer la filière et les partenaires de la profession: institutions de recherche, de développement, exportateurs et commerçants privés, etc.

La stratégie d'intervention du projet est résumée dans la figure n° 2

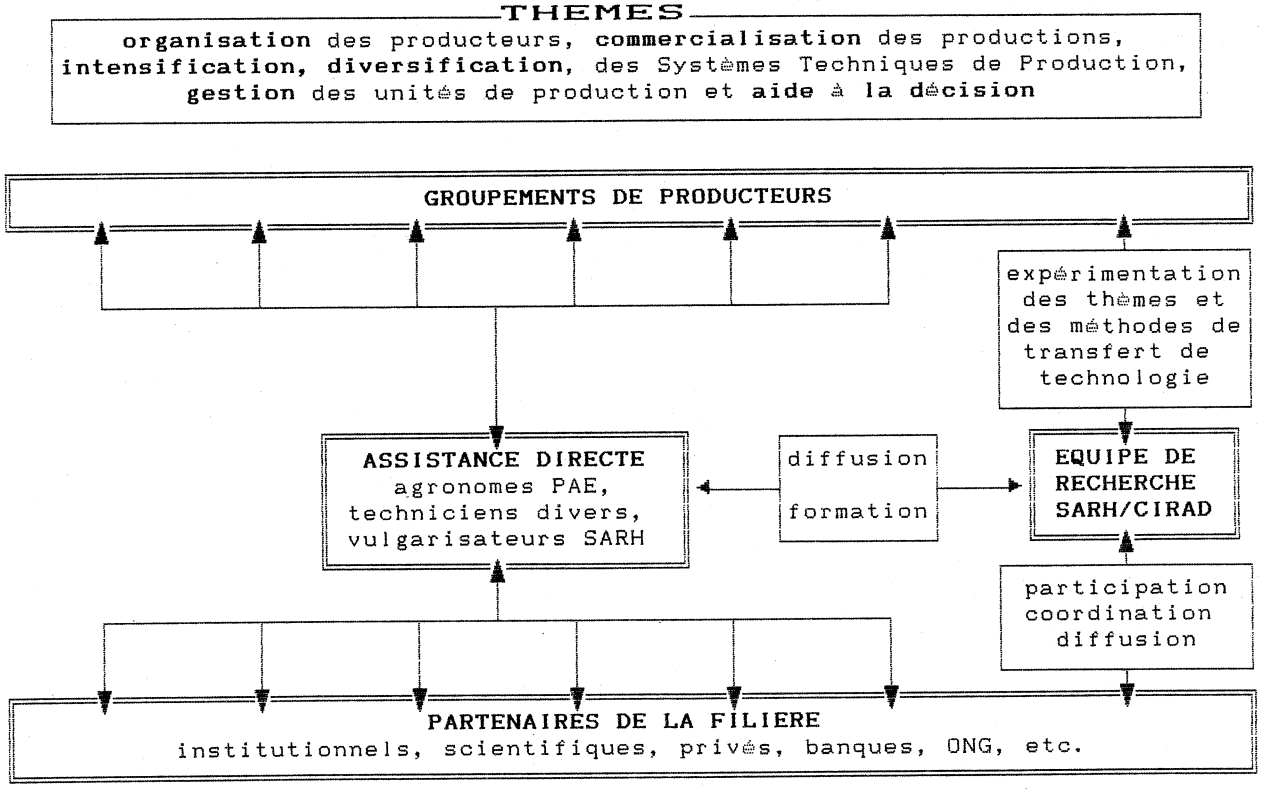


Figure 2: Schéma d'intervention du projet Projet Xalapa-Coatepec. Mexique.

4 LES RESULTATS

Les résultats sont présentés et classés par thèmes de recherche, mais en réalité ils sont souvent étroitement liés entre eux.

Les thèmes de recherche suivent 4 grands axes logiques;

- s'organiser,
- vendre mieux son produit,
- produire mieux,
- savoir gérer et décider.

4.1 S'ORGANISER

Tous les diagnostics concordent sur ce point; seuls les groupements de petits producteurs peuvent:

* faire face aux investissements nécessaires pour la transformation et la commercialisation du café,
* avoir accès au crédit bancaire,
* diriger et financer leur assistance technique,
* prendre des risques.

Mais le regroupement doit être naturel, autour de travail ou d'investissement en commun plutôt que seulement géographique.

Ainsi, c'est au niveau des groupes de crédit qu'a pu être mis en place le système d'assistance technique du FIRA[2] (Banco de Mexico) qui tend à faire prendre en charge le technicien par les producteurs suivant un programme de subventions dégressif sur 5 ans (cf figure n° 3)

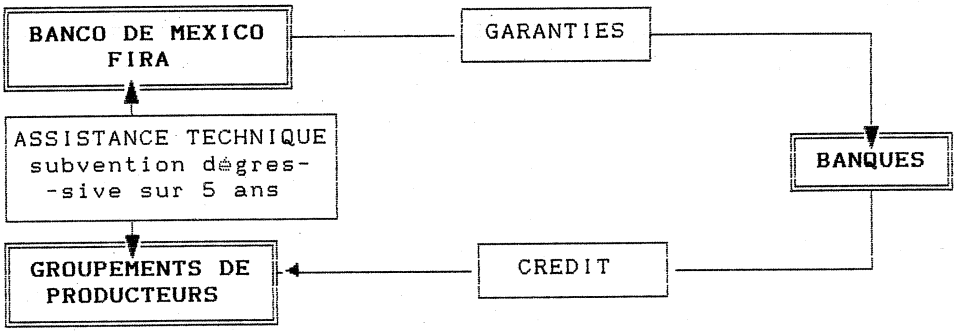


Figure 3: Schéma de fonctionnement du programme d'assistance technique du FIRA/ Banco de Mexico. Programa de Asesores Externos; PAE.

4.2 VENDRE MIEUX

C'est la première préoccupation des producteurs et beaucoup de groupements se soudent autour de la transformation du café cerise en café parche.

4.2.1 Analyse, Diagnostic.

Dans la région, pour des raisons essentiellement historiques et climatiques (toute la période de récolte est froide et caractérisée par la présence de brouillard), les producteurs commercialisent en cerise. L'usine de traitement (beneficio humedo) traite alors le café jusqu'au stade "parche sec" (pergamino seco). Le café est stocké sous cette forme. Lors de la vente le café est traité par d'autres usines (beneficios secos) le plus souvent aux mains des exportateurs. La filière de commercialisation est en réalité beaucoup plus complexe. De plus, il n'existe aucun monopole et les circuits sont ouverts au secteur coopératif.

L'étude des campagnes 87/88 et 88/89 (M. Rodriguez) a permis de mettre en évidence la répartition de la valeur totale du café au Mexique:

* 61% revient à la production,
* 7% aux "beneficios humedos",
* 20% à la commercialisation,
* 11% aux banques (intérêts du capital de travail).

Ainsi il est évident que la transformation du café par les producteurs, un des principaux thèmes de vulgarisation depuis 1982, améliore les revenus des producteurs, mais le secteur clef reste l'accès à la commercialisation.

---

2. FIRA: Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura

Enfin, au niveau technique, un premier diagnostic permet de montrer que la qualité du café de la région se dégrade parce qu'il est beaucoup plus intéressant de jouer sur les grands volumes que sur la qualité. A ce problème s'ajoute une grave pollution des rivières par les eaux de traitement.

4.2.2 Interventions.

Depuis 1985, l'équipe de recherche a suivi la création de 4 beneficios coopératifs (Ph. Marcadent, 1987). Ce travail a permis la mise au point d'une méthode d'organisation et de gestion de ces petites entreprises. La logique économique d'un beneficio est en effet un monde risqué et dangereux pour les petits producteurs.

L'équipe travaille actuellement sur la reproductibilité de ces expériences, la mise au point d'un programme automatisé de gestion et l'intégration des exportateurs privés aux processus de création et de fonctionnement des beneficios coopératifs.

Afin de passer au stade de la commercialisation, une expérience pilote de regroupement de second degré, sur la base de 7 beneficios volontaires a été lancée.

Enfin, l'amélioration de la qualité liée à la pollution des eaux est ressentie comme un thème clef, au niveau régional. L'équipe de recherche travaille sur les points suivants:

- recherche d'une politique de prix en fonction de la qualité,
- mise au point d'un diagnostic technique des beneficios,
- réalisation et suivi d'expériences pilotes de traitement des eaux,
- création d'un laboratoire de contrôle de qualité indépendant et d'un label (appélation d'origine).

4.3 PRODUIRE MIEUX

Produire mieux c'est:

1. Améliorer la production par unité de surface,
2. Réduire le coût de production d'un kilo de cerise,
3. Diversifier les sources de production.

Depuis de nombreuses années c'est le credo des institutions de développement de la région. Pourtant, si l'on a pu remarquer effectivement une amélioration sensible des niveaux de rendements des plantations existantes, il est extrêmement rare de rencontrer des parcelles à hautes densités, ou simplement différentes du système traditionnel.

Ainsi, dès 1985, était réalisée une étude fine de la dynamique des systèmes de production, afin de prévoir l'intérêt de l'intensification (C.Bernard, 1988).

4.3.1 Résultats des diagnostics. La problématique de l'intensification.

Sans rentrer dans le détails de ces travaux-clefs (C.Bernard, 1988, R.G.Pasquis, 1987), les principaux résultats sont les suivants:

1. Une typologie de producteurs a été créée. Le travail et le capital sont les principaux facteurs discriminants (cf figure n° 4);
2. Le café est une spéculation rentable à très rentable, surtout en comparaison avec les autres cultures présentes dans la région (canne à sucre, maïs, mangue, etc.).
3. Le seuil de reproduction[3] des exploitations agricoles se situe autour de 1 ha.

---

3. superficie minimale à partir de laquelle le produit brut d'exploitation est supérieur à la somme des charges de production et des besoins propres

4. Face à une économie nationale instable, la plupart des petits producteurs adoptent une stratégie anti-risque, qui vise à maintenir la production ou à l'augmenter par l'extension des surfaces. Dans ces conditions le coût de production est essentiellement constitué de main d'oeuvre, souvent familiale, alors que les intrants n'en représentent que 10 à 15%.

%	TYPE	DEFINITION	IDENTIFICATEUR
40-50 %	**MINIFUNDISTE**	Le produit d'exploitation ne permet pas la subsistance de la famille; le paysan doit s'embaucher comme journalier.	production < 5T de café ou < 4.5T de café + 1T de maïs
30-40 %	**EXPLOITATION PAYSANNE FAMILIALE**	Le produit d'exploitation permet la subsistance de la famille. Tout le travail sauf la cueillette est effectué par la famille.	production > 5T de café ou > 4.5T de café + 1T de maïs $\frac{\text{sup(maïs+café)}}{\text{UTA}} < 2$
10-20 %	**EXPLOITATION PAYSANNE PATRONALE**	Le producteur participe à l'ensemble des travaux, mais a recours aux journaliers y compris hors récolte (HR). Le travail salarié représente entre 30 et 60% du travail HR.	$\frac{\text{sup(maïs+café)}}{\text{UTA}} > 2$
5 %	**ENTREPRISE AGRICOLE**	Le travail familial représente moins de 10% du travail total.	production >10T de café Le capital provient d'activités non-agricoles

Figure 4: Les différentes catégories d'exploitation à Cosautlan. D'après C. Bernard. 1988.

5. Seules certaines exploitations en situation de saturation foncière adoptent une certaine intensification, qui se traduit par l'augmentation du nombre de fertilisations (0/1 à 2/3) et de désherbages, par des recépages plus fréquents, etc. Mais si ce type d'intensification permet d'augmenter la valeur ajoutée par unité de surface (de 3/4 à 5/6 tonnes de café cerise par ha), la valeur ajoutée par journée travaillée reste constante (30kg de cerise /jour).
6. Les itinéraires techniques sont très différents suivant les écologies. Les "paquets" techniques actuellement diffusés ne prennent pas en compte ce facteur.

4.3.2 Solutions, expérimentations proposées.

Il est évident que le système actuellement en place se heurte à une politique d'intensification, car sa rentabilité suppose un faible niveau d'intrants et un coût de production essentiellement constitué de main d'oeuvre. A partir du moment où un producteur suit une réelle trajectoire d'intensification, il devient beaucoup plus rentable de changer de système technique de production.

Or dans l'état actuel des caféières il est impossible de faire passer le système traditionnel à un système intensif, sans rénovation totale et replantation, surtout à cause du mélange de variétés.

Il est donc proposé:

1. d'améliorer le système traditionnel jusqu'à son point d'équilibre économique,
2. de proposer et de tester de nouveaux systèmes intensifs, adaptés.
3. d'adapter les itinéraires au zonage écologique et à la typologie de producteurs (4 types X 3 zones).

Aucune de ces interventions n'est proposée sans

1. un plan de financement des banques,
2. une réelle assistance technique qui assure le suivi et l'évaluation des innovations comme le programme PAE,
3. la mise en place d'un système de gestion individuelle qui permet au producteur d'évaluer la rentabilité des propositions.

Améliorer les caféières en place

Comme nous l'avons vu plus haut il faut trouver des termes techniques, qui améliore la rentabilité des parcelles, sans mettre en péril la stratégie anti-risque du système. 3 thèmes simples ont été choisis et sont actuellement testés

* l'amélioration de la fertilisation en qualité, quantité, fréquence et mode d'application,
* l'adoption d'un système de taille, alternant écimage et recépage,
* gestion et aménagement de l'ombrage

Une importante recherche a eu lieu sur le premier point et a permis la création d'une variante en espagnol du programme informatisé de recommandations de fertilisation mis au point par Snoeck D. et J.(1988).

Par contre des thèmes souvent mis en avant par la vulgarisation, lutte contre la rouille, protection phytosanitaire globale, recépage, redensification progressive, ont été jugés peu rentables et contraires aux diagnostics cités plus haut.

Proposer de nouveaux systèmes techniques de production

Il s'agit de mettre en place un réseau de parcelles démonstratives d'un système technique de production moderne fondé sur:

* des cultivars de port nain,
* des hautes densités et
* une politique de taille cyclique par ligne.

Mais il est vite apparu illusoire de proposer ces systèmes individuellement tant que la situation des producteurs n'est pas assainie; la gestion des urgences et du quotidien empêche la réalisation d'une politique à moyen terme.

Les parcelles sont donc le plus souvent gérées au niveau des groupements, et financées par un crédit bancaire. Le suivi économique et technique est assuré par un agronome.

Afin de réaliser ces parcelles, un travail sur les pépinières a été réalisé en 1988. En effet le principal obstacle à la création de ces parcelles est l'obtention des plants (3 à 7000/ha) qui alourdit considérablement le coût de plantation.

4.3.3 Diversifier la production

La diversification de la production est un thème de consensus. Pourtant l'extension de la zone caféière parait inexorable, malgré les nombreux programmes d'introduction de nouvelles cultures, mis en place depuis 1959 dans la zone.

Il faut en effet pouvoir proposer une spéculation aussi rentable que le café, dont les circuits de commercialisation existent plus ou moins dans la

zone, qui ne soit pas radicalement différente du café au niveau de l'approche (comme l'élevage par exemple).

Ainsi la culture des fruitiers a été retenue, et le projet s'est orienté principalement sur trois cultures déjà existantes dans la zone : la lime perse, la mangue et la noix de macadamia.

4.4 SAVOIR GERER ET DECIDER

Tout le sens du projet repose sur l'interaction entre les thèmes techniques et les informations économiques de l'unité de production.

L'enregistrement technico-économique des flux financiers et physiques au sein de l'exploitation agricole a le double objectif d'améliorer la gestion et d'autre part de détecter les goulots d'étranglement au niveau de la production. La hiérarchisation de ces derniers permet de choisir les innovations technologiques, en accord étroit avec le producteur.

A chaque fois qu'une intervention est proposée, il faut pouvoir:

* la financer correctement,
* gérer sa réalisation,
* la suivre,
* l'évaluer et
* la replacer dans le contexte de l'exploitation.

la financer correctement

Actuellement les crédits de campagne agricole proposés par les banques ont deux graves défauts;

* le montant est inadéquat et calculé globalement, sur la zone,
* ils sont très décalés par rapport aux cycles agricoles.

Ces deux points sont l'objet d'une recherche en collaboration avec le FIRA/Banco de Mexico et les banques. Un dossier sur l'analyse du calcul du montant du crédit a été réalisé en 1988, et un programme informatisé de calcul par parcelle et par producteur a été mis en place. En ce qui concerne l'adéquation entre les cycles financiers et agricoles, la solution avancée est la constitution progressive d'un capital de travail dans chaque groupement.

gérer sa réalisation, la suivre, l'évaluer.

Il s'agit de mettre en place un outil de suivi économique, au niveau de l'unité de production et de la parcelle. Cet instrument doit pouvoir:

* comparer la réalisation pratique et les recommandations théoriques,
* dresser des bilans comptables de l'exploitation,
* d'évaluer les coûts de production et la rentabilité de chaque parcelle,
* servir de base aux vulgarisateurs, aux agronomes et aux financiers.

Il doit être de plus, simple, réalisé par les producteurs et complet sans être trop lourd.

Ainsi les recherches ont porté sur un relevé journalier des mouvements du travail et de l'argent (el diario de mi rancho). Une synthèse hebdomadaire est réalisée avec les producteurs, ainsi qu'une réunion de présentation mensuelle des résultats. La méthodologie a été modifiée et discutée point par point avec les groupements.

Cette méthode très précise est bien acceptée par les producteurs qui commencent à percevoir leurs travaux et leurs dépenses sous un autre angle. Ainsi certains producteurs vont adopter des itinéraires techniques différents en fonction du degré de rentabilité de leur parcelle.

replacer dans le contexte de l'exploitation

Cette méthode de suivi doit être complétée obligatoirement par une photographie périodique de l'exploitation qui permet de juger de l'évolution

globale, foncière, économique et du capital. Une formule d'enquête rapide, sur ces 4 points, est donc réalisée annuellement.

La synthèse du suivi et du bilan permet d'évaluer et de décider.

5 CONCLUSION

Le projet de recherche-développement Xalapa-Coatepec a la chance de reposer sur d'importantes connaissances scientifiques, et surtout sur une image très précise de la problématique de la production agricole.

La hierarchisation des facteurs limitants à l'intensification a permis de se focaliser sur des thèmes aussi important que le crédit bancaire, l'assistance technique ou la commercialisation avant d'aborder réellement le transfert de la technologie caféicole, qui n'est concrètement réalisable et acceptable que lorsque ces problèmes sont résolus.

Les techniques de caféiculture à transférer doivent, elles, oublier temporairement les schémas théoriques et optimaux expérimentés dans les stations de recherche, pour s'adapter aux diagnostics et aux critères de rentabilité. Ils seront cependant progressivement mis en pratique grâce à l'amélioration progressive de la situation des agriculteurs.

Enfin il apparaît indispensable d'introduire des systèmes de gestion et d'aide à la décision simples, en même temps que les innovations techniques.

BIBLIOGRAPHIE

BERNARD (C.).1988.Différenciation des systèmes de production à la périphérie du bassin caféier de Xalapa-Coatepec (Mexique).-Th. de Docteur-Ingénieur, Paris: INAPG.-269p.

MARCADENT (P.).1987.Sociedades de pequeños productores de café. Una alternativa de organización en zonas marginadas. Dos experiencias: Las Tenerias y Tlapexcatl.- México: Fomento Cultural y Educativo.-89p.

MARCHAL (J.Y.), PALMA (R.).1985.Análisis grafico de un espacio regional: Veracruz.- Xalapa: INIREB/ORSTOM.-211p.

PASQUIS (R.G.).1987.Tentative de bilan des connaissances sur la problématique de la production agricole dans le bassin caféier de Xalapa-Coatepec. Le cas des petits producteurs de café.- Xalapa:DSA/CIRAD.-32p.

RODRIGUEZ (M.).1989.Repartición del valor del café en México en 1988/1989.- Comunicación en el taller de administración de beneficios, San Alonso.

SALLEE (B.).1986.Compte-rendu de mission dans l'aire caféière Xalapa-Coatepec-29/9 au 11/10.- Kourou: IRCC/CIRAD.-20p.

SNOECK (D. et J.).1988.Programme informatisé pour la détermination des besoins en engrais minéraux pour les caféiers arabica et robusta à partir des analyses du sol.- Paris, Café Cacao Thé, vol.XXXII, n°3, juil.-sept.-p 201-213.

RESUME

Le projet de recherche-développement du bassin caféier de Xalapa/Coatepec aborde la problématique d'une région caféière où la majorité de la production est assurée par des petits producteurs (<5ha). Depuis de nombreuses années les superficies caféières ne cessent de s'étendre, sur le modèle du système de production extensif déjà en place.

Un groupe de recherche franco-mexicain a été créé sur cette problématique. Il associe la SARH, ministère de l'agriculture mexicain au CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement).

L'objectif général du projet est d'induire une certaine modernisation des systèmes de production dans leur intégralité; intensifier la caféiculture, diversifier les productions, améliorer la commercialisation, la gestion des unités de production et la prise de décision conséquente.

L'objectif particulier du projet est d'effectuer une opération de recherche sur les modalités du transfert des technologies relatives à ces thèmes.

Le niveau des interventions est le groupement de producteurs, et le projet tente , dans la mesure du possible, d'intégrer la filière café au processus de recherche et de développement.

Resumen

El proyecto de Investigación-Desarrollo de la cuenca de Xalapa-Coatepec trata la problemática de una región cafetalera en la cual la mayoría de la producción proviene de pequeños productores (< 5 ha). Desde varios años las superficies cultivadas en café no dejan de extenderse, bajo el modelo de sistema de producción extensivo ya implementado.

Un grupo de investigación franco-mexicano se constituyó alrededor de dicha problemática. Asocia la SARH, ministerio mexicano de agricultura y el CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement).

El objetivo general del proyecto es de provocar la modernización integral de los sistemas de producción; intensificación de la caficultura, diversificación de las actividades, mejorar la comercialización, la administración de las unidades de producción y la toma de decisión consecuente. El objetivo particular del proyecto es de efectuar una operación de investigación sobre los metodos de transferencia de tecnologías relacionadas con estos temas.

El nivel de las intervenciones se úbica en las organizaciones campesinas y el proyecto intenta, en la medida de lo posible, integrar el complejo de producción del café al enfoque de investigación en desarrollo.

Summary

Research and development methodology in the Xalapa/Coatepec coffee Basin, Mexico.

The Xalapa-Coatepec coffee basin research and development project deals with the problems of a coffee-growing area where most of the crop is produced by small growers (< 5 ha). For many years the areas under coffee have increased continuously, following the model of the existing extensive production system.

A Franco-Mexican research group has been set up to study these problems. It is a joint venture between SARH, the Mexican Ministry of Agriculture, and CIRAD.

The overall aim of the project is to induce a degree of modernization into all the production systems: i.e. intensify coffee-growing, diversify crops and improve marketing, production unit management and the ensuing decision-making-process.

The special aim of the project is to carry out a research operation on how the technology involved in these topics can be extended.

The research operations are carried out at the growers' association level and the project attempts, as far as possible, to integrate coffee production into the research and development process.

SYNTHÈSE DES TRAVAUX DE RECHERCHE SUR LA RÉSISTANCE GÉNÉRALE (OU INCOMPLÈTE) DE *COFFEA ARABICA* L. A LA ROUILLE ORANGÉE (*HEMILEIA VASTATRIX* B. ET Br.)

R. A. MULLER (*)

INTRODUCTION

La rouille orangée, *Hemileia vastatrix* B. et Br., est considérée comme l'une des plus graves affections du caféier (fig. 1) :

- elle l'est par son étendue géographique puisque depuis qu'elle a atteint le continent latinoaméricain en 1970, qu'elle s'y est répandue partout en moins d'une quinzaine d'années, et qu'elle se développe en Papouasie depuis 1986, on peut dire qu'elle concerne tous les pays producteurs de café, les quelques rares zones encore intactes n'étant bien évidemment qu'en sursis très temporaire ;

- elle l'est aussi par l'importance possible de ses dégâts, et la littérature ne manque jamais de citer le cas extrême de Ceylan où la caféiculture a disparu du fait des attaques de ce pathogène, il y a un peu plus de cent ans ;

(*) Raoul A. MULLER, Directeur Scientifique et Chef du Service de Phytopathologie de l'IRCC (Institut de Recherches du Café, du Cacao et autres plantes stimulantes, Montpellier, France).

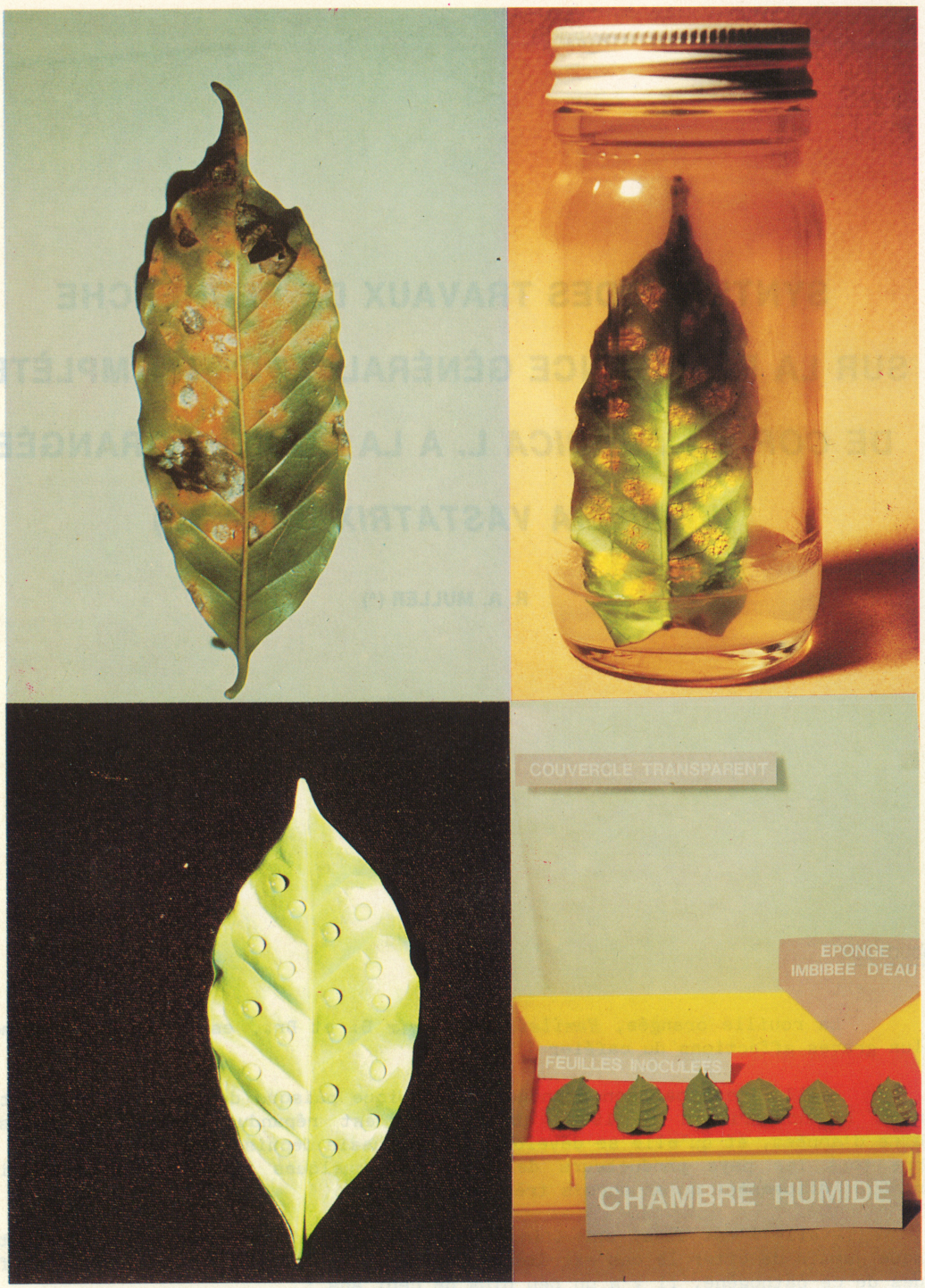


Fig. 1 : Feuille de *Coffea arabica* L. fortement atteinte par *Hemileia vastatrix* B. et Br.
Fig. 2 : Production d'urédospores d'*Hemileia vastatrix* sur feuilles en survie en milieu stérile.
Fig. 3 : Dépôts de gouttes d'une suspension d'urédospores d'*Hemileia vastatrix* à la face inférieure d'une feuille de *Coffea arabica*.
Fig. 4 : Chambre humide où sont disposées les feuilles inoculées par *Hemileia vastatrix*.

- elle l'est enfin par les problèmes posés pour la combattre par la voie des traitements chimiques, non pas que les fongicides soient inefficaces, mais par le fait que les traitements sont difficiles à exécuter dans les zones montagneuses où est cultivé le caféier arabica qui est l'espèce la plus vulnérable.

Pour toutes ces raisons, la rouille orangée du caféier a toujours été une source de préoccupation pour les pays producteurs d'arabica et tout particulièrement pour les pays latinoaméricains dont l'économie est très dépendante du café et où le matériel végétal cultivé avait jusqu'à une date très récente, une base génétique très étroite puisque résultant d'une seule introduction.

Aussi, de nombreux travaux ont-ils été effectués partout dans le monde pour trouver des solutions visant à maîtriser ce problème, la solution génétique apparaissant bien évidemment la plus commode et la plus économique.

LA RESISTANCE SPECIFIQUE

Dans cette voie de recherche, les connaissances les plus avancées concernent le système hôte-parasite admirablement étudié par l'Ecole portugaise (*) qui a mis en évidence l'existence d'une résistance de type "vertical" ou plus exactement spécifique, de type qualitatif reposant sur la présence chez le caféier d'un petit nombre de gènes *SH* dits de sensibilité exclusive s'opposant "gène pour gène" à des gènes *v* de virulence de l'*Hemileia*.

En s'associant entre eux de manière diverse, les gènes *SH* déterminent chez l'hôte divers groupes de résistance ou groupes physiologiques. De la même manière, les gènes de virulence *v* peuvent être diversement associés pour déterminer les différentes races du parasite dont trente-deux sont actuellement connues.

Dans le cas du caféier arabica, on a identifié 5 gènes *SH1* à *SH5* ; la majorité des variétés cultivées possédent uniquement le gène *SH5* et constituent le groupe physiologique *E*. Elles sont par conséquent sensibles à la race II du pathogène, la plus répandue dans le monde, qui ne possède que le gène *v5* et à toutes les autres races qui possédent ce gène associé à d'autres.

Chez d'autres espèces de caféier, se rencontrent des gènes autres que *SH1* à *SH5* : en particulier l'Hybride de Timor 832, représentant du groupe physiologique A, possède au moins quatre gènes différents des gènes *SH1* à *SH5* qui lui confèrent une résistance totale à toutes les races de rouille connues ; d'autres Hybrides de Timor qui n'ont que un, deux ou trois de ces gènes caractérisent les groupes physiologiques *R*, *1*, *2* et *3* et sont sensibles à un petit nombre de races du pathogène.

Sans entrer dans le détail, l'exploitation de la résistance de l'Hybride de Timor par des croisements avec des variétés commerciales sensibles à la rouille a abouti à l'obtention de variétés de caféier qui ont été, depuis quelques années, mises à la disposition des producteurs.

Il s'agit principalement du groupe des Catimors. Ces Catimors résultent de croisements entre l'Hybride de Timor et le Caturra, variété de type Bourbon que son nanisme permet d'employer à très haute densité, ce qui lui confère une très forte productivité. D'autres variétés existent qui portent des noms évocateurs de leur origine, tels que le Cavimor, le Sarchimor, le Blumor, respectivement issus de croisements entre l'Hybride de Timor et le Catuai, le Villa Sarchi, ou le Blue Mountain.

Les Catimors, qui constituent le groupe le plus nombreux dans cet ensemble, ont la particularité d'avoir hérité le nanisme de leur parent Caturra et la résistance de l'Hybride de Timor. Il en existe de nombreuses séries qui ont été diffusées au stade de la

(*) CIFC : Centro de Investigaçao das Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal.

F5 ou de la F6 pour être mises en essai de comportement dans de nombreux pays. Beaucoup de ces caféiers ne sont guère satisfaisants au plan de la productivité ou de la vigueur, étant épuisés après les premières récoltes, mais certains sont au contraire prometteurs et peuvent être améliorés.

Parmi les descendances issues de croisements entre Caturra et Hybride de Timor, une mention très spéciale doit être faite de la variété "Colombia", fruit d'un travail de sélection tout à fait admirable réalisé par le Dr. CASTILLO ZAPATA, le Dr. German MORENO RUIZ et quelques autres chercheurs de CENICAFE (*). Diffusée en Colombie depuis quelques années, cette variété composite a la particularité d'être conçue pour être évolutive et est donc à la fois, adaptable à diverses situations, et perfectible. Elle est, en ce qui concerne la rouille orangée, une multiligne constituée d'individus appartenant aux différents groupes physiologiques de résistance à ce pathogène, et censée, par le fait même et selon les théories de BROWNING, présenter une résistance durable.

Sans entrer dans le détail de sa production, on peut considérer qu'elle constitue actuellement une bonne solution alliant les qualités d'une variété à haute productivité à la résistance à la rouille.

La voie de la résistance spécifique a donc été très féconde puisqu'elle offre depuis quelques années déjà, pour le problème de la rouille orangée, une solution pratique qui peut encore être améliorée mais qui paraît jusqu'à présent tout à fait satisfaisante.

Alors pourquoi chercher autre chose ?

Pour répondre à cette question, il convient de se reporter quelques années en arrière.

En effet, tandis que se forgeaient petit à petit les connaissances ayant conduit aux Catimors, beaucoup de questions étaient posées, beaucoup de craintes étaient exprimées quant au caractère durable d'une résistance spécifique ne mettant en jeu qu'un petit nombre de gènes.

La littérature fourmille de ces craintes et des réserves formulées à cet égard.

De nombreux exemples de perte de résistance spécifique par le jeu de la pression sélective peuvent en effet être cités pour des couples hôte-parasite autres que le couple caféier-rouille orangée. Pour des plantes annuelles, il paraissait admissible de perdre une variété résistante du fait qu'il est relativement facile d'en créer une nouvelle. S'agissant d'une plante pérenne comme le caféier pour lequel la création d'une nouvelle variété demande vingt ans ou plus, ce risque ne pouvait guère être accepté.

J'avais pour ma part (**) tenté d'analyser ce risque en ce qui concerne le couple caféier-*Hemileia vastatrix* et étais arrivé, en me fondant sur des faits observés ou hautement probables, à la conclusion que le risque était très grand si l'on ne prenait pas au moins un certain nombre de précautions.

Il était en effet clair, si l'on se reportait à ce qui était connu entre dix et vingt ans en arrière :

- que l'*Hemileia vastatrix* avait une grande capacité à muter ;

- que, grâce à cette capacité de mutation, de nouvelles races, comptant un gène additionnel au gène *v5*, avaient pu apparaître et se maintenir, même en l'absence de pression de sélection ;

(*) **CENICAFE** : Centro Nacional de Investigacion de Cafe, Chinchina, Caldas, Colombie.

(**) **Raoul A. MULLER** : Quelques réflexions pour définir une stratégie de sélection de variétés de caféiers résistantes à la rouille orangée. Café-Cacao-Thé, vol. XXVIII, n°1 janv.-mars 1984.

- que les gènes *SH1* à *SH5* même associés étaient rapidement contournés par l'apparition de nouvelles races du pathogène et n'étaient par conséquent pas d'un grand secours ;

- que, contrairement aux théories admises en général et celles de BROWNING en particulier établies à partir d'autres couples hôte-parasite, la présence d'une diversité génotypique du caféier en ce qui concerne les gènes *SH*, loin d'éviter la diversification du pathogène pour les gènes de virulence *v*, semblait être un facteur favorable à cette diversification ;

- que l'on avait de bonnes raisons de penser que les gènes *SH6* à *SH9* pouvaient, comme les gènes *SH1* à *SH5* être contournés, l'utilisation de génotypes ne possédant qu'une partie des gènes de l'Hybride de Timor ayant déjà suscité l'apparition des races de rouilles correspondantes ;

- qu'en conséquence l'utilisation d'un mélange de génotypes tel qu'il se présente en général dans les descendances de Catimors qui comptent en proportion variable des individus appartenant aux groupes *A*, *R*, *1*, *2*, *3* et *E*, risquait de provoquer, par le jeu de mutations monogéniques successives, la perte de la résistance, et que la seule parade, pour retarder cette échéance, était dans l'utilisation des seuls individus appartenant au groupe *A* ;

- qu'en conséquence encore la stratégie des multilignes qui avait fait ses preuves dans d'autres cas ne paraissait pas adaptée au cas particulier du couple caféier-*Hemileia*.

Je craignais pour ma part qu'une variété composite telle que la variété "Colombia" pourrait ne pas avoir une résistance durable.

LA RESISTANCE GENERALE OU INCOMPLETE

Il paraissait donc clair que s'il fallait, puisqu'ils existaient, tirer le meilleur parti des résultats des travaux portant sur la résistance spécifique, en prenant la précaution de n'utiliser que des individus du groupe *A* ayant conservé tous les gènes de l' Hybride de Timor, il était raisonnable de chercher une solution de rechange qui ne présenterait pas les mêmes inconvénients et en particulier qui pourrait être plus durable.

Cette alternative résidait bien évidemment dans l'étude puis l'exploitation de l'autre forme de résistance des plantes aux pathogènes connue sous le nom de *résistance horizontale*, mais qu'il vaut mieux désigner, par opposition à la résistance spécifique, sous le nom de *résistance générale* et dont les fondements sont très différents.

Schématiquement, on peut dire que, tandis que la résistance spécifique se traduit en termes qualitatifs, la résistance générale se traduit en termes quantitatifs et peut présenter des degrés d'où le nom de *résistance incomplète* qui lui est aussi donné.

Ce type de résistance vis-à-vis de la rouille avait été repéré chez le caféier à diverses occasions ; par exemple :

- l'échelle d'appréciation des réactions à l'infection employée par l'Ecole portugaise tient compte de différences quantitatives puisque l'on parle de plantes "moyennement sensibles" ou "moyennement résistantes" ;

- au champ, on voit bien que des variétés "sensibles" au sens qualitatif (puisque attaquées) sont très diversement atteintes, ce qui traduit l'existence, à côté de l'effet de paramètres inhérents à la structure des arbres et qui favorisent plus ou moins la contagion, d'une résistance de type quantitatif dont il convient de définir les caractéristiques.

En s'appuyant sur ce que l'on sait d'autres couples hôte-parasite, on pouvait penser que ce système quantitatif méritait d'être étudié très en détail, car son exploitation devait en principe conduire à la sélection de variétés de caféiers présentant, vis-à-vis de la rouille, une résistance stable.

On peut en effet schématiser à grands traits les caractéristiques de la résistance générale :

- la résistance générale s'exprime sans intervention des gènes de résistance spécifique ;

- la résistance générale agit donc en princice vis-à-vis de toutes les races de l'agent pathogène ;

- la résistance générale dépend d'un complexe de gènes qui, régissant les fonctions normales de la plante, contrôlent par ce biais les processus de base de la maladie ;

- si la résistance spécifique se traduit par la présence ou l'absence de lésions --réactions qualitatives-- et par un type de lésion, la résistance générale se traduit par un type de lésion, par un nombre de lésions, par l'abondance de la sporulation, par la progression de l'épidémie, au total par des réactions quantitatives ; l'un des effets les plus directs de la résistance générale est, au niveau de la population pathogène, d'en réduire la vitesse d'accroissement, et, selon J. CHEVAUGEON, "elle diminue ainsi le volume de cette sporulation à un instant donné et, pour un taux de mutation fixe, réduit la probabilité d'apparition d'un mutant, en particulier d'un mutant de virulence : elle retarde donc l'apparition des nouvelles virulences et prolonge l'efficacité des gènes de la résistance spécifique" ;

- facteur de stabilité de la résistance spécifique, la résistance générale est en principe stable, car, étant gouvernée par de nombreux gènes, il serait nécessaire que le parasite subisse un très grand nombre de mutations pour la vaincre ; cette stabilité peut tenir en plus au fait que, étant incomplète, la résistance générale n'exerce pas une forte pression de sélection sur l'agent pathogène, dont la population d'origine est maintenue à un certain niveau.

Il résulte de ce qui vient d'être dit que la résistance générale peut être évaluée :

- en bloc : c'est la "résistance au champ", mesurée selon des indices globaux tels que le pourcentage d'organes atteints, le pourcentage d'organes détruits, l'indice d'infection reposant sur une appréciation visuelle selon un barème défini, etc. ;

- en séparant les différentes composantes de la maladie, critères quantitatifs d'appréciation tels que période de latence, période de fructification, intensité de la sporulation, intensité des effets de l'agent pathogène sur les tissus (nécroses par exemple) ou sur les organes (chutes de feuilles par exemple), vitesse de développement des lésions, etc..

En ce qui concerne la mesure de la résistance générale, il faut souligner, selon J. CHEVAUGEON, que :

"- l'appréciation de la quantité de maladie à un seul instant (une seule notation) ne permet pas de mesurer la vitesse de progression de cette quantité. Il faut au minimum deux mesures successives. La quantité évaluée à l'instant dépend de plusieurs paramètres : quantité d'inoculum initial au début de l'épidémie, vitesse de multiplication du parasite, durée de l'épidémie jusqu'au moment de la mesure ;

"- la quantité d'inoculum initial et la durée de l'épidémie dépendent de l'environnement des plantes sur lesquelles sont effectuées les mesures. En grande

plantation homogène, l'inoculum initial provient presque exclusivement du même génotype et le début de l'épidémie dépend principalement du comportement de ce génotype modulé par le milieu. En station d'essai, l'inoculum initial peut provenir en totalité ou en partie d'autres génotypes, d'où des biais qui peuvent être très importants.

"- la résistance générale appréciée globalement est la somme des effets de composantes différentes : il importe, pour bien la gérer, d'accumuler, ou de ne pas perdre, au cours d'un programme génétique, certaines de ces composantes, donc de les évaluer tout au long de ce programme, de les identifier et de détecter celles qui ont le plus grand poids et présentent les plus larges possibilités d'amélioration."

Jusqu'à une dizaine d'années en arrière, il n'existait, comparativement à la masse d'études faites sur la résistance spécifique que peu de travaux sur la résistance générale ou incomplète du caféier à la rouille.

Ces quelques travaux qui avaient été principalement faits au Brésil et au Cameroun, d'une part montraient cependant qu'il pouvait y avoir comme source de résistance générale le *Coffea canephora* et le *Coffea arabica*, et d'autre part apportaient des informations sur les modalités de l'expression de cette résistance chez le *Coffea canephora* et ses dérivés, et chez le *Coffea arabica*.

Cas du *Coffea canephora* et de ses dérivés

Selon les auteurs ayant travaillé au Brésil, CADENA, COSTA, BURITICA, RIBEIRO, ESKES, SCALI, ABREU, FONSECA, etc., au cours des années 70 et 80, la résistance générale du *Coffea canephora* a pu être étudiée chez le Kouillou, l'Icatu et le Catimor.

Le Kouillou, variété de *canephora* classée dans le groupe physiologique *F* donc sensible à toutes les races de rouille, a la réputation, partout où il est cultivé, d'être "résistant", en ce sens qu'il est peu atteint, et que les attaques ne semblent pas l'affecter, ni en termes de défoliation, ni en termes de production. Il apparaît donc "tolérant" à la rouille bien que "sensible" au sens spécifique du terme.

D'après les auteurs cités plus haut, la rouille a sur le Kouillou un taux de sporulation moindre que sur Icatu ou les différents arabica, ce qui pourrait expliquer le faible degré d'attaque observé au champ.

Le peu d'effet au champ de la rouille sur l'évolution du feuillage du Kouillou, comparé aux destructions observées sur le témoin Mundo Novo, est un élément important des réactions du Kouillou aux attaques de rouille.

Des corrélations existent entre période d'incubation et indice de sporulation (négative), entre période d'incubation et pourcentage de lésions sporulées (positives), etc.

L'exemple du Kouillou qui n'a pas de résistance spécifique mais est doté d'une forte résistance générale montre bien l'indépendance des deux systèmes.

Hybride interspécifique entre robusta tétraploïde et arabica, rétrocroisé avec arabica, l'Icatu ne constitue pas une population homogène en ce qui concerne la résistance spécifique à l'égard d'*Hemileia vastatrix*. Des ségrégations conduisent à l'existence, à côté d'individus qui ont normalement deux gènes autres que les gènes *SH1* à *SH5*, d'individus du groupe *E*. Sur ces individus du groupe E, il a été montré qu'il existe une corrélation entre le taux d'infection au laboratoire, sur disques de feuilles (% de disques avec lésions), et le niveau de résistance de ces plantes au champ. En serre, une bonne corrélation s'établit entre le taux de sporulation de l'*Hemileia vastatrix* et le type de réaction au champ.

Hybrides entre Caturra et Hybride de Timor, les Catimors constituent le plus souvent des populations hétérogènes composées en proportion variable d'individus des

groupes *A*, *R*, *1*, *2*, *3* et *E*. Pour les individus du groupe *E*, confrontés aux races d'*Hemileia vastatrix* I, II, III, les résultats montrent que, comparés à divers cultivars d'arabica, ils présentent une grande résistance générale.

Cas de l'arabica

Tandis qu'il a été longtemps admis que les arabica brésiliens sont peu pourvus de résistance générale, ESKES a montré que cette résistance générale existe chez des lignées éthiopiennes donnant deux à trois fois moins de lésions que le Mundo Novo ou le Catuaï employés comme témoins, avec une période d'incubation plus longue.

Une ségrégation transgressive apparaîtrait dans les descendances F3 du croisement Catuaï x Agaro, où des individus ont une période d'incubation 60 % plus longue que celle des deux parents, et un nombre de lésions cinq fois plus petit.

Au Cameroun, où l'on est confronté aux deux rouilles (*Hemileia vastatrix* et *H. coffeicola*), BOUHARMONT, TARJOT et LOTODE ont étudié la "résistance au champ" des arabica. Les critères d'appréciation de leur comportement à l'égard de l'*Hemileia vastatrix*, sont les PMA (% moyen pondéré d'attaque au cours de l'année), et l'indice foliaire (% de feuilles restant sur les rameaux en fin de campagne par rapport au nombre de feuilles existant au début) : on avait pu constater qu'il existe une très grande variabilité entre les 127 génotypes étudiés. Les PMA varient de 1 à 40 et sont inversement proportionnels à l'indice foliaire qui varie de 20 à 80.

Il existe donc une source de résistance générale au sein des 127 cultivars étudiés qui sont d'origine très diverse, des origines éthiopiennes étant parmi les moins sensibles.

Modalités de la recherche et de l'exploitation de la résistance générale du caféier à l'égard de l'*Hemileia vastatrix*

La résistance générale du caféier à l'égard de l'*Hemileia vastatrix* peut donc être trouvée dans diverses sources : hybrides interspécifiques, arabica, et autres espèces.

Au début des années 80, dans le cadre d'une coopération avec la Fédération des Caféiculteurs Colombiens et PROMECAFE (*) en Amérique Centrale, l'IRCC a entrepris des études approfondies de la résistance générale du caféier. Ces études ont été conduites en France au laboratoire de Phytopathologie de l'IRCC du Centre de Recherche du CIRAD (**) de Montpellier en même temps qu'elles servaient de support à la formation doctorale de plusieurs chercheurs latinoaméricains.

Je ne m'étendrai pas longuement sur les techniques mais dirai seulement que la première étude faite de 1981 à 1983 par Jairo LEGUIZAMON, de CENICAFE, a conduit à mettre au point une méthode de culture de l'*Hemileia* en milieu stérile sur feuille en survie sur milieu nutritif gélosé, permettant de travailler avec un inoculum vierge de microorganismes étrangers qui peuvent nuire à la bonne marche des inoculations (fig. 2).

Le maintien de l'inoculum dans l'azote liquide à - 180° s'est révélé aussi la meilleure formule de conservation, les urédospores ne perdant pas leur pouvoir germinatif après plus de deux ans de ce traitement.

L'inoculation adoptée après de nombreux essais a consisté en le dépôt de gouttes d'une suspension d'urédospores calibrées à 600 par microlitre sur 8 feuilles détachées par génotypes, maintenues en survie en chambre humide (fig. 3 et 4).

(*) PROMECAFE : Programa Cooperativo Regional para la Modernizacion y la Proteccion de la Caficultura en Centroamerica, Mexico, Panama y Republica Dominicana

(**) CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

L'originalité du travail de LEGUIZAMON a été de plusieurs ordres :

- tout d'abord tout le travail a été fait sur arabica ;

- ensuite, et contrairement à la plupart des auteurs précédemment cités qui ont utilisé des critères statiques d'appréciation donnant à un moment donné l'état des symptômes, une représentation dynamique des phénomènes a été adoptée qui permet l'appréciation de l'évolution dans le temps des différentes composantes de la résistance.

Les critères d'évaluation adoptés ont été :

- l'évolution des symptômes, c'est-à-dire l'accroissement de la surface des taches accompagné de la décoloration du limbe au niveau de ces taches ;

- le nombre de taches sporifères et la surface des taches porteuses de spores.

Afin de quantifier les observations, une échelle de qualification de 0 à 7 a été adoptée (fig. 5).

Chaque tache étant observée individuellement et les observations étant faites chaque jour pendant 35 à 40 jours, on peut, en rapportant au temps les cotations 1 à 7 mesurer la période d'incubation (c'est-à-dire le nombre de jours compris entre l'inoculation et l'apparition du premier symptôme de la maladie), la période de latence définie en nombre de jours nécessaires pour obtenir la sporulation de 50 % des lésions observées, la durée de production des urédospores.

Mais cette observation quotidienne a surtout permis d'apprécier la dynamique de la progression de la maladie à l'intérieur de la feuille sous forme de trois variables particulières :

- pourcentage de taches fructifères qui s'établit selon la formule simple :

$$\frac{\text{Nombre de taches fructifères}}{\text{Nombre total d'inoculations}} \times 100$$

- index de sporulation qui s'établit à partir des points 4 à 7 de l'échelle d'évolution des lésions :

$$\frac{\varepsilon\, i \;\; i \;\; ni}{4 \times n}$$

où n est le nombre total d'inoculations par feuilles
ni le nombre de taches correspondant à la cotation i ;

cet index traduit une faculté particulière de l'hôte permettant une plus ou moins grande fructification du pathogène et doit donc avoir des répercussions importantes au niveau de l'épidémiologie.

- l'index d'intensité de la maladie qui intègre en quelque sorte tous les éléments observés dans l'échelle de cotation 0 à 7 définie plus haut :

$$\frac{\varepsilon\, i \;\; i \;\; ni}{(7 \times n)}$$

où n est le nombre total d'inoculations par feuille
i le stade d'évolution de la tache au moment de l'observation dans l'échelle de 0 à 7
ni le nombre de taches correspondant à la cotation i.

Ces trois critères ont des valeurs journalières qui évoluent dans le temps et sont représentés par une variable Y(t) fonction du temps t, bornée inférieurement par Y(t) = 0 et supérieurement par une valeur P1 vers laquelle elle croît asymptotiquement quand t croît (fig. 6).

La courbe est une logistique caractérisée par 3 paramètres : P1, P2 et P3.

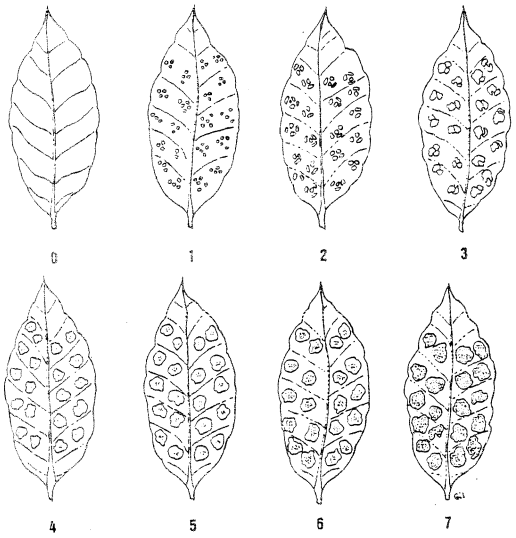
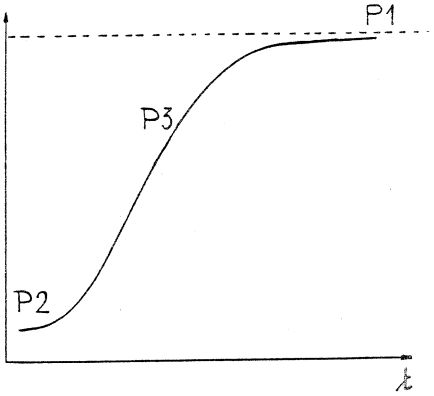


Fig. 5 Echelle de qualification des différents stades des lésions (0 A' 7) :

0 : Absence de symptômes
1 A'3 : Décoloration croissante du limbe
4 : Jour de formation des premières uredospores
5 A'7 : Augmentation de la sporulation

FORMULE LOGISTIQUE

$$Y = \frac{P1}{1 + e^{P2 - P3t}}$$



P1 : Asymptote superieure

P2 : Indice de précocité

P3 : Indice de rapidité d'evolution

Fig. 6

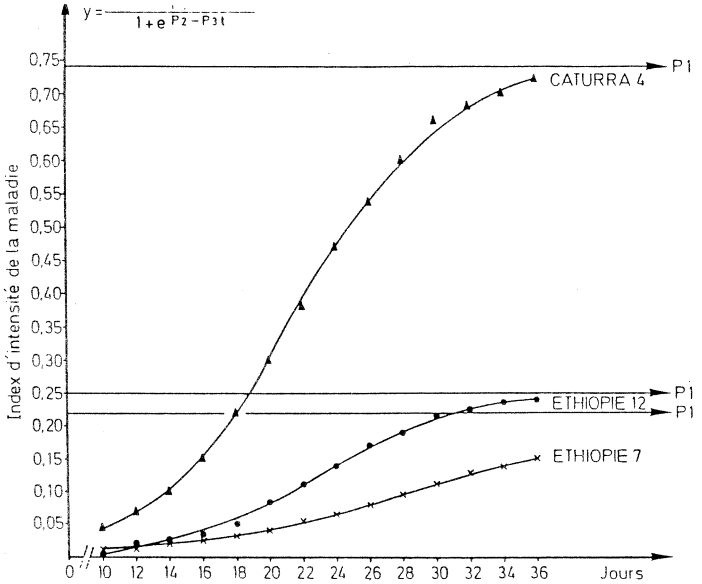


Fig. 7 COMPARAISON DE L'EVOLUTION DE DIFFERENTS INDEX D'INTENSITE DE LA MALADIE HEMILEIA VASTATRIX RACE II (selon LEGUIZAMON)

Par cette méthode, une vingtaine de génotypes d'arabica ont été comparés et l'on peut voir que certains génotypes éthiopiens présentent par rapport au Caturra qui sert toujours de témoin une résistance générale très marquée (fig. 7).

Ce type de travail tel qu'il a été conduit est assez lourd, mais il a été montré récemment par G. MORENO, autre chercheur de CENICAFE qui termine un travail de trois années en France sur le sujet, qu'il pouvait être simplifié et réduit, à la fois quant au nombre de feuilles à observer et quant au rythme des observations.

Il a été montré aussi, aussi bien par LEGUIZAMON que par MORENO, que les observations devaient être faites dans des conditions bien précises, l'environnement jouant un rôle très important sur l'intensité et la vitesse de développement de la maladie.

Il a été montré enfin par MORENO que la traduction des phénomènes par une logistique n'est pas adaptée à toutes les situations, et cet auteur a été amené, pour comparer entre elles des descendances, à choisir un autre mode d'analyse, l'analyse factorielle des correspondances.

Dans tout ce qui vient d'être dit, on a considéré l'appréciation de la résistance incomplète à partir de l'observation des symptômes externes. Un chercheur salvadorien qui a pris la suite de LEGUIZAMON à Montpellier de 1985 à 1988, Sergio GIL FAGIOLI, a complété ces observations par l'étude de la colonisation interne des tissus par le pathogène. Suivant l'étendue et la densité du mycélium dans les limites de la surface des lésions visibles ou au-delà de ces limites, il a pu être défini quatre degrés de résistance.

Parmi les résultats les plus marquants des travaux réalisés à Montpellier, on peut noter :

- la mise en évidence d'une forte résistance générale chez le *Coffea arabica*, particulièrement parmi les génotypes d'origine éthiopienne ;

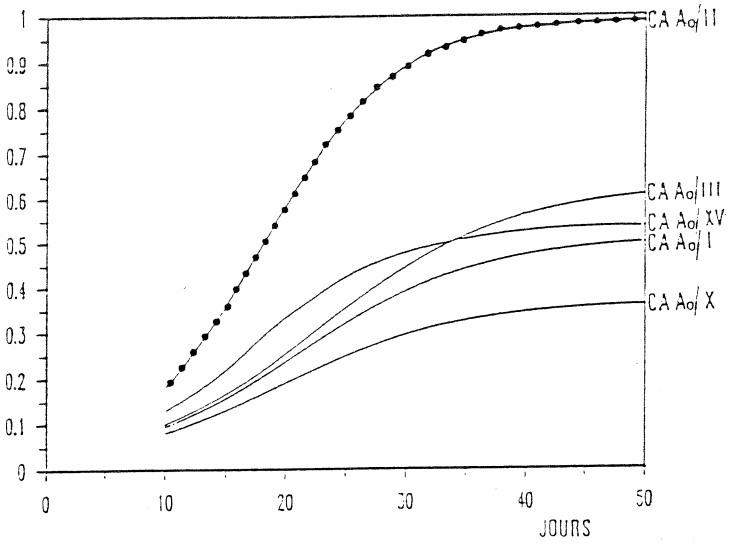
- la mise en évidence du fait que cette résistance est de type non spécifique ;

- la démonstration que l'agressivité des races de rouille est inversement fonction de leur charge en gènes de virulence, grâce à une étude où l'on a comparé les effets des races II possédant un gène de virulence, I, III et XV ayant deux gènes de virulence, et X ayant 3 gènes de virulence. Ce dernier point est particulièrement important car il conduit à dire que la résistance spécifique est moins fragile qu'on avait pu le craindre : si, qualitativement, le danger d'apparition de nouvelles races de rouille possédant un nombre suffisant de gènes pour briser la résistance provenant de l'Hybride de Timor est bien réelle, il est vraisemblable que ces races chargées en gènes de virulence n'auraient que peu d'impact (fig. 8, 9 et 10) ;

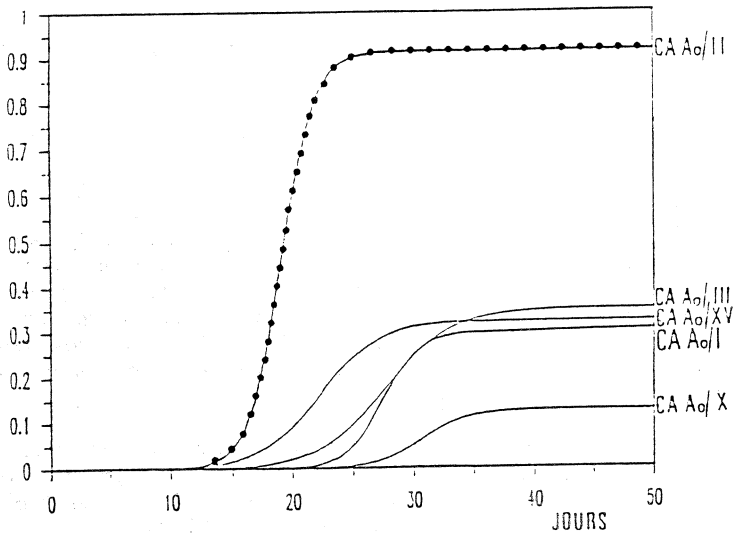
- que l'Hybride de Timor n'apporte pas seulement une résistance spécifique, mais aussi une forte résistance générale : pour ma part, je pense que c'est là un des éléments importants qui permettent à l'exploitation de l'Hybride de Timor dans le sens de la résistance spécifique, de conduire à des résultats durables.

PERSPECTIVES

Tout ce que je viens de dire montre que l'appréciation de la résistance générale est encore sujette à évolution : des critères nouveaux tels que le type de



COMPARAISON DES INDEX D'INTENSITE DE LA MALADIE DES PLANTES DE CATURRA AMARILLO INOCULEES AVEC LES RACES I, II, III, X ET XV D'H. VASTATRIX.



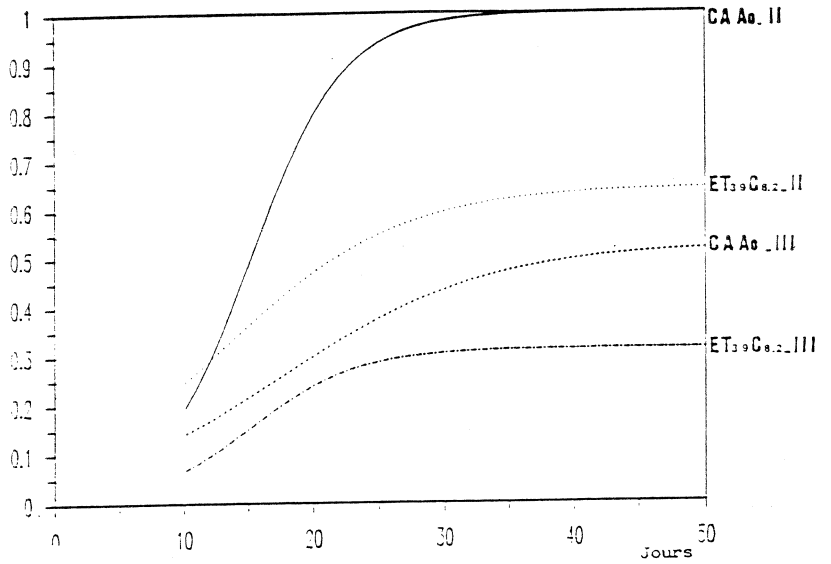
COMPARAISON DES INDEX DE SPORULATION DES PLANTES DE CATURRA AMARILLO INOCULEES AVEC LES RACES I, II, III, X ET XV D'H. VASTATRIX.

Fig. 8 : (selon S. GIL FAGIOLI)

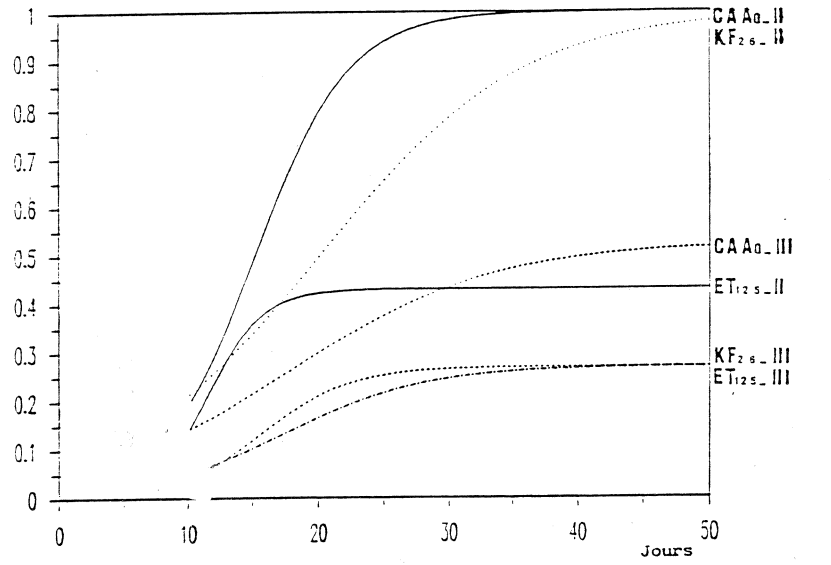
Légende :

CA Ao : Variété Caturra amarillo

I, II, III, X et XV : races de rouilles utilisées



Comparaison des index d'intensité de la maladie des plants d'Arabica inoculés avec les races II et III d'*H. vastatrix*.



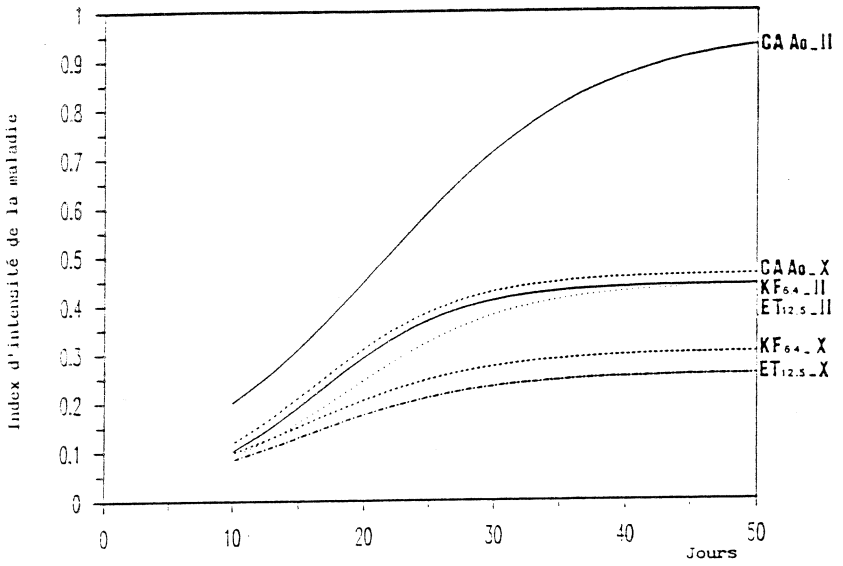
Comparaison des index d'intensité de la maladie des plants d'Arabica inoculés avec les races II et III d'*H. vastatrix*.

Fig. 9 : (selon S. GIL FAGIOLI)

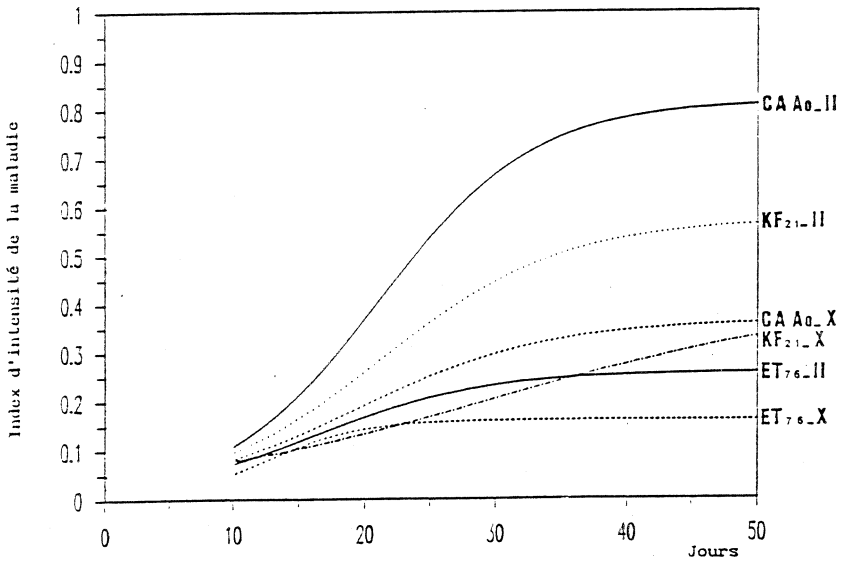
Légende :

CA Ao, ET39C82, ET12.5, KF2.6 : variétés de caféiers

II, III : races de rouilles utilisées



Comparaison des index d'intensité de la maladie de plants d'Arabica inoculé avec les races II et X d'*H. vastatrix*.



Comparaison des index d'intensité de la maladie de plants d'Arabica inoculés avec les races II et X d'*H. vastatrix*.

Fig. 10 : (selon S. GIL FAGIOLI)

Légende :

CA Ao, KF6.4, ET12.5, KF2.1, ET7.6 : variétés de caféiers

II, X : races de rouilles utilisées

réaction, ou de nouvelles formules d'interprétation, peuvent être étudiées, et il devrait être possible, dans peu de temps, d'en hiérarchiser la valeur.

Car il convient de se poser la question fondamentale qui donne leur sens à ces études : quelle correspondance y a-t-il entre la résistance générale étudiée sur feuilles en survie au laboratoire, et la réalité du terrain ?

Il a pu être établi que, globalement, une bonne correspondance existait entre les classements obtenus en laboratoire et les classements obtenus par observation des arbustes au champ.

Cependant, cette correspondance n'est pas parfaite. On enregistre quelques distorsions pour quelques génotypes et il convient de faire la lumière sur ce point qui peut être dû à plusieurs causes :

- d'abord, il est sûr que l'architecture de la plante, favorisant plus ou moins la contagion de feuille à feuille ou de plant à plant, peut, à résistance incomplète égale, avoir un effet sur les niveaux d'attaques constatés au champ ;

- ensuite, on a pu voir que la sensibilité à la rouille était exacerbée lorsque la plante portait une forte production, ce qui entraine un tassement des différences entre plantes ayant des sensibilités différentes ;

- enfin, il convient surtout qu'une bonne méthodologie d'observation au champ soit mise au point pour traduire l'évolution des phénomènes, mieux que ne peuvent le faire les observations à un moment donné qui ne donnent qu'une image instantanée de ces phénomènes à un stade particulier de leur évolution, comme cela est généralement fait.

En conclusion, je pense que l'on doit à nouveau poser la question que j'avais posée au début de cette présentation.

Puisque les études conduites sur la résistance générale du caféier à la rouille orangée consolident la valeur des travaux conduits sur la résistance spécifique, en montrant que l'exploitation de l'Hybride de Timor peut aboutir à la création de variétés possédant à la fois de bonnes qualités agronomiques et une résistance plus durable que l'on pouvait le craindre, faut-il poursuivre les recherches sur cette résistance générale ?

Pour moi, la réponse est oui.

Une maîtrise complète de la résistance générale du caféier à la rouille quant à ses modalités d'appréciation est en effet susceptible d'être un bon outil dans le futur pour les travaux d'amélioration qui devront être faits pour faire face à d'autres problèmes ou pour créer des variétés adaptées à diverses situations d'environnement. S'il est sûr qu'il conviendra d'exploiter à fond toutes les potentialités offertes par l'Hybride de Timor, qui apporte les deux formes de résistance, les travaux d'amélioration futurs seront fondés soit sur des hybridations interspécifiques mettant en oeuvre d'autres espèces de caféiers, soit sur des hybridations intraspécifiques compte tenu du fait qu'au sein même de l'arabica il y a une diversité infiniment plus grande que celle qui était soupçonnée jusqu'à une date récente. Dans les deux cas, on hâtera l'aboutissement des recherches si l'on a la possibilité de jouer à la fois sur les deux formes de résistance à la rouille : il conviendra en effet que les nouvelles variétés associent aux qualités nouvelles qui seront recherchées, une résistance durable à la rouille qui les mettra à l'abri de ce grave problème et qui sera d'autant plus solide qu'elle combinera les effets de la résistance spécifique et de la résistance incomplète.

* *

REMERCIEMENTS

Je remercie vivement les organisateurs de ce 13ème Colloque de l'ASIC et tout particulièrement le Dr. QUIJANO RICO, Directeur du LIQC et M. COSTE, Secrétaire Administratif permanent de l'ASIC qui ont bien voulu me faire l'honneur de me demander de faire cette présentation.

* *
*

LE SCOLYTE DU FRUIT DU CAFÉIER, *HYPOTHENEMUS HAMPEI* FERR. : CONSIDÉRATIONS SUR LA LUTTE INTÉGRÉE CONTRE CE RAVAGEUR

B. DECAZY
Chef du Service d'Entomologie de l'IRCC
B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France

INTRODUCTION

Le scolyte du fruit, Hypothenemus hampei Ferr., est un déprédateur important du caféier. Ses caractéristiques morphologiques et biologiques lui ont permis une rapide adaptation et un accroissement accéléré de ses populations partout où il a été introduit, une fois la culture du caféier installée.

Le scolyte a la même origine que le caféier, Coffea canephora var. Robusta ; il provient de la zone intertropicale africaine, très humide, à altitude peu élevée. Il faut noter la facilité avec laquelle il a pu s'adapter sur C. arabica, lorsque ce dernier a été mis en culture dans des zones écologiques convenant à la fois au scolyte et à la plante.

Actuellement le scolyte est établi dans tous les pays d'Afrique producteurs de café, à l' exception de l'île de Madagascar. En Asie on le trouve en Thaïlande, Vietnam, Malaisie, Indonésie, Inde et Philippines. Il est également installé dans les diverses îles du Pacifique Sud, telle que la Nouvelle Calédonie. Sur le continent américain, il est présent dans les pays suivants : Brésil où on l'a trouvé pour la première fois en 1913, et d'où il est ensuite passé au Pérou, Surinam, Equateur ; on l'a trouvé en Amérique Centrale au Guatemala en 1971 d'où il s'est disséminé vers le Mexique (1977), le Honduras (1978), le Salvador (1981), et le Nicaragua (1988).

La rapidité de dispersion du scolyte a jusqu'à maintenant été peu étudiée. Baker et Barrera rappèlent que les seules données officielles connues (Guatemala et Mexique) proviennent du Ministère de l'Agriculture de ces deux pays. L'accroissement de la surface infestée est plus ou moins linéaire. Au Guatemala, le premier foyer détecté en 1971 était de quelques hectares ; Sept ans plus tard, 100 000 ha étaient infestés ; cela malgré la campagne d'erradication mise en place par le Gouvernement, aidé en cela par l'Association nationale du Café (ANACAFE). Cette campagne qui a couté des millions de dollars, a eu pour seuls effets positifs de sensibiliser les caféiculteurs sur la nécessité de lutter contre le ravageur et de former le personnel technique aux normes de la lutte.

Cela signifie que, malgré toutes les mesures de quarantaine qui ont été prises (contrôle des sacs, paniers, outils, travailleurs, véhicules, marchandises, récolte de caféières entières avant maturation, etc.) il n'a

pas été possible d'erradiquer le scolyte, ni d'empêcher qu'il peuple toutes les zones caféières du pays ayant une écologie favorable à sa multiplication.

Selon la latitude, dans la zone intertropicale, déterminant les conditions écologiques, l'aire de dispersion du scolyte se situe entre zero et 1500 m d'altitude ; la zone optimum est celle ayant une température moyenne comprise entre 23 et 25 degrés centigrades (à 15 degrés de lattitude nord, cela correspond à des altitudes comprises entre 700 et 900 m).

La dispersion du scolyte dans les caféières se fait selon des foyers d'infestation ; sur un caféier le scolyte se trouve infestant quelques rameaux, laissant les autres totalement indemnes ; sur un rameau quelques glomérules ou fruits sont parasités, les autres n'ayant aucune infestation. Cette infestation de type agrégatif rend malaisé la détection du scolyte dans les régions encore libres du ravageur, ou l'estimation des niveaux de populations dans les caféières infestées.

Il est donc possible, dans l'état actuel des connaissances, de conclure que le scolyte a, comme beaucoup d'espèces d'insectes, la faculté inhérente de migrer par ses propres moyens et de coloniser des aires jusqu'alors indemnes. Des études de laboratoire conduites par Baker ont mis en évidence cette faculté : la grande majorité des scolytes ne se déplace que très peu, mais une petite proportion est capable de voler pendant des temps relativement longs et de parcourir ainsi de grandes distances, surtout s'ils sont pris dans des courants d'airs latéraux. Il est alors logique de penser que lorsque le scolyte est arrivé dans une zone de caféiculture, le mode principal de dispersion a été par le vol et il n'y a dans ces conditions aucun argument assez fort qui justifie la limitation du mouvement des gens et des marchandises à l'intérieur de cette zone (ces mesures sont surement efficaces d'une région à vocation caféière à une autre, lorsqu'une grqnde distance sans caféier les sépare). De même il paraît impossible d'erradiquer ce ravageur en utilisant la lutte chimique et culturale, si dans le même temps, une partie de sa population se trouve en train de voler.

On peut ainsi être pratiquement sûr que lorsque le scolyte arrive dans une nouvelle zone, il va s'y installer définitivement s'il y rencontre les conditions bioécologiques favorables au développement de ses populations.

Par conséquent, la lutte contre ce ravageur paraît être la seule voie possible pour maintenir ses populations à un niveau suffisamment bas. Il faut immédiatement penser à la lutte intégrée qui est la seule à produire les bénéfices les plus hauts au coût minimum, et qui prend en compte les restrictions écologiques et sociales existant dans chaque écosystème, ainsi que la préservation à long terme de l'environnement.

Les principes de la lutte intégrée résultent des connaissances acquises dans le domaine de la biologie et de l'écologie du scolyte. Elle consiste en une série d'activités dont la première à mettre en oeuvre est la détection du ravageur. Puis doivent être envisagées les méthodes culturales de lutte, ainsi que la lutte biologique lorsqu'elle existe. La dernière activité à considérer est la lutte chimique lorsque les mesures précédentes n'ont pas permis de maintenir les populations du ravageur à un niveau économiquement acceptable. La lutte génétique par sélection ou création de variétés résistantes ou tolérantes au scolyte doit faire l'objet d'un examen attentif.

DETECTION DU SCOLYTE DES FRUITS DU CAFEIER

La détection du ravageur doit être la principale préoccupation des caféiculteurs dans les zones supposées indemnes. Plusieurs méthodes d'échantillonnage ont été proposées faisant appel à l'observation des

caféiers en cours de fructification ; étant donnée la dispersion de type agrégatif du scolyte, ces méthodes n'ont qu'une efficacité très moyenne si l'on considère la masse de travail qu'elles représentent.

Par contre, Perdomo et Miranda (1983) suggèrent qu'une bonne méthode consiste à examiner des échantillons de cerises flottantes dans les syphons au niveau des unités de dépulpage.

D'autre part, en se référant aux études de distributions spatiales et d'épidémiologie, une bonne méthode, car peu contraignante et facile à mener, consiste à examiner les fruits (verts, rouges et noirs) abandonnés ou apparus sur la plante après le dernier passage de récolte : à ce moment-là, le scolyte, s'il est présent, n'a d'autre refuge que ces fruits peu nombreux et donc fortement parasités.

Les plantes-hôtes du scolyte peuvent héberger le ravageur en l'absence de fruits de caféier. Or il semble que ce scolyte soit essentiellement monophage, bien que O. Campos au Guatemala l'ait rencontré infestant des graines de Cajanus cajan. Aucune étude n'a mentionné de plante-hôte de substitution importante : comme le scolyte peut rester longtemps dans les fruits abandonnés au sol et comme il y a des fruits tout au long de l'année, il ne paraît pas nécessaire de rechercher le scolyte sur les graines de ces plantes, ni d'ailleurs dans un programme de lutte de leur accorder trop d'importance.

Il existe de nombreuses espèces de Hypothenemus dont beaucoup ont une morphologie semblable au scolyte du fruit du caféier. Il est donc préférable d'envoyer à un taxonome spécialiste des scolytes tout insecte rencontré et ressemblant à Hypothenemus hampei.

DEGATS ET PERTES DUES AU SCOLYTE. IMPORTANCE ECONOMIQUE

Avant d'envisager les méthodes de lutte et de manière à mieux les orienter, il est important de définir les pertes et la forme des dégâts dont le scolyte est responsable tout au long de la période de fructification. On doit citer :

- la chute de fruits au cours de la fructification.

- la perte de poids à la récolte due aux dégats provoqués par les larves à l'intérieur du grain.

- la mauvaise apparence du grain responsable d'une décote de la valeur marchande du café.

1 - chute des fruits :

La chute des fruits due au scolyte est différente de la chute physiologique des fruits en début de fructification, bien qu'elle ait lieu au même moment. Le scolyte cherche à s'alimenter après un long jeûne au cours de la période sans fructification. Il mord alors les fruits jeunes dans lesquels il ne peut pas encore pénétrer car ils sont trop aqueux ou laiteux, et qui, une fois mordus, pourrissent et tombent.

Le pourcentage de fruits qui tombent ainsi à cause du scolyte est directement proportionnel au pourcentage de fruits perforés deux ou trois mois après la première floraison représentative, c'est à dire au moment où la chute physiologique des fruits est la plus importante. Il est à noter qu'à ce moment-là les seuls fruits perforés sont les fruits issus de petites floraisons en dehors des floraisons normales, seuls à avoir la consistance adéquate.

A titre d'exemple, les études conduites au Guatemala en 1986 et 1987 ont montré que ces pertes obéissent à l'équation suivante :

$$y\,1 = a.\ x$$

dans laquelle :

- x est le pourcentage de fruits perforés à ce moment-là
- a est un paramètre dépendant de l'altitude ; il a été évalué pour deux zones :

  a = 0.5 entre 300 et 600 m
  a = 0.8 entre 600 et 1000 m

Ce pourcentage de chute de fruits détermine un pourcentage de perte en café récolté strictement égal.

2 - Pertes de poids dû aux dégats dans les grains

Le pourcentage de pertes pondérées (prenant en compte toutes les catégories de café, sain, un peu endommagé, très endommagé) est en corrélation linéaire avec le pourcentage de fruits perforés à la récolte. L'équation de la droite de régression, si l'on oblige la droite à passer par l'origine, est la suivante :

$$y\,2 = d.\ X$$

dans laquelle :

- X est le pourcentage de fruits perforés à la récolte
- d est un paramètre dépendant de l'altitude ; il a été évalué pour deux zones du Guatemala :

  d = 0.22 entre 300 et 600 m
  d = 0.34 entre 600 et 1000 m

3 - Pertes totales

Le pourcentage de pertes totales est donc la somme de ces deux types de pertes :

$$y = y\,1 + y\,2$$

$$y = a.\ x + d.\ X \qquad (1)$$

Cette équation ne peut être résolue que si l'on connaît le lien qui unit x et X, c'est à dire le pourcentage de fruits perforés deux à trois mois après la première floraison représentative et le pourcentage de fruits perforés au moment de la récolte.

De deux études de dynamique des populations du scolyte menées en 1985 et 1986 au Guatemala, dans les deux zones altitudinales précitées, il ressort que le pourcentage de fruits perforés deux à trois mois après la première floraison représentative (x) est lié au pourcentage de fruits perforés à la récolte par une corrélation de type exponentiel, obéissant à l'équation suivante :

$$X = b.\ e^{c.\ x} = 1.48\ e^{0.19\ x}$$

dans laquelle b et c sont deux paramètres calculés, et dont la valeur ne change pas en fonction de l'altitude.

La forme de la courbe de régression indique que 10 % de fruits perforés est le point d'inflexion de la courbe et qu'à partir de ce seuil de population, les dégâts à la récolte peuvent être considérables.

Cette méthode de calcul permet au caféiculteur de prévoir les pertes dues au scolyte dès le début de la fructification, et ainsi de prendre une décision quant à la lutte.

METHODES CULTURALES DE LUTTE CONTRE LE SCOLYTE

Dans une zone infestée par le scolyte des fruits du caféier, il est nécessaire de prendre des mesures d'ordre agronomique si l'on ne veut pas que les populations atteignent des niveaux trop élevés.

1 - Récolte sanitaire

La première mesure à prendre, mais aussi la plus efficace consiste en l'exécution d'une récolte sanitaire la plus complète possible. Cette récolte sanitaire doit être effectuée lors ou juste après le dernier passage de récolte. Tous les fruits abandonnés sur la plante et au sol (verts, mûrs, noirs) sont alors ramassés.

Ces fruits servent en effet de refuge et/ou d'alimentation au scolyte pendant la période située entre la fin de la récolte et l'apparition des premiers fruits de la prochaine campagne. Les femelles d'intercampagne, pour une meilleure survie, se regroupent dans ces fruits. Dans les fruits tombés au sol, elles rencontrent souvent une humidité suffisante (70 - 80 %) qui leur permet de s'y maintenir sans sortir. Baker et Barrera ont montré que l'émergence des femelles est provoquée par la baisse d'humidité (fruits du sol se dessèchant ou fruits sur l'arbre plus secs). Dans ce cas les femelles émergentes vont à la recherche des quelques fruits appétants apparus à ce moment-là. Selon ces auteurs l'accroissement de l'humidité due notamment aux premières pluies provoque également la sortie des femelles.

Le but de cette mesure est de :

- rendre difficile les conditions de survie des femelles d'intercampagne en leur supprimant toute source de nourriture.

- réduire très fortement le nombre de scolytes d'intercampagne, pour protéger la nouvelle fructification.

Cette récolte sanitaire peut être faite par le petit producteur aidé de sa famille. Le caféiculteur plus important peut faire effectuer ce travail par les récolteurs lors du dernier passage de récolte. Il a été prouvé par des travaux conduits au Salvador que les coûts de la main d'oeuvre supplémentaire pour effectuer cette tâche sont couverts par la valeur marchande du café ainsi récolté. Cependant le producteur trouve son principal bénéfice dans l'économie d'applications d'insecticide lors de la fructification suivante ; d'autant que cela entraîne les réductions de la contamination chimique de l'environnement et du risque de présence de résidus de pesticide dans le café marchand.

2 - Mesures agronomiques de lutte

Les méthodes culturales de lutte contre le scolyte ne sont que des mesures agronomiques recommandées ordinairement en caféiculture, avec parfois de légères modifications. Elles permettent de transformer l'agroécosystème dans le but de maintenir les populations du ravageur à des niveaux acceptables, en rendant l'environnement moins favorable pour sa reproduction, son développement et sa dispersion. Elles se basent donc sur la connaissance de la bioécologie du scolyte. Les recommandations que l'on doit faire pour un programme de lutte intégrée sont les suivantes :

- la taille régulière de l'ombrage en ce qui concerne les caféières sous ombrage ; il semble en effet démontré qu'une forte intensité lumineuse

contrarie l'infestation par le scolyte.

- la taille des caféiers : procure une ventilation et une illumination meilleures, défavorables au scolyte, à l'intérieur de la caféière. Cette mesure est évidemment une des mesures agronomiques les plus importantes dans l'accroissement de la productivité.

- contrôle des mauvaises herbes juste après la fin de la récolte dans le double but de faciliter la récolte sanitaire des fruits tombés au sol, et d'exposer les fruits non collectés au dessèchement par exposition directe des rayons solaires ; ce qui augmente la mortalité des scolytes d'intercampagne.

Ces mesures agronomiques responsables d'un environnement moins favorable au développement du scolyte, ne sont pas spécifiques de la lutte contre ce ravageur, mais sont indispensables à la conduite rationnelle d'une caféière.

LUTTE BIOLOGIQUE

Dans la lutte contre un ravageur, la lutte biologique représente toujours les meilleurs avantages écologiques et économiques.

Dans son aire d'origine, le scolyte est parasité par plusieurs microhyménoptères de la famille des Bethylidae : il s'agit de **Prorops nasuta** et de **Cephalonomia stephanoderis**, ainsi que d'un Braconidae, **Heterospilus coffeicola**. Tout dernièrement (communication personnelle) un chercheur costaricain en formation en France a mis en évidence l'existence au Togo d'une nouvelle espèce de Tetrastychidae, dont l'intérêt réside dans le fait qu'il parasite l'adulte de scolyte alors que celui-ci se trouve dans le canal de pénétration, avant qu'il n'ait atteint et endommagé l'endosperme.

L'action bénéfique de ces parasitoïdes, dans leur aire de répartition est mal connue. Il semble que cette action soit insignifiante pendant toute la période de fructification, mais qu'elle soit non négligeable (jusqu'à 20 à 50 % de fruits scolytés renfermant des parasitoïdes) au cours de la période d'inter-fructification.

Dans toutes les aires de culture du caféier, à travers le monde, le scolyte est parasité par un champignon entomopathogène, **Beauveria bassiana**. Ce champignon peut avoir une action naturelle appréciable dans des zones très humides et chaudes, ce qui correspond à des zones relativement marginales pour l'arabicaculture.

Il est du devoir des chercheurs travaillant sur la lutte contre le scolyte d'exploiter ces voies de recherche.

Certains parasitoïdes ont été introduits d'Afrique vers d'autres continents : Java, Brésil, Pérou, Equateur, Mexique. Actuellement il existe un programme de recherche conduit par la GTZ en Equateur ; un programme financé par la Communauté Européenne et conduit par l'IICA / PROMECAFE est en train de se mettre en place au Mexique et Amérique Centrale avec la participation de l'IRCC de France et le CIBC d'Angleterre.

En ce qui concerne **Beauveria bassiana**, plusieurs institutions se préoccupent de son développement :

- le programme M.I.P. du CATIE au Costa Rica se propose de rechercher et d'étudier diverses souches du champignon quant à son pouvoir pathogène et à sa résistance aux fongicides surtout cupriques utilisés dans la protection des caféiers contre **Hemileia vastatrix**.

- l'O.R.S.T.O.M., aidé par l'I.R.C.C., se propose de mettre en place un

programme de développement de l'entomopathogène dans le Pacifique Sud.

L'IICA / PROMECAFE est en train d'expérimenter une nouvelle voie de recherche : il s'agit de l'utilisation d'un champignon entomopathogène du sol, **Beauveria tenela**, de fabrication française qui a fait preuve d'une bonne pathogénécité sur les coléoptères du sol. S'il s'avère efficace contre le scolyte du fruit du caféier, on pourra penser à l'utiliser en caféière pour la lutte contre les scolytes dans les fruits abandonnés au sol où il remplacera en somme, la récolte sanitaire.

LUTTE GENETIQUE

De nombreuses études consacrées aux différences de sensibilité des espèces et variétés de caféiers donnent des résultats souvent contradictoires car ils ne prennent pas en compte l'état physiologique du fruit au moment de l'observation. Or il faut rappeler que le scolyte ne peut se reproduire que dans des fruits consistants. Kock étudiant les différences d'attaque à des moments comparables de la période de maturation, a montré l'existence de différences de sensibilité très marquées d'une variété et/ou espèce de café à une autre.

Un des objectifs de PROMECAFE est la recherche ou la création de variétés de café résistantes ou tolérantes au scolyte. Cette voie de recherche, difficile à explorer, ne peut dans les meilleurs des cas donner de résultats exploitables qu'à long terme.

Dans une première phase, conduite en 1988 au Guatemala, il a été possible de mettre en évidence des différences d'attractivité pour un même état physiologique des fruits : les variétés de Coffea les plus attractives sont toutes les variétés commerciales d'arabica (Pacas, Bourbon, Caturra, Catuaï). Une espèce très peu attractive est le C. kapakata. Aucun paramètre morphologique ne peut expliquer ces différences, à l'exception toutefois de la persistence des organes floraux sur le fruit en développement qui gène la pénétration du scolyte dans les fruits du goyaba, lequel est par ailleurs tout aussi attractif que le Bourbon.

Actuellement ces mêmes espèces et variétés sont étudiées pour définir leur antibiose vis à vis du scolyte.

LUTTE CHIMIQUE

Lorsque les méthodes de lutte proposées précédemment ne suffisent pas à maintenir le ravageur à des niveaux de pertes tolérables par le caféiculteur, celui-ci se voit dans l'obligation d'avoir recours à la lutte chimique.

La lutte chimique a une action immédiate sur les niveaux de population, qu'elle rabaisse rapidement en dessous des seuils de dégats économiques. Malheureusement elle a un coût élevé ainsi qu'une possible action défavorable sur l'agroécosystème.

Les conditions rationnelles d'utilisation sont les suivantes :

- uniquement si elle se justifie économiquement
- au moment le plus opportun
- en utlisant le produit insecticide le plus efficace qui ne perturbe pas l'agroécosystème
- en applicant la bonne dose, sans sur ou sous-dosage
- avec une application bien effectuée

Justification économique

a) - Seuil de dégat économique

Le seuil de dégat économique est la densité de population du scolyte pour laquelle les mesures de lutte chimique doivent être prises, mais seulement au moment opportun, pour éviter qu'une augmentation de la population soit responsable d'un niveau de pertes en café, à la récolte, supérieur au coût de la lutte.

Pour définir le seuil de dégat économique, il est d'abord nécessaire de connaître le niveau de pertes en café, dont la valeur correspond au coût de la lutte chimique. Ce niveau dépend :

- du coût de la lutte (prix de l'insecticide, de la main d'oeuvre, de l'amortissement de l'appareil de traitement)
- du prix du café au producteur
- de la productivité de la caféière (un même pourcentage de pertes pour une caféière de basse productivité et pour une caféière hautement productive est responsable de pertes en poids très différentes)

Exprimé en pourcentage de la productivité, on le calcule de la manière suivante :

$$y = \frac{C}{P.p} 100$$

où :

C : coût de la lutte
P : productivité de la caféière
p : prix unitaire du café

D'autre part, les pertes dues au scolyte sont de deux types (chute de fruits et pertes en poids à la récolte) et obéissent à l'équation (1) :

$$y = a.x + d.X$$
$$= a.x + d\,(b.e^{c.x})$$

où x représente le pourcentage de fruits perforés au moment opportun pour l'application de l'insecticide.

Les pertes en café égales au niveau des pertes économiques sont donc établies ainsi :

$$y = \frac{C}{P.p} \times 100 = a.x + d\,(b.e^{c.x})$$

où x représente alors le seuil de dégat économique.

Connaissant les valeurs de $y = \frac{C}{P.p} 100$, et des divers paramètres liés à l'altitude, il est facile de calculer x , soit le seuil de dégat économique, grâce à un petit programme d'informatique.

b) - Echantillonnage des populations du scolyte

En raison de la distribution spatiale du scolyte de type agrégatif (obéissant à la loi de Taylor, (Decazy et al.)), et de l'imprécision des méthodes d'échantillonnage, on a été conduit à définir un indice de décision de lutte, exprimé en pourcentage ou en nombre de fruits perforés. Cet indice se situe obligatoirement en dessous du seuil de dégat économique et

correspond à l'intervalle de confiance unilatéral en dessous de ce seuil.

On peut ainsi calculer pour chaque seuil de dégat économique, l'indice de décision de lutte en fonction du nombre d'unités d'échantillonnage que peut réaliser un caféiculteur selon la main d'oeuvre disponible (une unité d'échantillonnage se compose de 100 fruits observés au hasard, sur une plante ou sur cinq plantes d'une même ligne).

Epoque opportune pour la lutte chimique

La lutte chimique doit être effectuée lorsque les fruits de la première floraison représentative sont à l'état encore laiteux, soit, en arabicaculture deux mois et demi à trois mois et demi après cette floraison, en fonction de l'altitude. A cela plusieurs justifications :

- les fruits apparus prématurement sont les seuls infestés à ce moment là, car suffisamment consistants.
- parallèlement se produit la chute des jeunes fruits, pour des raisons physiologiques mais aussi à cause des morsures des femelles de scolyte d'intercampagne, qui affamées, recherchent des fruits appétants pour y pénétrer et se nourrir avant de se reproduire.
- il est donc nécessaire de protéger cette fructification pour éviter les pertes dues au ravageur.
- le risque de déceler des résidus de pesticide dans le café vert est moins élevé si les applications se font de manière précoce.

Produits insecticides efficaces

La recommandation la plus généralisée pour la lutte chimique dans les divers pays producteurs de café infestés par le scolyte est l'emploi de l'**endosulfan**.

La dose à utiliser diffère selon les auteurs et les pays. Elle varie de 200 à 1 000 g de matière active par hectare. Une étude effectuée au Guatemala en 1987 a situé la dose minimale efficace à 595 g m.a./ha. L'efficacité la meilleure se situe 14 jours après l'application et reste alors constante jusqu'au 28 ème jour.

En 1988, une nouvelle étude a montré que cette dose protège la production jusqu'au premier passage de récolte : la population d'adultes dans les fruits recommence à croître légèrement à partir du soixantième jour, alors que la population de larves responsables des dégats reste pratiquement nulle jusqu'à la récolte.

Mais la situation de monopole qu'a l'endosulfan est dangereuse. En effet :

- un phénomène de résistance de l'insecte au produit peut apparaître.
- le produit peut ne pas toujours être présent sur le marché.
- la société le commercialisant n'affronte pas de concurrence.

De fait il y a déjà un cas connu (L. Brun) de résistance du scolyte à l'endosulfan : en Nouvelle Calédonie à cause, probablement d'un emploi totalement irrationnel de ce produit (très fort surdosage).

Il est possible de prévenir l'apparition de la résistance ou au moins de la retarder en alternant l'endosulfan avec un autre insecticide, même si son efficacité est un peu inférieure.

Parmi les produits présents sur le marché, certains semblent prometteurs ; tel est le cas du fénitrothion, dans une faible mesure, du dicrotophos malgré sa toxicité assez élevée, et du pyrimiphos-methyl. Il faut cependant mettre en garde les caféiculteurs contre l'emploi du Chlorpyriphos

Ethyl dont l´efficacité est très insuffisante, bien qu´il soit déjà recommandé et utilisé dans certains pays africains.

Mode d´application des insecticides

Dans divers pays producteurs de café, d´Amérique latine surtout, les caféiculteurs ont l´habitude de faire leurs applications d´insecticides à haut volume, supérieur à 400 litres par hectare. Cela peut représenter un problème de coût d´application, mais aussi de difficulté d´approvisionnememt en eau dans les zones à faible pluviosité, ainsi que de contamination de l´environnement par ruissellement de la bouillie insecticide.

Plusieurs études ont montré qu´il est possible de baisser les volumes d´application, à condition de toujours utiliser la même dose d´insecticide par unité de surface:

- en Côte d´Ivoire, des applications par hélicoptère à raison de 5 litres de mélange par hectare se sont révélées très efficaces.

- au Guatemala, des volumes rabaissés de 400 jusqu´à 17 litres d´eau par hectare ont donné des efficacités égales sur les adultes de scolyte, sinon meilleures sur les larves à l´intérieur des fruits.

CONCLUSION

De ces considérations sur la lutte intégrée contre le scolyte des fruits du caféier, **Hypothenemus hampei** Ferr., on peut conclure que les méthodes culturales de lutte sont à l´heure actuelle les plus efficaces dans le maintien des taux d´infestation à un bas niveau. Elles sont par ailleurs en accord avec la conduite agronomique rationnelle du caféier. Elles sont aussi les moins traumatisantes pour l´environnement.

Les espoirs pour le futur proche résident dans la lutte biologique, qui est la seule à donner les plus grands bénéfices écologiques, mais aussi économiques.

A plus long terme, il est permis de penser qu´il sera possible de créer des variétés de caféiers tolérantes au scolyte, tout en maintenant une haute productivité et une bonne qualité de la boisson.

La lutte chimique, utilisée dans les conditions décrites plus haut, demeure un outil de contrôle des populations du ravageur très valable et probablement le plus efficace dans l´abaissement des populations en dessous des seuils de dégat économique.

Résumé

Le scolyte du fruit du caféier, Hypothenemus hampei est un déprédateur important du caféier. Pratiquement cosmopolite, son aire d'extension a suivi l'aire d'extension de la caféiculture. Ce ravageur y rencontre les conditions écologiques optimales pour son développement, ce qui rend son erradication très aléatoire. Aussi la lutte intégrée paraît-elle être le seul moyen de maintenir ses populations à des niveaux économiquement acceptables, tout en préservant l'environnement.

Parmi les méthodes de lutte proposées, les méthodes culturales sont les plus efficaces dans le maintien des taux d'infestation à un bas niveau. Elles sont par ailleurs en accord avec la conduite agronomique rationnelle du caféier. La lutte chimique demeure un outil de contrôle des populations du ravageur très valable dans l'abaissement des niveaux d'infestation en dessous des seuils de dégât économique.

Les espoirs à court terme résident dans l'utilisation de la lutte biologique (parasitoïdes et entomopathogènes). A plus long terme, il est permis de penser qu'il sera possible de créer des variétés de caféiers tolérantes au scolyte, tout en maintenant une bonne productivité et une bonne qualité de la boisson.

Abstract

Coffee berry borer, Hypothenemus hampei Ferr.: Considerations on integrated control of this pest.

The coffee berry borer, Hypothenemus hampei, is an important coffee pest. It is practically cosmopolitan and its range has followed that of coffee growing, where it finds the best environmental conditions for its development, which makes eradication very uncertain. Integrated control therefore seems to be the only way of keeping the populations down to economically acceptable levels, while at the same time protecting the environment.

Of the control methods suggested, cultural methods form the most effective way of keeping rates of infestation at a low level. They also fit in with the rational agricultural management of coffee. Chemical control of populations of this pest is still very useful for bringing down the rates of infestation below the economic damage thresholds.

The short-term hopes lie in the use of biological control (parasitoids and entomopathogens). In the longer term, it is quite likely that it will be possible to breed coffee varieties that are tolerant of berry borer and also retain good cropping capacity and good cup quality.

SEGREGACIÓN PARA LA RESISTENCIA COMPLETA E INCOMPLETA A *HEMILEIA VASTATRIX* EN ICATU Y EN ALGUNOS DERIVADOS DEL HÍBRIDO DE TIMOR ; CONSECUENCIAS PARA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO

A. B. ESKES
IRCC/CIRAD, B.P. 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, Francia

J. G. J. HOOGSTRATEN
Royal Sluis de France, B.P. 1431, 30017 Nîmes Cedex, Francia

F. A. LEVY
Seçao de Genética, Instituto Agronômico
CP28, Campinas, SP, Brasil

INTRODUCCION

La resistencia genética del cafeto a la roya (Hemileia vastatrix Berk. et Br.) ha sida estudiada durante los últimos 15 años en el Instituto Agronômico de Campinas (IAC), SP, Brasil, con el objetivo de encontrar formas de resistencia más duraderas. Se han publicado resultados parciales sobre esta témática en diférentes oportunidades. Recientemente una revisión general de la literatura existente ha sido publicada (ESKES 1989).

En el presente trabajo son presentados algunos resultados de experimentos realizados entre 1984 y 1988 ; estos tratan acerca del análisis genético de la resistencia completa e incompleta en la población de Icatu, a nivel diploide y tetraploide, asi como en derivados de cruzamientos con el Hibrido del Timor (H.T.). Se discuten las posibles aplicaciones para el mejoramiento del cafeto.

MATERIALES Y METODOS

Análisis genético, a Nivel Diploide, de la Resistencia Encontrada en Icatu.

La resistencia de la población Icatu a H. vastatrix proviene de la planta C37 de Coffea canephora cv Robusta. Esta planta, con el número de cromosomas duplicado, ha sido utilizada en el IAC para realisar el primer cruzamiento (CH2460) con C. arabica cv Bourbon Rojo. El Icatu està formado por generaciones avanzadas de retrocruzes de CH 2460, principalmente con el cultivar Mundo Novo (Carvalho, 1982). El análisis de la resistencia a la roya en Icatu es difícil debido a su naturaleza interespecífica ; particularmente en las primeras generaciones se observan muchos aneuploides. Por ese motivo, se efectuó un análisis genético a nivel diploide de la resistencia existente en la planta C37. En 1977 se realizaron cruzamientos de C37 con plantas susceptibles de C. canephora cv Kouillou (C67-5, C67-6), obteniéndose 34 plantas F_1. Ocho de estas fueron retrocruzadas en 1983 con otra planta susceptible de Kouillou (C67-8). Las plantas F_1 y RC_1, fueron testadas en invernadero y laboratorio, utilizándose métodos estandarizados de inoculación y evaluación de resistencia (Eskes, 1983). Se inocularon por aspersión con una suspención de uredosporas, cuatro hojas de cada planta en invernadero o vivero. En laboratorio 12 discos de hojas de cada planta fueron inoculadas con gotas de suspensiones de uredosporas.

* Trabajo realisado en el Instituto Agronômico de Campinas, SP, Brasil.

Para las inoculaciones en invernadero y laboratorio se utilizó la raza II de H. vastatrix. Fue empleada en laboratorio también el "Isolado 2 (Is.2)", una raza identificada en 1979, que contiene un factor de virulencia en relación al germoplasma de Icatu (Eskes, 1983).

Herencia de la Resistencia Incompleta en Icatu y en Derivados del H.T.

Este estudio fue basado en plantas de Icatu y derivados del H.T. (Catimor, Cavimor) que se mostraron moderadamente resistentes o moderadamente susceptibles en campo. Estas fueron autofecundadas y/o cruzadas con el cultivar Catuai. Las plantas madres fueron testadas preliminarmente con la raza II y el Is.2 en laboratorio. Las progenies de las plantas que respondieron diferentemente a estas razas, fueron inoculadas con ambas (Icatu en laboratorio y Catimores en invernadero, ver Cuadro 2). Las progenies de plantas que mostraron igual nivel de resistencia a ambas razas fueron inoculadas solo con la raza II (Icatu en invernadero, Catimores y Cavimores en vivero, ver Cuadro 3). La resistencia fué evaluada con la escala de 0 à 9 para el tipo de reaccion (Eskes, 1983).

En este trabajo solo se exponen los resultados de algunas progenies representativas ; la información completa sera publicada posteriormente (Eskes et al., 1990).

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis genético a Nivel Diploide de la Resistencia Encontrada en Icatu

El Cuadro 1 muestra el análisis genético de la resistencia de C37, planta de C. canephora portadora de la resistencia encontrada en Icatu. Los datos deben ser considerados como preliminares, ya que el número de plantas obtenidos no fue siempre muy elevado. Sin embargo algunas conclusiones parecen claras.

Las plantas F_1 del cruce entre C37 y plantas susceptibles de cv Kouillou fueron todas altamente resistentes, indicando que la planta C37 contiene al menos un gene dominante en estado homozigótico. La segregación observada en los ocho retrocruces, sugiere la acción de 2, 3 o 4 genes dominantes. La ocurrencia de plantas MR y MS, especialmente en los cruces H13588 y H13583, sugiere que uno de estos genes puede tener dominancia incompleta. El menor número de genes estimado en los retrocruces es de dos, entonces el C37 sera posiblemente homocigótico para 2 de los 3 o 4 genes.

Hubo alguna variación entre la reacción de las plantas en invernadero y laboratorio. Algunas plantas en invernadero pueden haber escapado a la infección o fueron más resistentes debido a un cierto nivel de autosombreamiento.

En el laboratorio, las inoculaciones simultaneas de las razas II y el Is.2 mostraron que todas las plantas susceptibles a una raza eran también susceptibles a la otra. Varias plantas resistentes a la raza II fueron más susceptibles al Is.2 como era de esperar. El porcentaje de este tipo de plantas varió, y alcanzó cerca del 25 % del total de las plantas testadas en el caso de las cruzes H13582 y H 13578. Estos resultados confirman la mayor virulencia del Is.2 en relación a la resistencia de Icatu (Eskes, 1983) (ver el Cuadro 2).

Herencia de la Resistencia Incompleta en Icatu y en Derivados del HT

El Cuadro 2 muestra la segregación para resistencia a la raza II y al Is.2 de seis progenies autofecondadas, tres de Icatu y tres de Catimores. Las plantas madres son moderadamente resistentes (MR) o moderadamente susceptibles (MS) a la raza II y son más resistentes o mas susceptibles al Is.2.

Las progenies de cuatro plantas (tres de Icatu y una de Catimor) mostraron mayor resistencia a la raza II que al Is.2. La segregación observada en el caso de la progenie H4782-10-225 de Icatu sugiere que la resistenca a la raza II se basa sobre la accion de un gen, con dominancia parcial : 27 % de las plantas son clasificadas como S y 73 % como R o MR. Las otras tres progenies contienen aparentemente el mismo factor de resistencia en forma homozigótica, porque segregan mucho menos. La variabilidad de reacción al interior de estas progenies podria estar relacionada a genes modificadores o, también, a genes menores de resistencia.

Dos progenies de Catimores (C2502-2b, C2477-9b) mostraron mayor resistencia al Is.2 que a la raza II. La segregación observada en ambas progenies sugiere que esta diferencia puede estar relacionada también a la presencia de un solo gene con dominancia parcial a la raza II.

CUADRO 1 : Análisis de resistencia a la raza II de H. vastatrix observada en invernadero y laboratorio en cruces (F_1) y retrocruces (RC1) de la planta madre de Icatu (C37, C. canephora) con plantas susceptibles de C. canephora cv Kouillou.

Cruzamiento y lugar de inoculación	N° de plantas	Tipo de reacción				Plantas MS + S (%)		N° de genes dominantes estimados**
		R	MR	MS	S	Observada	Esperada*	
INVERNADERO								
F1 :	34	34	0	0	0			
RC1 :								
H 13588	60	33	10	3	14	28	25	2
H 13578	17	12	0	3	2	29	25	2
H 13577	15	10	1	2	2	27	25	2
H 13575	47	35	2	0	10	21	25	2
H 13573	34	21	3	1	9	29	25	2
H 13580	11	10	0	1	0	9	13	3 (4,2)
H 13583	55	46	5	2	2	7	6	4
H 13582	104	92	7	4	1	5	6	4 (5)
Testigo (Harar)	7	0	0	0	7			
LABORATORIO								
F1 :	34	34	0	0	0			
RC1 :								
H 13588	61	37	8	7	9	26	25	2
H 13578	18	14	1	1	2	17	25	2 (3)
H 13577	16	12	1	1	2	19	25	2 (3)
H 13580	11	10	0	1	0	9	13	3 (4,2)
H 13583	60	47	5	3	5	13	13	3
H 13582	104	88	0	4	12	15	13	3

* Porcentajes esperados para el número de genes dominantes estimados

** Numero de genes probables (teste X^2, P = 0,05). El paréntesis indica valores menos probables, pero no rechazados con el teste X^2.

En el Cuadro 3 se muestra la segregación para resistencia a la raza II en varias progenies derivadas de plantas MR o MS de Icatu y Catimor, asi como también de algunos cruces de estas con Catuai. En general se observa una segregación bi-modal, con un grupo mayor de plantas resistentes (R ou MR) y menor de susceptibles (MS o S). Las proporciones observadas indican la acción de pocos genes, pero no siempre las proporciones son tipicamente Mendelianas.

Sin embargo, las segregaciones observadas en los retrocruces muestran la acción de un gen (C2477-4xCatuai) o dos genes dominantes (C9875-2 y C2501-6b x Catuai).

Aditividad de Genes de Resistencia

En los experimentos realizados (Cuadros 1 y 3) se observó cierta relación entre la dosis génica y el nivel de resistencia de las plantas. Las plantas resistentes, de las retrocruces presentadas en el Cuadro 1 y segregando para 3-4 genes, mostraron un menor tipo de reacción a la raza II que las plantas de progenies segregando para 2 genes, como se puede ver en detalle en el Cuadro 4. Situación similar fue observada para las progenies de Catimor autofecondadas (mayor dosis de genes) o cruzadas (menor dosis génica) (Cuadro 5). La diferencia promedio en ambos casos fue de 0,6 a 0,7 puntos en la escala de 0 a 9. Esta diferencia es de interés para el mejorador del cafeto, porque podria permitir una selección fenotipica de los genotipos con mayor carga genética para resistencia en las poblaciones de Icatu y Catimor.

CUADRO 2 : Reacción a las razas II y Is.2 de *H. vastatrix* de algunas progenies autofecundadas de Icatu y derivados del Hibrido de Timor con diferentes niveles de resistencia a la raza II (MR o MS).

Progenies autofecon-dadas	Raza	Nº de plantas — Tipo de reacción **				Total plantas
		R	MR	MS	S	
ICATU						
H 4782-10-225	II	33	40*		27	100
	Is.2		8	56*	36	
H 3849-7-104	II	49	42*	9	1	101
	Is.2		28	52*	21	
H 3851-2-689	II	1	20	5*		26
	Is.2		3	17	6*	
CATIMORES						
C 2012-19	II	2	12*			14
(UFV386-)	Is.2			8	6*	
C 2477-96	II	10	8	1*	5	24
(UFV385-5-)	Is.2	18		3	3	
C 2502-2b***	II	4	2	8*	5	19
	Is.2	16*		1	2	
Testigo	II				10	10
cv Catuai	Is.2			5	5	

* Nivel de resistencia de las plantas progenitores
** R = Resistente, MR = Moderademente Resistente, MS. Moderademente susceptible y S = Susceptible
*** Esta progenie ha sido obtenida por polinisación libre.

CUADRO3 : Tipo de reacción (TR) de plantas Icatu o de derivados del Híbrido de Timor (HT) y de sus progenies, obtenidas por autofecondación o cruzamiento, inoculadas con la raza II de H. vastatrix. Los valores 1 a 3 indican resistencia, 4 a 5 resistencia moderada, 6 a 7 susceptibilidad moderada y 8 y 9 susceptibilidad.

Planta madre	TR en campo	Progenies (invernadero o vivero) TR									N° total de plantas
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
ICATU :											
H4782-10-131-1	3	11	8	4	2			5	14	1	45
H4782-10-380-7	4	2	9	5	4	1		2	1		24
H9875-2	5	33	31	2	2	2	4	7	2		83
H4782-7-724-1	9						2	13	15		30
DERIVADOS DE HT :											
Catimor C2477-4	4		38	3	3				1	8	53
Cavimor C2502-4	4	24	21	3			3	4	3	12	70
Cavimor C2501-66	5	4	27	15	4		3	3	2	1	59
Catimor C2004-8	6	2	7	3	4		2	4	2		24
CRUZAMIENTOS :											
H9875-2 x cv Catuai		20	36	3	1	1	4	5	5	5	80
C2477-4 x cv Catuai		1	2	12		1	1	3	7	4	31
C2501-6bx cv Catuai		1	8	28	2		1	4	3	4	51
TESTIGO :											
cv Catuai							1	5	5	14	25

CUADRO 4 : Reacción a la raza II de H. vastatrix de plantas resistentes de retrocruces entre la planta C37 y plantas susceptibles de cv Kouillou de C. canephora observada en vivero.

Híbrido	Estimado N° de genes	N° de plantas Tipo de reacción*				Promedio
		0	1	2	3	
H 13588	2	1	4	21	7	2,1
H 13375	2	0	9	15	11	2,1
H 13583	3-4	7	18	16	5	1,4
H 13582	3-4	9	49	28	6	1,5

* 0 = sin síntomas visibles
1 = "flecks" y tumefacciones de tamaño muy pequeño
2 = "flecks" y tumefacciones de tamaño pequeño e intermedio
3 = intermedias y grandes areas cloróticas sin esporulación, algunas tumefacciones.

CUADRO 5 : Reacción a la raza II de H. vastatrix de plantas resistentes en progenies de Catimor o Cavimor autofecundadas (A) y cruzadas hacia cv Catuai (C), observadas en vivero.

Progenies	Autofecundación (A) o cruzamiento con Catuai (C)	N° de plantas — Tipo de reacción*			Promedio
		1	2	3	
Catimor C1999-8	A	59	8	1	1,2
	C	4	20	5	1,8
Cavimor C2501-6b	A	4	27	15	2,2
	C	1	8	28	2,7
Catimor C2477-4	A	0	38	3	2,0
	C	1	2	12	2,7

* 1 = "flecks" y tumefacciones de tamaño muy pequeño
2 = "flecks" y tumefacciones de tamaño pequeño e intermedio
3 = intermedias y grandes areas cloróticas sin esporulación, algunas tumefacciones.

Es necesario remarcar, que la relación entre carga genética y tipo de reacción solo ha sido observada en los experimentos ejecutados en vivero, y no en laboratorio o invernadero. En estas ultimas condiciones, con más baja luminosidad, la reacción de resistencia es normalmente más pronunciada (Eskes, 1983) ; la mayor parte de las plantas han dado un tipo 0-1 de reacción. Por eso, la selección propuesta solo puede ser efectiva si es aplicada en vivero, y posiblemente también en campo, donde las condiciones son más favorables para distinguir diferentes niveles de resistencia a la roya del cafeto.

DISCUSION GENERAL

El análisis a nivel diploide de la herencia de la resistencia a la roya presente en Icatu sugiere que esta población contiene 3 à 4 genes dominantes. No se puede excluir la posibilidad de presencia de genes recesivos no detectables en el análisis efectuado (retrocruces). Uno de los genes de resistencia en Icatu es superado por el Is.2, una raza detectada en Brasil en 1979. Aparentemente este mismo gen puede ser encontrado también en el germoplasma del HT (Cuadro 2).

El análisis a nivel tetraploide de la herencia de resistencia incompleta, en Icatu muestra que un mismo gen puede tener un nivel de expresión diferente en plantas diferentes. Asi, el gene de resistencia específica (superada por el Is.2) puede ser encontrado en plantas con reacción R, MR o MS a la raza II (Cuadro 2 ; Eskes, 1983). Esa variación de expresión puede ser relacionada a un efecto de dosis génica (dominancia incompleta) o a genes modificadores.

La identificación de un gene de resistencia incompleta y específica (Cuadro 2) y el análisis de segregación para resistencia incompleta (Cuadro 3) sugieren que la resistencia incompleta en Icatu y en derivados del HT es relacionada a la acción de pocos genes. Asi, este tipo de resistencia puede estar relacionada en parte con los genes S_H6 a S_H9 detectados en este germoplasma en el CIFC, Portugal.

Los resultados sugieren consecuencias para el mejoramiento del cafeto. En oposición a lo que ha sido sugerido algunas veces, la selección de resistencia incompleta en Icatu y en derivados del HT no parece proporcionar una resistencia duradera, ya que este tipo de resistencia puede ser específica y basada en pocos genes.

Contrariamente, la mejor estrategia para obtener resistencia duradera en este germoplasma parece ser la selección de genotipos con mayor numero de genes, que juntos pueden constituir una barrera eficiente contra la formación de nuevas razas del patogeno. La aditividad de los genes de resistencia observada en Icatu y en los derivados de HT (Cuadros 4 y 5) sugiere que una selección fenotipica puede ser eficiente. Asi, seria recomendable de eliminar en el proceso de selección todas las plantas con nivel de resistencia intermediaria y dar preferencia a las plantas altamente resistentes (tipos de reacción 0, 1 o 2).

REFERENCIAS

CARVALHO, A., 1982. Melhoramento do Cafeeiro-Cruzamentos entre C. arabica e C. canephora, 10ème Colloque ASIC, Salvador, Brasil. pp363-368.

ESKES, A.B., 1983. Incomplete Resistance to Coffee Leaf Rust. Tesis de doctorado, Universidad Agricola de Wageningen, Holanda, 140 pp.

ESKES, A.B., 1989. Resistance. En : "Coffee Rust. Epidemiology, Resistance and Management". Kushalappa, A.C. y A.B. Eskes. (Eds.) CRC-Press, Florida, pp171-293.

ESKES, A.B., HOOGSTRATEN, J.G.J., TOMA-BRAGHINI, M. y CARVALHO, A., 1990. Race-specificity and inheritance of incomplete resistance to coffee leaf rust in some Icatu coffee progenies and derivatives of Hibrido de Timor. Euphytica, en imprenta, 1990.

SEGREGACION PARA LA RESISTENCIA COMPLETA E INCOMPLETA A Hemileia vastatrix EN ICATU Y EN ALGUNOS DERIVADOS DEL HIBRIDO DE TIMOR, CONSECUENCIAS PARA EL MEJORAMIENTO GENETICO

A.B. ESKES, J.G.J. HOOGSTRATEN y F.A. LEVY

RESUMEN

Se presentan resultados de investigaciones realisadas entre 1984 y 1988 en la Sección de Genética del Instituto Agronômico de Campinas, SP, Brasil, sobre la resistencia a la roya del cafeto (Hemileia vastatrix) en la población de Icatu y en derivados de cruzamientos con el Hibrido de Timor (H.T.). Un estudio realizado a nivel diploide, sobre la herencia de la resistencia de la planta madre de Icatu (C37, C. canephora) mostró la presencia de 3 o 4 genes dominantes. El estudio, a nivel tetraploïde, de la segregación para la resistencia incompleta en Icatu y en los derivados del HT indicó que este tipo de resistencia puede ser específica y estar relacionada principalmente a genes mayores y/o modificadores. Así, los genes S_H6 a S_H9 podrían ser en parte responsables de la resistencia incompleta en estas poblaciones.

Las observaciones realisadas en vivero indicaron además que puede haber una relación entre carga genética y nivel de resistencia en Icatu y en los derivados del HT. Esta "aditividad" de los genes de resistencia podría ser útil al fitomejorador ya que posibilitaria una selección fenotipica de los genotipos que contienen mayor número de genes. El conjunto de los resultados obtenidos indica que la selección de un alto nivel de resistencia, por acumulación de genes, en Icatu y en derivados de HT es más promisoria para obtener resistencia duradera que la selección por resistencia incompleta, ya que esa última puede ser especifica y basada en pocos genes en esas poblaciones de cafeto.

SEGREGATION POUR LA RESISTANCE COMPLETE ET INCOMPLETE A Hemileia vastatrix EXISTANT DANS LA POPULATION DE ICATU ET DANS QUELQUES DESCENDANCES DERIVEES DE L'HIBRIDE DE TIMOR ; CONSEQUENCES POUR L'AMELIORATION GENETIQUE

A.B. ESKES, J.G.J. HOOGESTRATEN et F.A. LEVY

RESUME

Des résultats de recherches effectuées entre 1984 et 1988 a la Section de Génétique de l'Instituto Agronômico de Campinas, S.P., Brésil, sur la résistance à la rouille orangée (Hemileia vastatrix) dans la population d'Icatu et dans des descendances dérivées de l'Hibride de Timor (HT) sont présentés. Une étude de l'héritabilité de la resistance de la plante mère (C. canephora) d'Icatu, realisée au niveau diploide, a montré l'existance de 3 ou 4 genes dominants. Les études de l'héritabilité de la résistance incomplète dans l'Icatu, au niveau tetraploide, et parmi des lignées dérivées de l'HT indiquent que ce type de résistance peut être spécifique et est relié principalement à des gènes majeurs et ou modificateurs. Ainsi, les gènes S_H6 à S_H9 pourront être partiellement responsables pour la résistance incomplète dans ces populations.

Par ailleurs, les observations faites en pépinière suggèrent qu'il peut y avoir une relation entre la dose génique et le niveau de résistance des plantes dans l'Icatu et le germplasme dérivé de l'HT. Cette "additivité" de gènes de résistance pourrait permettre aux généticiens d'effectuer une sélection phénotypique des génotypes ayant un plus grand nombre de gènes. Une conclusion générale des résultats est que la sélection, par accumulation de gènes, d'un haut niveau de résistance dans l'Icatu et dans le germplasm de l'HT est plus intéressant pour obtenir une résistance durable que la sélection pour la résistance incomplète, car ce dernier type de résistance peut être spécifique et oligogénique dans cette population.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE COMPLEX COFFEE LEAF-COFFEE RUST AND OF THE FUNGAL SPORE

M. SANTA CRUZ *, C. SCHLIENGER **

* LIQC Research Laboratory on Coffee Chemistry of the National Federation of Coffee Growers of Colombia.
** NESTEC S.A. Centre de Recherche Nestlé, Vers-chez-les-Blanc, CH-1000 Lausanne 26, Switzerland.

1. INTRODUCTION

The so called rust caused by the fungus Hemileia vastatrix Berk & Br, is the most important disease of Arabica coffee plantations. Although there are possibilities to control it by chemical methods and natural resistance these are associated with higher costs or other difficulties. Chemical control is the current way of accomplishing it.

Nevertheless the chemical control together with its advantages has several limitations, specially: relatively high application costs and ecological consequences.

It is to be expected that an advanced knowledge of the interaction coffee plant - coffee rust could make possible a reduction of fungicide applied and the frequency of the applications. From biochemical research work (9) it seems that a reduction of control costs and environmental effects could be attained. In order to achieve this understanding of biochemical and biological phenomena and the complementary study of morphological aspects are essential (2).

Notwithstanding that considerable work has been done on coffee rust (4, 6, 12, 14) only few papers describe in detail how the infection process occurs (10).

In this paper we describe the histological conformation of rusted and non-rusted coffee leaves. Descriptions include the infection structures developed by the fungus at various stages of the infection process, since the germination of the spores on the leaf until the liberation of new generations of uredospores.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

For the healthy coffee leaves were selected the second pair from the young branches and for the infected ones those that showed a more developed infection were chosen.

The spores of coffee rust were kept at a temperature of 4°C in sealed test tubes over sulfuric acid at 30%.

2.2 Methods

2.2.1 Scanning electron microscopy

Leaf cuts and spores were fixed overnight with 4% glutaraldehyde in 0.1 M phosphate buffer (Sörensen solution) at pH 7.2 and 4°C, under vacuum, for obtaining a better fixation.

The fixed samples were carefully washed with phosphate buffer and dehydrated through graded acetone series. A final drying was done under liquid CO2 with a Critical Point Drying Polaron E 3000. The dried samples were mounted on stubs, coated with gold in a Polaron E 5100 and stored in a desiccator (5). A Scanning electron microscope Philips EM 505 equipped with M 20 Steinheil camera, was used for observation.

2.2.2 Germination of the spores "in vitro"

Spores were germinated "in vitro" by the hanging drop method (1). A spore suspension was prepared (5 mg of spores in 5 ml bidistilled water + 20 μl of Tween 20). 25 μl drops were put on microscope slides and maintained in a humid chamber at 22°C for 8h, in the dark. They were then processed for scanning electron microscopy in the same way as explained before.

3. Results and Discussion

3.1 Healthy leaves

Macroscopically the coffee leaves have a speared shape, and a central vein with many adjacent secondaries, distributed along the leaf. The two main parts of the coffee leaf are the central vein and the limb.
The central vein has principally conduction tissues formed by xylem and phloem and support tissue (Collenchyma).
In the limb it is possible to recognize from the top of the transversal cut of the upper epidermis, the palisade parenchyma composed of elongated cells, perpendicular to the direction of the surface, in the bottom the spongy parenchyma and lastly the lower epidermis.

On the scanning electron microscope it is possible to observe much clearer, the differences between these two tissues. Even through the palisade parenchyma appears more compact, a considerable proportion of the sides of the elongated cells are exposed to the intercellular space. In the spongy parenchyma large intercellular lacunae are observed (Fig. 8).

The upper surface is formed of a protective tissue covered with a fine cuticle and constitued by a layer of square shaped cells. Only at the level of the central vein do the cells show an elongated shape.

The lower surface of the leaf is also a protective tissue and shows other types cells including the guard cells of the stomata with an opening, the stomatal pore (Fig. 6). Subepidermically under each stomata the large space of the substomatal

chamber is observed. One of the taxonomic characteristics of Coffea arabica is the presence of domatia. This term is usually applied to depressions or holes that generally have a small number of hairs. They are found at the beginning of the lateral veins and only in the lower surface of the leaf (8).

3.2 Spores

The spores of coffee rust, Hemileia vastatrix are generally kidney shaped and sometimes round. Their size varies from 26 to 30 μm (15) (Fig. 1). They have a ventral face with a concave soft surface on which it is possible to see the binding point to the originating uredospore (Fig. 2) and a dorsal face with conic spines (Fig. 3). Due to this feature they are called "hemi-leio" (half-smooth) (7). A mature spore shows an average from 150-300 spines. This spiny structures allow the adherence to disemination vectors (13).

The germination of the spores occurs through various germ pores distributed in sites equally distant (3), the germ tubes develop depending on different environmental factors, in which humidity plays and important role (13) and also the viability of the spores (Fig. 4).

3.3 Infected leaves

The infection caused by coffee rust fungi, generally occurs on young leaves, always on the lower epidermis (Fig. 7) and with circular wounds, that extends radially and are covered by spores that give the appearance of an orange powder (rust). This color varies in intensity according to the infection's evolution. It is possible to see bleached spots caused by the infection on the upper surface, but no mechanical damage occurs on this side.

When the spore germinates its develops a germ tube with anchor shaped penetrating structures, appresoria, that grow towards the stomata (Fig. 5). Several stomata can be infected by only one germinal tube that is able to branch for this purpose. These are various theories on how the process occurs, and it is believed that different contact stimuli are responsible e.g. Specific chemicals (enzymatic response), humidity, light and temperature, according to the rust type (15).

After germ tube penetration, a substomatal vesicle is formed which develops infection hyphae, that grow out through the intercellular spaces of the leaf, increasing their size with their progression between the cells (Fig. 9).

Hyphae grow towards the palisade parenchyma for which coffee rust shows special affinity (10) penetrating through it and advancing between the cell and the lacunae of the spongy parenchyma (Fig. 10). Hyphae show numerous nodulations in their structure (Fig. 11).

At this stage the hyphal contact with the cell is more intimate, by means of the haustorial mother cell, which forms haustoria that penetrates into the cytoplasm (Fig. 12). The coffee leaf cells react to this penetration by producing a voluminous collar (Fig. 13) and immediately after the haustorial tube becomes swollen forming in this manner the body of the haustoria (11).

Haustoria are penetrating and feeding structures that cause destruction of the cellular contents, turning it into a granular mass. Finally when the cell nucleus is attained, it is destroyed and the cell interior in this last stage looks empty.

Hemileia vastatrix haustoria are characterized within the vesicular group and show great modifications in its morphology. After haustoria formation, infection hyphae

fuse together (3 or 4). The resulting body enters the substomatal chamber and gives rise to the protosorus (Fig. 14), primary structures of the uredosporus (7). This structure is formed by a great quantity of isodiametric cells (Fig. 15) clustered together which develop, often laterally, to the guard cells of the stomata. The above mentioned structure generates the young sorus that rises to the surface of the leaf coming out through the ostiole, being preceded by few sporogenic cells (Fig. 16) which come together to form the uredosorus (Fig. 17). In the penultimate step buds are developed that grow on each sporogenic cell from which new uredospores are formed (Fig. 18).

The mature spores are situated around the basis and the young spores at the upper central part, indicating that maturation has a basipetal pattern (Fig. 19) (7).

4. CONCLUSIONS

The infection caused by coffee rust occurs only through the leaf's stomata. It seems directed by topographical, chemical and/or enzymatic stimuli between the penetrating structure of the fungi and the leaf surface. The fungi develops a large quantity of infection hyphae that encroach upon the tissue formed by the palisade and spongy parenchyma, generating, penetrating and feeding structures that destroy the whole cellular content.

Finally the fusion of several of this hyphae gives rise to the primary structures that form the uredosorus, which is expelled through stomata to free new uredospores completing the infection cycle.

It is hoped that this project carried out in collaboration with LIQC (Laboratorio de Investigaciones sobre la Quimica del Café y los Productos Naturales) could contribute to the understanding of the biochemistry work currently done on the host-parasite interaction and its relation with metal (bio) availability. The knowledge of this phenomena constitues a promising research field with several practical possibilities (9).

ACKNOWLEDGEMENTS

One of us, Milena Santa Cruz acknowledges the support received from Nestlé Research Centre, Vers-chez-les-Blanc, Lausanne, Nestlé Colombia and the National Federation of Coffee Growers of Colombia, LIQC Research Laboratory in Bogotá, for the realization of this research work.

5. REFERENCES

1. Bravo I., Efecto de la interrelación cobre manganeso (Cu-Mn) sobre la viabilidad y toma del (Cu) por esporas de Uromyces dianthi niessl (Roya del Clavel). Tesis de Grado. Universidad Nacional, Bogota 1981.

2. Esau K., Anatomy of the seed plants. John Wiley and Sons, 2nd Ed., New York, 1977.

3. Harr J. and Guggenheim R., Contributions to the biology of Hemileia vastatrix. I-SEM investigations on germination and infection of Hemileia vastatrix on leaf surfaces of Coffea arabica. Phytophat. Z., 92, 70-75, 1978.

4. Guggenheim R. and Harr J., Contributions to the biology of Hemileia vastatrix, II-SEM investigations on sporulation of Hemileia vastatrix on leaf surfaces of Coffea arabica. Phytopath. Z., 92, 97-101, 1978.

5. Hollenberg M.J. and Erickson A.M., The scanning electron microscope: Potencial usefulness to biologists. J. Histochem. Cytochem, 21, 109-130, 1975.

6. Martins E.M.F., Tiburzi R. and Moraes, W.B.C., Histological studies of compatible interactions of coffee leaves and Hemileia vastatrix, Fitopatol. Brasileira, 10, 627-636, 1985.

7. McCain J.W. and Hennen J.F., Development of the uredinial thallus and sorus in the orange coffee rust fungus, Hemileia vastatrix. Phytopathology 74 (6), 714-721, 1984.

8. Metcalfe C.R. and Chalk L., Anatomy of the dicotyledons. Clarendon Press, Oxford 2nd Ed., 1977.

9. Quijano-Rico, M., Clues for the understanding of trace element role in biochemical phenomena associated with the infection by coffee rust and its chemical control. 12th Internacional Scientific Colloquium on Coffee. ASIC, Montreux, 1987.

10. Rajendren R.B., Pathologic-histology and morphology of haustoria in Hemileia vastatrix Berk & Br. Mycopathol Mycol. Appl. 36 (2), 107-112, 1965.

11. Rijkenberg F.H.H. and Truter S.J., Haustoria and intracellular hyphae in the rusts. Phytopathology 63, 281-286, 1973.

12. Rijo L. and Sargent J.A., The fine structure of the uredospore and germ tube of Hemileia vastatrix. Simposio sobre ferrugens do cafeeiro, pp. 297-319. Oeiras, Portugal, 1983.

13. Rothfos B., Coffee Production, Gordian Max Rieck GmbH, Hamburg, 2nd Ed., 1985.

14. Silva D.M. and Nogueira N.L., Observacoes ao microscopio electronico do processo de infeccáo do cafeeiro pela Hemileia vastatrix Berk & Br. Summa-Phytopathol. 3 (1), 89-92, 1977.

15. Wynn, W.K. Appressorium formation over stomata by the bean rust fungus: response to a surface contact stimulus, Phytopathology 66, 136-146, 1976.

SUMMARY

Coffee rusting, a fungal disease caused by Hemileia vastatrix Berk & Br, has a considerable effect on the rentability of arabica coffee production.

Due to the key economical and social role of coffee in producing countries, prior knowledge of the infection process of the coffee plant by coffee rust would be advantageous in developing control methods.

In the infection process of the coffee plant by coffee rust, different phenomena are important for its evolution. Research has been done on organic and inorganic biochemistry of the interaction showing that both trace elements and organic compounds influence in various ways the evolution of the infection process. In order to get a more complete understanding of the interaction mechanism the complementary study of morphological aspects is necessary.

The complex coffee leaf-coffee rust was studies using scanning electron microscopy. The different structures involved in the infection process were observed.

RESUMEN

La roya del cafeto, enfermedad causada por el hongo Hemileia vastatrix Berk y Br., acarrea desventajas para la rentabilidad de la produccion de Coffea arabica.

El papel economico y social del cafe en los paises productores, justifica el conocimiento avanzado del proceso de infeccion del cafeto por la roya, el cual abre posibilidades prometedoras para mejorar la capacidad de control.

En el proceso de infeccion del cafeto por la roya, diferentes fenomenos son importantes. Se

han realizado investigaciones en bioquimica orgànica e inorgànica de esta interaccion, que muestran que tanto elementos traza como compuestos orgànicos influencian de varias maneras la evolucion del proceso de infeccion. Con el fin de tener una comprension màs amplia de los mecanismos de interaccion, el estudio complementario de los aspectos morfologicos es necesario.

El complejo hoja del cafeto-roya fue estudiado por medio de microscopia electronica de barrido. Se observaron en detalle todas las estructuras descritas en la literatura, que se desarrollan durante la infeccion.

Résumé

Caractères morphologiques du complexe feuille du caféier - rouille du caféier et du spore du champignon.

La rouille du caféier, maladie fongique due à Hemileia vastatrix Berk. et Br., a un effet considérable sur la rentabilité de la production du caféier Arabica.

Etant donné le rôle économique et social clé du café dans les pays producteurs, la parfaite connaissance du processus d'infection du caféier par la rouille du caféier serait très utile pour la mise au point de méthodes de lutte.

Différents phénomènes sont importants pour l'évolution du processus d'infection du caféier par la rouille. Des recherches réalisées en biochimie minérale et organique de cette interaction ont révélé que tant les oligo-éléments que les composés organiques influencent, par différentes voies, l'évolution du processus d'infection. Pour mieux comprendre le mécanisme de l'interaction plante-champignon, l'étude complémentaire des aspects morphologiques est nécessaire.

Le complexe feuille du caféier - rouille a été étudié par microscopie électronique de balayage. Les différentes structures entrant en jeu dans le processus de l'infection ont été observées.

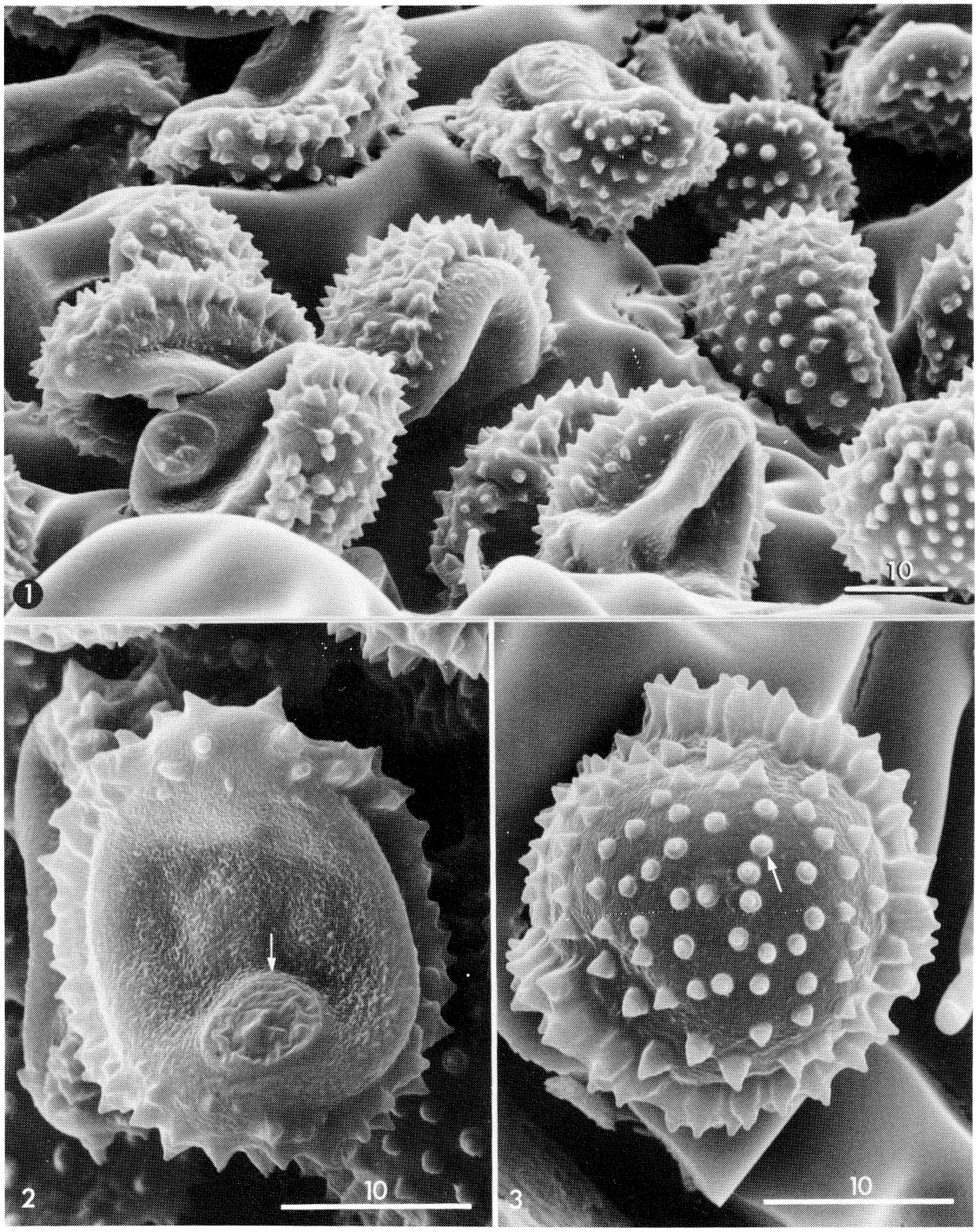


Fig. 1: Spores of the coffee rust (*Hemileia vastatrix*).
Fig. 2: Detail of the ventral face showing the binding point (→) of the originating uredosorus.
Fig. 3: Detail of the dorsal face with conic spines (→).

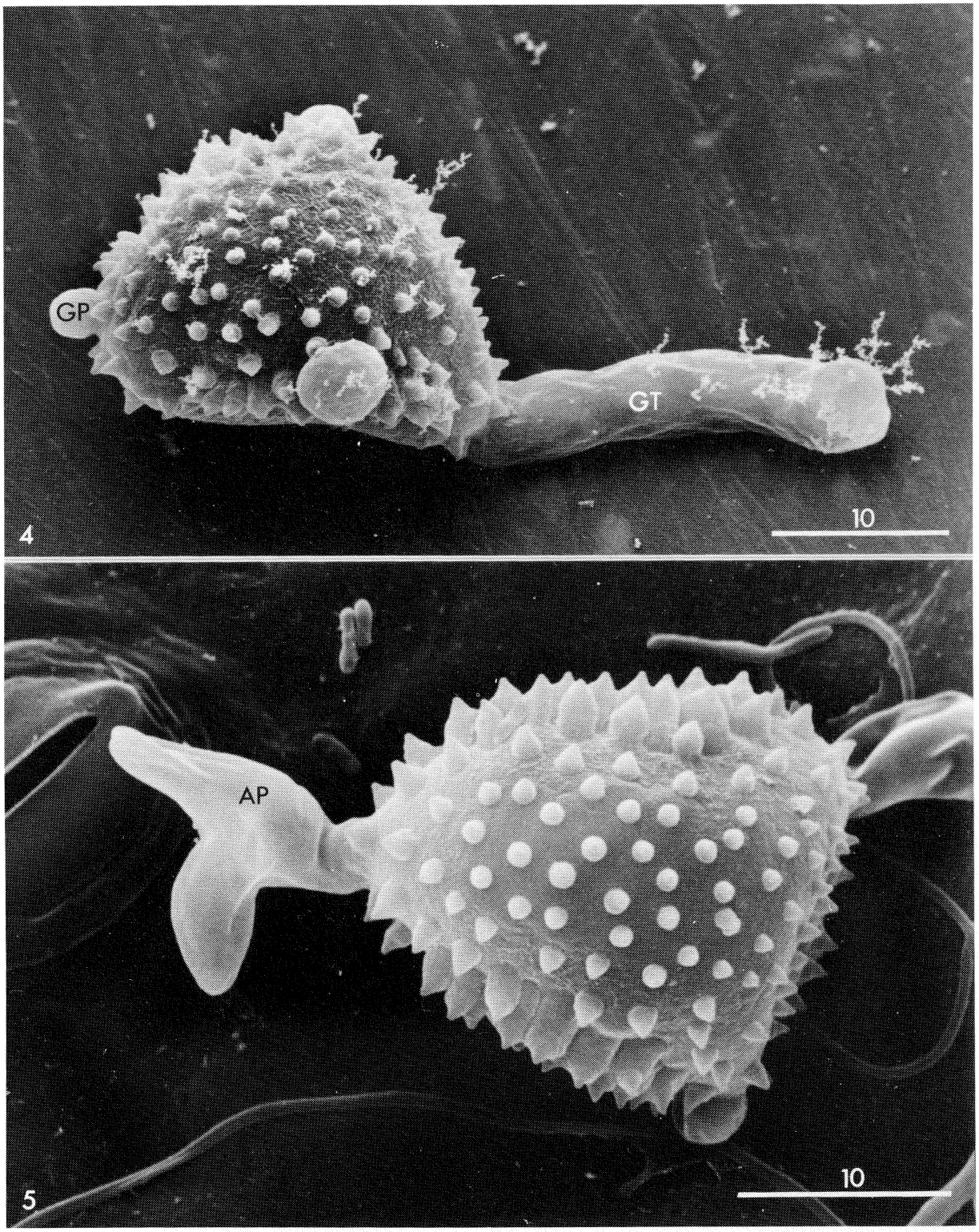


Fig. 4: Germination of the spores of *Hemileia vastatrix* "*in vitro*". It is possible to see the formation of the germ pore (GP) and the germinal tube (GT).

Fig. 5: The appressorium (AP) with its anchor shape is a typical structure of penetration.

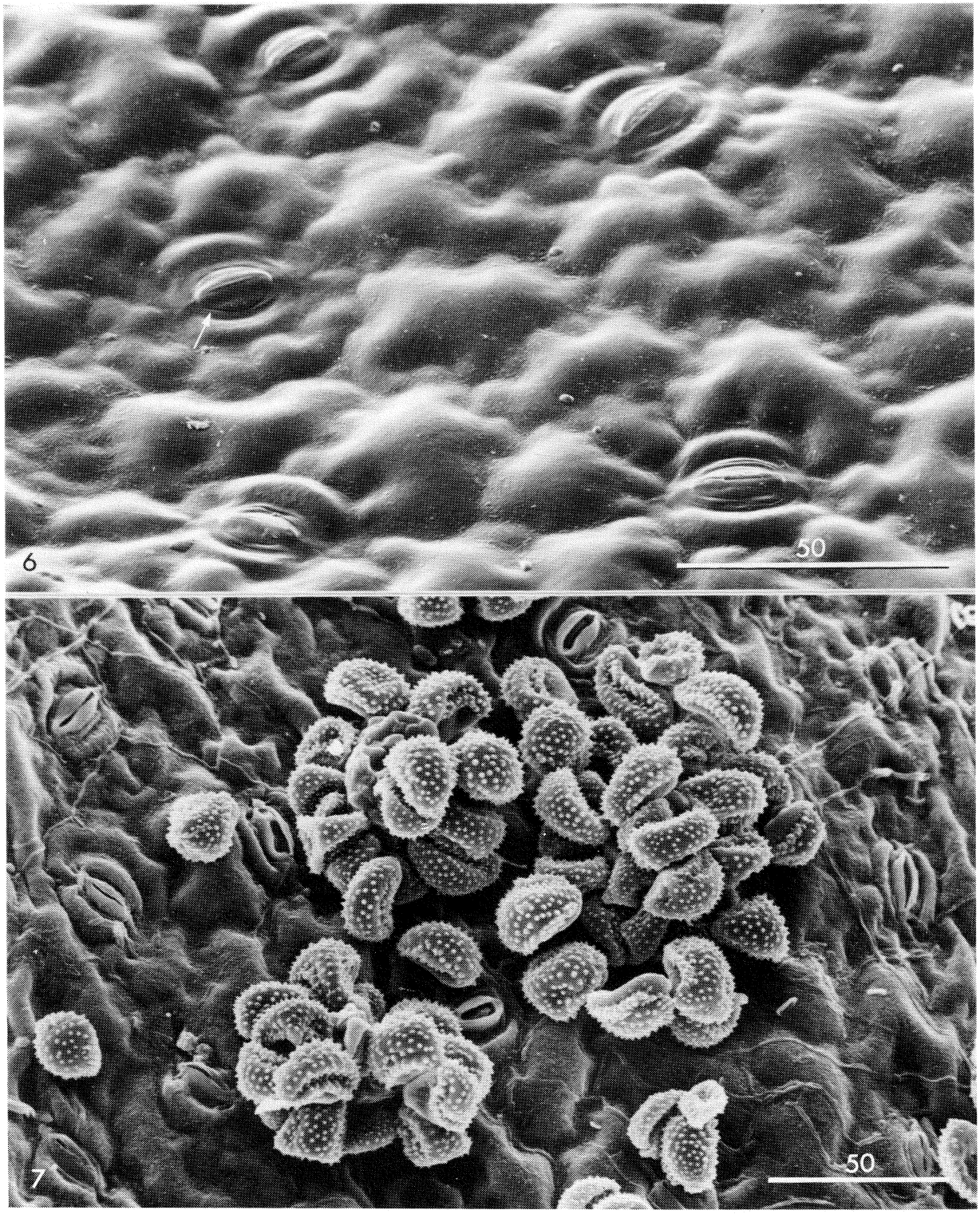


Fig. 6: Lower epidermis of a healthy leaf with several stomata (⟶).
Fig. 7: Lower epidermis of a leaf infected by *Hemileia vastatrix*.

Transversal sections of the healthy and infected leaves:

Fig. 8: View of the spongy parenchyma formed by branched irregular cells (CL) and large intercellular spaces (LA).

Fig. 9: Development of the infection (→) through the tissues of the leaf.

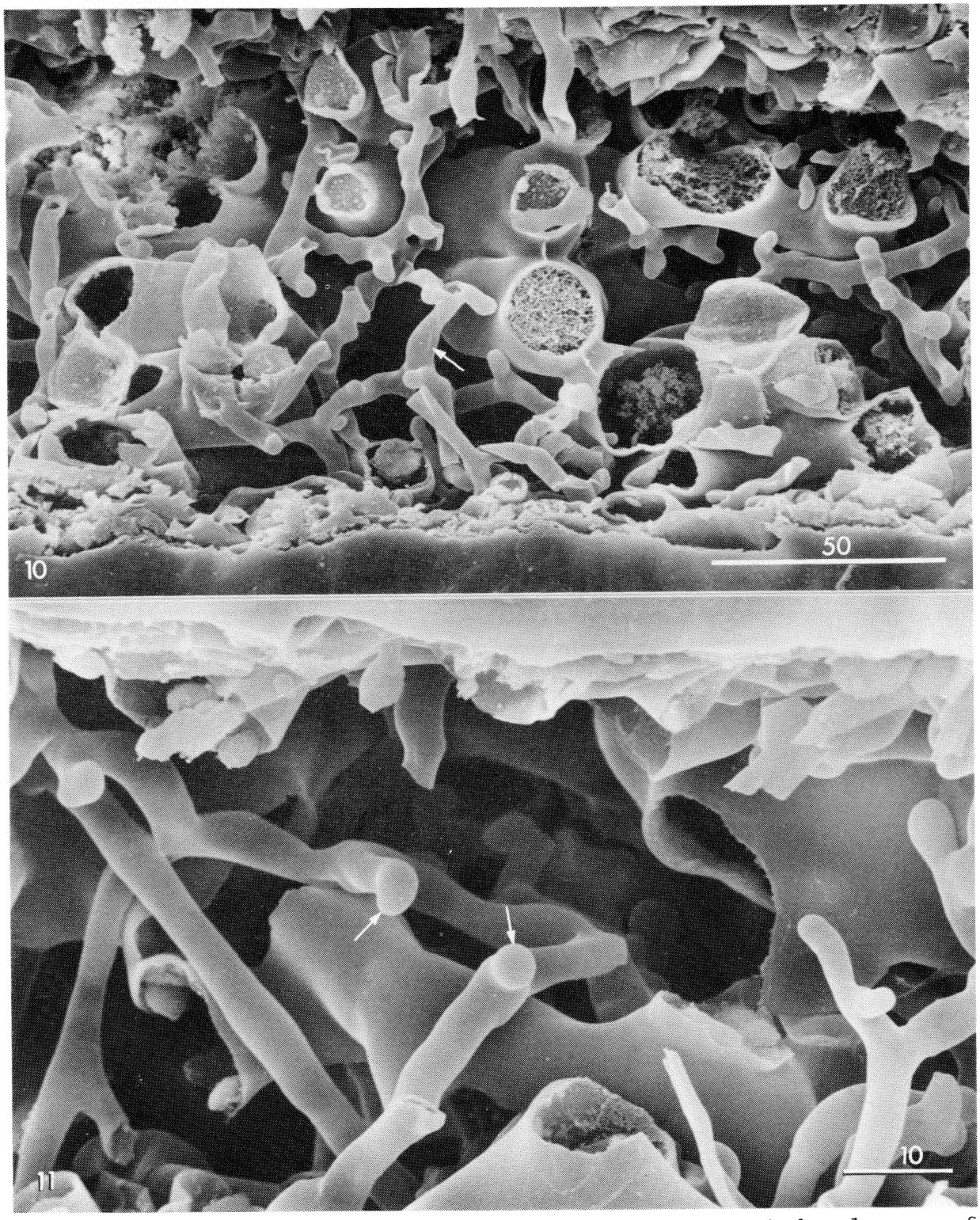
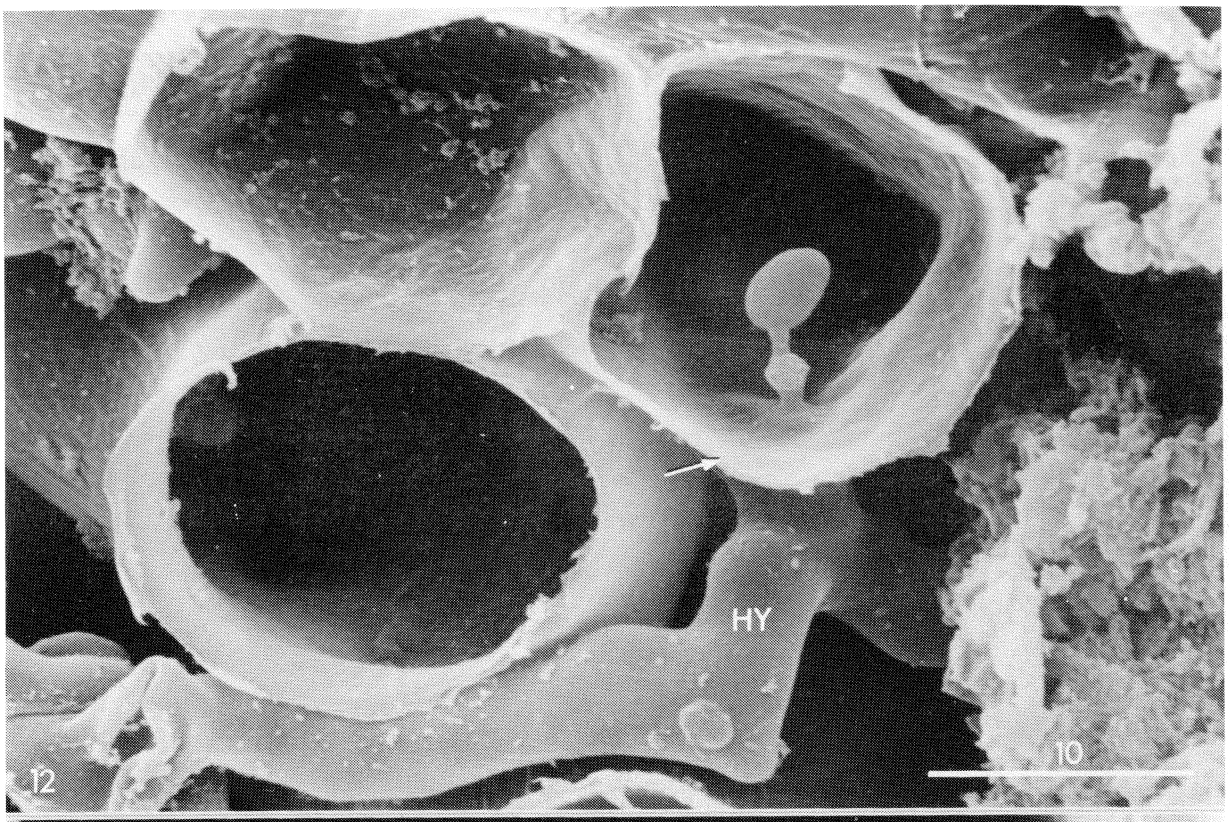


Fig. 10: The hyphae (→) advancing between the cells and the lacunae of the spongy parenchyma.
Fig. 11: Detail of the hyphae showing numerous nodulations (→) in their structure.



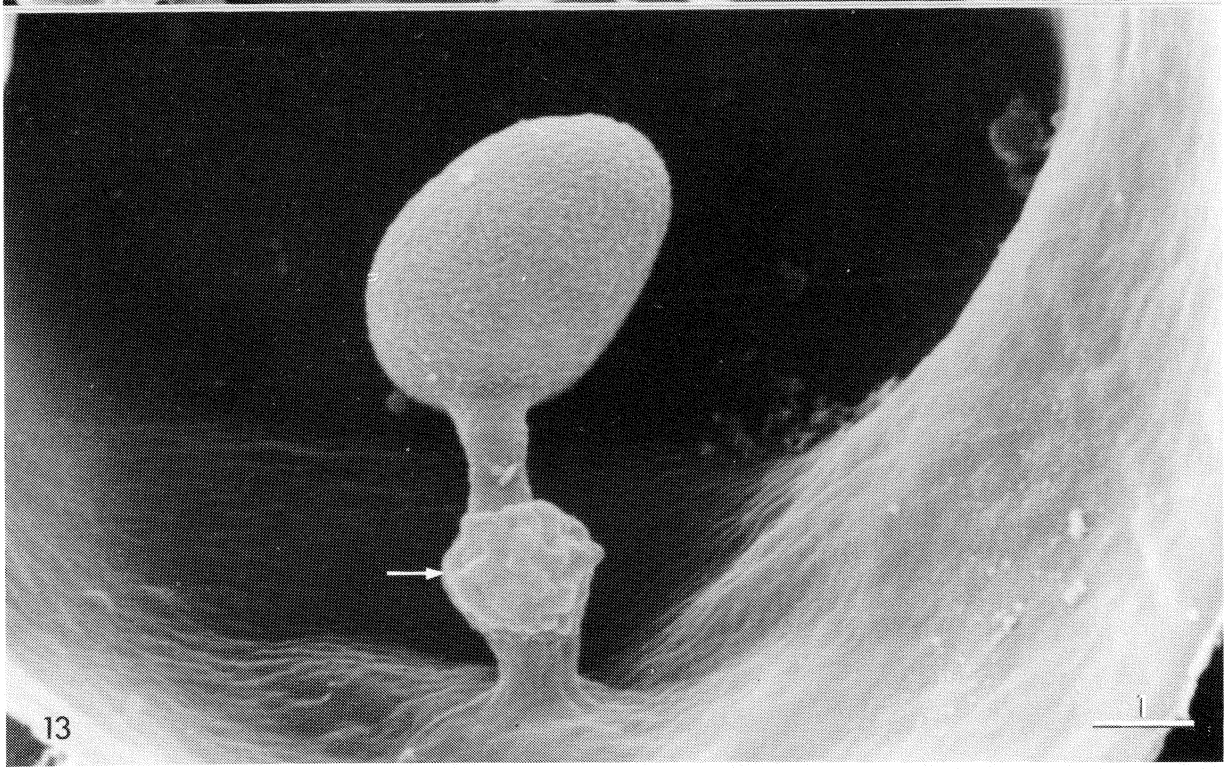


Fig. 12: The hyphae (HY) make contact with the cells by means of the haustoria (→).

Fig. 13: After the penetration of the haustoria the cell wall react to produce a voluminous collar (→).

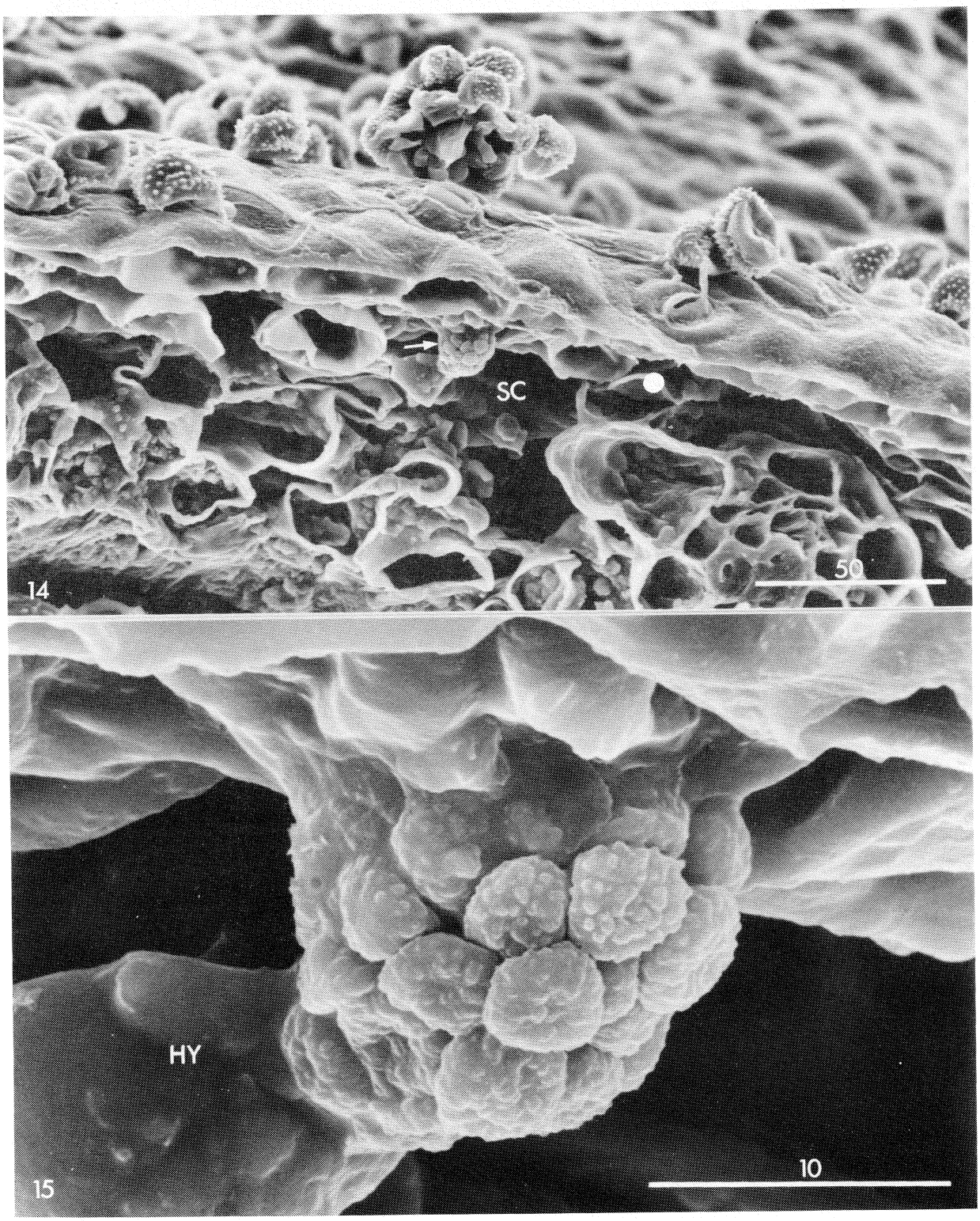


Fig. 14: Protosorus (→) in the substomatal chamber (SC).
Fig. 15: Detail of the protosorus. It is possible to observe the point of attachment with the hypha (HY) that give rise to it.

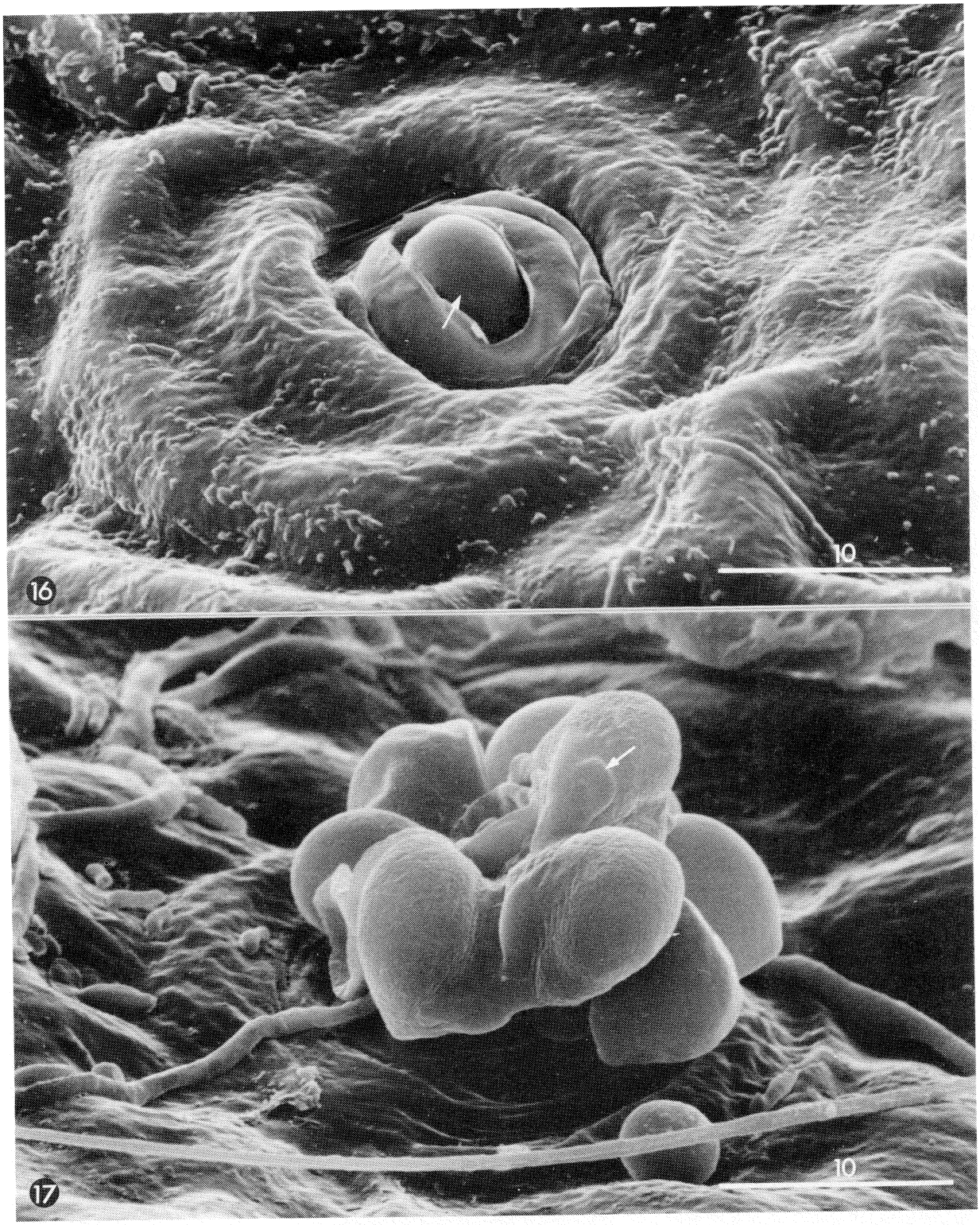


Fig. 16: The sporogenic cells (→) rise to the surface of the leaf coming out through of the stomata.
Fig. 17: After the formation of the sporogenic cells each bud (→) gives rise to a new uredospore.

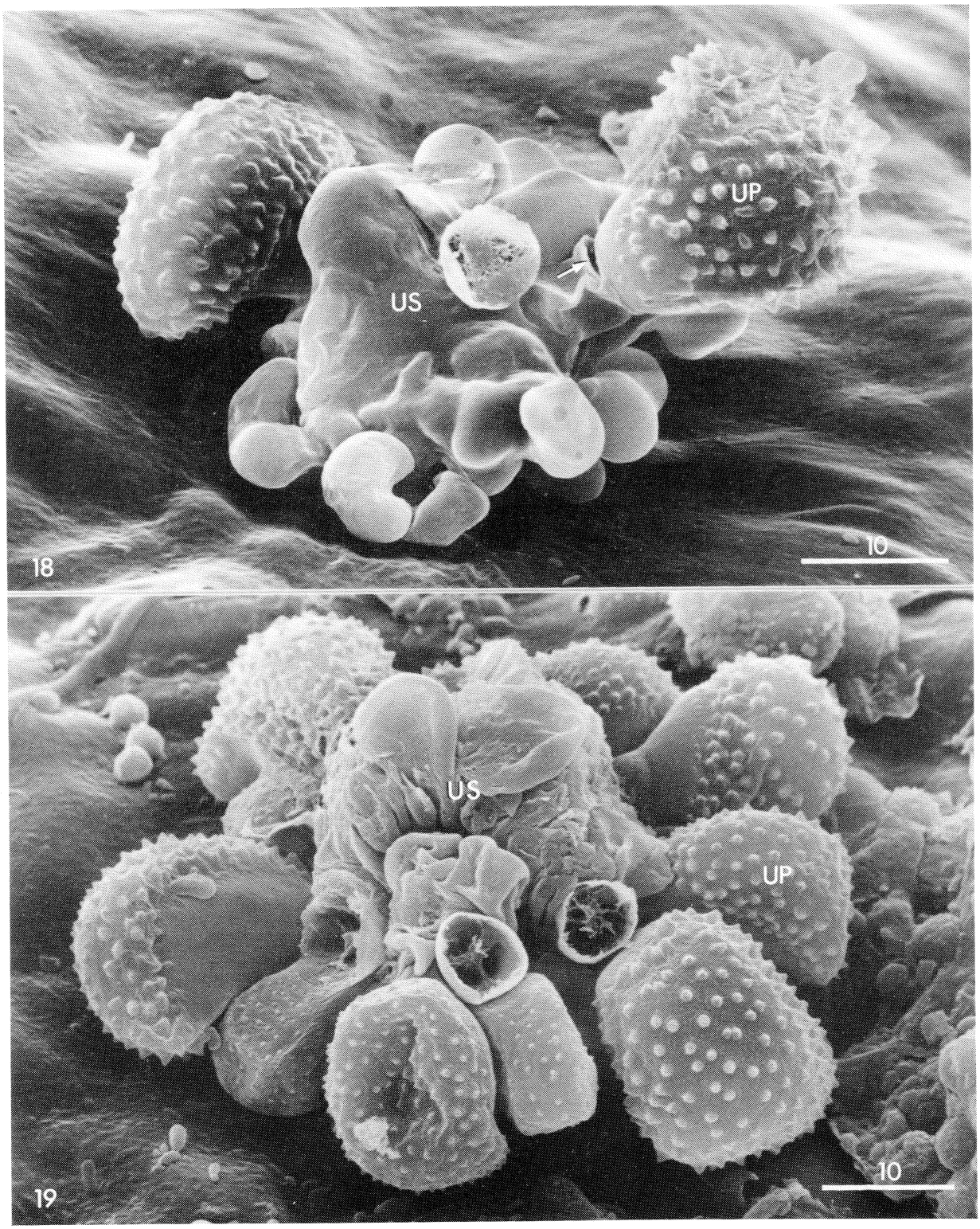


Fig. 18: Notice the detachment point (→) of the uredosorus (US) that gives rise to the new uredospore (UP).
Fig. 19: Mature uredosorus (US) surrounded by uredospores (UP).

ESTUDIOS BÁSICOS DE APLICACIÓN AEREA DE FUNGICIDAS CON HELICÓPTERO PARA EL CONTROL DE LA ROYA DEL CAFETO

D. A. VILLALBA-G. *, F. L. GRISALES-L. **

INTRODUCCION

Una de las primeras acciones desarrolladas por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, en algunas áreas cafeteras del departamento de Caldas, luego de la aparición de la roya del cafeto (Hemileia vastatrix Berk. y Br.) en Colombia y con el fin de retardar su diseminación, fue la aplicación aérea con oxicloruro de cobre y triadimefon, previos estudios de factibilidad técnica y operativa, ya que se trataba de una labor de la cual no se tenía antecedentes en el cultivo del café.

---

* Ingeniero Agrónomo. M.Sc. Investigador Cientfico II. Disciplina Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía" -CENICAFE-. Chinchiná, Caldas, Colombia, 1990.

** Ingeniero Agrónomo. Asistente de Investigación. Disciplina Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café "Pedro Uribe Mejía". CENICAFE. Chinchiná, Caldas, Colombia. 1990.

Para el efecto, se utilizaron los helicópteros BELL G-47, con un aguilón de 62 boquillas, los cuales operan bien en áreas planas y/o semiplanas y a pocos metros sobre el nivel del mar, pero en las condiciones de la zona cafetera, con pendientes pronunciadas, alturas mayores de 1000 m.s.n.m. y limitaciones, como : árboles, cuerdas eléctricas y telefónicas, tuvieron bajos rendimientos, no solo por la pérdida de potencia del aparato, sino también porque solo se pudieron realizar las aplicaciones técnicamente en un 40 a 50% de las fincas obteniéndose además un bajo y desuniforme cubrimiento y por tanto un deficiente control de la enfermedad.

Con base en lo anterior, se realizó la presente investigación utilizando helicópteros de mayor potencia y versatilidad y dotado del más moderno equipo de aspersión, tratando de hallar la combinación de factores ambientales, operativos y de aspersión que permitieran realizar técnicamente la aplicación de fungicidas para el control de la roya del cafeto y teniendo en cuenta los siguientes objetivos :

OBJETIVOS :

1. Estudiar la factibilidad de realizar aplicaciones aéreas con helicópteros.

2. Determinar los parámetros más adecuados para la aplicación.

3. Realizar la evaluación física de las aplicaciones, en términos de cubrimiento (número de gotas/cm^2), tamaño de gota (vmd) y distribución.

4. Determinar el rendimiento de aplicación, en términos de número de hectáreas tratadas por hora.

MATERIALES Y METODOS

1. **Localización :**

   Los ensayos de campo se llevaron a cabo en plantaciones comerciales de café variedad Caturra, en el municipio de Chinchiná, departamento

de Caldas, de 2 y 4 años de edad, distancia de siembra de 1.5 x 1.5m y 1 x 1m con una densidad de siembra entre 5000 y 10.000 plantas/ha, respectivamente, a libre exposición, pendiente entre el 30 y 70% y una altura de 1300 m.s.n.m.

2. **Helicóptero :**

Las aplicaciones se realizaron con un helicóptero marca LAMA AEROSPATIALE, modelo S.A. 315B, afiliado a Líneas aéreas petroleras, con una potencia de 850HP, a nivel del mar y una capacidad de carga de 1200 Kg (Figura 1).

FIGURA 1.- Helicóptero utilizado para realizar las aplicaciones.

3. **Equipo de Aspersión :**

Al helicóptero se le acopló un equipo de aspersión, marca Spraying Systems Co, modelo SIMPLEX 4206, con dos (2) tanques de agroquímicos en fibra de vidrio de 150 galones de capacidad cada uno, dos (2) bombas de presión eléctricas, un aguilón de 13 metros con 74 boquillas de cono hueco, Spraying System Co, referencia Quick jet 8360 y distanciadas en el aguilón 15cm. Figura 2.

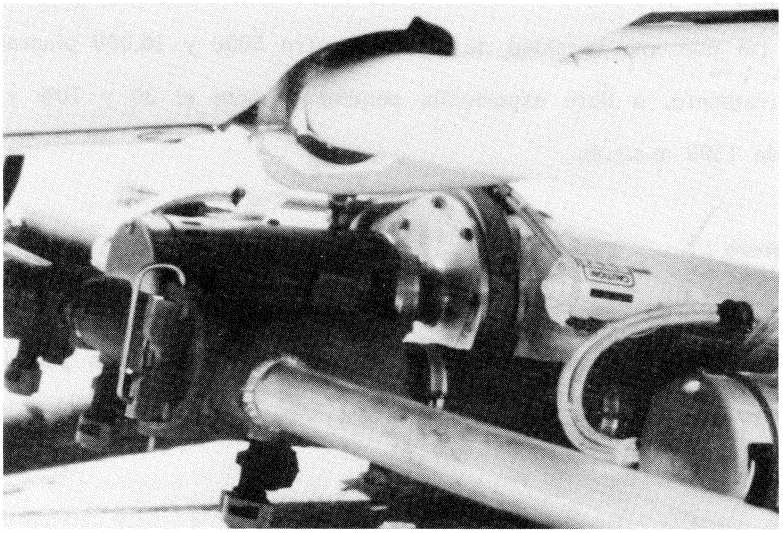


FIGURA 2.- **Aspecto general del equipo de aspersión.**

También, se utilizó un equipo meteorológico de campo (Psicrómetro y anemómetro), lupas de 20 y 30X, banderas telescópicas, intercomunicadores, colectores de papel kromecote, repopop violet y sensible a aceite y el colorante azul de metileno.

METODOLOGIA

1. Parámetros de la aplicación

1.1 Determinación del flujo de las boquillas :

El flujo de las boquillas, se determinó a una presión de 40 PSI y teniendo como base las siguientes combinaciones:

Disco 4 y difusor 25

Disco 4 y difusor 45

Disco 6 y difusor 25

Para la realización de esta prueba, se colocaron 60 galones de agua en los tanques del helicóptero, se hizo funcionar el sistema en tierra

y se tomó el volumen descargado en 5 boquillas a cada lado del aguilón, recogiendo el volumen descargado en 1 minuto. Esta prueba, se repitió tres veces con cada una de las combinaciones. El flujo total, se determinó multiplicando la descarga por boquilla por el número total de éstas en el aguilón.

1.2 Velocidad de aplicación :

La velocidad de aplicación, se determinó considerando los siguientes aspectos :

a. Obtener la máxima penetración de la gota, lo cual se consigue con una baja velocidad del helicóptero (menos de 40 millas/hora).

b. Por las condicioes topográficas de la zona cafetera, no es aconsejable realizar las aplicaciones a velocidades superiores a 40 millas/hora.

1.3 Ancho de faja :

Para la determinación del ancho de faja, se colocaron con una separación de 100 metros dos banderas, las cuales definían la trayectoria de vuelo y perpendicular a ésta, se colocaron colectores de papel kromacote de 50 cm^2, separadas 1 metro entre si, en la parte alta de las plantas.

Como información adicional y con el fin de realizar una apreciación cualitativa, se colocó en forma paralela a las tarjetas una cinta de papel de calculadora en la cual se marcó el centro de pasada del vuelo.

Posteriormente, se realizó la aplicación de una mezcla de azul de metileno y agua. La determinación del ancho de faja, se realizó a tres alturas de vuelo : 3-5 y 8 metros. Luego de la aplicación, se

retiraron los colectores y por medio de una lupa de 30X, se cuantificó cubrimiento en tres campos al azar por colector y mediante el cálculo del coeficiente de variación, se determinó el ancho de faja a cada una de las tres alturas de vuelo. Figura 3.

FIGURA 3.- **Determinación del ancho de faja**

1.4 Calibración :

Previa determinación de los factores necesarios para los cálculos de la calibración, tales como: flujo de boquilla, velocidad de vuelo y ancho efectivo de faja, se realizó la calibración de la aplicación, mediante la fórmula :

$$\textbf{Hectáreas/minuto} = \frac{\textbf{V(Km/h) x 1.000 x S}}{\textbf{10.000 x 60}}$$ En donde :

V = Velocidad del vuelo

S = Ancho de faja

$$\textbf{Volumen de mezcla/ha (L/ha)} = \frac{\textbf{Litros/minuto}}{\text{ha/minuto}}$$

2. Evaluación física de las aplicaciones

Para la evaluación física de las aplicaciones se seleccionaron al azar 25 plantas de café y a cada una se le colocó tres colectores de papel kromacote de $50cm^2$, en la parte media de las ramas, distribuidos así: uno en la parte alta, media y baja de las plantas. Los colectores se fijaron a las hojas por medio de gancho de cosedora. Figura 4.

2.1 Determinación del cubrimiento (número de gotas/cm^2) :

Para el efecto, se utilizó una lupa de 30X, para lo cual antes del conteo de las manchas, se determinó el área o campo óptico de lupa en mm^2, mediante la fórmula $A = \pi R^2$ y este resultado es divisor de 100 mm^2 ($1cm^2$), obteniéndose de este modo el factor de corrección (F.C.). Para obtener el número de gotas/cm^2, se multiplicó el número de gotas observadas en el campo óptico por el factor de corrección.

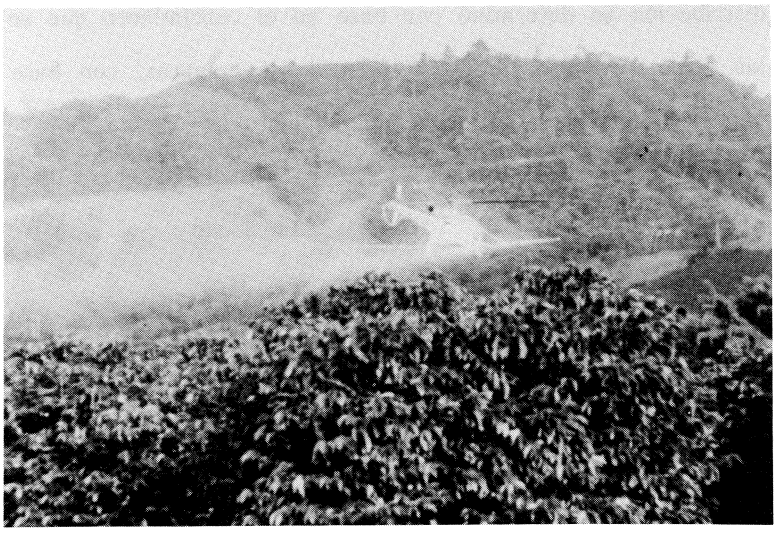


FIGURA 4.- **Evaluación física mediante la aplicación de azul de metileno.**

2.2 El diámetro medio volumétrico se determinó por el método del diámetro máximo de la gota (D. max.), el cual consiste en seleccionar las tres manchas mayores en cada colector; se miden y se colocan en su grupo de acuerdo con el tamaño, al final se eliminan las gotas que están fuera de una secuencia lógica y la mayor que queda es el D. max. Finalmente, se calculó el v.m.d. mediante la fórmula :

$$\text{v.m.d.} = \frac{\text{D.max.}}{\text{F.E x 2.2}}$$

En donde :

D. max. = Diámetro máximo de la mancha

F.E. = Factor de expansión

2.2 = Una constante

Nota : El factor de expansión cuando se usa azul de metileno y el colector de papel de kromacote es de 1.

2.3 Determinación de la distribución :

La distribución se determinó con base en el cubrimiento que se obtuvo en las posiciones alta, media y baja de las plantas, con base en los cálculos del coeficiente de variación, mediante la fórmula :

$$\text{C.V.} = \frac{S}{\overline{X}}\ 100$$

En donde :

S = Desviación estándar

$\overline{X}$ = Promedio

C.V = Coeficiente de variación

3. Rendimiento de aplicación

El rendimiento de aplicación se expresó en el número de hectáreas tratadas por hora, mediante el uso de la fórmula de Baltin-Amsden:

$$\text{Segundos para tratar una ha} = \frac{10.000}{v.b} + \frac{10.000\ TW}{b.c} + \frac{2 \times a.Q}{v.Qf} + \frac{C}{v.F} + \frac{Tr.Q}{Qf}$$

En donde :

v = Velocidad de vuelo en m/segundo

b = Ancho de faja en metro

Tw = Tiempo para voltear al final de campo (metros)

a = Distancia del helipuerto a los campos

Q = Volumen de aplicación por hectárea

Qf = Carga por vuelo del helicóptero en litros

c = Distancia entre campos (metros)

F = tamaño de los campos (metros)

Tr = Tiempo para cargar y maniobrar en el helicóptero (sg)

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Flujo de boquillas :

El flujo de las diferentes combinaciones de las boquillas, aparecen en la Tabla 1. Estos resultados son similares a los registrados en las tablas de flujo de las boquillas de la Spraying Systems Co.

TABLA 1.- Flujo de las diferentes combinaciones de las boquillas. Presión 40 P.S.I.

Combinación		Flujo	Descarga total
Disco	Rotor	c.c/minuto	L/minuto*
4	25	1050	77.7
4	45	1392	103.0
6	25	1680	124.0

* Flujo total de 74 boquillas

2. **Velocidad de aplicación :**

Teniendo en cuenta las consideraciones hechas para la determinación de la velocidad de aplicación, se adoptó como las más adecuada, la comprendida entre 30-35 millas/hora (48-55 Km/hora) para realizar las aplicaciones técnicamente.

Zemp (6) menciona que para obtener una buena penetración y cubrimiento por el envés de las hojas, se debe utilizar velocidades de aplicación, por debajo de 40 Km/hora. Pero por las condiciones de la zona cafetera, solo se pudo utilizar la velocidad antes mencionada, dando como resultados buenos cubrimientos y penetración.

Yates y Akesson (5) obtuvieron buen cubrimiento y penetración en duraznos, aplicando 200 litros/hectárea con helicóptero, a 6 metros de altura y utilizando una velocidad de vuelo de 29 Km/hora, pero cuando se incrementó la velocidad a 72 Km/hora el cubrimiento disminuyó notablemente.

Yates y Akesson (5) menciona que el patrón de distribución de las aplicaciones realizadas con helicópteros, son afectadas por la velocidad del rotor. Si la velocidad de vuelo es mayor que 60 Km/hora, el cubrimiento es desuniforme a lo largo de la faja, por tanto hay que utilizar velocidades más bajas para disminuir este efecto.

3. **Ancho de faja :**

La cuantificación y análisis de los colectores, junto con la calificación cualitativa de la cinta de papel de calculadora, dio como resultados los siguientes : a 3 metros de altura de vuelo, el ancho de faja fue de 25 metros. A 5 y 8 metros, en ancho de faja, fue de 28 y 29,5 metros, respectivamente. No se observó diferencias significativas en cuanto al cubrimiento entre estas dos alturas.

La longitud del aguilón, debe ser inferior al diámetro del rotor principal para eliminar el efecto de vórtice, el cual aumenta las pérdidas de gotas. El ancho de faja, de 28 metros, para un aguilón de 13 metros de longitud, coincide con la regla, la cual dice que el ancho de faja debe ser el doble de la longitud del aguilón.

Santos y Gómez Madeiros (4) utilizaron un helicóptero tipo Hughes 500C, con un ancho de faja de 28 metros, a una altura de vuelo de 5 metros, con el fin de realizar aplicaciones aéreas de fungicidas en cacao, lo cual coincide con los resultados encontrados en la presente investigación.

4. Calibración :

Con base en los resultados de los factores necesarios para la calibración, se procedió a realizar los siguientes cálculos :

Ancho de faja : 28 metros

Velocidad de vuelo : 56 Km/hora

Flujo de las boquillas : 26 galones/minuto (Disco 4 rotor 45)

Hectáreas/minuto : $\frac{\text{Vel. (Km/hora) x 1000 x ancho de faja (m)}}{60 \text{ x } 10.000}$

Hectáreas/minuto : $\frac{56 \text{ x } 1000 \text{ x } 28}{60 \text{ x } 10.000} = 2.6$

Litros/hectáreas : $\frac{\text{Flujo/minuto}}{\text{Hectárea/minuto}} = \frac{98.41}{2.6} = 37.85$

Volumen de aplicación (L/ha): 38

5. Evaluación física de las aplicaciones ;

5.1 **Cubrimiento (Nº de gotas/cm²)**

Cuando se utilizó el disco 4 el rotor 45, se obtuvo un cubrimiento

promedio de 77, 42 y 32 gotas/cm^2, en las posiciones alta, media y baja, respectivamente, Tabla 2.

Cuando se realizaron las aplicaciones con el disco 6 y el rotor 25, el cubrimiento fue del orden de 55, 47 y 44 gotas/cm^2 en las tres posiciones, respectivamente. Con el disco 6 y el rotor 45, se obtuvo un cubrimiento de 72, 37 y 25 gotas/cm^2, en las posiciones alta, media y baja, respectivamente.

Como se puede apreciar en los resultados, siempre el cubrimiento fue mayor en la posición alta, siguiéndole en su orden la media y por último la baja. Estos resultados coinciden con los encontrados por Leguizamón (2), quien determinó que el mayor cubrimiento y mayor tamaño de gota se presentó en la posición alta de las plantas, zona de recepción directa y los menores valores en la parte baja de las plantas, cuando se realizaron las aplicaciones por encima de la copa de los árboles de café, utilizando un equipo motorizado de espalda con un tubo de prolongación y un codo de 90°.

5.2 Tamaño de gota (Diámetro medio volumétrico)

En la Tabla 2, se presentan los resultados del tamaño de gota, cuando se utilizó el disco 4 y el rotor 45. Se puede notar que el mayor tamaño de gota, se obtuvo en la posición alta de las plantas, siguiéndole en su orden la media y por último la baja. Estos resultados, son explicables ya que las gotas grandes tienden a depositarse en la posición alta de las plantas por su mayor peso y/o volumen, mientras que las gotas pequeñas son desplazadas hacia las posiciones inferiores de las plantas.

En la Tabla 2, se puede apreciar que el menor coeficiente de variación, con relación al tamaño de gota, se obtuvo en la posición alta, siguiéndole en su orden la media y por último la baja.

TABLA 2.- Evaluación física de las aplicaciones promedio y variación.

Posición / Variable	Alta		Media		Baja	
	$\bar{X}$	C.V(%)	$\bar{X}$	C.V(%)	$\bar{X}$	C.V.(%)
Número de gotas/cm²	77.84	6.4	42.64	11.6	32.7	16.9
Tamaño de gota	202.2	16.35	151.2	27.01	146.8	27.88

* Datos transformados a Log. ($\bar{X}$)

5.3 Distribución

El análisis de la distribución del cubrimiento, se realizó con base en el coeficiente de variación, el cual fue menor en la posición alta, siguiéndole en su orden la media y por último la baja. Estos resultados, se pueden explicar por el sistema de aplicación utilizado y por el tamaño de gota obtenido en los diferentes posiciones de las plantas.

6. Rendimiento de aplicación

Con base en los promedios para los diferentes factores, de la zona objeto del estudio, se obtuvo un rendimiento de aplicación de 25.7 hectáreas por hora, así :

Qf	= 380 litros	L	= 400 metros
Q	= 38 litros/ha	a	= 2.500 metros
b	= 25 metros	F	= 10 hectáreas
v	= 22 metros/segundo	C	= 150 metros
Tr	= 120 segundos	Tw	= 40 segundos

$$t/ha\ (seg) = \frac{10.000}{22 \times 25} + \frac{10.000}{25 \times 400} + \frac{2 \times 2.500 \times 38}{20 \times 380} + \frac{120 \times 380}{500} + \frac{150}{20 \times 90} = 138$$

$$\text{Hectáreas/hora} = \frac{3.600}{138} = 25.7$$

7. Condiciones meteorológicas

La proporciión de gotas que llegan a la superficie foliar está influenciada por las condiciones climáticas que se presenten en el momento de la aspersión aérea especialmente por los factores temperatura, humedad relativa y viento, que condicionan la aplicación del producto (1).

Los criterios para interrumpir las apsersiones aéreas con helicóptero fueron los siguietnes :

1. Temperatura del aire a 26°C; en este límite la superficie foliar del cultivo presenta temperaturas superiores a las del aire, lo cual origina corrientes convectivas ascendentes que limitan la caída de las gotas menores de 100 u y solamente llegan al cultivo las gotas más grandes.

2. Humedad relativa del aire inferior a 70%, para los valores inferiores a éste límite, el poder desecante del aire aumenta incrementando las tasas de evaporación de las gotas; especialmente tiene un efecto muy grande para tamaño de gotas inferiores a los 100 um.

3. Velocidades de viento a 2 m de altura superiores a 1 m/seg con el fin de evitar la deriva de las gotas.

4. Ausencia de lluvia, para evitar el lavado del producto.

5. Ausencia de neblina (visibilidad).

CONCLUSIONES

1. Es técnicamente posible realizar aplicaciones aéreas de fungicidas, para el control de la roya del cafeto.

2. Se comprobó que el helicóptero LAMA SA-315B, posee una serie de características técnicas, que lo hacen muy versátil para realizar aplicaciones aéreas en cafetales densos, pendientes del 60% y altura hasta 1600 m.s.n.m.

3. La mejor combinación de la boquilla, fue disco 4 y rotor 45, ya que con este se puede aplicar un volumen de aplicación de 38 litros por hectárea y se obtuvo el mejor cubrimiento y tamaño de gota.

4. Se determinó como la mejor velocidad de aplicación, la comprendida entre 48-55 Km/hora, ya que con ésta se consigue buena penetración y maniobrabilidad del aparato.

5. Se determinó como el ancho de faja más adecuado, es de 28 metros, aplicando a una altura de vuelo, entre 5 y 8 metros.

6. El cubrimiento promedio obtenido en las posiciones alta, media y baja, de plantas de café, fue de 74, 43 y 33 gotas/cm^2, respectivamente.

BIBLIOGRAFIA

1. GRISALES L., F.; JARAMILLO R., A. Influencia del ambiente atmosférico en la aplicación de agroquímicos. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. CENICAFE. 1989. 11 p.

2. LEGUIZAMON C., J. Desarrollo y evaluación de aspersoras y sistemas de aplicación para cafetales densos y en pendiente. In : Congreso Nacional de ASCOLFI, 4º. Medellín, Julio 2-5 de 1980. REsumenes. Medellín, ASCOLFI. 1980. p. 5-6.

3. METHEWS, G. A. Pesticide Application Methods. 3ª Impresión. London. Longman 1985. 336 p.

4. SANTOS V. M.; MADEIROS, A. G. Pulverizacao aereo com fungicida sistemico, no controle da Ferrugen do Cafeiro. In : Colloque Scientifique International sur le Café. Salvador (Brasil), Octubre 1982. Documento. París. ASIC. 1982.

5. YATES, W. E. and AKESSON, N. B. Spray distribution in orchards from helicopters and ground applications. Transactions of ASAE 17. Nº 4. Pag. 644-539.

6. ZEMP, H. Principal aerodinamic factors affecting spraying droplet in aerial application. In : International Training Course of Aerial Application Techniques. La Habana (Cuba). 1980. CIBA GEIGY Ltda. 1985. 10 p.

7. El tamaño de gota (vmd) que se obtuvo en las posiciones alta, media y baja, fue de 204, 151 y 149 micras, respectivamente.

8. La mejor distribución de las aplicaciones, se obtuvo en la posición alta de las plantas, siguiéndole en su orden la media y por último la baja.

9. La mejor posición de las boquillas en el aguilón, por el tamaño de gota que producen, fue de 120° hacia adelante con respecto a la línea de vuelo.

10. Por las condiciones de operación, el rendimiento de aplicación fue muy variable (22-45 ha/hora) debido a que solo se puede aplicar de abajo hacia arriba, para mantener el horizonte de navegación.

11. Las aplicaciones aéreas en café, con afectadas por las condiciones meteorológicas, tomándose como niveles críticos los siguientes : humedad relativa : 70% y velocidad del viento 1 m/segundo.

12. Con base en los resultados, de la presente investigación, se realizaron aplicaciones aéreas a nivel comercial en un área aproximada de 22.000 hectáreas de café en los departamentos de Caldas, Quindío y Risaralda.

RESUMEN

Una de las primeras acciones desarrollada por la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, luego de la detección de la roya del cafeto (Hemileia vastatrix Berk. y Br.), fue la aplicación masiva de oxicloruro de cobre y triadimefon, con el fin de retardar su diseminación. Para el efecto, se utilizaron helicópteros Bell G-47, los cuales tuvieron bajo rendimiento y una deficiente aplicación. Con base en lo anterior, se realizó esta investigación en un lote de café var. Caturra, de 2 y 4 años de edad, distancia de siembra de 1 x 1m y 1.5 x 1m y una pendiente del terreno entre el 20 y 70%, efectuando las aplicaciones con un helicóptero Lama SA-315B, y un sistema de aspersión Simplex con 74 boquillas Quickjeet 18360. Para la realización de las pruebas físicas se utilizaron colectores de papel kromacote, regopop violet de 50cm^2 y papel sumadora, como colorante se utilizó el azul de metileno al 1%. Se determinó que el ancho de faja estuvo entre 25 y 28 metros, a 3 y 5 metros de altura de vuelo, respectivamente; la mejor combinación disco-difusor de la boquilla fue Disco 4 y 6, con difusor 45 a 40 PSI. La Velocidad de aplicación más adecuada estuvo entre 50-55 km/hora. La posición de las boquillas en el aguilón, fue de 120° hacia adelante, con respecto a la dirección del vuelo. Las aplicaciones en pendientes solo son posibles de abajo hacia arriba, para obtener tanto el horizonte de navegación, como una altura y velocidad constante. El cubrimiento en las posiciones alta, media y baja, fue de 74, 43 y 33 gotas/cm^2 y el tamaño de gota de 204, 151 y 140 micras, para las tres posiciones. Se encontró que la humedad relativa tuvo como límite crítico el 70% y la velocidad del viento no debe ser mayor de 1m/seg. Con base en estos resultados se efectuaron las aplicaciones a nivel comercial en cafetales a libre exposición solar y en diferentes condiciones de pendiente del terreno. Se estableció que se pueden realizar 8 vuelos y asperjar 78.14 Has/diariamente, asperjando 9.76 Has/vuelo.

INDUCCIÓN DE SUSTANCIAS ANTIFUNGICAS EN CELULAS DE CAFETO EN SUSPENSION

E. VELÁSQUEZ S. *, E. MORENO G. *, V. DE GÓMEZ **, M. DE PEÑA *

* Respectivamente : Asistente Graduado de Investigación, Investigador Principal, Investigador Científico, Laboratorio de Investigaciones sobre la Química del Café (LIQC) Federacafé, A.A. 3938, Bogotá, Colombia.
** Profesor Asociado, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Ciudad Universitaria, Bogotá, Colombia.

Introducción

Las enfermedades en las plantas no son un simple acto de parasitismo, por el contrario, ocasionan importantes alteraciones en los procesos bioquímicos y fisiológicos requeridos para la función celular normal, la diferenciación y la producción (11). El análisis de estos cambios proporciona valiosa información sobre los eventos que participan en esa respuesta de defensa y además permite conocer y establecer el comportamiento que sucede normalmente en las células.

La expresión de los mecanismos de resistencia en plantas superiores depende de muchos componentes bioquímicos que están presentes tanto en plantas susceptibles como en plantas resistentes. Sin embargo, la expresión de los mecanismos de resistencia depende del tipo de interacción hospedero-patógeno que se presente y por tanto puede ser característica de cada caso en particular. Por esta razón, un mecanismo de resistencia no puede ser analizado en forma aislada sino debe tenerse en cuenta que forma parte de un sistema bioquímico complejo cuyos componentes están estrechamente interrelacionados (2,5,7). Las respuestas de resistencia de los tejidos vegetales después de la infección, como son la lignificación, la melanización, la síntesis de fitoalexinas, la acumulación de compuestos preformados, etc., se expresan contra diferentes razas patógenas retardando o inhibiendo el proceso de infección (2,3).

Varios sistemas bioquímicos pueden estar participando simultáneamente y la proporción de cada uno en la respuesta depende de la interacción y de la interrelación entre las rutas metabólicas activadas. Entre los sistemas bioquímicos más ampliamente estudiados se encuentran la síntesis de fitoalexinas y la acumulación de compuestos preformados (2), constituídos por metabolitos secundarios que por su naturaleza química y su actividad antimicrobiana facilitan su detección mediante métodos analíticos de alta sensibilidad, aún, cuando se producen o se acumulan en muy bajas concentraciones.

La producción de estas sustancias puede ser inducida infectando los tejidos de la planta con hongos, bacterias, virus, nemátodos o también con metabolitos inductores extraídos principalmente de hongos (elicitores bióticos) que están constituídos en su mayoría por polisacáridos provenientes de la pared celular y que pueden liberarse al medio de cultivo (5,7).

Para simplificar el sistema de estudio de los mecanismos de resistencia en plantas, se ha venido utilizando el cultivo de tejidos de diferentes partes de la planta como sistema experimental, por suministrar un material más homogéneo y fácil de mantener bajo condiciones controladas (1).

Los estudios realizados en plantas de café han mostrado la producción de sustancias fungitóxicas capaces de inhibir la germinación de esporas de Hemileia vastatrix Berk y Br. (roya del cafeto), cuando las hojas son tratadas con otros microorganismos patógenos. En estudios recientes se ha encontrado la presencia de dos sustancias que posiblemente son Capsidiol y Risitina (12).

Para estudiar entonces, los mecanismos de resistencia que se expresan en el caso particular del cafeto, se han seleccionado en este trabajo, cultivos celulares en suspensión de diferentes genotipos susceptibles y resistentes a la roya del cafeto H. vastatrix, utilizando como agentes inductores de la producción y/o acumulación de sustancias fungitóxicas, fracciones del cultivo de hongos patógenos y no patógenos para el cafeto.

El propósito de este trabajo consiste en establecer las condiciones óptimas de crecimiento de cultivos celulares en suspensión homogéneos para estudiar el efecto inductor de los elicitores, determinar la actividad antimicrobiana de las sustancias inducidas y finalmente, establecer y caracterizar parcialmente las sustancias que participan en la respuesta así como las diferencias entre los genotipos susceptibles y resistentes, mediante el análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia.

Materiales y Métodos

Para la obtención de los cultivos de las células en suspensión se utilizaron los siguientes genotipos de cafetos cultivados en Cenicafé (Chinchiná, Caldas), a 1100 m.s.n.m. y una temperatura promedio de 22°C: Coffea arabica var. caturra rojo, F_4 del cruce de caturra x Híbrido de Timor 712, susceptibles a H. vastatrix; Híbrido de Timor, F_4 del cruce de caturra x Híbrido de Timor 806, resistentes a H. vastatrix. De cada genotipo se seleccionaron ramas de plantas en buen estado fisiológico de las cuales se utilizaron hojas jóvenes pero bien desarrolladas. Este material se transportó envuelto en papel húmedo y empacado en bolsas plásticas. Finalmente, fué procesado entre las 24 y 48 horas siguientes a su recolección.

Para obtener las fracciones inductoras se utilizaron hongos aislados y purificados en Cenicafé. Los cultivos se mantuvieron a 22°C. Se seleccionaron Corticium salmonicolor y Mycena cytricolor, patógenos para el cafeto y Ascochita pisi, Colletotrichum maydis y Fusarium roseum, no patógenos para el cafeto.

Para la obtención de la suspensión celular, se transfirieron 8gr. de callo friable (16), el cual se disgregó en un medio líquido que contiene las fórmulas de Murashige-Skoog como fuente de sales inorgánicas, de Gamborg como fuente de vitaminas y la concentración de hormonas utilizada para el crecimiento de callo. El cultivo se mantuvo en agitación circular a 120 r.p.m, 28°C, y en la oscuridad, durante 20 a 30 días para obtener la suspensión inicial. Con el fin de eliminar los agregados celulares y obtener una suspensión homogénea, se realizaron traspasos seriados durante el segundo y tercer subcultivo.

Para establecer las curvas de crecimiento se inocularon erlenmeyers que contenían 60ml. de medio líquido, con una alícuota de concentración conocida de células. Las pruebas se hicieron por triplicado y se observaron a los 0,1,2,3,5,10,15,20,25,30,35 días. A cada una de las muestras se le determinó el peso seco por unidad de volumen (19). Para la determinación del peso seco se tomó una alícuota de 10ml. de la suspensión en agitación y se filtró a través de papel Whatman No. 40 de 2.5cm. de diámetro, previamente llevado a 65°C durante 3 horas hasta alcanzar peso constante. Finalmente, las muestras se secaron y se enfriaron en un desecador y se pesaron.

Los hongos patógenos y no patógenos para el cafeto se cultivaron en un medio semisólido que contiene papa, dextrosa y agar, durante la etapa de propagación y en los ensayos para la determinación de actividad antimicrobiana de los extractos de las células del cafeto. Para la obtención de los elicitores se empleó el cultivo en medio líquido durante 14 días con agitación y en la oscuridad.

La presencia de agentes inductores se estudió tanto en el filtrado del cultivo como en el extracto del micelio, los cuales se prepararon así: Después de 14 días de crecimiento de los hongos en medio líquido se hizo una filtración a través de papel Whatman 42. El filtrado obtenido se esterilizó a 15 libras de presión y 121°C durante 15 minutos. El residuo con el micelio fué triturado a -4°C, resuspendido en agua y centrifugado a 10.000 rpm. durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido se esterilizó en las mismas condiciones.

Para realizar la inducción se tomó un volumen conocido del extracto inductor y se adicionó a un volumen de células de cafeto que se encontraban en fase logarítmica de desarrollo (relación 1:4) y finalmente, se llevó a incubación durante 72 horas. Simultáneamente se incubó una suspensión celular en las mismas condiciones pero sin la presencia del inductor como control de referencia. Después de la incubación las células cultivadas se separaron por filtración y se realizó la extracción con metanol. El residuo obtenido después de evaporar el metanol se extrajo con acetato de etilo. El extracto se llevó a sequedad por destilación a presión reducida y finalmente se redisolvió en etanol absoluto para los ensayos de actividad antimicrobiana y con metanol para el análisis cromatográfico.

Los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron cultivando los hongos en profundidad (PDA) y colocando los extractos celulares en orificios de 2mm de diámetro. Luego se incubaron a 22°C en la oscuridad durante 4 días y finalmente se midieron las zonas de inhibición correspondientes a los extractos de las células inducidas y sin inducir y al etanol absoluto utilizado como control de inhibición.

Tanto los extractos celulares como los correspondientes a las fracciones inductoras y del medio de cultivo-MS intacto, se filtraron a través de una membrana Millipore de 0.45 micras y finalmente se analizaron en un cromatógrafo líquido de alta eficiencia Water, equipado con un detector Water 490 de longitud de onda variable. Las condiciones de operación del sistema cromatográfico fueron las siguientes: Columna semipreparativa C_{18}, solvente metanol:agua 35:65 ajustado a pH 4.5 con ácido fórmico 0.05N, velocidad de flujo 4ml por minuto, presión 2000 a 3000 psi, longitud de onda del detector 273 nm, volumen de inyección 5 a 10 microlitros, tiempo de análisis 40 minutos y un programa de elución isocrática. La identificación preliminar se hizo comparando los tiempos de retención de la sustancia patrón con los tiempos de retención de los picos correspondientes registrados en el perfil cromatográfico de los extractos celulares.

Resultados y Discusión

Obtención de las curvas de crecimiento. La importancia de establecer las curvas de crecimiento de los cultivos celulares en suspensión, consiste en determinar que estos cultivos se encuentren en la misma fase de desarrollo, para realizar el estudio de la interacción hospedero-patógeno asegurando de esta manera una mayor confiabilidad de los resultados. En la figura 1 se puede observar que los cultivos celulares de los genotipos de caturra x Híbrido de Timor 806 presentan un crecimiento más vigoroso, se extiende hasta los 20 días y la fase estacionaria hasta los 40 días, mientras que los cultivos de Híbrido de Timor y caturra x Híbrido de Timor 712 tienen menor vigor, fase logarítmica más corta y la fase estacionaria disminuye inmediatamente se inicia. Además se puede apreciar que el crecimiento celular de las progenies caturra x Híbrido de Timor 806 y caturra x Híbrido de Timor 712 es intermedio con respecto al crecimiento de los progenitores caturra e Híbrido de Timor. Los datos de las curvas típicas de cada genotipo que aparecen en la figura 1, son reproducibles a partir del tercer subcultivo después de la obtención de la suspensión proveniente de los callos. Este comportamiento es similar al encontrado para suspensiones celulares de otras especies vegetales iniciadas a partir de callos provenientes de explantes de hojas (7).

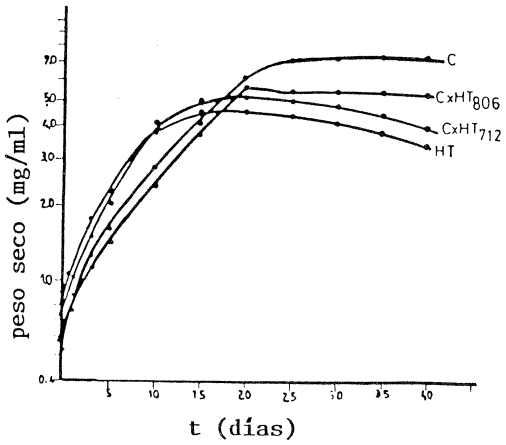


Fig.1. Curvas de crecimiento de los cultivos celulares de los diferentes genotipos de cafeto.

Inducción de sustancias fungitóxicas y determinación de su actividad. Las células inducidas con las fracciones inductoras de los diferentes hongos, fueron separadas, lisadas y extraídas. Lo mismo se hizo con las células no inducidas utilizadas como control. A los extractos obtenidos se les determinó su actividad antimicrobiana utilizando un cultivo de Fusarium roseum en profundidad. A partir de los ensayos biológicos se pudo establecer que las zonas de inhibición correspondientes a los extractos celulares inducidos con el medio de cultivo de los diferentes hongos, presentaron un diámetro mayor (4mm) al compararlas con las obtenidas para extractos de células inducidas con el micelio. Esto permite plantear que los diferentes hongos poseen una fracción elicitora soluble, la cual se difunde rápidamente al medio de cultivo. Sin embargo, la actividad elicitora presentada por el extracto del micelio sugiere que también existe una fracción elicitora en las paredes celulares del hongo que posiblemente es menos soluble o que está ligada a ella. En otros estudios se han logrado separar fracciones elicitoras del filtrado del cultivo de Phytophtora megasperma var. sojae, las cuales inducen la acumulación de gliceolina en tejidos y suspensiones celulares de soya (4,8); de los filtrados del cultivo de Botrytis cinerea que estimulan faseolina en células en suspensión de fríjol. También se han aislado fracciones elicitoras del micelio de los hongos, por ejemplo, a partir de P. megasperma var. sojae (13) y P. megasperma f.sp. glycinea (9), los cuales inducen acumulación de gliceolina en células en suspensión de soya. En recientes investigaciones se ha encontrado la presencia de elicitores en el lavado de las esporas (13) y también en los fluídos de las esporas germinadas de P. infestans, el cual induce acumulación de Risitina en papa (15). Sin embargo no se ha citado hasta el momento una relación de actividad elicitora entre la fracción proveniente del micelio y la del filtrado del cultivo que permita establecer si la fracción elicitora del filtrado presenta mayor poder inductor como se encontró en los ensayos preliminares del presente trabajo.

En los ensayos realizados por nosotros, también se detectaron zonas de inhibición para las células no inducidas utilizadas como control de referencia, aunque el diámetro de éstas fué mucho menos (1mm) que el correspondiente a los extractos inducidos (4mm). Es posible que esta inhibición corresponda o bien, a la presencia de cafeína, la cual ha sido detectada en hojas de cafeto inducidas y no inducidas con suspensiones de esporas de Helminthosporium carbonum (12), o de otros compuestos preformados producidos normalmente por las células y que han sido caracterizados como compuestos fenólicos (6), los cuales generalmente poseen actividad antimicrobiana debido a su estructura química. Es importante anotar que no se encontraron diferencias entre las inducciones realizadas con hongos patógenos y no patógenos para café, resultados que confirman que la respuesta de las células vegetales en un interacción puede ser activada por diversos elicitores. Esta respuesta nos permite concluir que para el caso del café al igual que lo encontrado para otras especies vegetales, es posible emplear hongos no patógenos para inducir la producción de sustancias con actividad antifúngica. Por tanto, si este resultado es reproducible "in vivo" es posible trabajar con sistemas de control biológico para inducir un mayor grado de resistencia en los cafetos, utilizando hongos no patógenos.

Análisis cromatográfico. Los extractos metanólicos de las diferentes muestras fueron analizadas por cromatografía líquida de alta efeciencia en las condiciones descritas. Los extractos correspondientes fueron obtenidos a partir de 7g. de células frescas que contienen 8-9% de materia seca.

En la figura 2, el cromatograma B representa el perfil cromatográfico característico de una suspensión celular vigorosa y de color cremoso de C. arabica var. caturra, durante su fase logarítmica en las condiciones normales de crecimiento. Por su parte, el cromatograma A muestra los cambios ocasionados en el perfil de estas células, cuando son tratadas durante 72 horas con el filtrado del cultivo de F. roseum. Por comparación con patrones de compuestos del metabolismo secundario que normalmente están presentes en el cafeto, se identificaron los picos correspondientes al ácido clorogénico y la cafeína y no se detectó la presencia de ácido ferúlico ni de ácido cumárico. Estos resultados indican que como respuesta a la inducción ha sido activado el metabolismo fenilpropanoide, el cual conduce a la acumulación de ácido clorogénico. Además en la condiciones del ensayo no hay acumulación de ácido ferúlico precursor de la lignina.

Cuando los tejidos vegetales son sometidos a una condición de estrés o a una infección, inmediatamente se activa el metabolismo primario, para producir los precursores del meta -

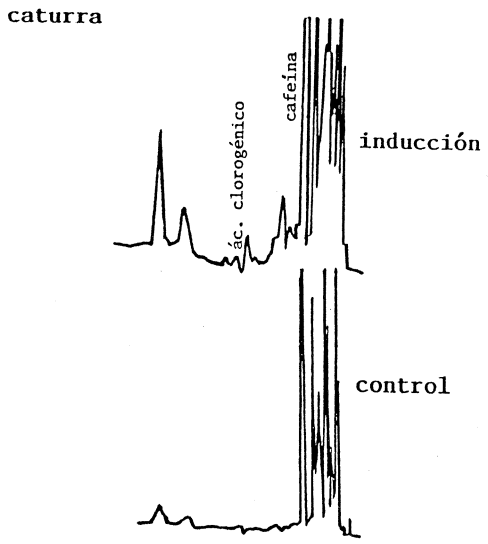


Fig.2. Perfiles cromatográficos de células en suspensión de C. arabica var. caturra que muestran el efecto de la inducción con F. roseum.

bolismo secundario, activando en consecuencia, diferentes rutas como la fenilpropanoide, la de los alcaloides, etc. (18,20). Los resultados encontrados indican que efectivamente se han inducido estos mecanismos y por ello se ha incrementado la concentración de ácido clorogénico y de cafeína. En otras especies vegetales se han observado resultados similares como respuesta a estos estímulos. Los alcaloides (cafeína, en el caso del café) también participan en las respuestas a la infección; uno de los casos más ampliamente conocidos, es la producción de los alcaloides del ergot, como respuesta a la infección por Claviceps purpurea (20).

En estudios sobre el metabolismo de la cafeína en callos de C. arabica se encontró que en las condiciones normales de cultivo se acumula hasta los 35 días y luego comienza a degradarse (17). En este trabajo, sin embargo, no se observó disminución del contenido de la cafeína producida aún en cultivos analizados entre 50 y 60 días de crecimiento de las células en suspensión.

Además de los compuestos identificados por comparación con patrones, el marcado incremento de los picos y la aparición de por lo menos 2 compuestos nuevos en las células, indica una activa participación de estos compuestos en la expresión de resistencia en los cultivos celulares de cafeto en suspensión. Resultados similares fueron encontrados en inducciones realizadas en hojas de cafeto con hongos patógenos y se han propuesto entre las sustancias nuevas, Capsidiol y Risitina, como compuestos probables (10). Es posible inducir estos compuestos en el caso del café, si se tiene en cuenta que una inducción es capaz de activar todo el complejo mecanismo metabólico y que la acumulación y/o producción de los compuestos depende de la naturaleza del estímulo y del tipo de interacción hospedero-patógeno para activar alguna vía en particular.

Cuando estos cultivos celulares fueron sometidos al agotamiento de nutrientes se observaron incrementos similares en los perfiles cromatográficos pero, en menor proporción que en el caso de la inducción. En los cromatogramas correspondientes a los otros cultivos, se encontraron los mismos resultados, con excepción del Híbrido de Timor en donde únicamente se observó incremento de los picos presentes en el perfil cromatográfico característico de este genotipo.

Los cromatogramas corresponde a los extractos del medio de cultivo de las células inducidas y no inducidas, así como los del medio MS-intacto y de las fracciones inductoras, no presentaron ninguna señal. Esto permite confirmar que los perfiles cromatográficos presentados en este trabajo corresponden únicamente a las células analizadas.

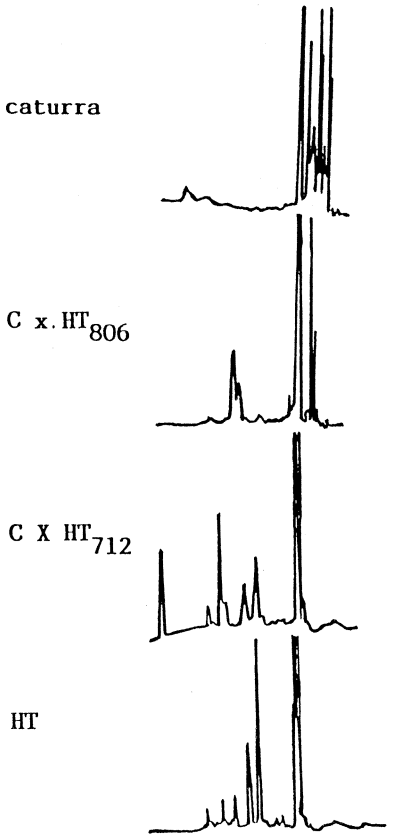


Fig.3. Perfiles cromatográficos de células en suspensión de los diferentes genotipos de cafeto.

Por último, el análisis cromatográfico permitió establecer los perfiles característicos para cada genotipo y la posible participación de los componentes pertenecientes a los progenitores en las progenies del cruce correspondiente. En la figura 3 se observa la similitud entre los perfiles de caturra y caturra x Híbrido de Timor 806 y entre Híbrido de Timor y caturra x Híbrido de Timor 712. Estos resultados presentan la misma relación encontrada en el comportamiento del crecimiento celular descrito anteriormente y representado en la figura 1.

El establecimiento de correlaciones entre los perfiles cromatográficos de los Híbridos y sus progenitores es un resultado de gran utilidad en este tipo de investigaciones, puesto que, además permite conocer las contribuciones respectivas de los progenitores después del cruzamiento y el posible comportamiento del cultivo celular frente a alguna condición de estrés, según la composición química que lo caracteriza. Resultados similares se pudieron establecer mediante el análisis de la fracción volátil de las hojas de variedades de cafeto susceptibles y resistentes a H. vastatrix (21) y también en el análisis de la fracción volátil correspondiente a callos de papa y tomate y las progenies resultantes de este cruzamiento (14).

Podemos concluir que la optimización de los cultivos celulares en condiciones controladas constituye un sistema reproducible para el estudio de estas respuestas de defensa. Además, las sustancias acumuladas alcanzan concentraciones que permiten la detección tanto de la actividad inhibitoria, como del número de compuestos que participan y su caracterización.

Finalmente, los perfiles cromatográficos obtenidos permiten establecer correlaciones definidas entre los progenitores y los Híbridos resultantes. Por otra parte, la determinación de los compuestos que aparecen en el cromatograma proporcionan una orientación acerca de las posibles rutas metabólicas involucradas en esta expresión de resistencia, en las células de cafeto. Los resultados expuestos constituyen la base para profundizar en el conocimiento de los mecanismos de defensa del cafeto.

Agradecimientos

Agradecemos a la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia por su especial interés y valiosa colaboración en la realización de este trabajo y a la Microbióloga Raquel Tovar, por la revisión e impresión de este manuscrito.

Bibliografía

1. AYERS,A.R., EBEL,J., FINELLI,F., BERGER,N., ALBERSHEIM,P. (1976) IX. Quantitative assays of elicitors activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of Phytophtora megasperma var. sojae. Plant Physiology 57:751-759.

2. BELL,A.A., (1981). Biochemical Mechanisms of Disease Resistance. Annual Review of Plant Physiology 32:21-81.

3. BELL,E.A. (1980). The physiological role(s) of secondary (natural) products. In: Stumpf,P.K., Conn,E.E. The Biochemistry of Plants. A comprehensive treatise. Academic Press. New York Vol.7 1-19.

4. CLINE,K., WADE,M., ALBERSHEIM,P. (1978) XV. Fungal glucans which elicit phytoalexin accumulation in soybean also elicit the accumulation of Phytoalexin in other plants. Plant Physiology 62:918-921.

5. DARWILL,A.G., ALBERSHEIM,P. (1984). Phytoalexins and their elicitors. A defense against Microbial Infection in Plants. 35:243-275.

6. DUQUE,M.A., LOPEZ,P.O. (1987). Análisis de Compuestos Fenólicos presentes en explantes de hojas, callos y células en suspensión de cafeto. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Tesis Farmacia.

7. EBEL,J. (1986). Phytoalexin Synthesis: The biochemical analysis of the induction process. Annual Review Phytopatology 24:235-264.

8. EBEL,J. AYERS,A.R., ALBERSHEIM,P. (1979). Response of suspension cultured soybean cells to the elicitor isolated from Phytophthora megasperma var. sojae a fungal pathogen of soybeans. Plant Physiology 57:775-779.

9. GRAB,D., LOYAL,R., EBEL,J. (1985). Elicitor - Induced Phytoalexin Synthesis in Soybean cells: changes in the activity of chalcone Synthase m-RNA and The total population of translatable m-RNA: Archives of Biochemistry and Biophisics 243(2) 523-529.

10. GUEDES,M.E.M., MORAIS,M.L., MARTINS,J.M.S. (1982). Production of stress metabolites in coffee leaves infiltrated with Pseudomona siringae. Garcia de Orta. Ser. Est. Agron. 9:243-248.

11. INGRAM,D.S. (1980). Tissue Culture Methods in plant pathology. In:Ingram,D.S., Helgeson S.P. eds. Tissue Culture Methods for plant pathologists. Blackwell Scientific Publications Oxford, p.3-9.

12. MARTINS,E.M.F., ROVERATTI,D.S., MORAES,W.B.C. (1986). Elicitation of stress metabolites in coffee leaves by a non pathogen. Fitopatologia Brasileira 11:683-695.

13. MORAES,W.B.C., ROVERATTI,D.S., BERETTA,M.S.G. (1978). An antifungal substance produced by endocarp of green coffee berries 3rd. International Congress of Plant Pathology München - West Germany.

14. NINNEMAN,H., SUTNER,F. (1981). Volatile substances from tissue cultures of potato, tomato and their somatic fusion products. Zeitschrift für pflanzen Physiologie (Sttutgart) Vol.103:95-107.

15. OSMAN,S., MOREAU,R. (1985). Potato Phytoalexin elicitors in Phytophthora infestans spore germination fluids. Plant Science, 41:205-209.

16. PEÑA,M.de. (1984). Embrio Induction and Plant Regeneration from Coffea canephora and Coffea arabica. In:Simposio sobre Ferrugens de Cafeeiro. Portugal. Comunicacoes p.495-512.

17. SUZUKI,T., WALLER,G.R. (1982). Metabolisme of caffeine in esterile callus tissue culture of Coffea arabica. Proc. 5th. Intl. Cong. Plant Tissue and Cell Culture. Plant Tissue Culture. p.385-386.

18. TEMPLETON,M.D., LAMB,C.J. (1988). Elicitors and defense gene activation. Plant Cell and Environment 11,395-401.

19. THOMAS,E., DAVEY,M.R. (1975). From single cells to plants. Wykeham Publications Ltd. London. p.50-67.

20. URITANI,I., ASAHI,T. (1980). Respiration and Related Metabolic Activity in Wounded and Infected Tissues. In:Stumpf,P.K., Conn,E.E. The biochemistry of Plants. Academic Press Inc., New York, Vol.2:463-486.

21. VELASQUEZ,E., BAUTISTA,E., MORENO,E. (1985). Contribution a l'étude des composés volatils des feuilles de caféiers de différentes variétés. Café Cacao Thé, 29:37-50.

RESUMEN

El establecimiento de cultivos celulares en suspensión ha permitido desarrollar investigaciones para el estudio de los mecanismos de resistencia, cuando éstos son tratados con metabolitos inductores extraídos de hongos. En este trabajo se describen las condiciones de cultivo de algunas variedades de cafeto. Además se presentan resultados sobre la inducción de sustancias antifúngicas en esos cultivos celulares cuando son tratados con inductores provenientes de hongos patógenos y no patógenos para el cafeto.

Los ensayos de actividad antimicrobiana muestran diferencias entre los extractos celulares inducidos y no inducidos y también aportan información sobre la capacidad elicitora del hongo.

Por otra parte, los análisis por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia permiten establecer los perfiles cromatográficos que confirman las diferencias observadas en los ensayos biológicos para los extractos de células inducidas y no inducidas.

Los resultados indican que la inducción incrementa notablemente la acumulación de sustancias preformadas. Además, se logró detectar la aparición de dos nuevas sustancias en el cromatograma correspondiente a las células inducidas.

Debido a que estas sustancias se producen en muy bajas concentraciones, fué difícil establecer la composición química del extracto celular. Sin embargo, mediante el análisis cromatográfico se obtuvo alguna información sobre la composición del extracto por comparación con sustancias patrones.

De las sustancias identificadas se encontró que la inducción produce un notable incremento de cafeína y de ácido clorogénico. El mismo resultado fúe registrado cuando las células fueron sometidas al agotamiento de nutrientes.

Finalmente, los resultados obtenidos también proporcionan una orientación acerca de las posibles rutas metabólicas involucradas en esta expresión de resistencia en las células de café.

SUMMARY

INDUCTION OF ANTI-FUNGAL SUBSTANCES IN COFFEE CELL SUSPENSIONS

The suspension of cell cultures has made it possible to undertake research for studying resistance mechanisms, using fungi extracts of inductor metabolites. This paper describes the culture conditions of some coffee cultivars. Additionally, it includes results concerning the induction of anti-fungal substances in these cell cultures when they are treated with inductors derived from pathogenic and non-pathogenic fungi for coffee.

The anti-microbial activity tests show differences among induced and non-induced cell extracts and also provide information about the fungus eliciting ability.

On the other hand, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) tests allow to determine the chromatographic profiles which confirm the differences observed in the biological tests for induced and non-induced cell extracts.

Results indicate that induction gives rise to an increased accumulation of preformed substances. Additionally, it was possible to identify the presence of two new substances in the chromatogram of the induced cells.

Given that these substances are found in very low concentrations, it was difficult to determine the chemical composition of the cell extract. However, the chromatographic test provided some information pertaining to the extract's composition through a comparison with standard substances.

Based on the identified substances it was determined that induction gives rise to a notable increase in cafeine and chlorogenic acid. The same result was recorded when the cells underwent nutrient privation.

Finally, the results obtained also shed some light concerning the possible metabolic pathways involved in this resistance expression of coffe cells.

Résumé

Induction de substances antifongiques dans des cellules de caféier en suspension.

La mise au point de cultures de cellules en suspension a permis de mener des recherches sur l'étude des mécanismes de résistance lorsque des métabolites inducteurs extraits de champignons sont utilisés. Les conditions de culture de certaines variétés de caféier sont décrites dans ce travail. Par ailleurs, des résultats sur l'induction de substances antifongiques dans ces cultures de cellules, lorsqu'elles sont traitées avec des inducteurs provenant de champignons pathogènes ou non pathogènes pour le caféier, sont présentés.

Les essais d'activité antimicrobienne révèlent des différences entre les extraits cellulaires induits et ceux non induits et livrent également des informations sur la capacité élicite du champignon.

Par ailleurs, les analyses par chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) permettent d'établir les profils chromatographiques qui confirment les différences observées dans les essais biologiques pour les extraits de cellules induites et non induites.

Les résultats indiquent que l'induction augmente notablement l'accumulation de substances préformées. De plus, il a été possible de détecter l'apparition de deux nouvelles substances dans le chromatogramme correspondant aux cellules induites.

Etant donné que ces substances sont produites à de très faibles concentrations, il a été difficile d'établir la composition chimique de l'extrait cellulaire. Cependant, l'analyse chromatographique a donné quelques informations sur la composition de l'extrait par comparaison à des substances témoins.

D'après les substances identifiées, il a été trouvé que l'induction produit une augmentation notable de caféine et d'acide chlorogénique. Le même résultat a été noté lorsque les cellules ont été soumises à un manque en éléments nutritifs.

Finalement, les résultats obtenus laissent espérer une meilleure compréhension des voies métaboliques nécessaires à l'expression de la résistance dans les cellules de caféiers.

PERSPECTIVAS EN EL CONTROL BIOTECNOLÓGICO DE LA BROCA DEL CAFÉ (*HYPOTHENEMUS HAMPEI* FERR.)

C. KLEIN KOCH
Dr. agr. Ing. agr., Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit GTZ
Casilla 11368 C.C.N.O., Quito, Ecuador

INTRODUCCION

La broca del café (**Hypothenemus hampei** Ferrari) se encuentra en un acelerado proceso de expansión por las regiones cafetaleras más importantes de América Latina y Oceanía donde se ha transformado en una plaga de creciente importancia económica, especialmente en las zonas productoras de **Coffea canephora.** El control natural de la broca está constituido por diferentes especies de himenópteros, hemípteros, nemátodos y hongos, pero solamente algunas de ellas se han utilizado en medidas de control biológico.
Con la introducción reciente a Ecuador, México e Indonesia de dos especies de parasitoides de la familia Bethylidae, originarias de diferentes países de Africa, y los intentos por utilizar microorganismos entomopatógenos en formulaciones comerciales, se han revitalizado los intentos para el control biotecnológico de esta plaga después de las experiencias realizadas en Brasil hace más de medio siglo.
El comportamiento gregario observado en algunas regiones infestadas por la plaga permite abrigar esperanzas de encontrar y eventualmente sintetizar una feromona de agregación que permita un mejor monitoreo y un adecuado control de poblaciones.
El objetivo del presente trabajo es presentar una información reciente sobre los diferentes enemigos naturales de la broca del café y las perspectivas de una manipulación de los mismos, con énfasis en el uso de entomófagos, además de las posibilidades biotecnológicas de combate.

ENEMIGOS NATURALES DE LA BROCA DEL CAFE

El número de enemigos naturales de la broca se ha ampliado notablemente con el descubrimiento reciente de nuevos entomófagos en Togo y Kenia (un nuevo parásito de la fanmilia Tetrastichinae), en Brasil (un betílido del género **Cephalonomia)** y microorganismos entomopatógenos (hongos y nemátodos) descubietos recientemente por el CAB-International (WATERHOUSE, 1989). En el Cuadro N° 1 se resumen los casos de mayor interés.

CUADRO No.1 ENEMIGOS NATURALES DE LA BROCA DEL CAFE (H. hampei)

Tipo y especie	País	Observaciones y referencias
HIMENOPTEROS Bethylidae (ectoparásitos y predatores)		
Cephalonomia stephanoderis	Costa de Marfil Togo	Introducida en México y Ecuador en 1988. En Indonesia en 1989.
Cephalonomia sp.	Brasil	En Espíritu Santo en "conilón" (BENASSI, 1989)
Prorops nasuta	Brasil Camerún Costa de Marfil Kenia Tanzania Togo, Uganda	Introducida en México y Ecuador en 1988. Adaptada en Brasil desde 1933. Perú 1962 (sin éxito). Reintrod. en Indonesia en 1989
Braconidae **Heterospilus coffeicola**	Uganda Tanzania Congo	Parasita larvas mediante largo ovipositor
Testrastichinae (N.N.)	Togo Kenia	Nuevo género y especie Parasita adultos
Scleroderma cadavericus	Uganda	Causa dermatitis en el hombre
Formicidae (predator) **Crematogaster curvispinosus**	Brasil	PINTO DA FONSECA y ARAUJO,1939
HEMIPTEROS Pyrrhocoridae (predator) **Dindymus rubiginosus**	Java	No es específico
NEMATODOS **Heterorhabditis** sp.	?	CAB-International, (WATERHOUSE,1989)
HONGOS **Beauveria basssiana**	Java, Brasil, Perú, Ecuador, Camerún	Cosmopolita, diversas razas
Metarhizium anisopliae		WATERHOUSE 1989
Nomuraea rileyi		WATERHOUSE 1989
Paecilomyces (=Spicaria) javanicus **P. tenuipes**	Java	Indonesia, Asia, Africa

EL CONTROL DE LA BROCA EN ASIA Y AFRICA

Indonesia
La introducción de **P. nasuta** a Java desde Uganda, en 1923, es el primer intento de control biológico de la broca que se conoce. Se encontró que este betílido era de fácil propagación y fue distribuido abundantemente. En 1928 y 1932 aún se continuaba su multiplicación y distribución (WATERHOUSE, 1989). RAO **et al.** (1971), citando a otros autores, señalan que también se introdujo **H. coffeicola** en aquella misma época, aunque ninguna logró éxito en controlar a la plaga. Aparentemente la primera especie logró adaptarse temporalmente. Es discutible la veracidad histórica de la introducción de **H. coffeicola.**
En forma reciente el CABI ha reintroducido nuevamente P. **nasuta** y por primera vez **C. stephanoderis** (CAB-INTERNATIONAL, 1989).

Sri Lanka
Un cierto número de **P. nasuta** y de **H. coffeicola** originarios de Uganda se liberaron en 1938, pero ninguna de las dos especies logró establecerse (RAO y colaboradores, 1971).

Uganda
Se estima que tanto **P. nasuta** como **H. coffeicola** son parasitoides nativos de Uganda. En 1932 el entomólogo Hargreaves consideró que los parásitos estaban presentes sólo en algunas regiones del país, cerca del Lago Victoria, de modo que introdujo estos parásitos -con gran éxito según él- en las áreas no colonizadas, en la zona de Bwamba county en el occidente del país.

Kenia
P. nasuta fue enviado en 1930 desde Uganda a Kenia, aunque algunos autores señalan que tanto esta especie como **H. coffeicola** son probablemente también nativas en este país y de dudoso valor en el control natural de la broca.

Congo
En 1934 y 1936 diversos autores sugieren que la multiplicación y liberación de **P. nasuta** y **H. coffeicola** -ambas especies presentes en el país- incrementaría el control de la broca. Lo mismo se señala para los hongos entomopatógenos.

EL CONTROL BIOLOGICO DE LA BROCA EN AMERICA LATINA

Siendo la broca del café una plaga originaria de zonas bajas húmedo-tropicales de Uganda, los mayores esfuerzos para coleccionar los parásitos de la plaga se han realizado justamente en este país y en regiones similares de Tanzania. Mientras en Uganda se encuentran asociados a la broca el betílido **P. nasuta** Waterstone, en Africa occidental (Costa de Marfil, Togo) aparece el betílido **C. stephanoderis** Betrem como la especie de mayor interés.

En 1929, cinco años después del descubrimiento de la broca en Brasil, el Instituto Biológico de São Paulo envió a Uganda al entomólogo Adolph Hempel, quien logró traer algunos ejemplares vivos del parásito **P. nasuta** Waterston a su país. Este betílido fue bautizado como "avispita de Uganda" y fue criado y multiplicado en laboratorios para ser liberado masivamente en las áreas cafetaleras infestadas con la broca (BERGAMIN,1943). Solamente en 1933, después de una larga fase de adaptación, se logró recuperar al parasitoide en las fincas donde con anterioridad se habían realizado las liberaciones de campo.
A pesar de la información aparecida en algunas publicaciones especializadas, el bracónido **H. coffeicola** nunca fue introducido al Brasil por las dificultades encontradas en la multiplicaciión artificial en

laboratorio. Esfuerzos recientes del CAB-International han tropezado con el mismo problema.
Las dificultades de la crianza artificial de la broca y el muy desigual nivel de parasitismo alcanzado con la "avispita de Uganda" en importantes zonas cafetaleras, aparte del descubrimiento y uso masivo de los pesticidas organoclorados (DDT, Dieldrín) determinaron, al parecer, el abandono parcial de la lucha biológica en Brasil al terminar la segunga guerra mundial.

En el Perú se introdujo **P.nasuta** en 1962 con la asesoría de técnicos brasileños, pocos meses después de haber comprobado la presencia de la broca en la región de Satipo. Aparentemente, la avispita no logró aclimatarse, aunque el número de liberaciones realizadas parece haber sido muy escaso (INGUNZA,1964).

México y Ecuador a partir de 1988 están desarrollando actividades relativas a la introducción y cría de entomófagos de la broca (BAKER,1988; BARRERA y colaboradores,1989; KLEIN, 1988; KRAKER,1989; WATERHOUSE,1989). En Ecuador en poco más de un año de cooperación con el C.A.B.International (Institute of Biological Control) se recibieron 8 envíos de parásitos de broca, originarios tanto de Africa oriental como occidental, para su multiplicación en el país. El total de entomófagos recibidos fue de 60 adultos y 210 cocones de **Prorops** y 57 adultos de **Cephalonomia** que se distribuyeron a tres laboratorios de crianza multiplicándolos exitosamente.

En los últimos años Brasil ha demostrado nuevamente interés en proyectos de este tipo orientados al combate de la plaga especialmente en **C. canephora**. Las actividades han consistido en un "traslado" de cerezas brocadas parasitadas por la "avispita de Uganda" desde el sur del país al Estado de Mato Groso. Recientemente, en Espíritu Santo (productor de "robusta"), se han iniciado trabajos de investigación para el control biológico de la broca utilizando al betílido mencionado (BENASSI, com. pers.).
Las características bioecológicas de los dos betílidos han sido tratadas en detalle por diversos autores (BARRERA **et al** 1989, KLEIN 1988, KOCH 1973, TICHELER 1961, PATIÑO 1989,)

PERSPECTIVAS DEL CONTROL BIOLOGICO A BASE DE ENTOMOFAGOS

Observaciones de campo en Africa occidental (Togo) indican la posibilidad de una complementación de la actividad parasitaria de **P.nasuta** con **C. stephanoderis**. Sin embargo, en vista de la similitud del comportamiento de ambos betílidos, es probable que una especie termine por dominar a la otra en caso de encontrarse en el mismo sitio.
El más entusiasta defensor de **la** importancia de P. **nasuta** y **H. coffeicola** ha sido HARGREAVES (1935) refiriéndose a Uganda. Otros como Ingram (citado por LE PELLEY 1968) destaca que los parásitos parecen tener poca influencia en el número de cerezas de café perforadas, independientemente si la población de brocas dentro de la cereza en cuestión disminuye o no. Otras opiniones críticas respecto al valor de los parátitos en Africa han sido realizadas en Kenia, Congo y Costa de Marfil (WATERHOUSE, 1989).
De acuerdo con estudios recientes de dinámica poblacional realizados por el CIBC en Kenia, los máximos de población de la plaga coinciden con las dos épocas de mayor oferta de cerezas maduras. Sin embargo, el pico de población de **P. nasuta** ocurre **después** de efectuada la cosecha principal, alcanzando hasta un 18% de parasitismo en los remanentes de cosecha. El nivel de parasitismo a lo largo del año es fluctuante, no observándose parásitos incluso durante algunos meses, pero en general es bajo (2-5%) y marcadamente activo sólo en la temporada seca (Murphy, inf.pers.)
El descubrimiento en la República de Cabo Verde de algunos ejemplares del betílido P. nasuta indica que éste debe tener otros huéspedes pues en este

archipiélago no se ha detectado a la broca del café. Las experiencias brasileñas en cuanto a la eficacia del parasitoide son erráticas y poco concluyentes. LE PELLEY (1968) asevera que después de 35 años de introducida "la vespa de Uganda" en Brasil los caficultores deben hacer hoy los mismos esfuerzos de control de la plaga que antes.
Las primeras observaciones tanto de laboratorio como de campo realizadas en Ecuador indican que la tasa de reproducción, capacidad de búsqueda y resistencia al manipuleo de **P. nasuta** es notoriamente inferior al de **C. stephanoderis**. Experiencias preliminares realizadas por PATIÑO (1989) en **C. canephora** y con **Prorops** originario de Togo indican una mayor eficacia de esta raza sobre la de Kenia, aún cuando el número de insectos utilizados fue muy pequeño como para sacar conclusiones definitivas.
De acuerdo con los primeros resultados logrados en Ecuador **P. nasuta** ha resultado de menor valor práctico que **C. stephanoderis** por su lenta multiplicación en laboratorio y mucho menor recuperación (parasitismo) en el campo.
De acuerdo con lo anterior se concluye que los resultados logrados con **P. nasuta** en diferentes partes del mundo son poco significativos. Sin embargo, debiera darse mayor énfasis a la introducción de ecotipos de esta especie provenientes de otros países de Africa, particularmente del occidente del continente, donde este betílido se encuentra asociado a la broca en **C. canephora.**
Mayor interés existe en la especie **C. stephanoderis.** TICHELER (1961) señala que "en cafetos no cosechados el porcentaje de cerezas atacadas con **Cephalonomia** puede llegar a un 27% en cerezas rojas y a un 50% en frutos negros". Este mismo autor agrega que "en plantaciones mal cultivadas la influencia del parásito debe ser importante". Al igual que **P. nasuta,** es importante destacar que **C. stephanoderis es también** parásito y predator. En esta última condición la hembra adulta se alimenta de la hemolinfa de brocas adultas rompiendo con sus mandíbulas la membrana intersegmental de los tergitos proto- y mesatoráxicos. Al parecer se desarrola mejor en cafetales sin sombra, pero en Costa de Marfil se la ha encontrado en cerezas negras bajo abundante sombra.
La información más completa sobre la bionomía y el comportamiento de este entomófago ha sido descrita por KOCH (1973).
En la región costera del Ecuador se han liberado durante 1989 alrededor de 350000 **C. stephanoderis** en seis localidades distintas. La recuperación de terreno ha sido muy variable, fluctuando entre un 40 y un 80% el número de cerezas de café brocadas con presencia del parásito en su interior. En la región suroriental del país, sin embargo, el nivel de parasitismo ha variado entre un 16 y un 36% de cerezas conteniendo diferentes estados del parasitoide (Cisneros, com.pers.). En esta región se ha liberado un total de 21500 adultos de **Prorops** y 21200 de **Cephalonomia** hasta fines de octubre de 1989.

OTROS ENTOMOFAGOS DE INTERES POTENCIAL

El bracónido **Heterospilus coffeicola**

A diferencia de los dos betílidos anteriores, los adultos de ambos sexos del bracónido son de **"vida libre"**, es decir, no se encuentran en el interior de las cerezas brocadas. La hembra adulta oviposita un único huevo en el canal de perforación horadado por la broca apenas esta última inicia el ataque. La larva del parasitoide se alimenta de alrededor de 15 huevos y larvas de la broca en los 18-20 días que dura este estadío. Una vez alcanzado su mayor desarrollo larvario, pupa en en el interior de la cereza formando un cocón blanco sedoso. El desarrollo completo de huevo a adulto ocurre en aproximadamente 40 días.
Se estima que en Uganda **la acción de H. coffeicola es complementaria a la de P. nasuta, coexistiendo ambas especies sin interferirse mutuamente.** Aparte de las diferencias señaladas anteriormente, el bracónido necesita una oferta constante de cerezas recién infestadas para poder desarrollarse

y **no ataca cerezas brocadas en el suelo.** Por esta razón se ha encontrado a **H. coffeicola** solamente en cerezas de café "robusta" que produce a lo largo de todo el año.
H. coffeicola se encuentra bien distribuido en el borde occidental del Lago Victoria (Tanzania y Uganda) coexistiendo allí con **P. nasuta.** Se encontró en 8 de 15 sitios estudiados en las cercanías de Bukoba, en Tanzania (MURPHY, 1987)
Un eventual manipuleo de este interesante parasitoide con fines de control biológico depende de una exitosa crianza en laboratorio o de una adecuada solución del problema cuarentenario.

Tetrastichinae (Hymenoptera)
El descubrimiento de un nuevo parásito de la broca en Togo merece especial atención e interés. Se trataría de un parásito de adultos que ataca a la broca en el momento en que se encuentra en el canal de penetración. Se están desarrollando iniciativas tendientes a la obtención de este nuevo parasitoide.

PERSPECTIVAS DE OTROS METODOS BIOTECNICOS

Micopesticidas
A futuro se contempla la posible elaboración local de "micopesticidas" a base de razas de **B. bassiana** más efectivas. Este entomopatógeno es en la actualidad el enemigo natural más importante de la broca en las más diversas regiones cafetaleras del Ecuador. Observaciones preliminares permiten establecer una cierta complemantación de **B. bassiana** con los entomófagos ya señalados, que actúa mejor en la época seca del año.
Los problemas mayores de esta metodología han sido señalados anteriormente en el sentido que un preparado a base de hongos de este tipo necesariamente habría que aplicarlo regularmente y con bastante frecuencia utilizando equipos de aspersión.

Feromonas de agregación y substancias atrayentes
Tomando en cuenta el éxito obtenido en el uso de feromonas y atrayentes en el monitoreo e incluso combate de especies de escolítidos plagas en especies forestales, es posible pensar
que la búsqueda de substancias similares para el manejo del comportamiento de la broca pueda lograr resultados semejantes. Ya que las feromonas sexuales se descartan por completo debido apareo de brocas hembras y machos en el interior de la cereza infestada, la investigación deberá estar orientada a substancias atrayentes del fruto mismo de café o a probables feromonas de agregación de las hembras ya fertilizadas cuando inician el ataque a nuevos frutos. En la República Federal de Alemania se han iniciado estudios preliminares sobre este tema.

LITERATURA

BAKER, P. (1989) A sampling plan for a control project against the coffee berry borer **(Hypothenemus hampei)** in Mexico. Tropical Pest Management **35**(2) 169-172

BAKER P.S., J.F. BARRERA & J.E. VALENZUELA (1988) The distribution of the coffee berry borer (Hypothenemus hampei) in southern Mexico:a survey for a biocontrol project. Tropical Pest Management,**35 (2)** 163-168

BARRERA F.J.,J.GOMEZ, F.INFANTE, A.CASTILLO & W. DE LA ROSA Biologia **de Cephalonomia stephanoderis** Betrem Hymenoptera : Bethylidae en laboratoire. I.Cycle biologique, capacité
d'oviposition et émergence du fruit du caéier. Café Cacao Thé (Paris) XXXIII, 2, 101-108.

BENASSI, V.L. (1989) Constataçâo de **Cephalonomia sp.** (Hymenoptera,Bethylidae), patasióide da broca do café, **Hypothenemus hampei** (Ferrari, 1987)(Coleoptera,Scolytidae) no Espíritu Santo. Resumos XII congreso Brasileiro de Entomología
Minascentro, Belo horizonte, Vol. I, pág. 194

CAB-INTERNATIONAL INSTITUTE OF BIOLOGICAL CONTROL (1989) News from CIBC, N°11 (september) p.7

CHAMBA, K. & M. ARMIJOS (1989) Estudio de la dinámica poblacional de broca del café (**Hypothenemus hampei** Ferr. 1867) en la zona de Yantzatza, Provincia de Zamora Chinchipe. Tesis de Grado, Univ. Nac. de Loja,(Ecuador) 115 p.

FERREIRA,A.J. (1980) Observaçoes sobre ocorrencia de vespa de Uganda **Prorops nasuta** Waterst. em lavouras da zona da mata infestadas pela broca do café **Hypothenemus hampei** (Ferrari 1867).
Resumos do 8° Congreso Brasileiro de Pesquisa Cafeeira, Campos do Jordâo SP.,IBC, GERCA, 194-196.

FERREIRA,A.J & I.BATISTELA SOBRINHO (1987) A introduçâo da vespa de Uganda -Prorops nasuta Waterst., parasita da broca do café **Hypothenemus hampei** (Ferrari, 1867), em regioes cafeeiras do estado de Mato Grosso. 14° Congreso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Ministério da Indústria e do comercio/IBC. Campinas SP, 1-4 Dez.1987, 259-260.

HARGREAVES,H. (1935) **Stephanoderes hampei** (Ferr.) Coffee berry borer in Uganda. E. Afr. Agr.J.,1.N°3, 218-224.

INGUNZA,A.(1964). La "broca del café" **Hypothenemus hampei** (Ferrari, 1867) (Col.: Ipinae) en el Perú. Rev.per. de Entomología 9(1), 82-93.

KLEIN,C. MOLINARI, P. TANDAZO,A. (1987). Distribución y niveles de infestación de la broca del café (**Hypothenemus hampei** Ferr.) en Ecuador. Sanidad Vegetal (Ecuador) **2**, 2, 4-12

KLEIN-KOCH,C. O. ESPINOZA, A.TANDAZO,P.CISNEROS & D.DELGADO (1988) Factores naturales de regulación y control biológico de la broca del café (**Hypothenemus hampei** F.) Sanidad Vegetal (Ecuador), **3** ,3, 5-30

KOCH,V.J.M. (1973). Abondance de **Hypothenemus hampei** Ferr., Scolyte des graines de café, en fonction de sa plante-hote et de son parasite **Cephalonomia stephanoderis** Betrem, en Cote d' Ivoire. Meded. Landb. Wageningen 73-16, p.84.

KRAKER, J. (1989) The coffee berry borer **Hypothenemus hampei** (Ferr.). Factors affecting emergence and early infestation. Report of field experiments. CIES, Tapachula, Mexico, p.51

LE PELLEY, R.H. (1968) Pests of coffee. Longmans, London, 114-138

PATIÑO, M. (1989) Estudio de la broca del café **Hypothenemus hampei** Ferr. y sus parásitos **Prorops nasuta** y **Cephalonomia stephanoderis** B. en Santo Domingo de los Colorados. Tesis de Grado, Univ. Tecnológica Equinoccial (Ecuador) p.63

PINTO DA FONSECA,J. & R.L.ARAUJO (1939) Insetos inimigos do **Hypothenemus hampei** (Ferr.)("Broca do café"). Boletim Biológico
(N.S.) **IV**, N°3, 486-504

PRIOR,C.(1987) Proposal to develop mycopesticides for integration into coffee pest management programmes. CAB International Institute of Biological Control. 7p.

RAO V.P., M.A.GHANI, T.SANKARAN & K.C.MATHUR (1971) A review of the biological control of insects and other pests in south-east Asia and the pacific region. Techn. Communication N°6, Commonwealth Agricultural Bureaux (CIBC, Trinidad), 149p.

TICHELER, J. (1961) Etude analytique de l'épidemiologie du scolyte des graines de café, **Stephanoders hampei** Ferr., en Cote d'Ivoire Meded.Landb. Hogesch. Wageningen, **61**:(11), 1-49.

TORRES J. & O. YUMBLA (1986) Bioecología y control de la broca del café **(Hypothenemus hampei**, Ferr.1987). Tesis de grado, Universidad Nacional de Loja (Ecuador) p.113

VIDAL, S. (1988) Estudio del ciclo biológico del parásito **Prorops nasuta** Waterstone de la broca del café **Hypothenemus hampei** Ferr. en condiciones de laboratorio y de campo. Tesis de Grado, Univ. Nacional de Loja (Ecuador), p.48

WATERHOUSE, D. (1989) Biological Control: Pacific Prospects-Supplement 1, 57-75

RESUMEN

El control biológico clásico de la broca del café ha cobrado recientemente nuevos impulsos con la introducción a Ecuador, México e Indonesia de dos betílidos **(Prorops nasuta y Cephalonomia stephanoderis)** desde diferentes países de Africa. Observaciones preliminares realizadas en Ecuador permiten señalar que ambas especies se han adaptado en algunas regiones del país, aunque la última ha concitado mayor interés práctico por el notable grado de parasitismo logrado tanto en laboratorio como en condiciones de campo. Otros entomófagos (tales como el bracónido **Heterospilus coffeicola** y una nueva especie de Tetrastichinae) requieren de mayores estudios bioecológicos y la solución de los respectivos problemas cuarentenarios. Por su diferente comportamiento ambas especies podrían complementar la eficiencia parasitaria de los betílidos señalados. El uso de un micopesticida a base del hongo entomopatógeno **Beauveria bassiana** es una alternativa de real interés. Los estudios sobre atrayentes (feromona de agregación) y valor práctico de otros enemigos naturales (nemátodos) son aún muy incipientes.

ZUSAMMENFASSUNG

Durch die Einführung zweier Bethylidae (**Prorops nasuta** und **Cephalonomia stephanoderis**) aus verschiedenen Ländern Afrikas nach Ecuador und México hat die biologische Bekämpfung des Kaffeekirschenkäfers neuerdings einen neuen Impuls bekommen. Vorläufige Beobachtungen in Ecuador zeigen, daβ beide Arten sich in einigen Regionen des Landes angepasst haben, wobei die zweite Art mehr praktisches Interesse erreicht hat - durch den hohen Parasitierungsgrad im Labor sowie unter Feldbedingungen. Für andere Entomophagen (wie zum Beispiel der Braconidae **Heterospilus coffeicola** und eine neue Art von Tetrastichinae) werden weitere bioökologische Studien und die Lösung der entsprechenden Quarantäneprobleme benötigt. Beide Arten könnten wegen ihrer verschiedenen Verhaltensweisen die Parasitierungseffizienz der Bethylidae ergänzen. Die Verwendung eines Micopestizides, auf der Basis des entopathogenen Pilzes **Beauveria bassiana** stellt eine interessante Alternative dar. Studien über Lockstoffe (Agregationspheromone) und den praktischen Nutzen von anderen natürlichen Feinden (Nematoden) stehen zur Zeit noch nicht zur Verfügung.

Résumé

Perspectives dans la lutte biotechnologique contre le scolyte des grains du caféier (Hypothenemus hampei).

La lutte biologique classique contre le scolyte des grains du caféier a été récemment touchée par de nouvelles impulsions avec l'introduction en Equateur, au Mexique et en Indonésie de deux Béthylidés (Prorops nasuta et Cephalonomia stephanoderis) provenant de différents pays d'Afrique. Des observations préliminaires réalisées en Equateur permettent de signaler que les deux espèces se sont adaptées dans quelques régions du pays, bien que le deuxième genre ait montré un meilleur intérêt pratique en raison du degré important de parasitisme atteint tant en laboratoire qu'en champ. D'autres entomophages (tels que le Braconidé Heterospilus coffeicola et une nouvelle espèce de Tetrastichinae) demandent des études bioécologiques plus poussées et la solution des problèmes respectifs de quarantaine. Par leur comportement différent, les deux espèces pourraient compléter l'efficacité parasitaire des Béthylidés signalés. L'emploi d'un mycopesticide a base du champignon Beauveria bassiana est une alternative d'un intérêt réel. Les études sur les attractifs (phéromones d'agrégation) et la valeur pratique d'autres ennemis naturels (nématodes) sont aussi très prometteuses.

MÉTHODOLOGIE POUR L'ÉTUDE DE L'ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA ROUILLE ORANGÉE DU CAFÉIER

J. AVELINO
Phytopathologiste de l'IRCC
(Institut de Recherche du Café, du Cacao et autres plantes stimulantes, France)
détaché à l'INIFAP
(Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Mexique)
actuellement à l'IICA
(Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Guatemala)

INTRODUCTION:

La présente communication a pour but de faire connaître la méthodologie pour l'étude de l'épidémiologie de la rouille orangée du caféier, utilisée au Mexique. Cette méthodologie a comme objectifs particuliers d'évaluer les niveaux réels d'infection, d'apprécier les dégâts dus à la maladie et d'obtenir des informations sur l'inoculum primaire responsable des premières infections de rouille.

METHODOLOGIE:

Marquage des caféiers:

Le premier pas est le marquage des caféiers. Après avoir tracé le plan de la parcelle et déterminé sur le papier les 15 arbres par hectare qui seront étudiés (nombre suggéré par A.C. Khushalappa, (2)), on procède à leur marquage au champ. Pour chaque plante, 4 branches orientées N,S,E,W sont marquées en début de saison des pluies au hasard dans la totalité de l'arbre, comme le recommande Muller (4,5), de façon à avoir une image complète de l'épidémie et se faire une bonne idée des niveaux réels d'infection.

Distinction des branches et des feuilles suivant leur âge physiologique:

Afin que l'étude épidémiologique donne une idée des dégâts possibles dus à la maladie, il est important de mener les études en fonction de l'activité physiologique des branches et des feuilles considérées. En effet, des études récentes conduites par l'IRCC (1) à Cadarache (France) tendent à montrer que les branches et les feuilles les plus jeunes sont beaucoup plus actives physiologiquement que les autres. Par conséquent, une infection à ce niveau serait d'une plus grande gravité.

Nous avons considéré 2 catégories de feuilles, les feuilles âgées (feuilles de la saison antérieure) et les feuilles jeunes (feuilles de l'année) comme le suggère Muller (4,5). Dans un premier temps, nous avions défini les feuilles âgées comme celles qui sont portées par les noeuds fructifères. Cependant, comme la fructification est soumise à des aléas importants, nous avons préféré les définir en fonction d'un entre-noeud très court qui apparaît à chaque saison sèche et qui marque la limite entre les différentes générations de feuilles . Les feuilles âgées sont donc les feuilles comprises entre les 2 derniers entre-noeuds très courts présents sur la branche. Les feuilles jeunes sont celles qui sont comprises entre le dernier entre-noeud très court et l'extrémité du rameau, jusqu'à ce qu'apparaisse le nouvel entre-noeud très court de l'année suivante.

Cette détermination permet de plus de localiser l'inoculum primaire, c'est à dire l'inoculum résiduel d'une année sur la suivante, et d'en suivre son évolution.

Le nombre d'entre-noeuds très courts, les restes de fructifications antérieures et la zone de la branche en production permettent enfin de définir avec précision l'âge des rameaux. Trois catégories ont ainsi été déterminées: les branches de l'année normalement sans production; les branches qui ont ou devraient avoir leur première production et les branches qui ont eu ou auraient dû avoir au moins 2 productions.

Les observations:

Les observations mensuelles permettent de suivre le devenir individuel de toutes les feuilles échantillonnées, comme le préconise Kushalappa (2), quant à leur surface foliaire totale, infectée de rouille ou d'autres dégâts, d'après l'échelle d'évaluation de Kushalappa et Chaves (3).

L'information stockée sur fichier informatique par catégorie de feuilles, de branches et orientation des rameaux est la suivante:

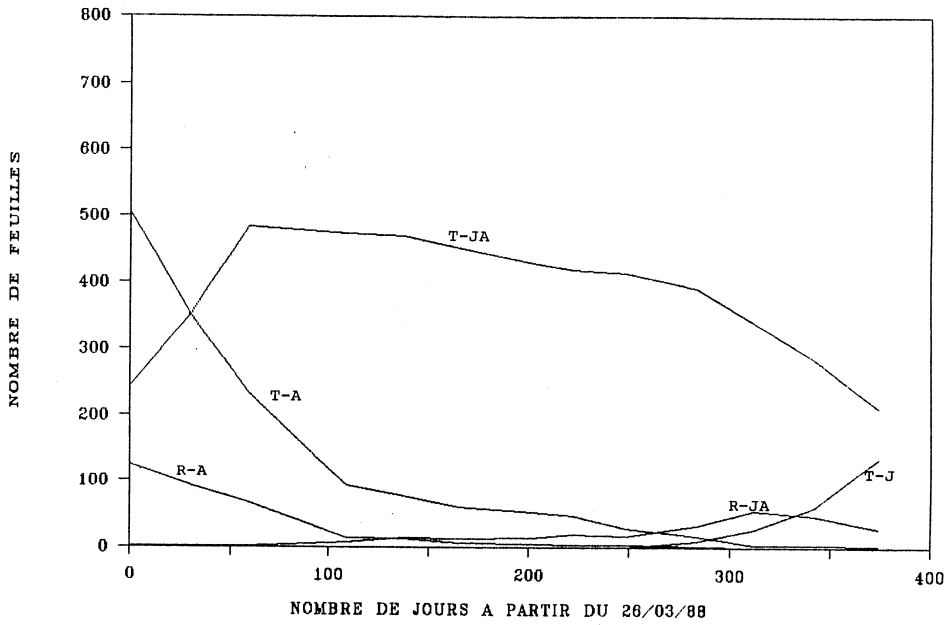
- pour chaque observation: le nombre total de feuilles, la surface foliaire totale, le nombre de feuilles avec rouille ou d'autres dégâts, l'aire foliaire contaminée, le nombre de feuilles avec rouille et d'autres dégâts.
- entre 2 observations: le nombre de feuilles tombées saines ou malades, la réduction de l'aire foliaire saine ou malade due à la chute foliaire, la croissance foliaire en nombre de feuilles nouvelles et aire foliaire nouvelle, le nombre de feuilles avec de nouvelles infections de rouille ou d'autres dégâts et l'aire foliaire nouvellement contaminée par la rouille ou d'autres dégâts.

JUSTIFICATION DE LA METHODOLOGIE:

Les données suivantes, relevées de mars 1988 à avril 1989, ont trait à l'étude de la rouille orangée du caféier dans 3 plantations du sud-est du Mexique, sur la côte de l'état du Chiapas, près de la ville de Tapachula: la plantation de San Antonio Chicharras à 1100 mètres d'altitude, plantée de Garnica, les plantations de El Retiro et de San Luis Nexapa, respectivement à 730 et 460 mètres d'altitude, plantées de Catuai.

Confirmation de l'importance d'étudier séparémment les feuilles âgées et les feuilles jeunes:

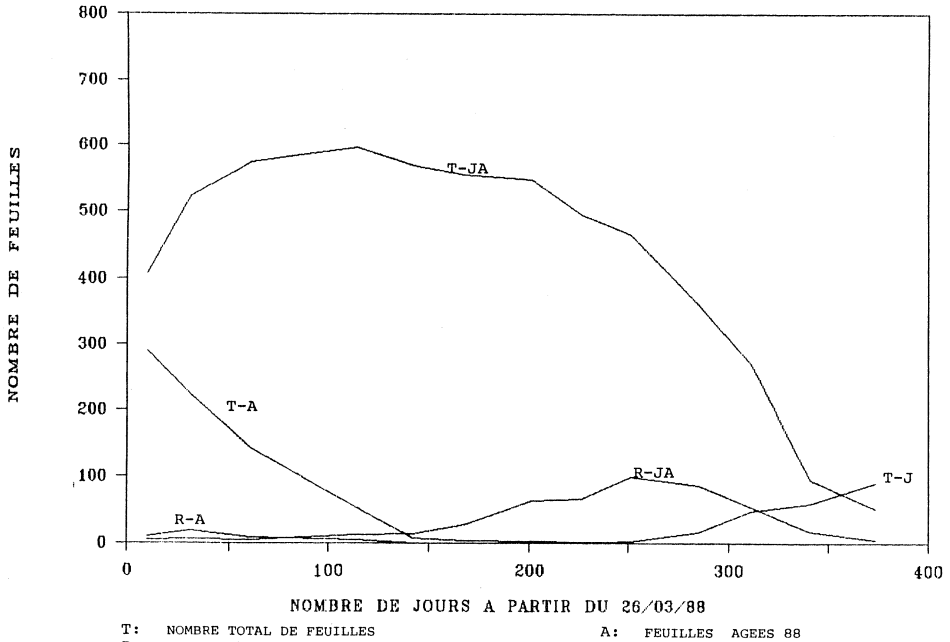
Les graphiques 1 et 2, donnent l'évolution des masses foliaires



T: NOMBRE TOTAL DE FEUILLES
R: NOMBRE DE FEUILLES AVEC ROUILLE

A: FEUILLES AGEES 88
JA: FEUILLES JEUNES 88 - AGEES 89
J: FEUILLES JEUNES 89

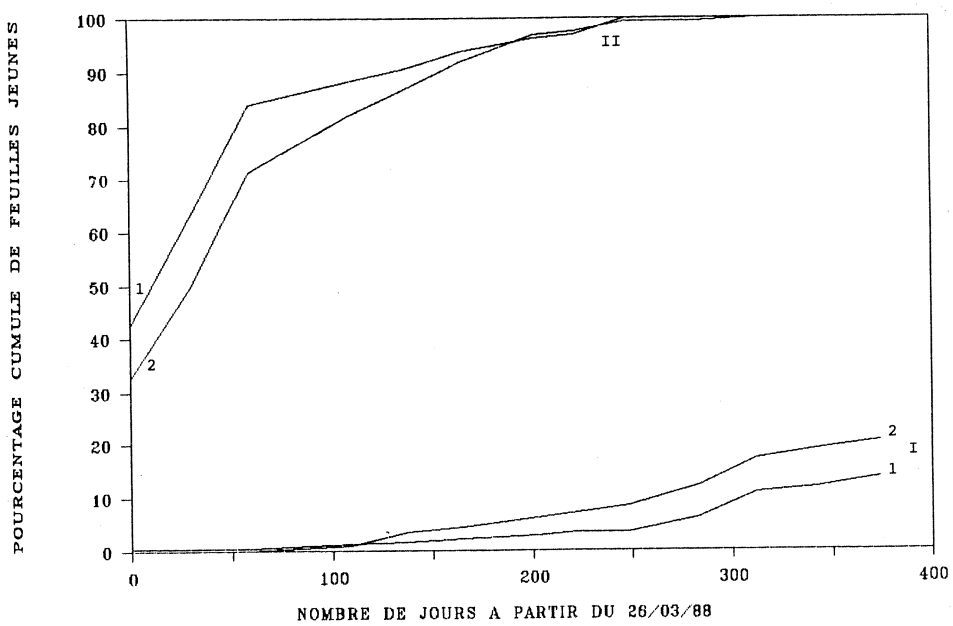
GRAPHIQUE 1: EVOLUTION DE LA MASSE FOLIAIRE TOTALE ET DE LA MASSE FOLIAIRE AVEC ROUILLE. SAN ANTONIO-CHICHARRAS (1100 m) CHIAPAS-MEXIQUE, INIFAP-IRCC



T: NOMBRE TOTAL DE FEUILLES
R: NOMBRE DE FEUILLES AVEC ROUILLE

A: FEUILLES AGEES 88
JA: FEUILLES JEUNES 88 - AGEES 89
J: FEUILLES JEUNES 89

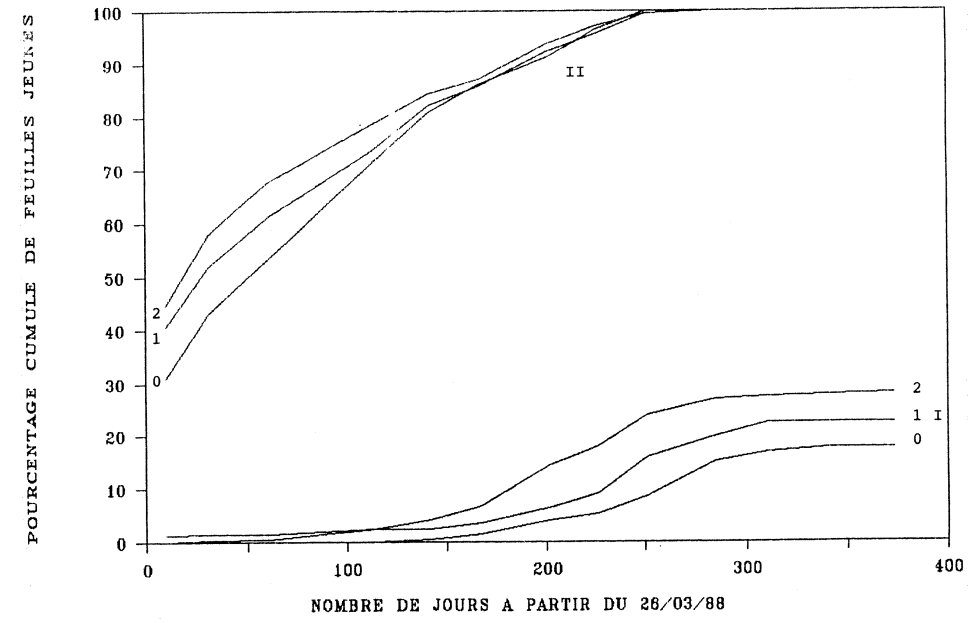
GRAPHIQUE 2: EVOLUTION DE LA MASSE FOLIAIRE TOTALE ET DE LA MASSE FOLIAIRE AVEC ROUILLE.
EL RETIRO (730 m) CHIAPAS-MEXIQUE. INIFAP-IRCC



1 BRANCHES QUI ONT LEUR PREMIERE PRODUCTION

2 BRANCHES QUI ONT EU 2 PRODUCTIONS MINIMUM

GRAPHIQUE 3: COURBES DE CROISSANCE DE LA ROUILLE (I) ET DU CAFEIER (II) POUR LES FEUILLES JEUNES.
SAN ANTONIO-CHICHARRAS (1100 m) CHIAPAS-MEXIQUE
INIFAP-IRRC

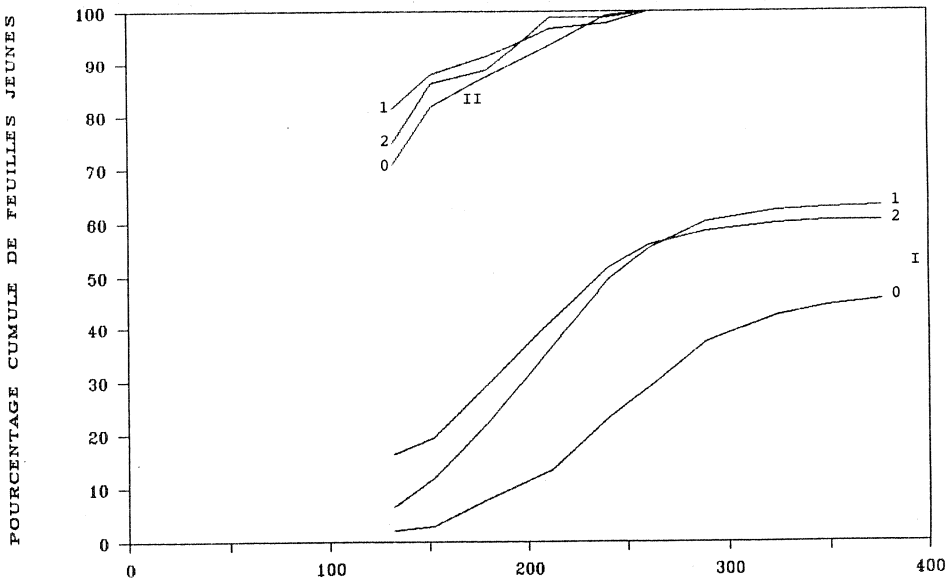


0 BRANCHES DE L'ANNEE

1 BRANCHES QUI ONT LEUR PREMIERE PRODUCTION

2 BRANCHES QUI ONT EU 2 PRODUCTIONS MINIMUM

GRAPHIQUE 4: COURBES DE CROISSANCE DE LA ROUILLE (I) ET DU CAFEIER (II) POUR LES FEUILLES JEUNES.
EL RETIRO (730 m) CHIAPAS-MEXIQUE
INIFAP-IRCC



0 BRANCHES DE L'ANNEE
1 BRANCHES QUI ONT LEUR PREMIERE PRODUCTION
2 BRANCHES QUI ONT EU 2 PRODUCTIONS MINIMUM

GRAPHIQUE 5: COURBES DE CROISSANCE DE LA ROUILLE (I) ET DU CAFEIER (II) POUR LES FEUILLES JEUNES.
SAN LUIS MEXAPA (460 m) CHIAPAS-MEXIQUE
INIFAP-IRCC

totales et avec rouille des différentes générations de feuilles. Ils montrent que les feuilles âgées disparaissent rapidement, qu'elles aient de la rouille ou pas. Il se confirme donc, que l'impact de la rouille sur ces feuilles est sans doute négligeable. De plus, il apparaît qu'aucun traitement fongicide ne leur permettra de survivre. Leur seul intérêt est d'ordre épidémiologique puisqu'on observe que l'inoculum primaire responsable des premières infections de rouille sur feuilles jeunes se localise à chaque début d'année dans les feuilles âgées, et qu'au contraire on pourrait considérer de les supprimer en vue de lutter contre la maladie.

C'est sur les feuilles jeunes dont le nombre s'accroît que va se développer l'épidémie qui nous intéresse et qu'il convient d'étudier à part si l'on veut bien comprendre le phénomène.

Confirmation de l'importance d'un marquage dans tout l'arbre:

Les graphiques 3, 4 et 5 donnent la croissance de la rouille (en I) et du caféier (en II) pour les feuilles jeunes, en fonction de l'âge des branches. Ils montrent que les branches les plus jeunes sont les moins infectées, et cela, quelle que soit la plantation étudiée. Une confirmation en est donnée par le tableau 1 qui offre une meilleure image de l'importance de la rouille par catégorie de branches puisqu'on y considère en plus la croissance de l'hôte.

Il apparaît donc, d'une part que s'il se confirme que les branches jeunes sont les plus actives physiologiquement, la rouille dans les plantations étudiées n'est peut-être pas aussi importante que ce qu'on aurait pu penser, et d'autre part qu'il est effectivement raisonnable de faire une étude dans tout l'arbre de façon à échantillonner toutes les catégories de branches et avoir une idée correcte du développement de la maladie et des niveaux d'attaque.

TABLEAU 1: IMPORTANCE DE LA ROUILLE EN FONCTION DE L'AGE DE LA BRANCHE, DANS 3 PLANTATIONS DU SUD-EST DU MEXIQUE

PLANTATION (ALTITUDE)	POURCENTAGE DE L'AIRE SOUS LA COURBE DE CROISSANCE DE L'HOTE OCCUPEE PAR LA ROUILLE — AGE DE LA BRANCHE		
	DE L'ANNEE	PREMIERE PRODUCTION	MINIMUM DE 2 PRODUCTIONS
SAN LUIS NEXAPA (460 M)	27	46	49
EL RETIRO (730 M)	8	11	16
SAN ANTONIO CHICHARRAS (1100 M)	non représentées	5	8

Dans ce même ordre d'idée, il s'avère qu'un second marquage au moins est nécéssaire, puisque le premier n'a pas détecté de branches de l'année pour la plantation la plus haute.

CONCLUSION

La méthodologie présentée permet donc une meilleure observation de l'épidémiologie de la rouille du caféier.

BIBLIOGRAPHIE

1 Gaubiac A.M. 1988. Relation entre surface foliaire et échanges gazeux chez le caféier. Effets d'une défoliation manuelle. DEA. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier. France. 28 p.

2 Kushalappa A.C. 1981. International program on coffee rust epidemiology. Circulaire. 6 p.

3 Kushalappa A.C., Chaves G.M. 1978. Escala para avaliar a percentagem de area foliar com ferrugem do cafeeiro. Fitopatologia Brasileira. 3:119.

4 Muller R.A. 1978. Contribution à la connaissance de la phytomycocénose Coffea arabica, Colletotrichum coffeanum Noack sensu Hindorf, Hemileia vastatrix Berk et Br., Hemileia coffeicola Maublanc et Roger. Thèse d'Etat. Université Pierre et Marie Curie. Paris. 174 p.

5 Muller R.A. 1984. Algunos conceptos sobre los estudios de epidemiología y de evaluación de los daños causados por las royas del cafeto. (Hemileia vastatrix B. et Br. y Hemileia coffeicola Maublanc et Roger). In "Taller regional sobre epidemiolgía de la roya del cafeto. IICA - PROMECAFE - ANACAFE, Guatemala, Antigua". Serie de publicaciones misceláneas. No 604. 20 p.

RESUME:

La méthodologie présentée est une synthèse de concepts importants développés d'une part, par R.A. Muller et d'autre part, par A.C. Kushalappa. Elle a,de plus, l'originalité d'identifier avec précision l'âge physiologique des feuilles et des branches, sur lesquelles sont faites les études, à partir du nombre et de la localisation des entre-noeuds très courts qui apparaissent chaque année pendant la saison sèche, au Mexique. Cette identification s'avère primordiale, puisqu'elle permet d'obtenir des informations sur l'inoculum primaire, d'évaluer l'importance des dégâts dus à la maladie, et de se faire une meilleure idée des niveaux d'infection.

RESUMEN

La metodología presentada es una síntesis de conceptos importantes desarrollados por un lado, por R.A. Muller y por otro , por A.C. Kushalappa. Tiene además, la originalidad de identificar con precisión la edad fisiológica de las hojas y de las ramas, en las cuales se hacen los estudios, en base al número y a la localización de los entrenudos muy cortos que aparecen cada año durante la estacion seca, en México. Esta identificación se revela primordial, ya que permite obtener informaciones sobre el inóculo primario, evaluar la importancia de los daños debidos a la enfermedad, y hacerse una mejor idea de los niveles de infección.

SUMMARY

The described methodology is a concise review of important concepts developed by R.A. Muller and by A.C. Kushalappa. It also has the originality of permitting accurate identification of the physiological age of the leaves and branches under study from the number and localisation of very short internodes which appear each year during the dry season in Mexico. This identification is primordial as it enables information about the primary inoculum to be obtained, the extent of damage due to the disease to be evaluated and the levels of infection to be better appreciated.

HAS CAFFEINE A ROLE IN THE RESISTANCE OF COFFEE TO THE ORANGE RUST ?

M. A. P. X. L. MEDEIROS *, M. E. M. GUEDES *, M. L. BARROS E SOUSA **

* Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (IICT)
** Departamento de Estatística (EAN)
Quinta do Marquês, 2780 Oeiras, Portugal.

INTRODUCTION

Caffeine (1,3,7- Trimethylxanthine) is a predominant purine alkaloid of coffee (Coffea sp.). Recently, it has been shown to undergo a variety of metabolic changes (2,12). The amount of caffeine and other methylated xanthines produced by sterile tissue culture cells is markedly elevated i.e. up to about 400 times as much as that of the coffee leaves and seed. The increase production of methylated xanthines and caffeine observed in cultured cells reveals a potencial for modulation of production by controlling conditions to affect metabolism(14).Little is known about cellular localization of caffeine. The purine alkaloid is stored in the vacuole, in the cytoplasme, and in the cell wall. The caffeine in the cytoplasm is easily washed out (9).

The objective of this study was to correlate the quantification of caffeine removed from the leaves of Coffea arabica L. at different times of the infection with Hemileia vastatrix Berk et Br. Thus, it was of interest to establish whether the levels of caffeine differed in resistant and susceptible coffee leaves when challenged by Hemileia vastatrix.

We found that the caffeine was present in larger quantities in resistant

plants in the first days, when compared with the control and the susceptible plants. To clarify the phytotoxicity of caffeine, uredospores of Hemileia vastatrix physiological race III (CIFC 995) and VI (CIFC 71) were germinated in aqueous sclutions of caffeine with different concentrations.

As the amount of caffeine increased in the infected coffee leaves resistante to H. vastatrix and caffeine has some toxicity effect on the germ-tube lenght of the uredospores it is possible that caffeine has a role in the resistant phenomenon.

MATERIALS AND METHODS

1. Extraction and purification of caffeine

Plants of Coffea arabica L. of cultivar Caturra (CIFC 1637 and CIFC 19/1) two years old were used. All these plants were grown under the greenhouse conditions. The plants were inoculated with the rust Hemileia vastatrix Berk et Br. by spreading the spores with a previously sterilized camel hair brush over the abaxial surface of a compatible and a incompatible leaf (8). The plants were kept under a photoperiod of 16 hours at 23°C.

Leaves of the terminal and subterminal nodes were harvested 3,5,7,10 and 15 days after inoculation, were submerged in a solution of 0.5% $Na_2S_2O_5$ in 70% ethanol (15 ml/g fr.wt.) in 500 ml flasks, and vacuum infiltrated (4). The leaves were shaken for 5 hours, then filtrated through a buchner funnel, and the residue washed several times with the same solution. The washing were combined and concentrated to one half the original volume in a rotatory evaporator at 40-45°C. The aqueous residue was partitioned with three times its volume of chlorophorm. The choloroform phase was then combined, concentrated to dryness, and redissolved in methanol (1 ml/10 g fr.wt.).

About 300 ul of the extracts in methanol were spotted on thin-layer chromatography (TLC) precoated plates (Silica Gel 60 F_{254} 0.25 mm thich, Merk 5715) and developed in chloroform: methanol (95:5, v/v) those bands with R_f similar to the R_f of caffeine were scraped, eluted with methanol, and evaporated.

2. Cultures

The two cultures of H.vastatrix used 71 and 995 (CIFC, Race VI and Race III) were gently scraped from the coffee plants (Coffea sp.) in the compatible association. The uredospores were stored for about 3 months in gelatine capsules at 50% humidity and 6-7°C.

The fungi, Cladosporium cucumerinum was grown in petri dishes on Potato Dextrose Agar (PDA) at 22°C. After development of the plates, the spores 8-10 days old, were suspended in a nutrient solution Ocia with 5% glucose (1).

3. Quantification of caffeine

Caffeine was quantitated by gas-liquid chromatography (GLC) with a 5790A Hewlett-Packard Gas Chromatograph equipped with a 6' × 1/4" × 2 mm glass column packed with 3% OV-17 on a granular particle (100-120 mesh) Gaschrom Q (Chrompack) and a flame ionization detector (FID). Nitrogen at the rate of 40 ml/min was used as a carrier gas. Temperatures of injection port, oven, and detector were 230 , 200 , and 250 C, respectively.

The quantities of caffeine were determined on the basis of peak areas relative to that of the external standard, caffeine

4. Identification of caffeine

Identification of caffeine was confirmed by combined GLC/Mass spectrometry and a HRGC 5160 gas chromatograph (equipped with a 26 m capillary column packed with CP Sil 5) /mass spectrometer system kratos MS-25RF (EI, 70 eV).

Spectra of ^{1}H NMR were recorded in a general electric (GE-NMR, 300Mz) in $CDCl_3$, using tetramethylsilane as internal standard.

5. Bioassays

Thin layer chromatography (TLC) precoated plates were developed in an un-

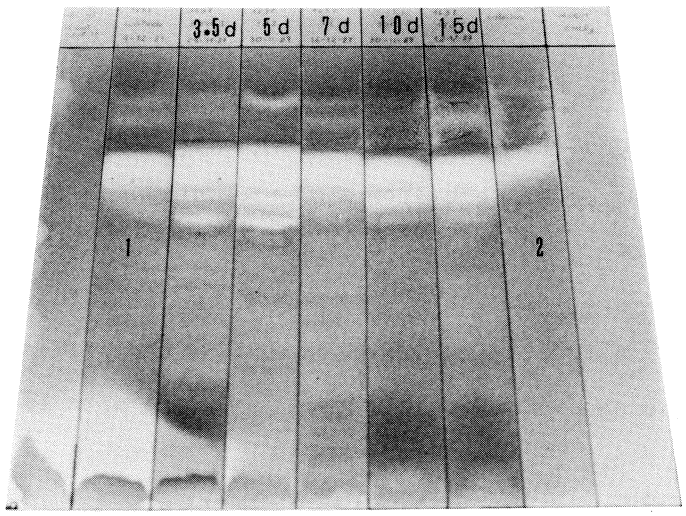


PLATE 1 - Thin layer chromatogram of coffee leaves of resistant extracts spraed with a spore suspension of Cladosporium cucumerinum and then incubated. Notice white stripes in higher part of the chromatogram, more intense in the leaf extracts prepared 3.5-5 days after inoculation corresponding to caffeine discussed in the text. 1-Control 2-Standard. Solvent system: chloroform-methanol (95:5).

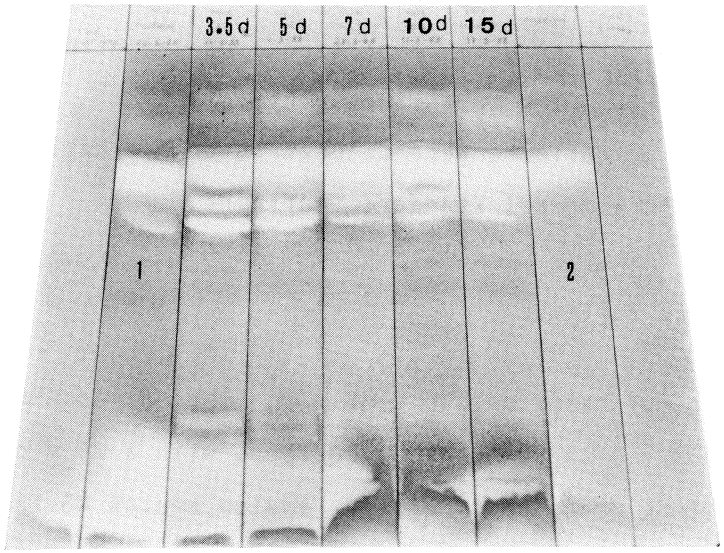


PLATE 2 - Thin layer chromatogram of coffee leaves of susceptible extracts sprayed whit a spore suspension of Cladosporium cucumerinum and then incubated. Notice white stripes in higher part of the chromatogram some intense in the leaf extracts prepared 3.5-5-7-10-15 days after infiltration corresponding to caffeine discussed in the text. 1-Control 2-Standard Solvent system. chloroform-methanol (95:5).

equillibrated tank containing chloroform: methanol (95:5,v/v). The dried plates were viewed under U.V. irradiation (254 µm) and the band of the caffeine appearing at the same R_f as the standard.

The plates were then sprayed with a dense spore suspension of Cladosporium cucumerinum Ell. and Arth. and incubated in the dark at 25°C in a humid environment.

Mycelia were usually well established on the plates by the third day and antifungal compounds could be detected as clear zones.

6. Toxicity tests of caffeine

0.5 mg of fresh uredospores of H. vastatrix were suspended in distilled water containing 0.05% "Tween 80", and in solutions of different concentrations of caffeine, 10^{-8}, 10^{-5}, and 10^{-3} M with 0.05% "Tween 80" and were mixed thoroughly on a Vortex Mixer. Aliquots of these suspensions were then pipetted (0.1ml) on to clean glass slides and incubated in a humid chamber at 25°C.(11). after 6h the spores were killed with cotton blue.

Germination (%) of 400 spores and 100 germ-tube lenghts per treatment, in six experiments, were measured.

RESULTS

Caffeine production

Results presented in Fig. 1, showed caffeine levels in infected coffee plants resistant and susceptible to Hemileia vastatrix several days after inoculation. The concentration of caffeine was much higher 5 days after inoculation in the resistant leaves than in the susceptible ones. The R_f values obtained by thin-layer chromatography (TLC), and the fluorescence response with UV light 254 um indicate that caffeine is the compound envolved. The TLC properties of the isolated compound agree as well with those of standard caffeine sample. Further purification was accomplished by preparative TLC and confirmed by the mass spectra and nuclear magnetic ressonance (NMR Spectrum), Fig.4.The

quantification of caffeine was determined by GC Fig.1.

To clarify the toxicity of caffeine, the spores of the fungus (Hemileia vastatrix) were germinated in aqueous solutions of caffeine at three concentrations and were compared with those in distilled water Fig.3 shows the germ-tube elongation of the germinated uredospores after 6 hours of incubation at 25°C. The values showed to be significantly different from the water control. The percentage germination of spores (400 spores per treatment in six experiments) gave no significant differences between the tested caffeine concentrations when compared with the water control Fig.2.

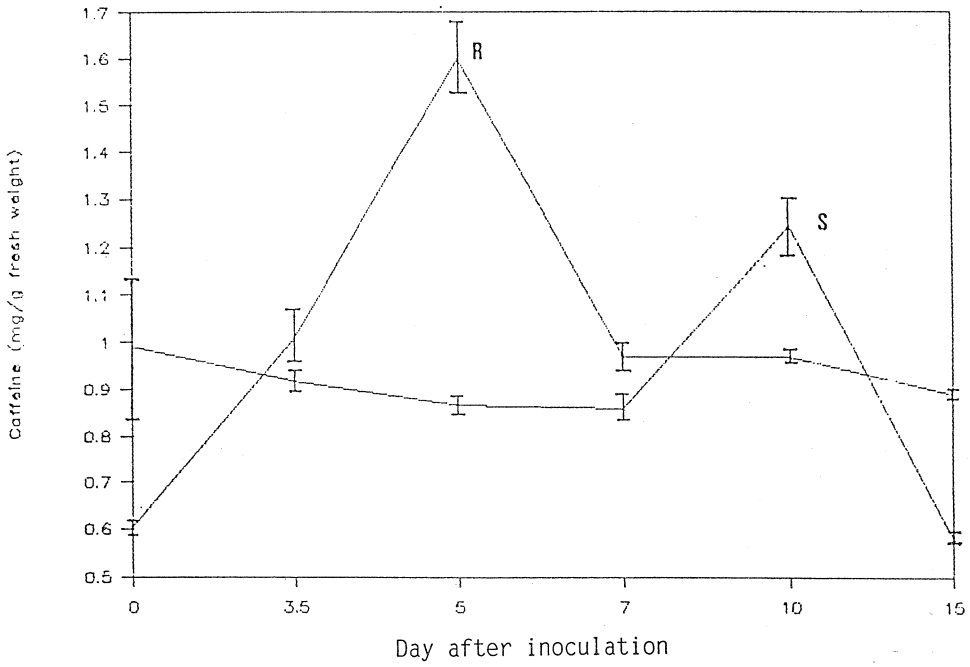
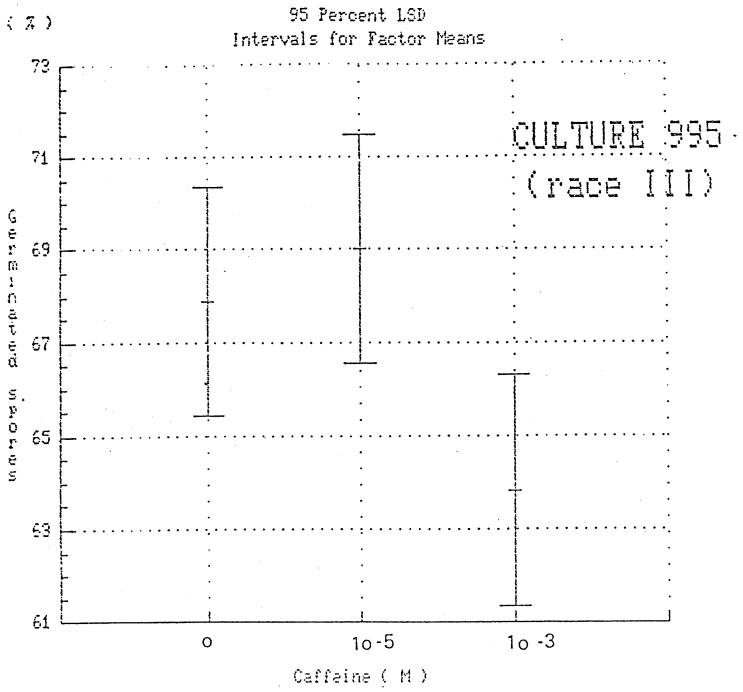


Fig.1 - Time course of accumulation of caffeine in resistant (R) and susceptible(S) coffee leaves after inoculation with H. vastatrix.

DISCUSSION

Synthesis and metabolism of the purine alkaloid caffeine appear to be closely associated with leaf development in coffee (12). Frischknecht et al.(3) showed that, in different species of Coffea, the absolute content of caffeine increased in the young growing leaves, but decreased in the old leaves. Waller and Cumberland (14) verified that the amount of caffeine and other methylated



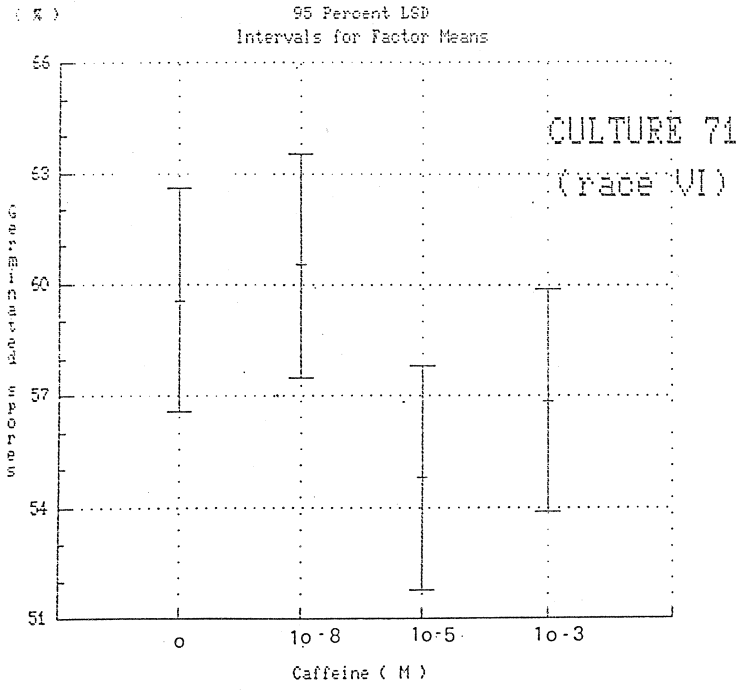


Fig. 2 - Percentage of germination of the uredospores in distilled water and in different concentrations of caffeine (M).

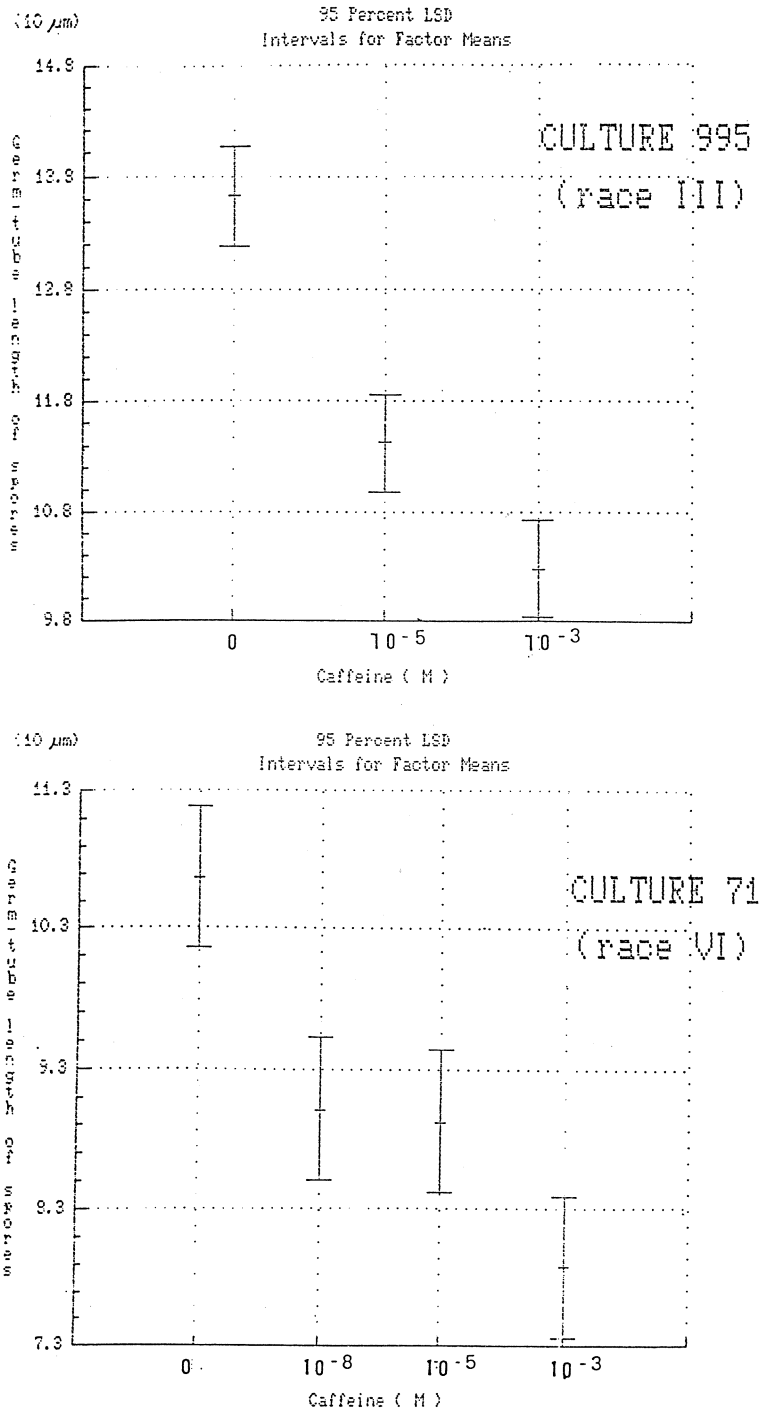


Fig. 3 - Germ-tube lengths uredospores (µM) after growths in distilled Water and in different concentrations of caffeine (M).

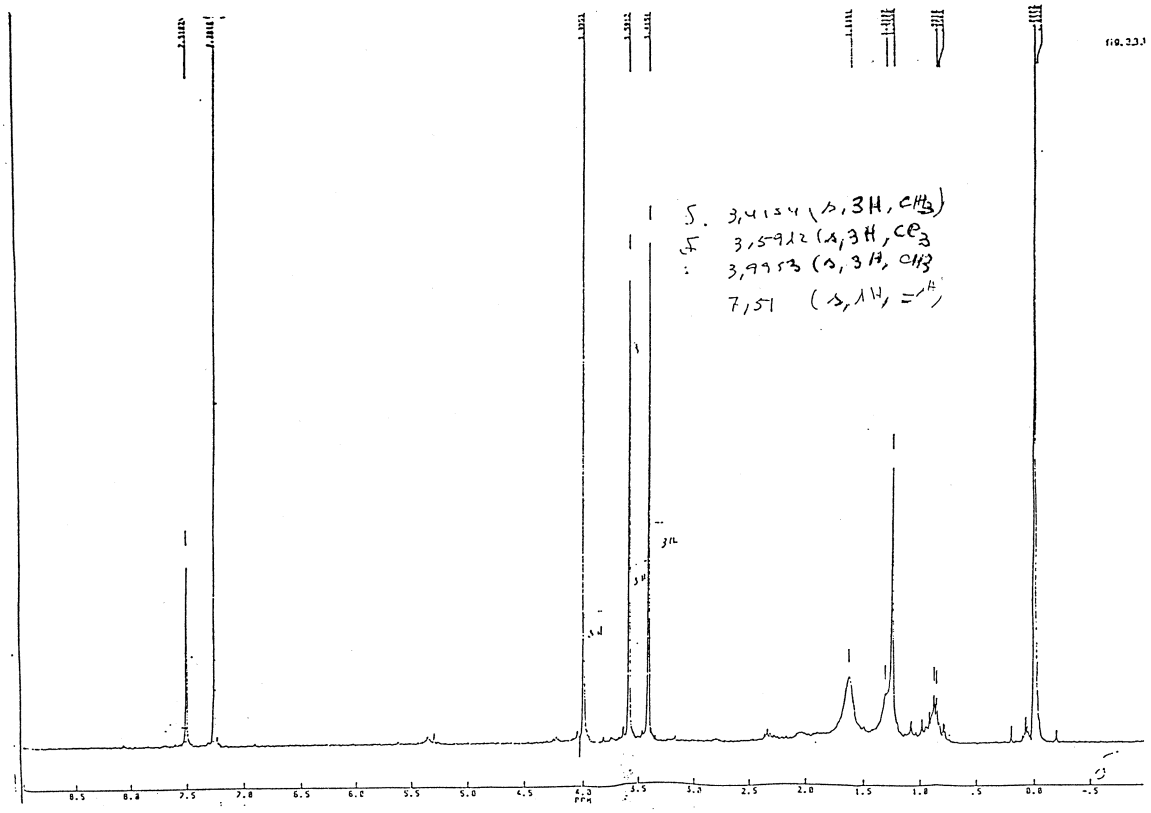


Fig. 4 - NMR spectrum

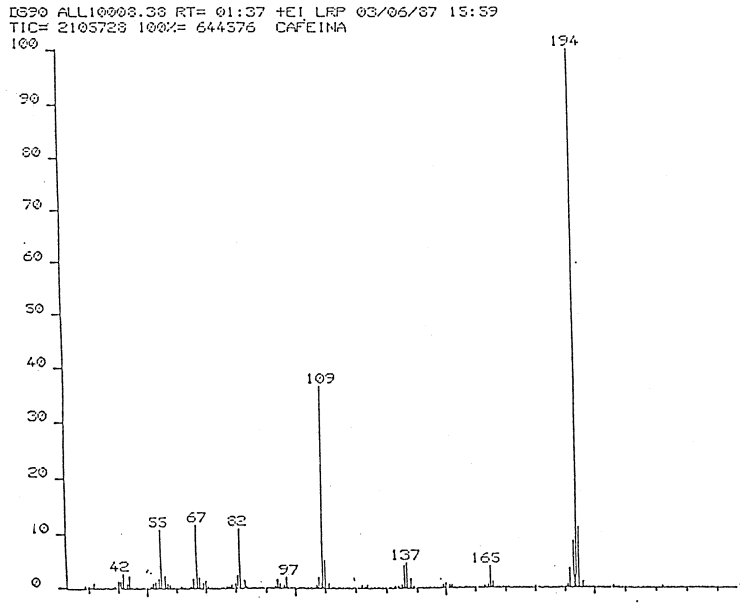


Fig. 5 - Mass spectrum of caffeine

xanthines produced by the sterile tissue culture cells is markedly elevated i. e., up to about 400 times as much as that of the whole coffee plants.

In the present work caffeine accumulation was detected in leaves of Coffea arabica. The increase in the amount of the caffeine on the 3rd and 5th days after inoculation in resistant plants and on the 10th day after inoculation in susceptible plants, when compared with control, might be evidence that this compound plays a part in the response mechanism of the plant to the rust.

Guedes et al. (4,5) observed the accumulation of stress metabolits and phytoalexins when coffee leaves were infiltrated with a bacterial cell suspension of Pseudomonas syringae and when the leaves were inoculated with an incompatible race of Hemileia vastatrix. This accumulation took place on the 4th and 5th days after the treatment. Martins et al. (7) showed an increase of caffeine in coffee plants inoculated with a spore suspension of the non-pathogenic Helminthosporium carbonum, with inhibitory activity in TLC biossay. The accumulation of inhibitory compounds in coffee plants 3-4 days after the inoculation with an incompatible rust race are in agreement with the findings of Rijo and Rodrigues (10), who showed that only on the 3rd day after inoculation of coffee leaves with H. vastatrix there start to be differences in the infection process of the pathogen in susceptible and resistant varieties. In the susceptible varieties the mycelium grow intercelullarly sending branches through the mesophyll. In the resistant varieties the fungus growth stops, in general at the anchor stage (10). It seems therefore that an increase in the amount of a phytotoxic compound for instance caffeine, in resistance plants is responsible for the retardeaction of the rust mycelial growth.

In order to prove the phytoxicity of caffeine towards the fungus, tests were run with the fungus spores in aqueous caffeine solutions. It was shown that although these solutions have no affect on the percentage of germination of the rust uredospores, there is a significant inhibitory effect of a 10^{-3} M caffeine solution on the germ-tube elongation when compared with the control. The role of caffeine as another factor in the dynamics of resistance remains then as a possibility.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank JNICT (Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica) for the grant awarded to the senior author. We also thank Drs. M. J. Marcelo Curto and Regina Tavares for mass spectra and 300 MH_Z^1 HNMR spectra determinations.

REFERENCES

(1) ALLEN, E.H. & KUC, J. (1968) "α-solaine and α-chaconine as fungitoxic compounds in extracts of Irish potato tubers". Phytopathology, 58: 776-781.

(2) BAUMANN, T.W. & FRISCHKNECHT, P.M. (1982) "Biosynthesis and biodegradation of purine alkaloid formation in tissue cultures" pp. 365-6 in "Plant Tissue Culture".

(3) FRISCHKNECHT, P.M., ELLER, B. & BAUMANN, T.W. (1982) "Purine alkaloid formation and CO_2 gas exchange in dependence of development and of environmental factors in leaves of Coffea arabica". Planta 156: 295-301.

(4) GUEDES, M.E.M., M.L. & MARTINS, J.M.S. (1982) "Production of stress metabolites in coffee leaves infiltrated with Pseudomonas syringae". Garcia de Orta - Série Est. Agron. 9 (1-2): 243-248.

(5) GUEDES, M.E.M. (1983) "Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro - Comunicações" pp 205-216.

(6) HAMMERSCHMIDT, R. & KUC, J. (1982) "Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber". Physiol. Plant Pathol. 20, 73-82.

(7) MARTINS, E.M.F., ROVERATTI, D.S. & MORAES, W.B.C. (1986) "Elicitation of stress metabolites in coffee leaves by a non-pathogen". Fitopatol. Bras. 11: 683-695.

(8) D'OLIVEIRA, B. (1954-57) "As Ferrugens do Cafeeiro". Rev. Café Port. 1 (4): 5-13; 2 (5): 5-12; 2(6): 5-13; 2 (7): 9-17; 2 (8): 5-22; 4 (16): 5-15.

(9) PFRUNDER, R., WANNER, H., FRISCHKNECHT, P.M. & BAUMANN, T.W. (1980) "An attempt to localize caffeine in the cell by its washout kinetics". ASIC, 9e Colloque, Londes: 169-175.

(10) RIJO, L. & RODRIGUES, JR., C.J. (1978) "Processo de infecção da Hemileia vastatrix Berk & Br. em cultivares susceptíveis e resistentes de Coffea arabica L." Garcia de Orta, Série Est. Agron. 5 (1-2): 23-24.

(11) RODRIGUES, JR., C.J., MEDEIROS, E.F. & LEWIS, B.G. (1975) "Relationship between a phytoalexin-like response in coffee leaves (Coffea arabica L.) and compatibility with Hemileia vastatrix Berk & Br.". Physiol. Plant Pathol. 6: 35-41.

(12) SUZUKI, T. & WALLER, G.R. (1985) "Purine alkaloids of the fruits of Camellia sinensis L. and Coffea arabica L. during fruit development". Annals of Bot. 56: 537-542.

(13) WALLER, G.R. & CUMBERLAND, C.F. (1980) "High production of caffeine by sterile tissue culture of Coffea arabica". ASIC, 9e Colloque, Londres: 611-618.

(14) WALLER, G.R. & NOWACKI, E.K. (1978) "Alkaloid Biology and Metabolism in Plants".

SUMMARY

Caffeine levels were estimated in leaves of Coffea arabica at different times after infection with Hemileia vastatrix. The caffeine content of the infected leaves in the incompatible combinations was much higher at the 5th day after inoculation than in the compatible combinations.

Visualization of caffeine spots was achieved by spraying the TLC plates with a spore suspension of Cladosporium cucumerinum and the quantitation determination of caffeine was achieved by GC and GC/MS.

In order to evaluate the totoxicity or phytotoxic effect of caffeine on the germ-tube elongation of H. vastatrix, spore suspensions of freshly collected uredospores of the rust were germinated in 10^{-8}, 10^{-5} and 10^{-3} M aqueous solutions of caffeine and the germ-tube length measured after 6 hours of incubation at 25°C. Same growth inhibition was observed with to the caffeine solution at 10^{-3} M when compared with the water control. Caffeine solution, at 10^{-5} and 10^{-8} M did not differ between them but they also caused some inhibition when compared with the control.

The accumulation of caffeine in the infected incompatible coffee-rust association and the somehow phytotoxic effect of the caffeine in the germ-tube elongation of the rust germlings suggested that caffeine might have a role in the mechanism of coffee resistance to H. vastatrix.

Résumé

La caféine joue-t-elle un rôle dans la résistance du caféier à la rouille orangée ?

Les teneurs en caféine de feuilles de Coffea arabica ont été évaluées plus ou moins longtemps après leur infection par Hemileia vastatrix. La teneur en caféine des feuilles infectées est, au cinquième jour après l'inoculation, beaucoup plus élevée dans les combinaisons incompatibles que dans les combinaisons compatibles.

La visualisation de taches de caféine a été réalisée en pulvérisant les plaques de chromatographie en couche mince avec une suspension de spores de Cladosporium cucumerinum et l'évaluation quantitative de la caféine a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse.

Afin d'évaluer la toxicité ou l'effet phytotoxique de la caféine sur l'élongation du tube germinatif de H. vastatrix, des suspensions de spores d'urédospores fraîchement recueillis de la rouille ont été mis à germer dans des solutions aqueuses de caféine 10^{-3}, 10^{-5} et 10^{-8} M et la longueur des tubes germinatifs a été mesurée après six heures d'incubation à 25°C. Les valeurs se sont révélées significativement différentes de celles observées avec le témoin (eau).

L'accumulation de caféine dans l'association rouille - caféier incompatible infecté et l'effet phytotoxique évident de la caféine sur l'élongation du tube germinatif des spores de rouille permettent de penser que la caféine pourrait avoir un rôle dans le mécanisme de la résistance du caféier vis-à-vis de H. vastatrix.

NEW RUST GENOTYPES

AND A NEW COFFEE GENOTYPE IN CATIMOR 45

V. VÁRZEA, C. J. RODRIGUES Jr., J. E. DO PASSO, S. PALMA
Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, 2780 Oeiras, Portugal

To look for rust resistance in diploid and tetraploid coffee plants has been one important point in the programme of the CIFC (Rodrigues, Bettencourt & Rijo, 1975). The survey of this resistance has conducted to the identification of physiologic groups of resistance. The discovery of some plants of Hibrido de Timor (HDT) or Timor Hybrid in the late 1950's (D'Oliveira & Rodrigues, 1961) with resistance to all the races of Hemileia vastatrix and eventually to Colletotrichum coffeanum sensu Hindorf and some nematodes must be considered as a landmark in the CIFC's work. By using HDT as a parent, resistance has been introduced into commercial varieties, and several populations were produced which combine resistance to rust, compact growth and good yield. The HDT population and the HDT derivatives which resulted from crosses and backcrosses to commercial varieties have given rise to coffee physiologic groups A, R, E, 1, 2 and 3. Five genes for resistance S_H5, S_H6, S_H7, S_H8 and S_H9 have been determined in those groups, singly or associated (group R-S_H6; group 1-$S_H5,6,7,9$; group 2-$S_H5,8$; group 3-$S_H5,6,9$) but the genetic composition of group A plants is still unknown (Bettencourt, 1984).

Plants of groups A and 1 of the cultivar Catimor 45 (HW 26 = Caturra x HDT) and other hybrids have been distributed to more than 50 countries for studies of adaptability and for multiplication under the form of populations (mixture of different percentages of seed of groups A and 1). Most of this material has maintained the original pattern of resistance. However, some plants of Catimor 45 forwarded to India in 1981, where this cultivar is now known as Cauvery (Ramaiha, Personnal communication), presented some rust which was collected and sent back to Oeiras for rust race identification.

The present communication reports the appearance of new races in India and a new physiologic group of resistance in HDT derivatives.

Material and methods

Rust samples collected in different coffee selections and coffee hybrids have been sent from the Central Coffee Research Institute, South India, for identification at Oeiras. These rust samples were first inoculated on the set of differential hosts of the CIFC and later on seedlings originated from seed collected in Catimor 45 plants showing mild infections in India (CIFC 7958, 7960, 7961, 7962, 7963), on plants of Catimor 45 of these numbers belonging to the CIFC collection and also on clonal plants of hybrids F_1Catimor (group A) x Catuaí produced at the CIFC but propagated in Central América (Promecafe Programme).

Emphasis was put on the isolates Hem. 1941, Hem. 1942 and Hem. 2039 (Table I). Other rust samples also collected in Cauvery/Catimor are being studied in detail at the CIFC. The method used to make the inoculation was by putting with a scalpel some spores on the lower surface of labelled leaves and then gently rubbing them with a camel's hair brush. The inoculated leaves and all the branch were sprayed with distilled water and covered with a plastic bag for 48 hours. After this period the bag was removed. About 30 days after the inoculation the reaction types were read (D'Oliveira, 1954-57).

Table I - New rust isolates and their origin

Hemileia nº	CCRI host nº	CIFC host nº	Colector	Date of colection
Hem. 1941	S. 4349 Cauvery	Catimor 7958 F_4	M.S. Sreenivasan	Oct. 1985
Hem. 1942	Catimor ?	Catimor ?	"	Dec. 1985
Hem. 2039	S. 4348 Cauvery	Catimor 7963 (F_5)	"	Oct. 1987

Results and discussion

The rust samples that lately have been received from the CCRI when inoculated on the race differential hosts of the CIFC collection did not indicate to correspond to new races. According to the reactions produced on these differentials the samples were identified in the following way: Hem. 1941 (race II)-v_5; Hem. 1942 (race I)-v_2v_5 and Hem. 2039 (race XXIV)-$v_2v_4v_5$. Considering the genotypes of the hosts where the rust samples were collected it is suggested that a lack of adequate differential hosts is responsible for the unidentification of new races. Further inoculations with these rust samples on Catimor 45 plants from India and from the CIFC collection as well as on Catimor x Catuaí F_1hybrids indicated that: 1) Not all the plants which were forwarded from India appeared as susceptible. Some of them kept their resistance pattern of group A; 2) From about 30 inoculated

group 1 plants of Catimor 45 of the CIFC collection only the group 1 type clone H. 420/10 and one plant of Sarchimor (CIFC 13485/1) were resistant; 3) Hybrids F_1 Catimor 45(group A) x Catuaí produced plants with susceptibility; 4) The above referred isolates have ability to infect the so called group 1 plants although they do not infect the type clone of group 1 (H. 420/10).

According to the results here expressed the genotypes of the new cultures are suggested to be the following:

Hem. 1941-v_5v_7 or $v_5v_7v_9$; Hem. 1942-$v_2v_5v_7$ or $v_2v_5v_7v_9$; Hem. 2039-$v_2v_4v_5v_7$ or $v_2v_4v_5v_7v_9$. Since these cultures are unable to infect group R (S_H6) and group 2 ($S_H5,8$) plants (Table II), the genotype of the new group is hypothesised to be $S_H5,7$ or $S_H5,7,9$ this group did not receive any designation until further studies are made. It is likely that other groups might arise from the so-called group 1 which was so far defined only by Hem. 1321 (race XXIX)-$v_5v_6v_7v_8v_9$. Only with new races will be possible to characterize the new groups where the genes $S_H5,6,7,9$ might be associated in different ways.

Table II - Coffee physiologic groups, genes for resistance, type clones, and phenotypic expressions of the interactions coffee-rust.
S = Susceptibility Blank = Resistance

		E	D	J	R	1	2	3	New Group
		SH5	SH2,5	SH4,5	S_H6	$S_H5,6,7,9$	$S_H5,8$	$S_H5,6,9$	
		63/1	32/1	110/5	1343/269	H.420/10	H.420/2	H.419/20	7963/183*
Physiologic races of rust, type cultures, and race genotypes	I (22) $V_{2,5}$	S	S						
	II (15) V_5	S							
	XV (70) $V_{4,5}$	S		S					
	XXII (535) $V_{5,6}$	S			S				
	XXIX (1321) $V_{5,6,7,8,9}$	S			S	S	S	S	S
	XXX (1326) $V_{5,8}$	S					S		
	XXXI (1302) $V_{2,5,6,9}$	S	S		S			S	
Isolates from India and their likely genotypes	1941 $V_{5,7}$ or $V_{5,7,9}$	S							S
	1942 $V_{2,5,7}$ or $V_{2,5,7,9}$	S	S						S
	2039 $V_{2,4,5,7}$ or $V_{2,4,5,7,9}$	S	S	S					S

* Selected plant of Catimor 45 which characterizes the new group.

References

Bettencourt, 1984. Características agronómicas de selecções derivadas de cruzamentos entre Híbrido de Timor e as variedades Caturra, Villa Sarchi e Catuaí. Comunicações, Simpósio sobre Ferrugens do Cafeeiro. Oeiras, 17-20 Oct., 1983: 351-373.

D'Oliveira, B. & Rodrigues, C.J., Jr. 1961. O problema das ferrugens do cafeeiro. Revista do Café Português 29: 5-50.

Rodrigues, C.J., Jr., Bettencourt, A.J. & Rijo, Luisete. 1975. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. Annual Review of Phytopathology 13: 49-70.

D'Oliveira, B. 1954-57. As ferrugens do cafeeiro. Revista do Café Português 1(4): 5-13; 2(5): 5-12; 2(6): 5-13; 2(7): 9-17; 2(8): 5-22; 4(16): 5-15.

Abstract

Rust samples collected in India on Catimor 45 were inoculated at the CIFC on the rust differentials. They presented on these differentials the following genotypes: Hem.1941--v_5; Hem.1942-v_2v_5; Hem.2039-$v_2v_4v_5$. Further inoculation on group 1 plants of Catimor 45 of the CIFC collection indicated, however, that all the three races infected those plants, although they did not infect the type clone of group 1 H.420/10. It is apparent that these rust cultures are different from any race so far described and have in common their ability to infect some plants of group 1. According to this the inferred genotypes of these cultures are suggested to be the following: Hem. 1941-v_5v_7 or $v_5v_7v_9$; Hem. 1942-$v_2v_5v_7$ or $v_2v_5v_7v_9$; Hem. 2039-$v_2v_4v_5v_7$ or $v_2v_4v_5v_7v_9$. Since these cultures are unable to infect group R (S_H6) and group 2 (S_H5 S_H8) plants, the genotype of the new group is hypothesised to be S_H5 S_H7 or S_H5 S_H7 S_H9.

Résumé

Nouveaux génotypes de rouille et un nouveau génotype de caféier chez le Catimor 45.

Des échantillons de rouille collectés en Inde sur le Catimor 45 ont été inoculés au CIFC (Centre de Recherche sur les Rouilles du Caféier, Oeiras, Portugal) sur les hôtes différentiels de la rouille. Ils ont présenté sur ces différentiels les génotypes suivants : Hem. 1941-v_5 ; Hem. 1942-v_2-v_5 ; Hem. 2039-v_2-v_4-v_5. Une inoculation ultérieure sur les plantes du groupe 1 du Catimor 45 de la collection du CIFC a révélé, cependant, que ces trois races infectent ces plantes alors qu'elles n'infectent pas le clone type du groupe 1 H.420/10. Il apparaît que ces cultures de rouille sont différentes de toute race déjà décrite et qu'elles possèdent en commun l'aptitude à infecter certaines plantes du groupe 1. En conséquence, on peut penser que les génotypes concernés de ces cultures sont les suivants : Hem. 1941-v_5-v_7 ou $v_5v_7v_9$; Hem. 1942-$v_2v_5v_7$ ou $v_2v_5v_7v_9$; Hem. 2039-v_2-v_4-v_5-v_7 ou $v_2v_4v_5v_7v_9$. Puisque ces cultures sont incapables d'infecter les plantes du groupe R (S_H6) et du groupe 2 (S_H5 S_H8), le génotype du nouveau groupe pourrait être S_H5 S_H7 ou S_H5 S_H7 S_H9.

APLICACIONES DEL CULTIVO DE TEJIDOS EN EL MEJORAMIENTO DEL CAFETO

F. J. OROZCO C., L. C. LONDOÑO R., M. T. GONZALEZ G., M. L. MARULANDA A., B. E. VELEZ A.
CENICAFE, Chinchiná (Caldas), Colombia

INTRODUCCION

El programa de mejoramiento genético del cafeto, en Cenicafé y en la mayoría de los países, tiene como objetivo principal obtener variedades con buena producción, buena calidad de grano y de taza, con resistencia a enfermedades especialmente la roya (Hemileia vastatrix Berk at Bru) y el CBD (Colletotrichum coffeanum). Resistencia o tolerancia al ataque de algunos insectos, plagas como la broca (Hypothenemus hampei), el minador (Leucoptera coffeella) y a los nemátodos.

Las variedades cultivadas de C. arabica tienen muy buena calidad en taza y aceptable producción pero son susceptibles a las enfermedades y plagas citadas. Algunas especies diploides son la fuente genética para tratar de introducir a C. arabica las características requeridas por ella.

Utilizando los métodos convencionales de mejoramiento, se ha conseguido indroducir algunas características deseables las cuales van unidas a cualidades indeseables de las especies diploides; se requiere de un proceso prolongado de retrocruzamiento y selección, por las características de planta semiperenne del cafeto y por el número de individuos que se pueden estudiar en el campo.

El cultivo de células y tejidos puede ser una metodología útil al mejoramiento genético del cafeto ya que ofrece posibilidades de aumentar el número de combinaciones híbridas entre especies; obtener combinaciones híbridas homocigotas, en menor tiempo, a través de plantas haploides diploidizadas y como producto de la variación somaclonal producir nuevas variantes genéticas imposibles de obtener por los métodos convencionales. Permite además manejar mayor número de individuos y ejercer presiones de selección fuertes, desde las fases iniciales, a nivel de laboratorio.

Rescate de embriones híbridos inmaduros.

Las especies diploides poseen características genéticas deseables que no existen en las variedades cultivadas de C. arabica; el trabajo de incorporación de dichos caracteres a esta última se dificulta debido a las diferencias cromosómicas y genéticas entre ambos grupos; esto

ocasiona que al cruzar individuos diploides con tetraploides, la obtención de plantas híbridas sea desde nula a unos pocos individuos; aún más entre las especies diploides existen diversos grados de compatibilidad (Carvalho y Monaco, 1968).

La recuperación de embriones inmaduros constituye una vía segura para la obtención de materiales híbridos entre especies, los cuales no se ha logrado obtener por los métodos tradicionales, debido a problemas de incompatibilidad entre ellas, que causa la formación de un endosperma anormal el cual limita el desarrollo del embrión, provocando su aborto antes de que el fruto llegue a la madurez. (Sondahl, 1980; Arcila y Orozco, 1986).

En Cenicafé, se inció el cultivo "in vitro" de embriones híbridos inmaduros basados en el trabajo desarrollado por Arcila y Orozco (1986), quienes estudiaron los estados morfológicos e histológicos del embrión del café, desde el momento en que éste es visible en el fruto (estado globular), hasta que el fruto madura y determinaron el medio de cultivo y el estado óptimo par la extracción y siembra del embrión.

Materiales y métodos

Se realizaron cruzamientos entre la especie C. arabica y las especies diploides C. canephora, C. liberica, C. stenophylla, C. salvatrix, C. congensis y C. racemosa. Se recolectaron los frutos 120 a 150 días después de la antesis, el procedimiento para la desinfección del fruto, la extracción y siembra del embrión es el siguiente: Lavado con teepol, enjuague, inmersión en hipoclorito de Na al 5% 10 minutos, 3 enjuagues con agua destilada estéril, extracción del embrión bajo el estereoscopio, siembra en el medio de cultivo sales MS 1/2, sin hormonas, (Arcila y Orozco, 1986). Incubación para germinación en la oscuridad.

A partir de 1987, en el laboratorio de Cultivo de Tejidos de Cenicafé, se viene aplicando la metodología de recuperación de embriones híbridos inmaduros, con el fín de obtener nuevas combinaciones híbridas y un mayor número de híbridos entre las especies diploides del género coffea y C. arabica, como un soporte básico del programa de mejoramiento genético del cafeto.

Las especies diploides que han sido utilizadas para los cruzamientos con la especie C. arabica, poseen características de interés entre otras: resistencia roya, a CBD, a nemátodos y rusticidad en C. canephora, C. liberica y C. salvatrix, y tolerancia a períodos prolongados de sequía, y resistencia a minador en C. stenophylla y C. racemosa.

Resultados

De las combinaciones híbridas derivadas de los cruzamientos entre las especies diploides del geñero coffea y C. arabica, se han obtenido embriones los cuales presentan diferencias en el desarrollo, dependiendo de los grados de compatibilidad genética entre las especies: Se han caracterizado tres grupos:

- Embriones normales: Alcanzan un desarrollo completo, originando plantas normales.
- Embriones cotiledonares: Solo desarrollan hojas cotiledonares, detienen su crecimiento.
- Embriones atrofiados: Permanecen en el medio durante largo tiempo sin desarrollarse, presentan hipocótilos gruesos, cotiledones insipientes y/o germinación lenta.

Los porcentajes más altos de plantas normales se obtuvieron de los cruzamientos entre C. arabica x C. canephora, seguidos por C. arabica x C. congensis, C. arabica x C. racemosa.

El menor número de plantas se obtuvo en el híbrido entre C. arabica y C. stenophylla.

Se han observado además diferencias en el desarrollo de los embriones dependiendo del árbol utilizado como progenitor del cruzamiento, debido al carácter heterocigoto de los materiales, lo que evidencia el comportamiento específico de cada árbol de la especie diploide.

Durante los años 1987 y 1988, se han sembrado "in vitro" alrededor de 4.100 embriones, provenientes de diferentes cruzamientos, algunos de estos materiales han sido trasplantados a condiciones de almácigo (850 plantas), algunas plantas se han eliminado por presentar susceptibilidad a la roya y susceptibilidad a la luz, pasando a condiciones de campo 280 plantas normales; se les están tomando medidas de crecimiento (altura, ramificación) para posteriormente hacer clasificaciones fenotípicas.

Se ha incrementado por esta vía el número de combinaciones interespecíficas posibles y ampliado la base genética, utilizable en el programa de mejoramiento. Además se han obtenido nuevas combinaciones de orígen híbrido difíciles o imposibles de obtener por métodos convencionales como en el caso de C. arabica x C. stenophylla.

Dada la cantidad de plantas que se recuperan, se pueden realizar, a nivel de cultivo in vitro o a nivel de plántula, evaluaciones morfológicas, citológicas y pruebas de resistencia a roya, minador y otros, como un sistema de preselección de los mejores individuos.

Cultivo de anteras

La producción de plantas haploides mediante el cultivo "in vitro" de anteras y granos de polen presenta beneficios para el mejoramiento de plantas. Por el sistema de autofecundación o retrocruzamientos convencionales se requiere de por lo menos cinco generaciones para obtener una línea pura. Mediante el cultivo de anteras "in vitro" pueden obtenerse plantas homocigotas en una generación, se permite así, tanto a genes dominantes como recesivos fijarse y expresarse en una sola generación.

Una vía de desarrollo que pueden seguir los granos de polen de anteras cultivadas in vitro es la formación de embriones con la mitad del número cromosómico, este fenómeno es conocido como androgénesis (Raghavan, 1986). La primera etapa de la androgénesis consiste en perturbar los procesos normales de diferenciación de las micrósporas, con el fín de que ocurra una serie de divisiones supernumerarias que conducen a la diferenciación de un callo y/o de un embrión. (Lanaud y Parvais, 1980).

Se ha reportado la producción de plantas de origen gamético a partir del cultivo de anteras en cerca de 200 especies, pero en la práctica, solo ha sido aplicada en algunas especies.

La ocurrencia de haploides naturales en C. arabica es 0.3 x 1.000; esta frecuencia es demasiado baja para ser incluída en un programa de mejoramiento. (Dublin y Parvais, 1976). Berthoud et al, (1987), en frutos inmaduros de materiales seleccionados de C. canephora han determinado 0.5% de poliembrionía y 0.1 x 1.000 de ocurrencia de haploides.

La utilización de plantas haploides y dihaploides constituye una vía importante de mejoramiento no solo por la obtención de líneas homocigotas en una generación, sino además porque permite tener una idea clara sobre la dominancia de algunas características y su condición poligénica o monogénica; también es posible la selección directa de los individuos por sus características genéticas (Chen Zhengua, 1986.)

Desde el punto de vista citológico el cultivo de anteras es muy útil para la realización de estudios básicos sobre el desarrollo del grano de polen; además mediante seguimiento citológico de la androgénesis se puede garantizar el orígen haploide de los embriones y saber si estos se originan de varios granos de polen o de unos cuantos que se subdividen muchas veces (Chen Zhengua, 1986).

Materiales y métodos

Las anteras cultivadas "in vitro" se recolectaron de plantas híbridas seleccionadas F_2 y F_3 de cruzamientos entre C. arabica y C. canephora.

Se utilizó y modificó la metodología descrita por Ascanio y Arcia (1987) lo que permitió la obtención de embriones y posterior diferenciación de plantas. Se ensayaron varios reguladores de crecimiento: Zeatina, kinetina y una mezcla de ambas.

Resultados

Se observó en general una mayor respuesta a la mezcla Zeatina-kinetina debido a su efecto sinérgico, aunque cuando se usaron individualmente, cada una de ellas, la respuesta fue buena.

Una primera etapa de inducción en medio con reguladores de crecimiento y posteriores subcultivos en medio simple permitió la recuperación de plantas fenotípicamente normales, las cuales presentan un desarrollo lento, similar al comportamiento de plantas haploides obtenidas por el rescate de embriones cigóticos.

El tejido somático, de la antera parece jugar un papel importante en la inducción de las

divisiones de la micróspora y en el posterior desarrollo del embrión; la capacidad morfogénica se pierde cuando se subcultivan trozos muy pequeños de tejido de antera o cuando se separan tempranamente los embriones de las anteras.

Se han realizado observaciones citológicas preliminares, que permiten evidenciar el orígen haploide de las plantas obtenidas; durante el cultivo puede ocurrir diploidización de los proembriones por fenómenos como endomitosis por lo que es necesario recurrir a técnicas bioquímicas para su caracterización. En el caso de los haploides se llevará a cabo el conteo cromosómico en puntas de raíz del material que está en adaptación bajo condiciones de invernadero (130 plantas provenientes de varios genotipos).

El cultivo de anteras en café se está aplicando en plantas de orígen híbrido interespecífico (C. arabica x C. canephora) con el propósito de acortar el proceso de mejoramiento y de conseguir y fijar combinaciones especiales útiles al programa de mejoramiento por hibridación.

Las plantas de generaciones tempranas de origen híbrido segregan; algunas de ellas reúnen características sobresalientes las cuales se dispersan al pasar a la generación siguiente. Mediante la obtención de haploides de estas plantas se pretende fijar estas características haciéndolas homocigotas. Deberá ser posible así en pocas generaciones (2 ó 3) producir plantas homocigotas con la mayoría de las caracaterísticas de una de las especies (C. arabica) y algunas pocas características deseables de la especie diploide, las cuales pueden propagarse por semilla, sin los problemas de segregación. También podrían cruzarce para obtener híbridos F1 que reunan características complementarias y presenten vigor híbrido.

Variación somaclonal

La principal utilización práctica de la embriogénesis somática ha sido la propagación vegetativa, pero se ha evidenciado variabilidad genética en las plantas obtenidas; esta variación ha sido relacionada con la multiplicación sucesiva de células que dan origen a una estructura desorganizada denominada callo. Resultados recientes han sugerido que existe variación genética en poblaciones de plantas regeneradas directamente a partir de fragmentos de hojas (Evans, Sharp y Bravo, 1987). Se ha registrado en varias especies la ocurrencia de una serie de cambios citológicos y moleculares asociados a la variación somática, como intermcabios y rearreglos cromosómicos, activación de elementos trasponibles, mutaciones puntuales, alteración de la expresión de poligenes (Larkin et al, 1985).

Materiales y métodos

Se utilizaron hojas de plantas seleccionadas de híbridos interespecíficos pertenecientes a progenies F1, F2, y F3 de C. arabica x C. canephora.

Los árboles seleccionados para la siembra fueron tratados con el fungicida Plantvax, 3 días antes de ser recolectadas las muestras; el tipo de hojas utilizadas para la inducción de embriogenesis somática fueron hojas jóvenes, sanas y completamente desarrolladas. Se desinfectaron y se dividieron las hojas en explantes de mas o menos un cm^2.

Se utilizó para la inducción de embriogénesis un medio simple con bajas concentraciones de sales minerales y de Benzil Adenina, como regulador de crecimiento, con el fín de minimizar los efectos deletereos ocasionados por concentraciones elevadas de auxinas y citoquininas, como las descritas en la mayoría de los trabajos en café (Sondahl y Sharp, 1987; De Peña et al).

Resultados

La obtención de embriones directamente a partir de tejido foliar permite la regeneración de plantas fenotipicamente normales; con un potencial de variación genética inherente a la variabilidad de las células presentes en el tejido y a la ocurrencia de fenómenos como retrocruzamiento mitótico, ampliación de secuencias de DNA y ruptura de ligamentos indeseables (Larkin et al, 1985).

Las primeras manifestaciones embriogénicas observadas en el tejido foliar cultivado en el medio de embriogénesis somática directa, ocurrieron después de ocho semanas de cultivo. Se observaron estructuras globulares blancas alrededor de los fragmentos de hoja, posteriormente se evidenció la proliferación de embriones en diferentes estados de desarrollo, de color, forma y consistencia similares a los embriones cigóticos.

Los embriones individualizados se subcultivaron en medio de igual composición, se desarrollaron hasta el estado de plántulas con hojas cotiledonares; durante el desarrollo se manifestaron algunas anormalidades, como engrosamiento de la parte aérea, e inhibición en la emisión de raíz. Las plántulas sufren un ennegrecimiento y posterior necrosis; en algunos puntos, como la base del hipocotilo y los cotiledones comienza a proliferar una segunda generación de embriones, mucho mas normales y viables que los anteriores.

Las anormalidades observadas en los embriones se deben a los subcultivos en el medio de embriogénesis somática directa con Benzil Adenina, que aunque en baja concentración puede causar inhibición y poliploidía debido a su similitud con los ácidos nucleicos (purinas).

Una etapa de ocho semanas de inducción de embriogénesis, en el medio ESD y un posterior subcultivo en medio simple sin reguladores de crecimiento ha redundado en mejor desarrollo de los embriones sin perjudicar el potencial de embriogénesis; aún en medio simple se obtiene una taza elevada de embriones secundarios.

Se tiene un total de 270 plantas en condiciones de almácigo; deberán ser evaluadas a través de técnicas citológicas y bioquímicas que permitan la caracterización de estas variantes o la comprobación de su estabilidad genética.

Con la producción de plantas a partir del tejido somático de orígen híbrido en café, se pretende primero definir si existe o no variación somaclonal, especialmente aquella no inducida y en que porcentajes ocurre. En el caso de células somáticas de origen híbrido que reunen características genéticas de dos especies, deberán producirse embriones y plantas variantes o recombinantes diferentes a aquellas producidas por semilla.

Las plantas obtenidas en el cultivo de anteras y los variantes somaclonales son quizás el único recurso con que cuenta el mejorador para continuar el proceso en aquellas combinaciones interespecíficas practicamente estériles, tales como los híbridos F1 entre C. arabica x C. stenophylla y C. arabica x C. salvatrix.

Todas las plantas producidas por los métodos de cultivo "in vitro" se incorporarán para su evaluación y selección al programa de mejoramiento genético del cafeto y se continuará con los esquemas convencionales.

ABSTRACT

Plant tissue culture offers wide possibilities to coffee breeding by increasing the probabilities of obtaining a greater number of interspecific hybrid combinations and new genetic combinations difficult or imposible to obtain through conventional plant breeding. It is also posible to find new genetic variants from somaclonal variation and to have new homocigotic hybrid lines from duplicated haploids.

In Cenicafé, we have developed and established the basic methodologies to supply new materials for increasing the genetic variability of C. arabica by offering a way to introduce desirable charactheristics from the diploid species.

The results can be briefly present as follow: 3.800 inmature embryos were cultured in vitro from developing coffee berries, recovering hydrid plants between C. arabica and C. canephora, C. stenophylla, C. liberica, C. racemosa and C. congensis.

There are more than 1.000 developing embryos from anther culture, we have 130 plants in the green - house, from interespecific hybrids. They will be citologically analized, duplicated and field evaluated.

We have had succes with direct somatic embriogenesis; there are more than 4.000 plantlets "in vitro" and 270 plants in the green-house. They are usefull to evaluate them like somaclonal variants or as clonal propagation.

BIBLIOGRAFIA

ARCILA, M.L.; OROZCO, F.J. 1987. Estudio morfológico del embrión de café. Cenicafé 38(1-4): 62-78 Chinchiná. Colombia.

_____. Descripción histológica del embrión de café. Cenicafé 38(1-4): 79-93 Chinchiná, Colombia.

ASCANIO, C.E.; ARCIA. M.A.; 1987. Haploids from anther culture in Coffea arabica L. In: International Congress of plant tissue culture. Tropical species. Abstracts. Bogotá

BERTHAUD, J. et al 1987. Utilization of Coffea canephora haploids: Results of studies in progress. 12 Colloque ASIC. Montreux. Pp 453-458.

BOLLON, H.; RAQUIN, C. 1987; Haplomethods: A tool for crop improvement. In: Nestlé research news 1986/87. Pp 81-91.

CARVALHO, A.; MONACO, L. 1958. Relaciones genéticas de especies seleccionadas de Coffea. IICA. Lima Pp 19.

DE PEÑA, M. 1984. Somatic Embryo induction and plant regeneration from C. canephora and C. arabica. Simposio sobre ferrugens do cafeeiro. Centro de Investigacao das ferrugens do cafeeiro, Oeiras, Portugal.

DUBLIN P. et PARVAIS J.P 1976. L'haploid spontânee lée á la poliembryonie chez le Coffea arabica Café Cacao The XX 83-90.

EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; BRAVO, J.E. 1987. Plant somaclonal variation and mutagenesis. In: Nestlé research news 1986/87. Pp 63-71.

LANAUD C. et PARVAIS, J.P. 1980. Observations avant mise en culture de divisións anormales des noyaux de grains de pollen de caféiers induits au froid. Influence du stade de développement lons de induction 9e Collegue ASIC, Vol. II. Pp 547-554.

LARKIN, R.J. et al 1985. Somaclonal variation impact on plant Biology and Breeding strategies In: Biotechonology in plant science. Relevance to Agriculture in the Eighties (Eds). Zaithin, M; Day; Pand Hollaender, A; Academic Press, Inc. Pp 83-100.

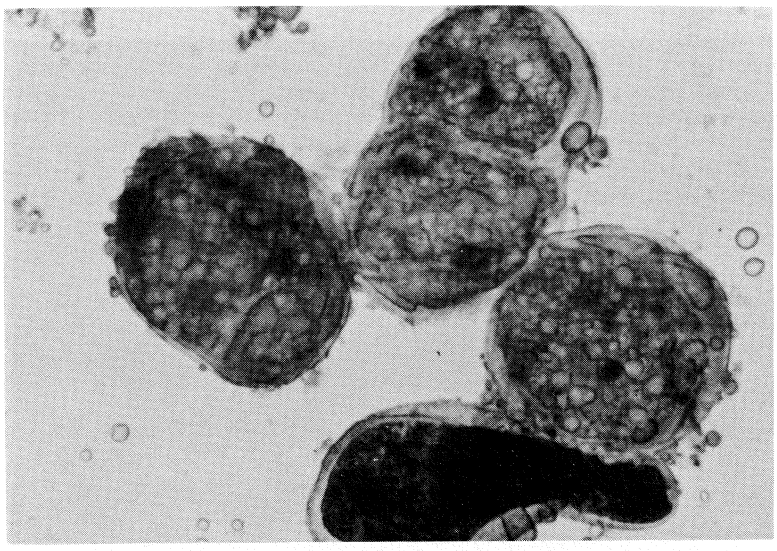
RAGHAVAN, V. 1986. Pollen developmental biology in cultured anthers. In: Cell culture and somatic cell genetics of plants (Ed) Vasil. Vol.3. Pp 275-304.

SONDAHL, M.; MARTINS, S. 1980. Culture de embriao do café. En: Congreso Brasilero de pesquisas caffeeiras Resumos. Pp.95.

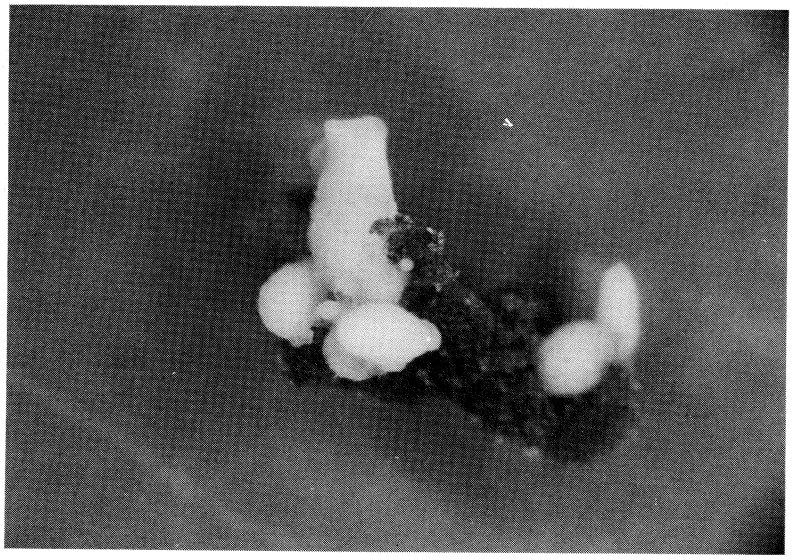
_____; SHARP, W. 1987. High frequency induction of somatic embryos in culture leaf explants of Coffea canephora L. Z. Pflanzenphysiol. Vol. 81 Pp 395-408.

ZHENGHUA, C. 1986. Induction of androgenesis in woody plants. In: Haploids of higher plants in vitro. (Ed) Huhan et al. Pp 42-66.

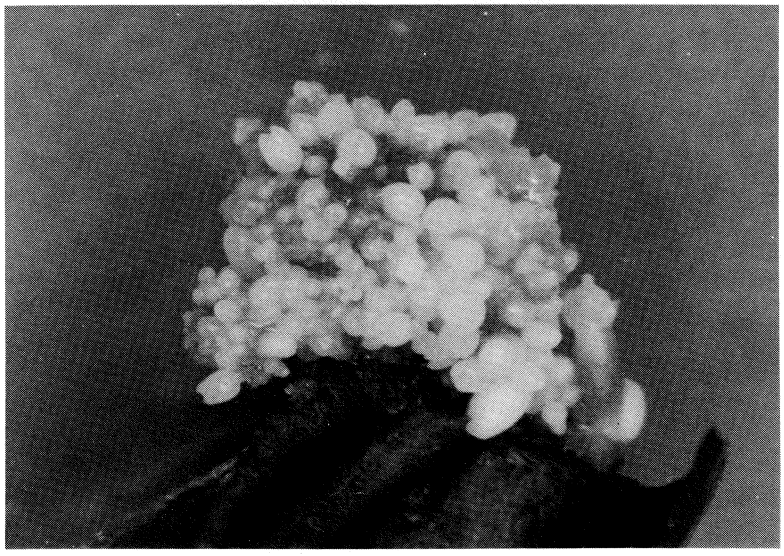
1. Plántulas obtenidas de embriones híbridos inmaduros, en medio simple.



2. Observaciones citológicas del desarrollo de embriones a partir de granos de polen, en cultivo de anteras.



3. Efecto positivo en el desarrollo y diferenciación de embriones de antera, en presencia de un tejido nodriza.



4. Primeras manifestaciones embriogénicas de un trozo de hoja, en 8 semanas de cultivo.

MICROPROPAGATION BY NODAL CULTURE OF CULTIVARS CATURRA, GEISHA AND CATIMOR REGENERATED *IN VITRO*

T. OLIVEIRA RIBEIRO *, M. F. CARNEIRO
Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, 2780 Oeiras, Portugal

INTRODUCTION

The *in vitro* node culture is probably the safest method of micropropagation in order to obtain coffee plants true-to-type.

In each orthotropic node of coffee plants there are more or less 10 dormant buds. *In vitro* development induction of that buds, breaking down the apical dominance has been exploited as a means of coffee plant multiplication (Custer, 1980, Dublin, 1980, Söndhal and Nakamura, 1980, Nakamura and Söndhal, 1981, Dublin, 1984, Berthouly and Guzman, 1987, Carneiro and Ribeiro, 1989_a).

There are two important constraints in this process; the low percentage of efficiency in explant sterilization and the difficulty to break down the apical dominance which is very important in coffee plants. These two limiting factors were stressed by Custer (1980), Dublin (1980), Söndhal and Nakamura (1980), Nakamura and Söndhal (1981), Dublin (1984) who did not achieve high rates of multiplication, using that technique.

In spite of the difficulties stressed before, Berthouly and Guzman (1987) and Carneiro and Ribeiro (1989_a) obtained high levels of plant multiplication respectively in cultivars Catimor and Caturra, using this methodology in plants cultivated in the greenhouse.

To overcome the constraints of the methodology, we carried out, experiments starting from coffee plants produced *in vitro* by meristem culture (Carneiro and Ribeiro, 1989_b). In this communication are presented and discussed the results concerning the establishment

* The first author worked with a grant awarded by the "Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica" (JNICT).

of this technique in two *Coffea arabica* cultivars, Caturra Amarelo and Geisha, and in one interspecific tetraploid hybrid, Catimor, regenerated *in vitro* by meristem culture.

MATERIAL AND METHODS

In vitro regenerated plants by meristem culture of cvs. Caturra Amarelo (CIFC 1637/10-289), Geisha (87/1) and Catimor (6869/2) were used (Fig. 1).

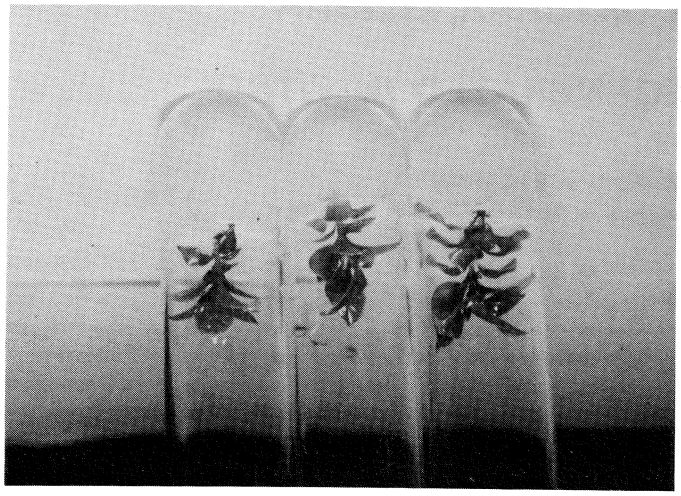


Fig. 1 - *In vitro* regenerated plants of cv. Caturra Amarelo by meristem culture.

Each plant was approximately 5 cm. high and had 11-12 nodes. The nodes were numbered from 1 to 12. The first node corresponded to the apical bud. Each explant was constituted by one node with 2 leaves cut in half or less. They were cultured in French square flasks containing 10 ml of MS (Murashige and Skoog, 1962) medium, supplemented with myo-inositol 550 µM, nicotinic acid 30 µM, pyridoxine-HCL 15 µM, thiamine-HCL 50 µM, L-cysteine-HCL 170 µM, indol acetic acid 0.5 µM, 6-benzylaminopurine 50 µM, sucrose 5.8 x 10^{-2} M, agar 0.9% and pH adjusted to 5.6.

The removal of the primary developed shoots on the axills of the node took place after 10 weeks of culture. The shoots were removed and cultured in multiplication medium (Carneiro and Ribeiro, 1989_b) in order to induce multiple shoots. The original microcuttings were cultivated in fresh medium in order to induce the development of the other arrested axillary buds. After the first removal of the shoots, they were subcultured every 10 weeks in the multiplication medium. The effectiveness of axillary bud proliferation for the three cultivars was evaluated by the mean value of shoots produced by nodes in 2 subcultures.

In each subculture, the removed shoots with 2-3 pairs of leaves were cultured in root inducing medium, constitued by MS (1962) mineral salts at 1/3 strength, supplemented with B_5 vitamins (Gamborg *et al.*, 1968) indol acetic acid 5.7 µM, indol butyric acid 2.4 µM, sucrose 8.8 x 10^{-3} M solidified or not with agar 0.8%. When liquid media was used, the shoots were placed on bridges of Whatman Nº1 filter paper which were dipped into 5 ml of medium.

In all the media Difco Bacto Agar was used. The pH was adjusted prior to autoclaving at 1 PSI, 120°C, during 20 minutes. The cultures were maintained at day/night temperatures of 28/26°C. Under 16 hours light and 8 hours dark.

RESULTS

The break down of apical dominance was achieved 8-10 days after the beginning of the culture when the first signs of axillary shoot proliferation was observed (Fig. 2).

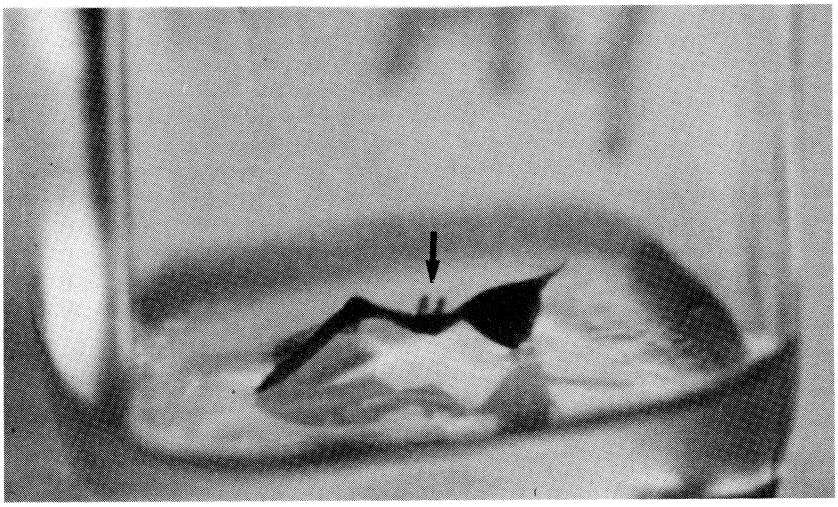


Fig. 2 - Microcutting of cv. Caturra Amarelo, after 8-10 days in culture, showing the first signs of axillary shoot development. (arrow)

During the first culture of nodes we observed 0% of oxidation in the three assayed cultivars from the 1st to the 3rd node (Table 1). This percentage increased beginning at the 4th node and reached 100% in the last nodes.

Table 1 - Evolution of the percentage of oxidation at different levels of node isolation in three assayed cultivars: Caturra Amarelo, Geisha and Catimor.

	Oxidation %		
Node level of isolation	Caturra Amarelo	Geisha	Catimor
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	40	33
5	100	80	0
6	100	80	66
7	50	100	66
8	100	100	66
9	100	100	100
10	100	100	100
11	0	100	100
12	100	100	100

The results concerning the number of cultivated nodes in each plant, the percentage of nodes giving axillary developed shoots and the evolution in the number of shoots during 20 weeks of culture are ilustrated in tables 2, 3 and 4. The development of the dormant

Table 2 - *In vitro* development of shoots through nodal culture cv. Caturra Amarelo during 20 weeks

Node level of isolation	Nº of cultivated nodes	% of nodes producing shoots	Nº of shoots in 1st subculture	Nº of shoots in 2nd subculture	Total accumulated shoots
1	2	100	4	12	16
2	2	100	10	9	19
3	2	100	4	8	12
4	2	50	2	5	7
5	2	0	0	0	0
6	2	0	0	0	0
7	2	50	2	0	2
8	2	0	0	0	0
9	2	0	0	0	0
10	1	0	1	4	0
11	1	100	0	0	0
12	1	0	0	0	0
Total	21	9	23	38	61

mean value shoots/node - 6.77

Table 3 - *In vitro* development of shoots through nodal culture of cv. Geisha during 20 weeks.

Node Level of isolation	Nº of cultivated nodes	% of nodes producing shoots	Nº of shoots in 1st subculture	Nº of shoots in 2nd subculture	Total accumulated shoots
1	5	100	13	6	19
2	5	100	9	6	15
3	5	100	11	0	11
4	5	40	4	0	4
5	5	40	1	0	1
6	5	40	2	0	2
7	5	0	0	0	0
8	4	0	0	0	0
9	2	0	0	0	0
10	1	0	0	0	0
11	1	0	0	0	0
12	1	0	0	0	0
Total	44	21	40	12	52

mean value shoots/node - 2.47

Table 4 - *In vitro* development of shoots through nodal culture of cv. Catimor during 20 weeks.

Node Level of isolation	Nº of cultivated nodes	% of nodes producing shoots	Nº of shoots in 1st subculture	Nº of shoots in 2nd subculture	Total accumulated shoots
1	3	100	9	4	13
2	3	100	9	2	11
3	3	66	4	0	4
4	3	66	4	0	4
5	3	66	3	0	3
6	3	33	3	0	3
7	3	33	3	0	3
8	3	33	1	0	1
9	3	0	0	0	0
10	3	33	1	0	1
11	3	0	0	0	0
12	-	-	-	-	-
Total	33	16	37	6	43

mean value shoots/node - 2.68

buds was quicker in the higher localized nodes and the rate of multiplication, i.e., the number of developed shoots (Fig. 3-A, B) per node decreased from the first node, the apical node, to the subsequent nodes, and from the 1st to the 2nd subculture except in the cultivar Caturra Amarelo. The rates of multiplication obtained were: 6.77, 2.47 and 2.68 respectively in cvs. Caturra Amarelo, Geisha and Catimor.

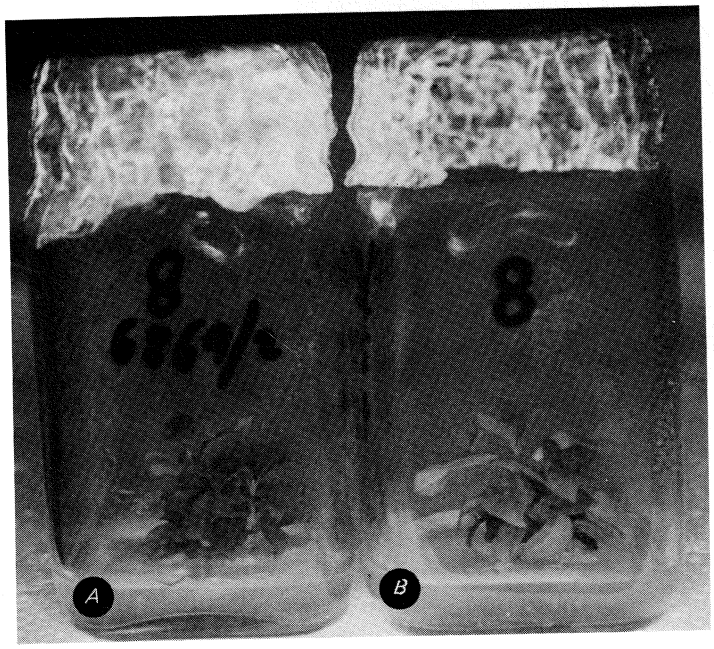


Fig. 3-A,B - Microcuttings of cvs. Catimor (A) and Geisha (B) showing a proliferating shoot mass.

As far as rooting is concerned, the results are summarized in table 5. The rooting was achieved quicker in solid medium than in liquid medium. The results only refer to

Table 5 - *In vitro* rooting of the three assayed cultivars: Caturra Amarelo, Geisha and Catimor in solid (S) and liquid (L) media.

Cultivars	Culture media	Nº of cultivated shoots	Nº of rooted shoots	Rooting (%)
Caturra Amarelo	S	10	6	60
	L	10	6	60
Geisha	S	10	4	40
	L	10	0	0
Catimor	S	10	6	60
	L	9	2	22.22

two months in rooting culture medium. In further observations, the percentage of rooting increased, i.e., almost all shoots rooted (Fig. 4). The regenerated plants presented a good percentage of survival when transferred to an acclimatization chamber. The regenerated plants presented the phenotype of the mother plants (Fig. 5).

Fig. 4 - Regenerated plants in rooting liquid medium.

Fig. 5 - Regenerated plants in an acclimatization chamber.

DISCUSSION

The importance of apical dominance in coffee plants and the necessity of break down that dominance to induce the development of axillary arrested buds, is well known.

According to Sachs and Thiaman (1967), the interaction of cytokinin/auxin has an important role in the control of the axillary bud activity. Elfving (1985) refers to growth regulators, such as cytokinin which stimulate the development of axillary buds in apple plants. Lundergan and Janick (1980) induced shoot proliferation in apple plants utilizing benzylaminopurine (BAP). Smith *et al.* (1986) mention the high levels of cytokinin/auxin to break down the apical dominance in cassava. Söndhal and Nakamura (1980), Nakamura and Söndhal (1981) and Carneiro and Ribeiro (1989_a) achieved that goal with 50 µM of BAP and 0.5 µM of IAA in more or less 3 weeks in *Coffea arabica* cultivars Mundo Novo and Caturra, respectively.

The analysis of the results here presented demonstrate that it is possible to obtain a precocious break down of apical dominance in coffee plants by reducing the crucial period of that phenomenon to 8-10 days starting from plants regenerated *in vitro*. Although high percentages of oxidation were obtained, reaching 100% in lower localized nodes, there were no problems of contamination by bacteria and fungi.

The rates of multiplication were satisfactory considering the small period of 20 weeks of culture and they were: 6.77, 2.47 and 2.68, respectively for Caturra Amarelo, Geisha and Catimor.

The results are very important with the perspective of mass propagation of superior genotypes of *Coffea* spp. in order to obtain rapid data of its adaptation to field conditions.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Dr. Carlos José Rodrigues Jr., Director of "Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro" for his valuable advise and for revision of English manuscript. The authors also acknowledge the financial support from "Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica" (JNICT).

REFERENCES

Carneiro, M.F.N. and **Ribeiro, T.M.O.** 1989_a - *In vitro* micropropagation of *Coffea arabica* L. cv. Caturra by means of axillary buds (In press).

Carneiro, M.F.N. and **Ribeiro, T.M.O.** 1989_b - *In vitro* culture of meristems and plant regeneration in some gemotypes of *Coffea arabica* L. (In press).

Custer, J.B.M. 1980 - Clonal propagation of *Coffea arabica* L. by nodal culture. In ASIC 9éme. Colloque Scient. Intern. sur le Café 16-20 Juin. Londres, pp. 589-596.

Dublin, P. 1980 - Multiplication végétative *in vitro* de l'Arabusta. *Café Cacao Thé* **24**: 281-289.

Dublin, P. 1984 - Techniques de reproduction végétative *in vitro* et amelioration génetique chez les caféiers cultivés. *Café Cacao Thé* **24**: 181-190.

Elfving, D.C. 1985 - Comparison of cytokinin and apical dominance - inhibiting growth regulators for lateral-branch induction in nursery and orchard apple trees. *J. Hortic. Sci.* **60**: 447-454.

Gamborg, O.L., Miller, R.A., Ogima, K. 1968 - Nutrients requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell. Res.* **50**: 151-158.

Murashige, T. and **Skoog, F.** 1962 - A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum* **15**: 473-497.

Nakamura, T., Söndhal, M.R. 1981 - Multiplicação *in vitro* em *Coffea* spp. 9º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. São Lourenço, Minas Gerais 27-30 Out. pp. 161-163.

Sachs, T., Thiaman, K.V. 1967 - The role of auxins and cytokinins in the release of buds from dominance. *Nature* **20**: 939-940.

Smith, M.K., Biggs, B.J., Scoot, K.J. 1986 - *In vitro* propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **6**: 221-228.

Söndhal, M.R., Nakamura, T. 1980 - Propagação vegetativa *in vitro* de *Coffea* spp. In: Resumos do 8º Congresso Brasileiro de Pesquisas do Cafeeiro 25-28 Nov., p. 129.

Abstract

Micropropagation through nodal culture of *in vitro* regenerated plants of cvs. Caturra, Geisha and Catimor was achieved by culturing in MS medium supplemented with tiamine-HCL 50 µM, pyridoxine-HCL 15 µM, nicotinic acid 30 µM, myo-inositol 550 µM, L-cysteine-HCL 170 µM, indol acetic acid (IAA) 0.5 µM, 6-benzylaminopurine (BAP) 50 µM, sucrose 5.8 x 10^{-2} M and pH adjusted to 5.6.

The break down of apical dominance was achieved in 8-10 days when the first signs of shoot proliferation were observed.

Multiple shoots were induced by culturing the primary shoots in MS medium supplemented with B_5 vitamins, IAA 1.1 µM, BAP 8.8 µM, sucrose 8.8 x 10^{-2}M and pH adjusted to 5.8.

Rooting was induced by culturing the shoots in liquid and solid media, with MS mineral salts reduced to 1:3, supplemented with B_5 vitamins, IAA 5.7 µM, indol butyric acid (IBA) 2.4 µM, sucrose 8.8 x 10^{-3} M, agar 0.8% and pH adjusted to 5.6.

Results concerning the break down of the apical dominance, the multiplication rate and plant regeneration will be discussed.

INVESTIGATIONS ON THE ADSORPTION BEHAVIOUR OF CAFFEINE ON COMMERCIAL ACTIVATED CARBONS

P. W. GABEL, H. K. CAMMENGA
Inst. Phys. Theoret. Chemistry, Lab. Appl. Phys. Chem.,
Technical University of Braunschweig
D-3300 Braunschweig, F.R. of Germany

During the last 5 years we have been engaged in the adsorption- and desorption behaviour of caffeine on commercial activated carbons (1, 2,3,4). This poster describes some hitherto non-published details of our investigations.
The poster presents the results of all the adsorption isotherms from a thermostated solution at 20 °C which have been carried out. The kinetics of adsorption from aqueous phase were followed by adding weighed samples of adsorbent to solutions of known caffeine concentration and following the change in solution concentration by UV-spectrophotometry.
Several different mathematical models (5) were tested. The D 2 - type, the two dimensional diffusion, and D 4 - type, GINSTLING-BROUNSHTEIN diffusion, are in good accord with the experimental data sets (Fig.1 and Fig.2). The reaction rate constant, k, for the D 2 - type is:

range min	k s^{-1}
0 - 510	$k = 8.27 * 10^{-5}$
510 - 2550	$k = 5.50 * 10^{-5}$

Some other characteristics, the chemical nature of the internal carbon surface and the pore size distribution, of the activated carbons investigated are presented. Table 1 gives a comparsion of the adsorbents tested, their pH-values, BET-(N_2) surface areas and the calculated "caffeine specific" surface areas.

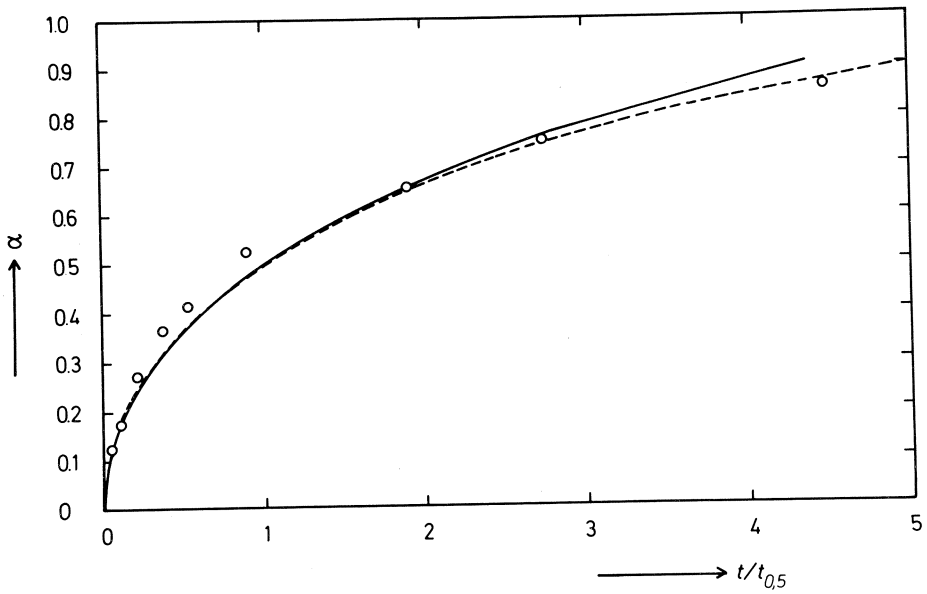


Fig. 1 Amount of caffeine adsorbed by No. 11 DEGUSSA F 30 as a function of reduced time
——— D 2 two-dimensional diffusion
----- D 4 GINSTLING-BROUNSHTEIN diffusion
ooooo data sets

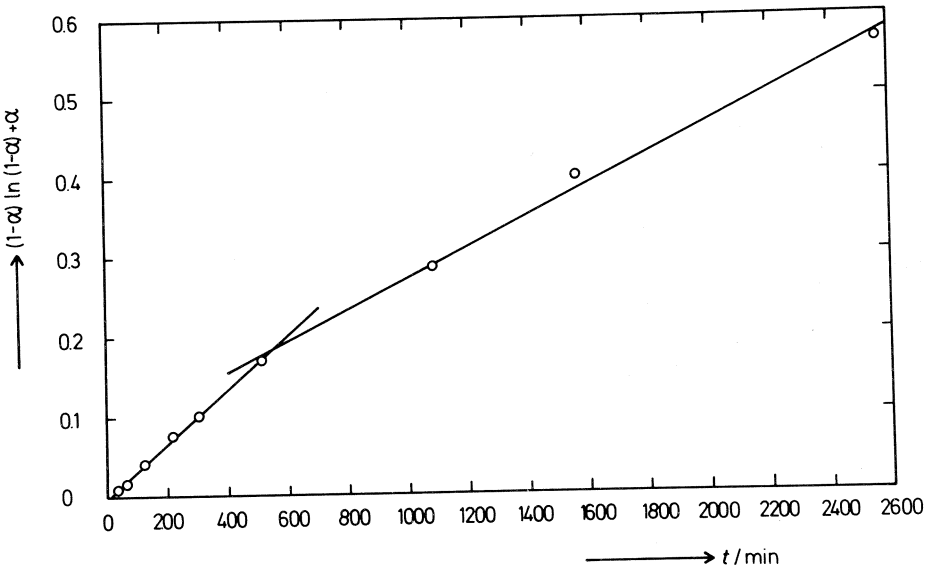


Fig. 2 D 2 - plot, two-dimensional diffusion, for the data sets of Fig. 1

Table 1

No.	activated charcoal	substance	pH-value	BET - surface (m² / g)	
				N_2-AREAmeter	"caffeine - specific"
1	reference coal	coal	6 - 7	876 ± 56	228
2	CECA	coconut	9 - 10	799 ± 71	190
3	NORIT R 3	peat	9 - 10	1476 ± 66	359
4	NORIT RO 3	peat	9 - 10	923 ± 40	165
5	MERCK 2514	coal	6 - 7	1109 ± 54	168
6	DEGUSSA C 20	coconut	9 - 10	736 ± 39	134
7	DEGUSSA C 35	coconut	8 - 9	1137 ± 61	226
8	DEGUSSA C 45	coconut	8 - 9	1021 ± 71	336
9	DEGUSSA AS 30	anthracite	8 - 9	1298 ± 87	303
10	DEGUSSA BK IV	browncoal	7 - 8	824 ± 41	154
11	DEGUSSA F 30	charcoal	8 - 9	1320 ± 48	334
12	CHEMVIRON BPL	coal	6 - 7	955 ± 60	203
13	CHEMVIRON SCX II	coconut	7 - 8	760 ± 83	101
14	CHEMVIRON SC II	coconut	9 - 10	1123 ± 115	188
15	ERBSLÖH CC 612	coal	8 - 9	795 ± 18	120

References :

(1) P. W. GABEL and H. K. CAMMENGA, Thermochim. Acta 83 (1985) p 89 - 97

(2) P. W. GABEL, K. HINRICHSMEYER and H. K. CAMMENGA, Proc. XI Int. Coll. on Coffee ASIC (Association Scientifique Internationale du Café), Lomé Togo, 1985, p. 369 - 380

(3) P. W. GABEL, S. SARGE and H. K. CAMMENGA, Proc. XII Int. Coll. on Coffee ASIC Association Scientifique Internationale du Café), Montreux/Schweiz, 1987, p. 306 - 312

(4) P. W. GABEL, Thesis Braunschweig 1988

(5) J. H. SHARP, G. W. BRINDLEY and B. N. ACHAR, J. Amer. Ceram. Soc. 49 (1966) 379

B. NEUENSCHWANDER, T.W. BAUMANN (University of Zurich, Switzerland)

OPTIMIZATION OF SOMATIC EMBRYO PRODUCTION IN SUSPENSION CULTURES OF *Coffea arabica*

Summary

A method for the initiation, proliferation, maturation and germination of high frequency somatic embryos (HFSE) in suspension cultures of *Coffea arabica* is presented. Special emphasis is given to the maturation process which can be accelerated by abscisic acid. The investigations show the suitability of the liquid system to produce an almost unlimited number of viable somatic embryos for large scale applications. Masses of well discernible embryogenic clumps containing 8 to 30 cells are formed which are considered to be the ideal source for direct gene transfer by microinjection.

Leaf disks are placed on a conditioning medium to promote the formation of primary callus tissue which when transferred to the liquid induction medium exhibit a high embryogenic potential. Prior to the transfer of the primary tissue into the induction medium, a proliferation step of one month yields a homogeneous suspension consisting of small aggregates. This step may be omitted, however, it is a prerequisite for the exclusive and synchronized HFSE formation during the induction step. One subcultivation during the induction phase appears to be essential.

For example, by means of this protocol, 2.4 g of primary tissue produced 2.6 g of proembryos equal to about 21,000 somatic embryos. Scaling up and maintenance of embryogenic tissue production may be easily achieved.

After removing the majority of the proembryos and replacing the old medium with fresh medium, the same quantity of embryogenic tissue regrows within one month. When the proembryos are left in the induction medium, a considerable fraction of them will spontaneously mature and almost reach the size of zygotic embryos. However, maturation is attained more rapidly by transferring the globular proembryos to fresh liquid or semi-solid media containing abscisic acid. Finally, a specifically designed germination medium induces fast simultaneous development of the primordia into both root and shoot.

M.F. CARNEIRO, M.E. MIRANDA GUEDES (CIFC, Oeiras, Portugal)

ESTERASE ISOENZYME PATTERN AND HISTOCHEMICAL LOCALIZATION DURING MICROSPOROGENESIS IN TWO COFFEES *cvs* CATUAI AND CATIMOR

Summary

It is well known that the differentiation of tissues in plant organs is accompanied by changes in the activity of various enzymes.

This communication deals with the occurrence of esterase isoenzymes and the histochemical localization in the various tissues of the anthers during seven development stages ranging from premeiosis to young pollen in two coffee cultivars Catuaí and Catimor.

The role of this enzyme in the differentiation of the various tissues of the anthers will be discussed.

J. NGUYEN BAN et al. (IRCC/IRA, Yaoundé, Cameroun)

VARIATION D'ABONDANCE DES CHENILLES "QUEUE DE RAT", Epicampoptera sp. DANS L'ECOSYSTEME DU CAFEIER CULTIVE A ABONG MBANG (SUD-EST CAMEROUN)

Résumé

Au Cameroun, les chenilles d'Epicampoptera sp. (Lépidoptère - Drepanidae), ou chenilles "queue de rat", figurent en bonne place dans la cohorte des ravageurs qui défolient les caféiers de basse et moyenne altitudes.

C'est ainsi que, dans la région d'Abong Mbang, des centaines d'hectares plantés en Canephora robusta de la Compagnie Forestière Sangha Oubangui (CFSO) subissent annuellement des dégâts imputables aux chenilles défoliatrices.

Dans cet agrosystème de type industriel, les deux espèces dominantes, responsables des défoliations, sont E. strandi (Bryck) et E. marantica (Tams).

L'étude de leur répartition spatio-temporelle dans le même biotope révèle un décalage dans les deux cycles évolutifs. Néanmoins, il s'est avéré que, dès le début de leur invasion, une compétition interspécifique s'était installée, qui conduisait, en l'espace de quelques années, à la raréfaction de l'une des deux espèces antagonistes.

A l'appui de ces constatations, les observations sur le rôle des parasites oophages dans l'écosystème, suivies d'une expérimentation en laboratoire, ont fourni des éléments explicatifs à la compréhension du "phénomène de substitution".

Les connaissances acquises, d'une part, au niveau de l'impact des molécules chimiques sur l'entomofaune nuisible et utile, d'autre part, sur les interactions entre compétiteurs dans le même habitat, donnent matière à réflexion sur une stratégie de lutte raisonnée, plus adaptée à la caféiculture intensive.

F. CRUZ, E. MORALES (LIQC, Bogotá, Colombie)

PRODUCCION DEL HONGO Beauveria bassiana PARA EL CONTROL DE LA BROCA DEL CAFE Hypothenemus hampei

Summary

A study of the particularities of the mycelial growth and sporulation of selected mutants of the fungus Beauveria bassiana in surface culture on industrial substrates is being carried out.

Results are presented about physical and chemical variables that exert inhibition or stimulation of the growth kinetics of B. bassiana: Obtention of the optimal growth and sporulation parameters in surface culture on natural media of an improved strain, adapted to the environmental conditions of the coffee growing areas; production of mutants of Beauveria bassiana and screening procedures; identification and control of critical factors for mass production of conidias and technical feasibility of the use of B. bassiana in an insecticidal formulation for the coffee borer H. hampei.

J.E. MAYER (RWTH, Aachen, Fed. Rep. Germany)

RESISTANCE AT THE MOLECULAR LEVEL

Summary

Many important crops have been well characterized genetically over the years by breeders. This provides us with some information about the genetic basis of resistance mechanisms to

disease, and in some cases with lines isogenic for the resistance trait. Isogenic lines offer the possibility of doing comparative work at all levels and make molecular approaches feasible in systems not accessible to transformation and regeneration, like cereals.

In our laboratory we are searching for the molecular basis to resistance to the wheat stem rust. Our model system is an isogenic pair of wheat cultivars which differ only in the chromosome carrying the gene locus conferring resistance to the rust in the form of the hypersensitive cell death, the strongest kind of resistance in a host-parasite interaction.

We are comparing both lines with the aid of differential screening techniques at different levels:
1. comparison of genomic banks and cDNA banks of noninfected plantlets,
2. comparison of cDNA banks of fungal cell wall elicitor-treated plants, and
3. comparison of cDNA banks from pathogen-treated plants.
The rationale behind this approach is to dissect the defense-related transcriptional events in both lines, and then by a substractive approach differentiate between the constitutively expressed, the elicitor-induced, and the pathogen-induced genes.

By these means we aim to gather a significant amount of basic information on defense-related processes at the molecular level. Much information has been obtained during the last decade at the physiological level. It should be possible now to correlate our molecular findings to the physiological observations and to fill in some gaps with new information. In situ hybridisation with probes to defense-related genes, added to the data on the kinetics of expression may give a physiological picture of the gene in question as its spatial, temporal and tissue-specific distribution after infection.

Plants respond rapidly to external stimuli. In the nonhost system parsley-Phytophthora megasperma f.sp. glycinea we have found a specific, calcium-dependent, elicitor-induced protein phosphorylation happening already at 1-2 minutes after elicitor addition to cell suspension cultures. Thus, this event is the fastest ever measured after elicitation. For one or more of the phosphorylated proteins a role as a signal-transductor, becoming phosphorylated after binding to the elicitor and acting more or less directly as a transcriptional activator of defense-related genes is put forward.

C. VILLEGAS GARCIA (CENICAFE, Chinchiná, Colombie)

FACTORES NATURALES QUE INTERVIENEN EN LA DISPERSION DE ESPORAS DE LA ROYA DEL CAFETO (Hemileia vastatrix Berk. y Br.)

Resumen

En este trabajo, realizado en Chinchiná, Caldas, se estudiaron algunos de los factores naturales que intervienen en la dispersión de esporas como son: la lluvia, el viento y los insectos.

La lluvia se midió en pluviómetros colocados en la gotera de los árboles enfermos, durante cuatro meses consecutivos. El viento colocando portaobjetos como trampa de esporas, distribuídos de una manera radial en el lote a partir del foco; además, se captaron insectos permanentemente, con trampas y jamas.

Se concluyó que la cantidad de esporas captadas diariamente están en función del inóculo presente, el cual se ve alterado por las lluvias ocurridas en los días anteriores y la intensidad de las mismas. Precipitaciones hasta de 1.6 mm/día en el mes de agosto arrastraron hasta 1.600 esporas en 0.2 mm captados en la gotera del árbol. Se puede observar quel el mayor número de esporas captadas se encontraron en el mes de agosto coincidiendo con la fase exponencial de la enfermedad medida en árboles. Se ve una tendencia marcada en el factor viento, en cuanto a la dispersión en el lote. Los mayores vientos ocurridos en el mes de agosto dispersaron la mayor cantidad de esporas, encontrándose en las trampas, mayor número en la dirección predominante de los vientos en la zona (Suroeste). La cantidad de esporas captadas, no presentaron relación en cuanto a la distancia a partir del foco, ni en los niveles del mismo árbol, talvez por las turbulencias que ocurren a nivel del cultivo. Finalmente, se encontraron las siguientes familias con esporas de roya:

Loncheidae, Staphilinidae, Apidae, Drosophilidae, y la larva de un díptero, posiblemente de la familia Mycetophilidae, la cual se alimenta de esporas.

B.L. CASTRO CAICEDO, A. ZAPATA G. (CENICAFE, Chinchiná, Colombie)

SELECCION DE FUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE LA LLAGA MACANA (Ceratocystis fimbriata (Ell. Halst. Hunt)) DEL CAFETO

Resumen

En CENICAFE, en condiciones de laboratorio y utilizando tallos tiernos de café variedad Caturra, se evaluó el efecto preventivo de varios fungicidas contra C. fimbriata. En zocas de seis meses de edad, se aplicaron los productos sobre la zona de corte y posteriormente se inocularon con una suspensión de esporas de 60 x 10^3 cel/ml. Los fungicidas: tiabendazol (0.9 cc/L de i.a.), cyproconazol (0.4 cc/L de i.a.), flusilazol (2.4 cc/L de i.a.) y benomil (3 g/L de i.a.) fueron los de mejor efecto preventivo, confirmando además su efectividad, al evaluar su persistencia, cuando se aplicaron solos y en mezcla con pintura vinílica de color blanco. El fungicida propiconazol, resultó ejercer buen efecto preventivo únicamente en laboratorio y a la dosis más alta (0.1 cc/L de i.a.), mientras que los fungicidas: tridemorph, mancozeb, oxicloruro e hidroxido de cobre, diniconazol y pasta bordelesa, no controlaron la enfermedad. A nivel de campo, en árboles de café, variedad Caturra, de 4 años de edad, se evaluó la actividad sistémica preventiva de los fungicidas antes seleccionados. Para ello, 15 días antes del zoqueo e inoculación del hongo con una suspensión de esporas de 8 x 10^5 cel/ml se realizó la aplicación al suelo de los siguientes fungicidas disueltos en agua: tiabendazol (4.5 cc/L de i.a.), flusilazol (4.0 cc/L de i.a.), cyproconazol (0.1 cc/L de i.a.), propiconazol (2.5 cc/L de i.a.) y benomil (5 g/L de i.a.). Ninguno de estos productos impidió el establecimiento y colonización del hongo sobre las zocas. Igualmente en campo, se evaluó el efecto curativo de los fungicidas en las dosis antes mencionadas. Para tal efecto, se zoqueó e inoculó el hongo sobre la zona de corte; un mes después se aplicaron los fungicidas al suelo alrededor de las zocas. Dos meses más tarde, no se observó ningun efecto de control.

J. CASTILLO ZAPATA (CENICAFE, Chinchiná, Colombie)

Selección por productividad, características del grano y fenotipo de la planta, en progenies F_5 de Caturra x Híbrido de Timor.

A. RIVERA FERNANDEZ (Instituto Mexicano del Café, Xalapa, Mexico)

Formación del cultivar Garnica. Desarrollo de la variedad Garnica.

M.F. RODRIGUEZ et al. (University of Zurich, Switzerland)

Chlorogenic acid in suspension cultures of coffee. Production and subcellular localization.

U.K. SCHUCH, L.H. FUCHIGAMI, M.A. NAGAO (Oregon State University and Hawaii agricultural experiment station, USA)

Gibberellic acid causes earlier flowering and fruit ripening of coffee.

M. VEGA, I.C. DE ZAMBRANO, M. QUIJANO RICO (LIQC, Bogotá, Colombie)

Determinación de Cu, Fe, Mn y Zn en hojas de cafeto sanas y infectadas por roya (Hemileia vastatrix Berk. y Br.).

M. ARCHILA, E. MORENO (LIQC, Bogotá, Colombie)

Ochratoxina a en café verde.

A. RODRIGUEZ, C.I. LOPEZ, E. MORENO (LIQC, Bogotá, Colombie)

Metodo rápido para evaluar la calidad microbiologica del café pergamino.

Otto SUWELACK (Dr. Otto Suwelack Nachf. GmbH & C°, D-4425 Billerbeck)

Freeze dried coffee.

RAPPORT DE SYNTHÈSE/SUMMARY REPORT

Rapport de synthèse

Le XIIIe Colloque de l'Association Scientifique Internationale du Café (ASIC) s'est déroulé du 21 au 25 août 1989 au centre des congrès de Paipa, dans la province de Boyacá, en Colombie. Il a réuni deux cent cinquante participants provenant de plus de trente pays. Le Dr M. Quijano Rico, Président de l'ASIC, doit être félicité pour l'organisation et le grand succès de cette manifestation scientifique.

Effets physiologiques

Le Dr H. P. T. Ammon, dans un exposé magistral sur le mécanisme biochimique de la tolérance à la caféine, a montré que les récentes recherches de différents groupes faisaient apparaître que la caféine est capable de bloquer les récepteurs membraniens A_1 et A_2 de l'adéonosine A, et par conséquent l'adénosine monophosphate cyclique (cAMP) de la cellule.

Ce blocage compétitif se produit dès que les concentrations de caféine sont de l'ordre de la nM ou de la mcM, suivant le type de récepteur de l'adénosine.

Il a en outre été montré qu'une exposition chronique à la caféine influence le nombre de sites d'attachement de l'adénosine, ce qui conduit à une augmentation générale de la sensibilité à l'adénosine. Ce mécanisme réversible est appelé régulation dynamique (« up regulation »).

Chez les animaux de laboratoire et chez les individus soumis à une exposition chronique à la caféine, la tolérance a été particulièrement observée dans le système nerveux central et dans le système cardiovasculaire. Cette tolérance peut maintenant être expliquée par la régulation dynamique des récepteurs de l'adénosine dans ces tissus à la suite d'une exposition prolongée à la caféine.

Par conséquent, une exposition aiguë à la caféine devrait être distinguée des effets biologiques d'une exposition chronique à la caféine.

Dans son exposé sur le café et le cholestérol, le Dr S. Heyden constate que sur dix études d'intervention entreprises sur ce sujet, trois seulement font apparaître une corrélation entre l'augmentation du cholestérol et l'accroissement de la consommation de café. Les résultats d'une étude étaient équivoques et ceux des six autres n'ont pas fait ressortir d'effet du café sur le cholestérol.

Dans douze expériences différentes de fréquence, aucune réduction du HDL-cholestérol n'a été observée en liaison avec l'absorption de café et quelques études ont même fait ressortir une augmentation de cette fraction lipidique considérée comme efficace contre l'infarctus du myocarde.

Une autre évidence est en outre ressortie de sept recherches récentes basées soit sur l'expérimentation, soit sur l'observation : aucun effet nocif sur le taux d'Apo-lipoprotéines AI et II n'a été observé tandis que le taux d'Apo-lipoprotéine B augmentait dans deux de ces sept expériences.

On peut donc conclure que l'éventuelle augmentation de cholestérol notée dans les études passées en revue peut être liée à de hauts niveaux initiaux de cholestérol dans le plasma des sujets et que les effets occasionnellement observés chez des sujets ayant un taux normal de cholestérol peuvent être dus au hasard.

B. H. Jacobson, dans son étude sur l'effet de la caféine sur certains paramètres de la performance physique (temps de réponse et énergie produite), a utilisé deux doses différentes de caféine : 300 à 600 mg, chez des sujets qui n'étaient pas habitués à la caféine. Le temps de réaction (TR), la durée du mouvement (TM), le couple de torsion (T) de la flexion et de l'extension du genou ont été notés.

Le dispositif expérimental est randomisé, conduit en double-aveugle, contrôlé par un placebo.

L'analyse de la variance montre un effet significatif de la dose de 300 mg de caféine sur (TR) et (TM), mais pas de la dose de 600 mg. (T) n'a été affecté par aucune des deux doses.

Il est donc possible de conclure que la caféine à des doses modérées peut avoir un effet stimulant sur les paramètres étudiés.

L'inhibition *in vivo* de la formation de la nitrosamide par le café et les constituants du café a été étudiée par le Dr H. P. Würzner, E. Jaccaud et H. Aeschbacher. La carcinogenèse est considérée comme un processus complexe en plusieurs phases. Les N-nitrosamides sont d'importants éléments mutagènes et carcinogènes chez de nombreuses espèces et dans de nombreux tissus. En se basant sur le fait que la nitrosation *in vivo* peut être

effectivement inhibée par l'acide L-ascorbique, des constituants du café tels que l'acide chlorogénique, les prémélanoïdines, les deux combinés et du café instantané ont été étudiés quant à leur aptitude à inhiber la nitrosation *in vivo* de la méthylurée par le nitrate de sodium. Deux sites biologiques ont été utilisés pour les expériences : les cellules micronucléées de la moelle et les micro-noyaux des cellules épithéliales du colon. Toutes les substances expérimentées, administrées par voie orale aux souris sensibles aux produits mutagènes se sont montrées capables d'inhiber la formation de micronoyaux, dans les deux types d'expériences, à toutes les doses utilisées, et de la ramener au niveau de formation spontanée. Il en a été conclu que le café et certains constituants du café pouvaient abaisser le risque de formation endogène de nitrosamides dans le corps et les tissus et par conséquent réduire la probabilité de la formation de tumeurs.

H. P. Würzner
Conseiller de l'ASIC
(traduction)

Chimie

Dans son exposé magistral A. Williams a insisté sur la nécessité croissante de mettre en corrélation les données expérimentales et les aspects sensoriels du café boisson. Les techniques d'entraînement d'espaces de tête ont été utilisées pour étudier les composés volatils de dix cafés mûrs et immatures après la torréfaction et dans les boissons obtenues à partir de ces mêmes cafés. Les cafés immatures contenaient plus de sulfures de diméthyle et de furanes, les cafés mûrs plus d'alkylpyrroles et d'alkylthiazoles. Une évaluation sensorielle a révélé un arôme « caramel » moins prononcé et des notes plus rances et plus « animales » pour les grains de café immatures. Les cafés boissons obtenus avec des grains mûrs étaient généralement plus acides, plus astringents et moins aigres que ceux obtenus à partir de grains immatures. Des relations mathématiques entre les données sensorielles et chimiques ont fourni des informations auxquelles des composés caractéristiques de critères sensoriels, tels que par exemple le furfurylmercaptan, l'hexanal et les terpènes, les thiophènes et les thiazoles, sont vraisemblablement liés.

R. Liardon, J. C. Spadone, E. Dentan et U. Braendlin ont présenté deux communications dans lesquelles ils ont exposé la suite de leurs travaux sur le mauvais goût rioté de certains cafés brésiliens et dont ils avaient donné les premiers résultats au 12e Colloque de l'ASIC à Montreux. Très vraisemblablement, le goût rioté est produit par certaines moisissures ou bactéries, qui sont spécifiques de certaines régions géographiques du Brésil, et est, de plus, accentué et renforcé par des conditions de post-récolte, comme un séchage lent. Une chloro-peroxydase détectée dans des moisissures de fèves riotées pourrait avoir provoqué la formation du composé chloré du mauvais goût (trichloro-anisoles).

B. Guyot et J.-C. Vincent ont fait un exposé sur les composés soufrés volatils présents dans le café torréfié, détectés par des techniques de concentration des espaces de tête et révélés par détection photométrique de flamme. Dix-huit composés soufrés, principalement des mercaptans et des sulfures de C_1 à C_5, ont été détectés ; deux d'entre eux sont probablement responsables du mauvais goût des fèves puantes.

Le deuxième exposé magistral, présenté par K. Wada, avait pour sujet l'évaluation objective de l'arôme du café à l'aide de l'analyse statistique à variables multiples. Les résultats de dégustation à la tasse d'échantillons de café ont été soumis à l'analyse de groupe statistique et mathématique. Les trente-neuf échantillons de café ont pu être classés en huit groupes, ce qui signifie que certaines variétés commercialisées peuvent être caractérisées.

Une analyse en composantes principales a été appliquée aux données résultant de la chromatographie en phase gazeuse des trente-neuf échantillons de café. Après analyse de groupe, ces cafés ont pu à nouveau être classés en huit groupes révélant ainsi une bonne corrélation entre la dégustation à la tasse et l'analyse instrumentale dans le cas du café-boisson.

Des techniques statistiques à variables multiples ont également été utilisées par J. C. Spadone et R. Liardon dans une étude sur l'entreposage du café torréfié et moulu. Les auteurs ont débattu sur un nouvel indice « d'éventé » basé sur les analyses des variations des isobutanols, des hexanals et des pyrroles au cours de l'entreposage en fonction de l'oxygène, de la température et de l'humidité. Les résultats pourraient être mis en corrélation avec ceux des jurys de dégustation.

A. M. Feria-Morales a présenté les installations et moyens de recherche offerts par l'Organisation Internationale du Café à Londres, en mettant particulièrement l'accent sur les possibilités nouvelles et améliorées de faire des analyses sensorielles avec des jurys de dégustation chevronnés, de réaliser des analyses chimiques dans des laboratoires modernes et d'entreprendre des études de consommation.

D. Le Pierrès a déterminé la taille minimale des échantillons prélevés pour les analyses de caféine à 400 fèves, si une fiabilité de 95 % est recherchée pour un lot donné.

Que faut-il entendre par un café espresso ? M. Petracco a conclu, à la suite de ses recherches, qu'un espresso contient un nombre infini de petites gouttelettes liquides qui renforcent la viscosité et la flaveur.

L. Maya-Montalvo a présenté un système de base de données bibliographiques qu'il utilise dans sa société en Colombie (CENICAFE).

Un nouveau glucide, le psicose, a été analysé par M. Blanc et J. M. Parchet. Une teneur en ce composé cinquante fois supérieure à la normale a été trouvée dans quelques cafés solubles frelatés, révélant une extraction simultanée des coques au cours du procédé de préparation des cafés solubles.

La communication de H. Steinhart et H. Kletschkus avait pour sujet la gamme des poids moléculaires des mélanoïdines dans des échantillons de café. Quatorze pics de poids moléculaires compris entre 3 000 et plus de 100 000 daltons ont été trouvés sur une colonne Pak-125.

Les acides phénoliques des pulpes de café ont été analysés par R. Martinez et M. N. Clifford : des différences capitales ont été mises en évidence entre les Robusta et les Arabica.

Biochimie

Dans le but de rechercher de nouvelles voies de produits insecticides naturels qui puissent être appliqués au caféier, R. E. Bautista, F. Moreno et R. Jullien ont analysé des cires cuticulaires de certains insectes et ont pu identifier des glucides à longues chaînes.

E. Dentan a étudié au microscope des grains de café noirs, blanchâtres et cireux et a pu expliquer leur formation.

B. Giraldo et L. Giraldo revendiquent le fait d'avoir décelé un effet inhibiteur d'extraits de café torréfié sur le développement de *Echerichia coli.*

Des études sur la biochimie des interactions caféier-rouille sont poursuivies par C. A. Ocampo et ses collaborateurs. L'augmentation des activités de certaines

enzymes consécutives aux réactions de résistance à la rouille du caféier chez des caféiers sains a été observée.

G. Fourny, E. Tchana et J.-C. Vincent ont mis à l'épreuve un procédé de fermentation rapide des Arabica basé sur l'apport d'enzymes. Une réduction très importante du temps nécessaire au traitement du café a été obtenue.

M. Quijano et ses collaborateurs ont présenté leurs travaux sur les voies d'action dans les caféiers de la superoxyde dismutase isoenzyme.

C. E. Lopez, E. Bautista et E. Moreno ont étudié la formation de flaveurs anormales dues à la fermentation au cours du traitement du café par voie humide. Une flaveur fétide a été détectée dans des grains surfermentés.

C. R. Waller et ses collaborateurs ont analysé les méthylxanthines de la cerise du caféier. Il a été trouvé que la biosynthèse de la caféine a lieu au cours du stade vert du développement du fruit. Dans un deuxième exposé, il a rendu compte de ses recherches sur l'autotoxicité de la caféine, qui peut provoquer le raccourcissement de la durée de vie des caféiers adultes.

Technologie

Le sujet de l'exposé magistral de la session de technologie, et qui a été présenté par K. Sylla, concernait la fabrication du café soluble. L'orateur a d'abord présenté une vue globale de l'aspect économique, de la composition chimique et des différentes étapes de la fabrication, étapes commençant par la manipulation du café vert, la torréfaction et la mouture du café et a poursuivi avec la description détaillée de différents principes d'extraction sans omettre les phases d'hydrolyse et d'isolement de l'arôme. Des remarques sur la concentration des extraits et sur le séchage par atomisation ou par lyophilisation ont clôturé cet exposé.

K. Dibert, E. Cros et J. Andrieu ont conduit des recherches très précises sur la cinétique de l'extraction des acides chlorogéniques du café en utilisant du méthanol 70 % comme solvant d'extraction.

L. Falla, J. Ospina et E. Posada ont présenté un travail sur les conditions d'extraction des huiles aromatiques du café dans le but de son utilisation pour l'aromatisation du café soluble.

E. Lack, H. Seidlitz et P. Toro ont présenté une communication très détaillée sur le pouvoir d'extraction du CO_2 supercritique utilisé comme solvant, particulièrement pour la caféine. Les conditions optimales d'utilisation pour l'obtention de café décaféiné ont été exposées.

J. Bastidas et E. Posada ont parlé sur la détermination de certaines propriétés physiques du café en parche, comme la densité, le pouvoir de diffusion thermique et la conductivité ou encore la chaleur spécifique et d'autres paramètres.

O. G. Vitzthum
Secrétaire scientifique de l'ASIC
(traduction)

Biotechnologies

Les journées d'Agronomie et Biologie du caféier ont débuté par un exposé magistral du Dr M. Söndahl (*) sur les biotechnologies, montrant tout le bénéfice que l'amélioration du caféier peut, dans un futur que l'on peut penser proche, tirer des manipulations *in vitro* tant au niveau cellulaire qu'au niveau moléculaire. Si les travaux de sélection ont efficacement contribué à l'augmentation de la production, la biologie moléculaire et la génétique cellulaire conduiront à des améliorations encore plus marquantes de la caféiculture et de la qualité du produit. Ont été passés en revue tous les niveaux possibles d'intervention : embryogenèse somatique, régénération à partir de suspensions cellulaires ou de protoplastes, fusions de protoplastes... L'impact de ces techniques est à prévoir sur l'abaissement des coûts de la culture, l'utilisation moindre des engrais, la solution des problèmes de maladies, l'uniformité de la récolte... et bien évidemment sur la qualité du produit, c'est-à-dire un ensemble d'améliorations sensibles au bénéfice des producteurs et des consommateurs.

(*) DNA Plant Technology Corporation, Etats-Unis.

Les ressources génétiques

La question des ressources génétiques a été développée sous différents aspects.

D. Le Pierrès et son équipe (ORSTOM) nous ont guidés dans les forêts qui subsistent encore en Guinée et en Côte d'Ivoire, où de nouvelles populations de *Coffea canephora* ouest-africains utilisables en amélioration ont été trouvées.

A. B. Eskes (IRCC, France) nous a ensuite emmenés dans un pays qui semble, à première vue, aussi désert que la planète Mars : le Yémen. Ce voyage lui a permis d'évaluer les ressources génétiques des populations de caféiers qui sont parmi les plus vieilles du monde.

Au nom de F. Anthony *et al.* (ORSTOM, France), A. Charrier a montré l'intérêt de l'étude de la variabilité biochimique (acides chlorogéniques et caféine) des genres *Coffea* et *Psilanthus* pour compléter la compréhension de la diversité génétique de ce complexe d'espèces.

G. Moreno (CENICAFE, Colombie) a étudié, dans le cadre d'une coopération avec la France (ORSTOM, IRCC), la variabilité enzymatique et agronomique de descendants de l'Hybride de Timor comparés à des variétés cultivées et spontanées d'Arabica.

A. Charrier (ORSTOM, France) a alors chiffré les coûts inhérents aux prospections, à la conservation et à l'évaluation du matériel prospecté. Ces éléments financiers sont de la plus grande importance, car si, à première vue, ces activités apparaissent relativement coûteuses, les dépenses sont en réalité peu de chose au regard de l'enjeu, surtout si les Etats ont la sagesse de s'associer à un niveau régional pour y faire face et en tirer le bénéfice maximal.

A. Bertrand-Desbrunais et A. Charrier (ORSTOM) ont présenté l'alternative que représente la conservation des génotypes en vitrothèque ou par cryoconservation et ont fait le point des travaux conduits dans ce domaine.

Sélection et amélioration

Les travaux de sélection et d'amélioration conduits dans l'ancien et le nouveau monde ont fait l'objet de présentations de caractères très variés.

— A. Yapo (IRCC, Côte d'Ivoire) a montré l'intérêt en sélection des hybrides *congusta* en Côte d'Ivoire.

— Le schéma de sélection récurrente appliqué en Côte d'Ivoire au caféier Robusta et les premiers résultats obtenus ont été exposés par T. Leroy (IRCC).

— Les aptitudes à la combinaison de sept géniteurs Robusta ont été étudiées par P. Bouharmont et J. Awemo à travers les résultats d'un essai diallèle quasi complet conduit au Cameroun (IRA/IRCC).

— Une stérilité mâle de type génique et récessive a été mise en évidence par P. Mazzerafera (Campinas, Brésil) et A. B. Eskes (IRCC, France) chez le caféier Arabica.

— Par croisement de *Coffea arabica* avec différentes espèces diploïdes, en particulier *Coffea canephora,* F. J. Orozco (CENIFACE, Colombie) a obtenu des triploïdes fertiles susceptibles d'apporter une amélioration sensible à la variété cultivée.

— P. Charmetant et T. Leroy (IRCC, Côte d'Ivoire), analysant divers schémas expérimentaux applicables à la comparaison clonale ou variétale, ont fait ressortir la supériorité de la randomisation totale arbre par arbre.

On soulignera l'importance de l'exposé magistral du Dr J. Castillo (CENICAFE, Colombie) expliquant la création de la variété Colombia, synthèse exemplaire d'un travail d'équipe de longue haleine : les études conduites sur des descendances résultant de croisements entre Caturra et Hybride de Timor ont abouti à la sélection, sur les critères de productivité, de vigueur, de granulométrie et de résistance à la rouille orangée (*Hemileia vastatrix*), d'une variété composite actuellement vulgarisée. Cette variété est, par le fait même, à la fois perfectible et adaptable à diverses situations. Elle constitue une parade opérationnelle dans la lutte contre la rouille.

La plante et son environnement

Introduisant l'étude des relations plante-milieu, le Dr M. André (Centre d'études nucléaires de Cadarache, France) a fait un exposé magistral sur la physiologie du caféier, et plus particulièrement sur les mécanismes de la photosynthèse et de la photorespiration et sur l'importance de ces phénomènes sur le bilan énergétique des plantes. Les travaux conduits au Centre d'études nucléaires de Cadarache mettent en œuvre un appareillage extrêmement complexe et précis, qui permet la mesure sur le vivant, et en continu, des échanges entre la plante et le milieu (sol et atmosphère), les cellules climatiques automatiques à atmosphère artificielle, dites C23A.

Ces méthodes ont été mises en pratique, dans le cadre d'une coopération entre le CEN de Cadarache et l'IRCC, pour l'étude des effets d'une attaque de rouille sur la physiologie du caféier Arabica (M. Ducamp *et al.,* IRCC) : il a pu être montré qu'une augmentation de la température aggrave les effets de la présence de l'agent pathogène.

A. Jaramillo *et al.* (CENICAFE, Colombie) ont présenté un modèle climat-plante adapté au caféier. Ce modèle, fondé sur le rapport biomasse nette sur biomasse maximale, permettrait de comprendre les variations de production dues au climat.

G. Valencia *et al.* (CENICAFE, Colombie) ont souligné l'importance de la connaissance du sol pour déterminer une fertilisation minérale raisonnée, basée sur des teneurs jugées adéquates pour les divers éléments chimiques.

Dans le même but, J. Snoeck (IRCC, France) et ses collaborateurs ont mis au point un programme informatisé pour interpréter les analyses de sols et les équilibres entre les éléments minéraux : des recommandations de formules et de doses d'engrais sont possibles.

Le risque d'accumulation de chlore consécutive à l'utilisation d'engrais potassique contenant du chlore sur des caféiers plantés en bordure de mer a été étudié par Koffi N'Goran (IRCC, Côte d'Ivoire).

C. Lambot (ISABU, Burundi) a exposé le problème de la carence en zinc au Burundi. La correction de la teneur du sol en zinc permet d'améliorer la qualité du café de façon sensible, mais ne peut améliorer les rendements et semble avoir un effet stimulant sur les attaques de l'anthracnose des baies du caféier.

C. Arboleda Valencia et J. Arcilla Pulgarin (CENICAFE, Colombie) ont mis au point des normes pour l'interprétation des niveaux des éléments contenus dans les feuilles de caféier Arabica suivant la méthode du DRIS (Diagnosis and Recommandations Integrated Systems). Ces normes peuvent être utilisées pour comprendre la nutrition des caféiers.

H. Arias Bonilla (Colombie) et ses collaborateurs ont mis au point une méthodologie originale, rapide et efficace pour évaluer la qualité physiologique des semences de caféier.

Tandis que N. Mayerowicz (Campinas, Brésil) *et al.* exposaient les résultats d'une étude quantitative et qualitative sur la croissance et la différenciation des bourgeons chez le *Coffea arabica,* Ph. de Reffye (CIRAD, France), dans son exposé magistral, expliquait tout l'intérêt potentiel de la modélisation de la croissance des plantes. Construites à partir d'observations fines des organes et de leur devenir, des lois mathématiques et probabilistes conduisent à produire des images saisissantes du développement de la plante. Ces recherches devraient recevoir de nombreuses applications dans les travaux conduits pour l'amélioration du caféier et de la caféiculture, car ils sont de nature à faire comprendre les mécanismes de la croissance et de la production en relation avec les facteurs de l'environnement.

Défense des cultures

Trois conférences magistrales ont illustré cette partie importante du colloque :

— R. A. Muller (IRCC, France) a présenté une synthèse des connaissances acquises en matière de résistance générale ou incomplète du caféier à la rouille orangée (*Hemileia vastatrix*). Malgré les résultats actuellement exploitables en matière de résistance spécifique, en particulier avec les descendances de l'Hybride de Timor, l'intérêt et même la nécessité de poursuivre les travaux dans le sens de l'exploitation de la résistance générale ont été soulignés. Il a été rappelé que les principaux travaux effectués dans ce sens l'ont été d'abord au Brésil puis surtout en France grâce à une coopération entre l'IRCC, le CENICAFE et le PROMECAFE : les résultats obtenus sont très prometteurs, mais demandent encore des efforts, les méthodes d'appréciation de cette forme de résistance et d'analyse des observations étant encore sujettes à amélioration.

— B. Decazy (IRCC/PROMECAFE/ANACAFE) a fait une revue très complète des acquis en matière de lutte intégrée contre le scolyte des fruits du caféier (*Hypothenemus hampei*), précisant l'intérêt et les limites des diverses interventions possibles (méthodes culturales, prophylaxie, entomophages, potentialités de la génétique) susceptibles de conduire à un usage minimal des insecticides. Il apparaît qu'une récolte sanitaire soigneuse supprimant les fruits abandonnés après la récolte est une mesure décisive, les insecticides ne devant être employés que dans des conditions économiquement justifiées. Certaines variétés de caféier, chez lesquelles les sépales restent attachés aux fruits et gênent la pénétration des femelles, semblent offrir de bonnes perspectives pour la lutte génétique.

— C. Kleinkoch (GTZ, Equateur) a exposé de manière très approfondie les possibilités de mise en œuvre de la lutte biologique contre le scolyte des fruits, tant par l'emploi des entomophages que par l'emploi des phéromones. Deux microhyménoptères de la famille des *Bethylidae* ont été introduits en Equateur : *Prorops nasuta* et *Cephalonomia stephanoderis ;* ce dernier sem-

ble dès à présent exercer une certaine action sur l'abondance des populations de scolytes.

Sur les douze communications présentées, onze concernaient la rouille orangée du caféier :

— trois traitaient d'aspects méthologiques :

• le Dr L. Gil Vallejo (CENICAFE, Colombie) a exposé une technique pour tester l'efficacité de fongicides ou l'apparition de résistances par l'évaluation de la viabilité et du pouvoir infectieux des spores après l'application des produits ;

• l'analyse factorielle de correspondances en vue de classer les descendances de caféiers pour leur résistance incomplète à la rouille orangée a été présentée par le Dr G. Moreno (CENICAFE en coopération avec l'ORSTOM et l'IRCC), qui apporte ainsi un élément important à la connaissance de cette forme de résistance ;

• J. Avelino (IRCC/INIFAP, Mexique) propose pour l'étude de l'épidémiologie de la rouille orangée du caféier une méthode d'observation faisant intervenir l'âge physiologique des feuilles et des branches, marquées au hasard dans la totalité de l'arbre ;

— deux communications avaient trait à l'épidémiologie :

• C. Villegas G. (CENICAFE, Colombie) a montré qu'initialement la rouille se localise dans les parties basses du caféier, puisqu'elle remonte tardivement vers les parties les plus hautes ;

• J. Leguizamon C. (CENICAFE, Colombie) a mis en évidence l'alternance biennale de la rouille en relation avec l'alternance de la production et a souligné qu'en haute altitude et en plein soleil les périodes de latence et d'incubation sont plus longues ;

— les relations hôte-parasite ont été présentées dans trois exposés :

• dans l'un d'eux, la Dra M. Santa Cruz (LIQC, Colombie) a étudié ces relations d'un point de vue morphologique, avec des illustrations admirables effectuées au microscope électronique ;

• ces relations hôte-parasite ont été présentées d'un point de vue métabolique dans les deux autres exposés : la Dra E. Valasquez S. (LIQC, Colombie) a mis en évidence le rôle éliciteur d'extraits fongiques dans l'augmentation des quantités d'acides chlorogéniques et de caféine ; le rôle probable de ces dernières substances dans les réactions de résistance a été étudié par la Dra M. Guedes (CIFC, Portugal).

Une étude de A. B. Eskes (IRCC, France) a porté plus particulièrement sur l'aspect génétique des résistances complètes et incomplètes, qui ont été mises en comparaison à partir de ségrégants de Catimor : l'accumulation de gènes de résistance serait particulièrement efficace.

Un exposé de V. Várzea *et al.*, présenté par la Dra M. Guedes (CIFC, Portugal), a rapporté l'apparition de nouveaux génotypes de rouille encore jamais décrits, qui définissent ainsi un nouveau groupe de *C. arabica.*

La lutte chimique contre la rouille orangée a été abordée par J. Leguizamon C. (CENICAFE, Colombie) : l'utilisation d'un hélicoptère français LAMA 315 B muni de soixante-quatorze unités d'aspersion permet de couvrir 74 ha par jour à raison de huit vols journaliers.

La lutte biologique contre la rouille orangée a été l'objet d'une communication de la Dra P. Velez A. (CENICAFE, Colombie) qui a souligné l'efficacité d'extraits de *Verticillium lecanii* sur le parasite.

Développement

Le Pr N. Garcia Andrade (Université Centrale du Venezuela, Maracay) a expliqué l'histoire de la caféiculture au Venezuela et les efforts entrepris en coopération avec divers partenaires latino-américains et européens pour sa modernisation.

G. Guttierez Zamara, dans son exposé magistral décrivant les diverses étapes de la croissance de la production caféière au Costa Rica, a dressé la liste des méthodes mises en œuvre pour la modernisation de la caféiculture de ce pays : recherche en agronomie (hautes densités et systèmes de taille adaptés) et sélection (emploi de variétés naines) en particulier. Il a de plus fait état des structures mises en place pour assurer le transfert en milieu paysan d'un système cultural parfaitement cohérent ayant conduit à de très hautes productions d'un café de qualité à haute rentabilité, faisant de la caféiculture costaricienne un véritable modèle.

Avec D. Duris (IRCC, Côte d'ivoire), les diverses possibilités de mécanisation du recépage ont été analysées en tenant compte des caractéristiques des exploitations.

Un programme pilote pour la mise au point des méthodes de transfert en milieu paysan des technologies les plus adaptées, fondé sur une étude préalable du milieu agro-socio-économique, a été décrit par B. Sallée *et al.* (IRCC et DSA/CIRAD, France) : ce programme en cours dans la région de Jalapa-Coatepec, Etat de Vera Cruz, au Mexique, qui fait intervenir, en tant que catalyseurs, les organisations nationales d'encadrement et le secteur bancaire, a pour ambition de promouvoir au sein du paysannat un mouvement de modernisation de la caféiculture et de diversification des productions.

La session s'est achevée avec quatre exposés sur le **traitement technologique du café vert,** présentés par G. Roa Meija : un exposé était consacré aux dommages mécaniques causés aux grains de café pendant le traitement technologique, un autre au dépulpage sans eau et les deux derniers au séchage du café vert (CENICAFE).

R. A. Muller
Directeur scientifique de l'IRCC

Summary report

The XIIIth Colloquium of the International Coffee Scientific Association (ASIC) took place from August 21st to August 25th 1989 in the congress centre at Paipa, Boyacá province, Colombia. It brought together two hundred and fifty participants coming from more than thirty countries. The congratulations for the organization and the great success of this scientific meeting should go to Dr M. Quijano Rico, President of ASIC.

Physiology

Dr H. P. T. Ammon, in his plenary lecture on biochemical mechanism of caffeine tolerance showed that recent investigations of several groups have shown that caffeine is able to block membrane located adenosine A and A receptors and consequently cellular cAMP. This competitive blockade occurs already at nM and mcM concentrations of caffeine depending on the type of adenosine receptor. It was furthermore shown that

chronic exposure to caffeine influences the number of binding sites of adenosine resulting in an overall increase of sensitivity to adenosine. This reversible mechanism is called « up regulation ». Tolerance in experimental animals as well as in human subjects to chronic caffeine exposure has been observed particularly in the central nervous system and the cardiovascular system. This tolerance can now be explained by the « up regulation » of adenosine receptors in these tissues following prolonged exposure to caffeine. Therefore acute exposure to caffeine should be distinguished from the biological effects of chronic caffeine exposure.

In his lecture on coffee and cholesterol, Dr S. Heyden notes that in ten intervention studies on this topic only three showed an increase of cholesterol with increasing coffee consumption. One study provided equivocal results and the remaining six studies showed no effect. In twelve different prevalence studies no reduction of HDL-cholesterol with coffee intake was observed and some studies even showed an increase of this lipid fraction considered to be protective to myocardial infarction. Additional evidence was presented from seven recent investigations, which were based either on an experimental or an observational design. No deleterious effect on the levels of Apolipoprotein A I or II was observed while Apolipoprotein B was elevated in two out of these seven studies.

It was concluded that possible cholesterol raising effects may be associated with elevated baseline plasma cholesterol levels in the reviewed studies and the occasional observed effects in normocholesterolemic subjects are not causal.

B. H. Jacobson in his paper on the effect of caffeine on selected physical performance parameters : response time and power output, used caffeine at two dose levels 300 + 600 mg in caffeine naive subjects, and noted reaction time (RT), movement time (MT) and knee extensor/flexor torque (T). The study design was random double blind, placebo controlled. Analysis of variance indicated a significant effect of the 300 mg dose on RT and MT but not at 600 mg caffeine. T was not affected by both dose levels. It was concluded that moderate doses of caffeine may have a stimulating effect on the parameters measured.

In vivo inhibition of nitrosamide formation by coffee and coffee constituents was studied by H. P. Würzner, E. Jaccaud and H. Aeschbacher. Carcinogenesis is considered as a complex multistep process. N-nitrosocompounds are potent mutagens and carcinogens in various species and in various tissue sites. Using the observation that *in vivo* nitrosation can be effectively inhibited by L-Ascorbic Acid, coffee constituents such as chlorogenic acid, premelanoidins, reaction mixture of both and instant coffee were investigated as to their efficiency in the inhibition of *in vivo* nitrosation of methylurea by sodiumnitrate using two different biological endpoints : the micronucleus bone marrow test and the colonic micronucleus test.

It was shown that all test/substances administrated oraly to mutagen sensitive mice effectively inhibited the formation of micronuclei in both test/systems at all dose levels used down to spontaneous background levels of micronuclei. It was concluded that coffee and some specific coffee constituents may lower the body and tissue exposure to endogenously formed nitrosocompounds and consequently reduce the probability of tumour formation.

Dr H. P. Würzner
ASIC adviser

Chemistry

In his plenary paper A. Williams emphasized the growing importance of correlating instrumental data with sensory aspects of the coffee beverage. Headspace entrainment techniques were used to study the volatiles from ten mature and immature coffees after roasting and brewing. Immature coffees contained more dimethylsulfide and furanes, mature coffees more alkylpyrroles and alkylthiazoles. Sensory evaluation showed less caramel aroma and more rancid and animal notes for immature beans. Brewed coffees from mature beans were generally more acid, more astringent and less bitter than their immature counterparts. Mathematical relationships between sensory and chemical data yielded information to which sensory descriptor compounds like p.e. furfurylmercaptane, hexanal and terpenes, thiophenes and thiazoles were possibly related.

In continuation of their work, presented at the 12th ASIC Colloquium in Montreux, R. Liardon, J. C. Spadone, E. Dentan and U. Braendlin further reported in two papers on their research about Rio off flavour in Brasilian coffees. Highly probably the Rio flavour is produced by certain moulds or bacteria which are specific to some geographical areas in Brasil and is enhanced additionally by postharvest conditions like slow drying. A chloroperoxidase detected in moulds from Rio beans could have caused the formation of the chlorinated off flavour compound (trichloroanisole).

B. Guyot and J.-C. Vinvent reported on volatile sulfur compounds in roasted coffee detected by headspace concentration techniques and indicated by flame photometric detection. Eighteen sulfur compounds, mostly C_1-C_5 mercaptanes and sulfides were detected, two of them highly probable are responsible for the off flavour in stinker beans.

The second plenary paper, given by K. Wada, reported on the objective evaluation of coffee aroma by multivariate statistical analysis. The results from cuptesting of the coffee samples were subjected to the mathematical statistical cluster analysis. The thirty nine coffee samples could be classified into eight groups, that means that various trade varieties can be characterized.

A Principal Component Analysis was applied to the gaschromatographic data from the thirty nine coffee samples. After cluster analysis those coffees again could be classified into eight groups, thus showing a good consistency between cup-testing and instrumental analysis of the coffee brews.

Multivariate statistical procedures also were used by J. C. Spadone and R. Liardon in a storage study on roast and ground coffee. The authors are discussing a new staling index based on the analyses of isobutanal, hexanal and pyrrol changes during storage in dependence of oxygen, temperature and humidity. The results could be correlated with sensory taste panel testing.

A. M. Feria-Morales described the research facilities of the International Coffee Organisation in London, emphasizing the now improved possibilities of doing Sensory Analyses with trained panelists, executing chemical analysis in modern laboratories and carrying out consumer studies.

D. Le Pierrès determined the minimal sample size for analyses of caffeine as to 400 beans, if a reliability of 95 % in a batch is requested.

What is the espresso beverage ? M. Petracco concluded from his studies, that an espresso is containing a huge number of small liquid droplets that act as viscosity and flavour enhances.

L. Maya-Montalvo presented a bibliographical data base system, he is using in his company (CENICAFE) in Colombia.

A new carbohydrate, psicose, was analysed by M. Blanc and J. M. Parchet. A 50 fold increase of this compound was found in some adulterated instant coffees, indicating a co-extraction of husks during instant coffee processing.

H. Steinhart and H. Kletschkus reported on the molecular weight range of melanoidines in coffee samples. On a PAK-125 column 14 peaks with molecular weights between 3 000 and more than a 100 000 daltons were found.

Phenolic acids in coffee pulps were determined by R. Martinez and M. N. Clifford, finding major differences between Robusta and Arabica.

Biochemistry

In order to look for new ways of natural insecticides for coffee, R. E. Bautista, F. Moreno and R. Jullien analyzed the cuticular waxes of certain insects and could identify long chain hydrocarbons.

E. Dentan studied microscopically black, whitish and waxy defective coffee beans and could give explanations for their formation.

B. Giraldo and L. Giraldo claim having found an inhibitory effect of roast coffee extracts on the growing of *Echericia coli.*

Study on the biochemistry of coffee-coffee rust interactions are made by C. A. Ocampo and collaborators. The enhancement of certain enzyme activities due to resistance reactions in healthy coffees against coffee rust were observed.

G. Fourny, E. Tchana and J.-C. Vincent tested a fast fermentation process of Arabica with added enzymes. A drastic reduction of the processing time was found.

M. Quijano Rico and coll. reported on superoxide dismutase isoenzyme patterns in coffee plants.

C. E. Lopez, E. Baustista and E. Moreno studied the formation of ferment - off - flavours during the wet processing of coffees. In overfermented beans a foul flavour could be detected.

G. R. Waller and coworkers analyzed the methylxanthines in the coffee fruit. It was found that the biosynthesis of caffeine is occuring during the green stage of fruit development. In a second paper he investigated the autotoxicity of caffeine that may cause the life shortening of mature coffee trees.

Technology

The plenary paper in the technology session given by K. Sylla, covered the processing of instant coffee. A survey was given on the economical background, the chemical composition and the various processing steps, the latter starting with raw bean handling, roasting and grinding of coffee and describing in details various extraction principles, including hydrolysis and aroma isolation steps. The report finished with remarks to the concentration of the extracts and spray — as well as freeze drying.

K. Dibert, E. Cros and J. Andrieu investigated carefully the extraction kinetics for chlorogenic acids from coffee, using 70 % methanol as extraction solvent.

L. Falla, J. Ospina and E. Posada presented a work on the extraction conditions for coffee aroma oil, to be used for instant coffee aromatisation.

In a comprehensive paper E. Lack, H. Seidlitz and P. Toro discussed the extraction potential of supercritical CO_2 as a solvent, especially for caffeine. Optimal processing conditions for decaffeinated coffee were given.

J. Bastidas and E. Posada reported on the determination of some physical properties of parchment coffee p.e. the density, thermal diffusivity and conductivity as well as specific heat and other parameters.

Dr O. G. Vitzthum
Scientific secretary of ASIC

Biotechnology

The daily sessions devoted to Coffee Agronomy and Biology began with an address by Dr M. Söndahl (*) on biotechnology, in which he outlined the various advantages that coffee breeding should, in the relatively near future, be able to obtain from *in vitro* manipulations at the cellular and molecular levels. Although breeding work has helped effectively to increase production, molecular biology and cellular genetics should result in even more marked improvements in coffee culture and product quality. All possible levels of intervention were reviewed : somatic embryogenesis, regeneration from cell suspensions or protoplasts, protoplast fusion, etc. The impact of such techniques is envisaged in decreasing production costs, reducing the use of fertiliser, solving disease problems, improving harvest homogeneity and, obviously, product quality, i.e. an ensemble of tangible improvements for the producer and consumer.

Genetic resources

The question of genetic resources was treated in different ways.

D. Le Pierrès and his team (ORSTOM) guided us through the forests which still exist in Guinea and Côte d'Ivoire, where new West African populations of *Coffea canephora* suitable for use in breeding have been found.

A. B. Eskes (IRCC, France) took us to the Yemen : a country which, at first sight, seemed as deserted as the planet Mars. During this voyage he was able to evaluate the genetic resources of the coffee populations there which are amongst the oldest in the world.

Speaking on behalf of F. Anthony *et al.* (ORSTOM, France), A. Charrier described the interest of a study of biochemical variability (chlorogenic acids and cafeine), in the *Coffea* and *Psilanthus* genera, in contributing to our knowledge of the genetic diversity of these composite species.

G. Moreno (CENICAFE, Colombia), as part of a cooperative venture with France (ORSTOM, IRCC), investigated the enzymic and agronomic variability of Timor Hybid progeny in comparison to cultivated and wild Arabica varieties.

A. Charrier (ORSTOM, France) went on to calculate the costs associated with prospecting, and with conservation and evaluation of the collected material. These financial elements are of great importance as although such activities seem, at first glance, to be relatively expensive, the costs are really very small when compared to what is at stake, especially if the countries concerned could see the wisdom of meeting them together at a regional level to ensure maximum benefit.

A. Bertrand-Desbrunais and A. Charrier (ORSTOM) presented the alternative offered by the conservation of genotypes in vitrobanks or by cryogenic storage and summarised the principal work being conducted in this field.

(*) DNA Plant Technology Corporation, USA.

Plant breeding

The various breeding and selection programmes being carried out in the Old and New Worlds were described in a wide range of papers.

— A. Yapo (IRCC, Côte d'Ivoire) demonstrated the importance of the *congusta* hybrids in Côte d'Ivoire breeding programmes.

— Leroy (IRCC) described the recurrent selection technique that is being applied to Robusta coffee in the Côte d'Ivoire, together with the first results.

— The combining abilities of seven Robusta parent plants, based on an almost complete diallel experiment carried out in Cameroon (IRA/IRCC), were investigated by P. Bouharmont and J. A. Awemo.

— A recessive gene form of male sterility was demonstrated in Arabica coffee by P. Mazzerafera (Campinas, Brazil) and A. B. Eskes (IRCC, France).

— F. J. Orozco (CENICAFE, Colombia) crossed *Coffea arabica* with different diploid species, particularly *Coffea canephora,* to produce fertile triploids which are likely to considerably improve the cultivated variety.

— P. Charmetant and T. Leroy (IRCC, Côte d'Ivoire) analysed a number of different experimental schemes for use in clonal or varietal comparisons and demonstrated the superiority of total tree-by-tree randomisation.

The significance of the remarkable account presented by Dr J. Castillo (CENICAFE, Colombia) should be emphasized in which he described how prolonged team efforts resulted in creation of the variety Colombia. The progeny obtained from crosses between Caturra and the Timor Hybrid were examined and a composite variety, currently under extension, was selected on the basis of productivity, vigour, bean size and resistance to orange rust *(Hemileia vastatrix).* Due to its composite nature, the variety may be further selected and adapted to different situations. It constitutes an operational solution to the problem of rust control.

The plant and its environment

As an introduction to studies of plant-environment inter-relationships, Dr M. André (Nuclear Studies Centre at Cadarache, France) gave an address on coffee physiology placing particular emphasis on the mechanisms involved in photosynthesis and photorespiration and the effects of these phenomena on plant energy relations. Current investigations at the Nuclear Studies Centre at Cadarache are being conducted in extremely complex and sensitive automatic growth chambers, known as C23A, with artificially-controlled atmospheres. These are used for the continuous measurement, on the living plant, of exchanges occurring between the plant and its environment (soil and atmosphere).

This equipment has also been utilised, in a co-operative effort involving the Cadarache NSC and IRCC, to study the effects of rust attack on Arabica coffee physiology (M. Ducamp *et al.,* IRCC). It was shown that an increase in temperature increases the effects induced by the presence of the pathogenic agent.

A. Jaramillo *et al.* (CENICAFE, Colombia) presented a simulated model of climate-plant relationships, specifically adapted to coffee. This model is based on net biomass and maximal biomass inter-relationships and should further our understanding of the variations in production that result from climate.

G. Valencia *et al.* (CENICAFE, Colombia) stressed the importance of soil diagnosis on the determination of rational mineral fertilisation programmes, based on the amounts of different chemical elements considered to be adequate.

J. Snoeck (IRCC, France) and his collaborators, with the same objective, developed a computer programme for interpreting soil analyses and the equilibria existing between different mineral elements. Recommendations for fertiliser formulae and dose-rates can be obtained.

The risk of chlorine accumulation, due to use of chlorine-containing potassium fertiliser, on coffee plantations by the sea was studied by Koffi N'Goran (IRCC, Côte d'Ivoire).

C. Lambot (ISABU, Burundi) described the problem of zinc deficiency in Burundi. Correction of zinc deficiency brought about a considerable improvement in coffee quality but could not improve yield and seemed to have a stimulatory effect on coffee berry disease attacks.

C. Arboleda Valencia and J. Arcilla Pulgarin (CENICAFE, Colombia) have perfected standards for use in interpreting the concentrations of different elements present in Arabica coffee leaves by the DRIS (Diagnosis and Recommandations Integrated Systems) method. These standards may be used in studies of coffee plant nutrition.

H. Arias Bonilla (Colombia) and his collaborators have developed an original, rapid and effective method for assessing the physiological quality of coffee beans.

N. Mayerowicz (Campinas, Brazil) *et al.* presented the results of a quantitative and qualitative study of bud growth and differentiation in *Coffea arabica,* whereas Ph. de Reffye (CIRAD, France), in his address, described the extensive potential of plant growth modelisation. Mathematical laws and probabilities, derived from detailed observation of different organs and their fates, are applied to produce striking simulated images of plant development. This research should have numerous applications in coffee breeding and production, as it should further our understanding of growth and production mechanisms in relation to environmental factors.

Crop protection

Three addresses illustrated this important part of the Colloquium :

— R. A. Muller (IRCC, France) reviewed existing knowledge of general or incomplete resistance of coffee to orange rust *(Hemileia vastatrix).* Although the results concerning specific resistance, particularly with the Timor Hybrid progeny, are of direct use, the interest and necessity of continuing the work on general resistance utilization was also stressed. Attention was drawn to the fact that the work was first carried out in Brazil but then mostly in France, as a result of collaboration involving IRCC, CENICAFE and PROMECAFE : the results obtained are very promising but require further work as the methods used to appreciate this form of resistance and analyse the observations still need to pe perfected.

— B. Decazy (IRCC/PROMECAFE/ANACAFE) gave a very complete review of integrated control of coffee berry borer *(Hypothenemus hampei),* indicating the interest and limitations of various possible interventions (cultural methods, prophylaxis, entomophages, genetic potential) likely to lead to minimal use of insecticides. Careful post-harvest removal of discarded fruits seems to be a decisive measure, with insecticides only needing to be used under economically justifiable conditions. Certain varieties of coffee in which the sepals remain attached to the fruits and hinder penetration by the females, seem to offer good perspectives for genetic control.

— C. Kleinkoch (GTZ, Ecuador) presented a very thorough description of the possibilities of instigating biological control of coffee berry borer, either by using entomophages or pheromones. Two microhymenoptera in the Bethylidae family have been introduced into Ecuador : *Prorops nasuta* and *Cephalonomia stephanoderis ;* the latter already seems to have a definite effect on berry borer population abundance.

Eleven of the twelve paper presented were concerned with orange rust :

— three were concerned with methodological aspects :

• Dr L. Gil Vallejo (CENICAFE, Colombia) described a technique for testing fungicide efficacy or the appearance of resistance by evaluation of spore viability and infectious ability after product application ;

• Dr G. Moreno (CENICAFE in collaboration with ORSTOM and IRCC) presented a factorial analysis of similarities for the classification of coffee progeny according to their incomplete resistance to orange rust, thus providing an important addition to our knowledge of this form of resistance ;

• J. Avelino (IRCC/INIFAP, Mexico) proposed a method for the observation of orange rust epidemiology based on the physiological age of leaves and branches, marked at random, all over the tree ;

— two communications dealt with epidemiology :

• C. Villegas (CENICAFE, Colombia) showed that rust is initially confined to the lower parts of the coffee bushes, only later attaining the upper portions ;

• J. Leguizamon C. (CENICAFE, Colombia) demonstrated the biennial alternation of rust attack in relation to production alternation, emphasizing that the latency and incubation periods are longer at high altitude and in full sun.

— host-parasite relationships were discussed in three papers :

• In one, Dr M. Santa Cruz (LIQC, Colombia) studied morphological aspects, including some admirable illustrations obtained by electron microscope ;

• Host-parasite inter-relationships, from a metabolic point of view, were described in the other two papers : Dr E. Velasquez S. (LIQC, Colombia) demonstrated the elicit role of fungal extracts on increasing the quantities of chlorogenic acid and cafeine ; the probable role of these latter substances in resistance reactions was discussed by Dr M. Guedes (CIFC, Portugal).

A study by A. B. Eskes (IRCC, France) dealt more particularly with the genetic aspect of complete and incomplete resistance as compared in Catimor segregants : the accumulation of resistance genes seems to be particularly effective.

The appearance of new, undescribed, rust genotypes were reported in a paper by V. Várzea *et al.* presented by Dr M. Guedes (CIFC, Portugal), thus defining a new group within *C. arabica.*

The chemical control of orange rust was described by J. Leguizamon C. (CENICAFE, Colombia). Use of a French LAMA 315 B helicopter equipped with seventy-four spray nozzles permits the treatment of 74 ha per day in eight daily passages.

Biological control of orange rust was the object of a communication by Dr P. Velez A. (CENICAFE, Colombia) who stressed the efficacy of extracts of *Verticillium lecanii* in controlling the parasite.

Development

Professor N. Garcia (Central University of Venezuela, Maracay) described the history of coffee production in Venezuela and the efforts undertaken in co-operation with various Latin American and European partners, to modernise it.

G. Guttierez Zamara in his address described the various phases in the growth of Costa Rican coffee production and listed the different methods used to modernise coffee growing in this country, particularly those associated with agronomy research (high densities and suitably adapted pruning systems) and breeding (use of dwarf varieties). He also examined the various structures set up to ensure the transfer of a perfectly coherent system of production to the peasant environment, which culminated in very high production of excellent quality at considerable profit, thus making Costa Rican coffee production an excellent model.

D. Duris (IRCC, Côte d'Ivoire) analysed the various possibilities of mechanising cutting back in relation to plantation characteristics.

A pilot programme to perfect methods for transferring the most suitable technologies to the peasant environment, based on a preliminary study of agro-socio-economic factors, was described by B. Sallée *et al.* (IRCC and DSA/CIRAD, France). This programme is currently underway in the Jalapa-Coatepec region of Vera Cruz State, in Mexico, involving the national development organisations and the banking sector, as catalysts, and designed to promote efforts to modernise coffee culture and production diversification within the peasant environment.

The session ended with four papers on **green coffee processing** presented by G. Roa Meija : one dealing with mechanical injuries of the beans during the processing, one with pulping without water and two with coffee drying (CENICAFE).

R.A. Muller
Scientific Director of IRCC
(traduction)

Imprimé en France. — JOUVE, 18, rue Saint-Denis, 75001 PARIS
N° 31582. Dépôt légal : Août 1990