

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
ECOLE NORMALE SUPERIEURE
DEPARTEMENT DE SCIENCES
BIOLOGIQUES



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE
DEPARTMENT OF BIOLOGICAL SCIENCE

**TESTS DE VIRULENCE DE QUELQUES ISOLATS DE
Phytophthora megakarya SUR CERTAINES CABOSSES
HYBRIDES ET MATURES DE Theobroma cacao L.**

Présentée en vue de l'obtention du Diplôme de Professeur de l'Enseignement
Secondaire deuxième grade
Mémoire de D.I.P.E.S II

Par :

ABOU'OU MEDJO Kelly Raïssa
Licenciée ès sciences

Sous la direction
Dr EFFA ONOMO Pierre
Chargé de cours



Année Académique
2015-2016



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire de Yaoundé I. Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : biblio.centrale.uyi@gmail.com

WARNING

This document is the fruit of an intense hard work defended and accepted before a jury and made available to the entire University of Yaounde I community. All intellectual property rights are reserved to the author. This implies proper citation and referencing when using this document.

On the other hand, any unlawful act, plagiarism, unauthorized duplication will lead to Penal pursuits.

Contact: biblio.centrale.uyi@gmail.com

DEDICACE

A

mon père MEDJOMEDJO Jean-Félix, ma mère madame MEDJO née EYA'ANE TCHIO
Valérie Jocelyne, et à mon fils bien aimé MEDJO MEDJO Edzra Juan-Félix

REMERCIEMENTS

J'exprime ma profonde gratitude et mon plus profond respect :

au Docteur EFFA ONOMO Pierre, à qui j'adresse ma profonde gratitude pour avoir accepté de diriger ce travail. Sa gentillesse, ses conseils, sa patience, sa compassion m'ont permis de rédiger cette œuvre

au Professeur SONKE, Chef du Département des sciences Biologiques, Ecole Normale Supérieure de Yaoundé;

au Docteur ONDOBO Martine Louise Epse ATANGANA pour son soutien ;

à tout le personnel enseignant en particulier au Professeur (MC) NIEMENAK Nicolas et au Pr Dénis OMOKOLO pour m'avoir ouvert les portes du Laboratoire de Physiologie et Biochimie Végétale.

au Professeur BOUDJEKO Thaddée, pour m'avoir accueilli au Laboratoire de Phytoprotection et de Valorisation des Ressources Végétales (LVPRV) ;

à Monsieur MANGA NDJAGA Jude pour sa grande disponibilité, ses conseils, sa patience;

à tous les étudiants du Laboratoire de Biochimie et Physiologie Végétales de l'Ecole Normale Supérieure de Yaoundé I en particulier AKOA Simon P., KAMSU W., OUMAROU, PORNEY B., ITEM P., OHANJA D., EKANE, DONGMO H.;

à tous les étudiants du LVPRV en particulier MOUAFFO R., ABDOULAYE, Tene Martial, EYAMO Jos

à mes Camarades de promotion FAHA Desiré, MANEJIO C., NYANGONO M. KETCHEMO T., GUIANEN J., pour leur soutien et leur convivialité ;

à mon frère ONDOUA Jeff, et mes sœurs Mengue Medjo Nancy Vanessa, Medjo Gaele Eltsine, Medjo Amandine Laurie Nathalia. Pour leur patience leur soutien et leur encouragement ;

à mes amis : Ntonga zoe Boris, Nicole, Marianne, Nadine, EDZOA Brice, pour leur encouragement.

à tous ceux qui m'ont permis, de près ou de loin à réaliser cette œuvre.

TABLE DE MATIERES

REMERCIEMENTS	iii
TABLE DE MATIERES	iv
RESUME.....	vi
ABSTRACT	vii
ABREVIATION.....	viii
- LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES TABLEAUX	x
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE	3
I.1.Généralités sur <i>Theobroma cacao</i>	4
I.1.1.Origine et distribution géographique	4
I.1.2.Systématique et diversité génétique du cacaoyer	4
I.1.3. Biologie	5
I.1.4. Ecologie	6
I.1.5.Importances et utilisation du cacao.....	7
I.1.6. Contrainte de la culture du cacao.....	8
I.1.6.1. Contraintes économiques	8
I.1.6.2. Contraintes parasitaires	8
I.2. Généralités sur <i>Phytophthora megakarya</i>	9
I.2.1. Origine et taxonomie	9
I.2.3. Epidémiologie de la maladie	11
I.2.3.1.Symptomatologie	11
I.2.3.2.Epidémiologie	11
I.2.3.3. Méthodes de lutte	12
CHAPITRE II :MATERIEL ET METHODES.....	14
II.1.Matériel	15
II.1.1. Cadre de travail	15
II.1.2. Matériel végétal.....	15
II.1.3. Matériel fongique	16
II.2. Méthodes.....	16

II.2.1.Préparation du milieu de culture et culture du champignon.....	16
II.2.2. Production de sporocystes sur cabosses détachées.....	17
II.2.3.Préparation de l'inoculum fongique.....	17
II.3. Inoculation sur cabosses	18
II.4.Mesure de la nécrose.....	18
II.5.Analyses statistiques	19
CHAPITRE III :	20
RESULTATSETDISCUSSION.....	20
III.1. Résultats.....	21
III.1.1.Développement de la nécrose après mono-infection	21
III.1.1.1. Cas de la souche " <i>Lebdi</i> "	21
III.1.1.2. Cas de la souche " <i>Le4</i> "	22
III.1.1.3. Cas de la souche " <i>Bakoa</i> "	22
III.1.2. Développement de la nécrose après la co-infection.....	23
III.1.3. Classement des souches et des hybrides	25
III.1.3.2 classement des hybrides sur la base de leur niveau de tolérance	25
III.2. Discussion.....	27
CHAPITRE IV :IMPLICATION DIDACTIQUE	29
CONCLUSIONETPERSPECTIVES.....	37
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39
ANNEXES	44

RESUME

Au Cameroun, un Oomycète du genre *Phytophthora megakarya* est responsable d'environ 80 % des dégâts observés en champs. En vue de réduire au maximum les effets néfastes de ce phytopathogène sur le verger cacaoyer camerounais, une évaluation des effets des isolats distincts de *P. megakarya* en mono infection et en co-infection a été réalisée afin de déterminer l'incidence de la maladie sur les cabosses hybrides. Le matériel végétal utilisé est constitué des cabosses matures de huit hybrides issues de quatre champs semenciers bi-clonaux de la station de la SODECAO de Mengang. Le matériel fongique est composé de solutions zoospores de trois isolats (Bakoa, Lebdi, et Le4) de *P. megakarya*. Une charge virale de $2,5 \times 10^4$ zoospores/ml a été inoculée sur chaque cabosse et les surfaces de nécrose mesurées quatre et six jours après infection. Il ressort de cette étude que l'évolution de la nécrose dépend de trois paramètres à savoir la souche de *Phytophthora megakarya* utilisée, l'hybride infecté et enfin de la durée de l'infection. Le classement des souches de *P. megakarya* a révélé l'échelle de virulence croissante ci-après : Le4 < Lebdi < Bakoa. L'analyse du dendrogramme a montré que l'hybride SNK413 × T79/501 est le plus tolérant alors que les hybrides UPA134 × ICS40; SNK16 × Sca12 et T79/467 × SNK13 sont les plus sensibles. La co-infection a un effet différent en fonction de l'hybride et de la combinaison de souches utilisées. La combinaison Bakoa + Lebdi a montré un effet synergique sur les deux hybrides étudiés six jours après infection tandis que les combinaisons Bakoa + Le4 et Lebdi + Le4 ont montré une action antagoniste chez l'hybride T79/467 × SNK13.

Mots clés : isolat, zoospores, *Phytophthora megakarya*, cacaoyer, hybrides.

ABSTRACT

In Cameroon, *Phytophthoramegakarya* is an oomycete responsible for a loss of about 80% of cocoa production if any measure is not taken. In order to reduce the negative impact of this oomycete in Cameroonian cocoa production, an evaluation of different strains of *P. megakarya* in mono or coinfection has been done to determine the incidence of the disease on hybrids cocoa pods. Plant material used is constituted of mature pods of eight hybrids belonging to four bicultural cocoa fields from Mengang SODECAO station. Fungal material is composed of zoospore solution of three *P. megakarya* strains (Bakoa, Lebdi and Le4). About 2.5×10^4 zoospores/mL were inoculated in each pod and necrosis area measured four and six days after infection. This study revealed that the evolution of necrosis on cocoa pods depends on three factors: the strain of *P. megakarya* used, the hybrid infected and the duration of the infection. The order of classification based on virulence of the strains was Le4 <Lebdi<Bakoa. Cluster analysis based on the necrotic area showed that SNK413 \times T79/501 hybrid was the most tolerant one while UPA134 \times ICS40; SNK16 \times Sca12 and T79/467 \times SNK13 hybrids were the more sensible to *P. megakarya*. Co-infection gives different results in function of the hybrid or the strains combination used. Bakoa + Lebdi combination showed a synergistic effect on two hybrids while Bakoa+ Le4 and Lebdi + Le4 combination showed antagonistic effect on T79/476 \times SNK13 hybrid.

Keywords: strains, zoospores, *Phytophthora megakarya*, cocoa tree, hybrids

ABREVIATIONS

ANOVA: Analysis of Variance

APN : Autorité Portuaire Nationale

F: Famille

ICCO: International Coffee and Cocoa Organization

ICS: Imperial College Selection

IRAD : Institut de Recherche Agricole pour le Développement

SCA: Scavina

SNK : Sélection de Nkoemvone

SODECAO: Société de Développement du Cacao

SPSS: Statistical Package for Social Science

T : Tafo

UPA : Upper Amazone

- LISTE DES FIGURES

Figure 1: Morphologie du cacaoyer. A-Pied de cacaoyer ; B-boutons floraux ; C-fleur ; D-fèves fraîches ; E-cabosse. Barre=1 cm.	6
Figure 2: Cycle de reproduction des <i>Phytophthora</i>	10
Figure 3: <i>P. megakarya</i> sur cabosse infectée.	11
Figure 4: Morphologie de quelques cabosses hybrides de <i>T. cacao</i> . A : ICS40×UPA134;B : SNK413×T79/501 ; C : T79/501×SNK413 ; D : T79/467×SNK13 ;E: UPA134× ICS40; F: SNK13× T79/467	15
Figure 5: Souches de <i>Phytophthora megakarya</i> sur milieu V8. A : isolat Lebdi ; B : isolat Le4 ; C : isolat Bakoa. Clichés	16
Figure 6: Sporocystes de <i>P. megakarya</i> sur cabosse détachée.....	17
Figure 7 : Effet de l'infection sur les cabosses de <i>T. cacao</i>	21
Figure 8: Surfaces de nécroses obtenues quatre jours après mono-infection et co-infection... 24	
Figure 9: Surfaces de nécroses obtenues après six jours par mono-infection et co-infection.. 25	
Figure 10: classification hiérarchique des génotypes sur la base de leur surface de nécrose 4 et 6 jours après infection.	26

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques morphologiques des principaux groupes de <i>T. cacao</i>	6
Tableau 2: Production mondiale par pays du cacao marchand (10 ³ tonnes) campagne 2015/2016	8
Tableau 3: Principales maladies du cacaoyer.....	9
Tableau 4: Présentation des champs semenciers.....	15
Tableau 5 : Surfaces des nécroses obtenues sur les huit hybrides de cacao quatre et six jours après infection par la souche "Lebdi " de <i>P. megakarya</i>	21
Tableau 6. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao quatre et six jours après infection par la souche "Le4 " de <i>Phytophthora megakarya</i>	22
Tableau 7. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao quatre et six jours après infection par la souche "Bakoa " de <i>P. megakarya</i>	22

INTRODUCTION

Le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) est une plante pérenne, allogame, diploïde ($2n=20$ chromosomes), ayant des feuilles persistantes. Il se cultive dans les forêts tropicales humides, et est originaire de l'Amérique centrale et du sud (Motamayor *et al.* 2002; Niemenak *et al.* 2010). Il appartient à la famille des Sterculiacées (Cuatrecasas 1964), récemment reclassée parmi les Malvacées (Alverson *et al.* 1999). Son introduction en Afrique s'est faite par le Ghana à partir du 18^{ième} et au Cameroun depuis 1892 par les Allemands (Assoumou 1977). La culture du cacao est relevée comme activité économique de plusieurs pays tropicaux, en raison de leur écologie favorable. Ainsi, le cacao et ses sous-produits en occurrence ses fèves sont utilisés comme matière première principalement dans l'industrie agro-alimentaire (chocolat), dans l'industrie pharmaceutique (beurre de cacao) et dans l'industrie cosmétique (lait de beauté) (Flood *et al.* 2004).

D'après les récentes statistiques, le continent africain est devenu aujourd'hui premier producteur de cacao avec près de 72,5 % de la production mondiale; cinq principaux pays se distinguent par leur implication active dans la cacaoculture notamment la Côte d'Ivoire (1690 mille tonnes), le Ghana (840 mille tonnes), l'Indonésie (300 mille tonnes), le Nigeria (200 milles tonnes), le Cameroun (230 mille tonnes) (Anonyme 2016). Au Cameroun, l'activité cacaoyère représente 30 % des exportations non pétrolières et fait vivre plus de 2 millions de planteurs (Anonyme 2012).

Cependant, la culture du cacao est confrontée à de nombreux désagréments dont les plus importants sont : le vieillissement des plantations et la grande sensibilité du matériel végétal aux pressions parasitaires (Ploetz 2007). La pourriture brune des cabosses (PBC) est l'une des maladies les plus répandues chez le genre *Theobroma*. Elle est causée par un champignon *Phytophthora* spp appartenant à la classe des Oomycètes. Ce champignon existe sous plusieurs espèces (Griffin 1976), mais au Cameroun, on relève la prédominance de l'espèce *P.megakarya* (Nyassé 1992). Elle cause des dégâts pouvant réduire la production de l'ordre de 50 à 80 % (Nyassé 1997), et des pertes en champs peuvent atteindre 100 % si aucune mesure de protection n'est prise (Ndoumbè-Nkeng *et al.* 2004).

Toutefois, pour contrer cette maladie, plusieurs méthodes de lutte sont envisagées, la première voie d'approche est la lutte chimique basée sur l'utilisation des fongicides (Ndoumbé-Nkeng. 2002;). Néanmoins, bien qu'efficace, cette technique reste couteuse, polluante, contraignante et pas économiquement rentable. Il existe actuellement des mesures

alternatives et/ou complémentaires à la lutte chimique comme la lutte génétique qui consiste à l'obtention des hybrides tolérants à cette maladie (Blaha et Lotode1976).

C'est dans cette optique que l'objectif général de notre travail est d'évaluer à l'aide de tests en laboratoire la virulence de quelques isolats de *Phytophthora megakarya* sur des cabosses (hybrides) matures de *Theobroma cacao*.

Il s'agit spécifiquement de:

- déterminer la souche la plus virulente
- établir l'échelle de sensibilité des hybrides étudiés
- déterminer l'incidence de la maladie due à la co-infection



CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE

I.1.Généralités sur *Theobroma cacao*

I.1.1.Origine et distribution géographique

Le cacaoyer est une plante pérenne tropicale originaire du bassin Amazonien (Cuatrecasas 1964). Une étude a montré que cette zone correspond également à son centre de diversité (Motamayor *et al.*2002). Il est cultivé par les Mayas pour ses fèves qui servaient de monnaie d'échange et de produit de consommation (Mossu 1990). La domestication du cacaoyer remonte à environ 3 000 ans. Sa culture était largement répandue en Amérique Centrale avant la conquête espagnole du 16e siècle. Le cacaoyer s'est ensuite répandu dans la plupart des îles des Caraïbes, le Venezuela et la Colombie grâce à l'expansion rapide du marché européen du 17e siècle. A partir de quelques plants transférés par les Espagnols aux Philippines, la culture s'est étendue vers le Sud et à travers l'Inde Orientale, et ensuite au Sri Lanka au cours du 19e siècle (Wood & Lass. 1985). Au début du 19^e siècle, une série d'introductions s'est faite en Asie à partir de différentes régions d'Amérique Latine, notamment au Sri Lanka par les anglais, à Java par les Hollandais et en Papouasie-Nouvelle-Guinée par les Allemands. Par ailleurs, de grandes zones cacaoyères furent créées en Equateur et à Bahia au Brésil au 19e siècle. De là partirent les premières introductions vers l'Afrique, d'abord sur les îles Sao-Tomé et Príncipe en 1822, puis sur Fernando-Po en 1855. La culture arriva ensuite au Cameroun vers 1892 grâce aux Allemands (N'gatchou 1981 Wood 1991).

I.1.2.Systématique et diversité génétique du cacaoyer

La taxonomie du cacaoyer a connu plusieurs révisions. La systématique classique l'a classé parmi les Sterculiacées suivant ses caractères morphologiques (Cuatrecasas 1964), en revanche une étude basée sur l'analyse de certains gènes a révélé que le cacaoyer devrait être considéré comme faisant partie de la famille des Malvacées (Alverson *et al.*1999). Ainsi la classification systématique de *T. cacao* est la suivante :

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Sous-classe	Dilleniidae
Ordre	Malvales
Famille	Malvaceae
Genre	<i>Theobroma</i>

I.1.3. Biologie

Theobroma, nom donné par Linné en 1720 (Raemaekers 2001), est un petit arbre à feuilles persistantes des régions tropicales. C'est une espèce diploïde qui compte 10 paires de chromosomes ($2n=2x=20$). Sa taille, le développement de ses racines, sa floraison ainsi que sa fructification dépendent beaucoup des conditions environnementales. Le système racinaire comprend un pivot vertical qui peut atteindre 2 m lorsque le cacaoyer a plus de 10 ans. Des racines latérales prennent naissance sur toute sa longueur pour se répartir dans la couche supérieure du sol la plus humide où elles se développent et puisent à la fois les éléments minéraux et l'eau nécessaire à la vie de la plante. Le système aérien quant à lui comprend la feuille, la fleur et le fruit. La feuille du cacaoyer est large, longue, pointue. Elle mesure 20 cm de long et 8 cm de large, sa taille dépend principalement de l'intensité de la lumière au cours de son développement. (Mbondji 2010). Le cacaoyer est cauliflore, les inflorescences apparaissent sur des coussinets floraux qui sont des renflements du tronc ou des branches. Le cacaoyer produit plusieurs milliers de fleurs par an. Les fleurs du cacaoyer nécessitent d'être fécondées par l'intermédiaire d'insectes pollinisateurs ou du vent. Cependant, toutes ces fleurs ne donnent pas de cabosses (Babin, 2010). La plupart sèche et meurent car le cacaoyer régule naturellement sa production.

Les fruits résultent de la double fécondation. Le fruit de cacaoyer est une baie indéhiscente de forme fusiforme appelée « cherelle » pendant la durée de sa croissance, puis cabosse lorsqu'il atteint l'âge adulte (Santos *et al.* 2012). Les cabosses poussent directement sur le tronc et les branches de l'arbre. Elles changent de couleur au fur et à mesure qu'elles mûrissent. La graine extraite du fruit mûr est communément appelée « fève ». Elle se présente sous une forme d'amande plus ou moins dodue, recouverte d'une pulpe mucilagineuse blanche, de saveur sucrée. La cabosse contient entre 30 et 40 graines qui feront l'objet de la commercialisation (Babin 2010). Le nom *Theobroma* fut attribué pour la première fois par Linné en 1737 pour désigner le genre auquel appartient le cacaoyer. Parmi ces espèces, seule *T. cacao* est largement cultivée. Trois principaux groupes de cacaoyers se distinguent par leurs caractéristiques morphologiques (Tableau I), leur productivité et leur niveau de sensibilité aux maladies. La variété la plus présente au Cameroun est le Trinitario (Efombagn *et al.* 2009).

Tableau 1 : Caractéristiques morphologiques des principaux groupes de *T. cacao* (Eskes et al. 1997).

Caractéristiques	Groupes		
	Criollo	Forastéro	Trinitario
Forme de cabosses	Allongées et pointues, sillons profonds	Ovoïde, sillons peu profonds, extrémité arrondie ou très pointue	Hybride des deux premiers groupes, cortex le plus souvent dur
Couleur de cabosses	Verte ou violette avant maturité jaune ou orangée à maturité	Verte avant maturité Jaune à maturité	Verte, rouge et parfois bicolore
Fèves	Blanches ou violette pâles, rondes et bien pleines	Violettes foncées, aplaties, souvent amer	30 et plus, rarement blancs, assez fin
Productivité mondiale	Peu productif (5 %)	Très productif (80 % à 90 %)	Peu productif (10 à 20 %)
Qualité	Cacao fin à arômes forts de bonne qualité, faible amertume	Cacao marchand amer ou acide, de qualité moyenne	Cacao fin, arôme peu intense
Sensibilité	Très sensible à la pourriture brune	Tolérance accrue aux maladies, résistance aux maladies	Très tolérant aux maladies



Figure 1: Morphologie du cacaoyer. A-Pied de cacaoyer ; B-boutons floraux ; C-fleur ; D-fèves fraîches ; E-cabosse. Barre=1 cm. (Cliché Abou'ou 2015).

I.1.4. Ecologie

Le cacaoyer est une plante tropicale, il pousse sous un climat chaud et humide plutôt constant, tolérant très bien l'ombrage, et occupant naturellement les étages bas et intermédiaire de la forêt. Il exige une pluviométrie annuelle de 1500 à 2500 mm, les précipitations

doivent être uniformément réparties, avec une hydrométrie élevée (Verlière 1981). Le cacaoyer se développe en moyenne altitude entre les latitudes 15° Sud et 20° Nord. Pour un bon développement la plante a besoin d'un sol aéré et profond (1,5 m minimum) de texture sablo-argileuse ayant une grande capacité de rétention d'eau, et un pH compris entre 6 et 7 (Wood 1985).Le cacaoyer est fortement auto-incompatible et la pollinisation naturelle est essentiellement entomophile (Royaert et al. 2011). Le cacaoyer atteint son plein développement vers l'âge de dix ans. Il est cependant productif bien avant cet âge puisque les fleurs et les fruits apparaissent dès la troisième ou quatrième année après le semis. La maturation des fruits s'effectue selon les génotypes pendant 5 à 7 mois. Un arbre produit en moyenne 150 cabosses par an, soit environ 6 kg de cacao marchand.

I.1.5.Importances et utilisation du cacao

Le cacao et ses sous-produits en occurrence ses fèves sont utilisés comme matière première principalement dans l'industrie agro-alimentaire (chocolat), dans l'industrie pharmaceutique (beurre de cacao) et dans l'industrie cosmétique (lait de beauté) (Flood *et al.* 2004).Néanmoins, six pays dans le monde sont responsables de la production mondiale de cacao. Il s'agit de la Côte d'Ivoire, du Ghana, de l'Indonésie, du Nigéria, du Cameroun et du Brésil (Tableau 2). Dans ces pays, la cacaoculture est pratiquée dans le cadre de petites exploitations à plus de 80 % et constitue l'un des principaux secteurs de croissance économique et de développement (Duguma *et al.* 2001) et occupe entre 5à 6 millions d'hectares (Gockowski *et al.* 2004).En 2002, le Cameroun était le sixième pays producteur de cacao dans le monde et quatrième en Afrique en fournissant 5 % de la production mondiale ; 75 %de cette production est réalisée dans les systèmes agroforestiers situés dans les régions du Centre, Sud, et Est du pays et couvre actuellement 400.000 hectares, soit 0,80 % du territoire national (Anonyme 2011).

En 2015 la campagne cacaoyère camerounaise affiche des résultats positifs. En effet on observe une hausse de la production d'un peu plus de 20 000 tonnes soit 209 905 tonnes pour la campagne cacaoyère de 2013/2014 et 232 530 tonnes pour la campagne de 2014/2015 (Cameroun tribune 2015).

Tableau 2: Production mondiale par pays du cacao marchand (10³tonnes) campagne 2015/2016 (ICCO, 2016)

	2013/14		Estimates 2014/15		Forecasts 2015/16	
Africa	3199	73.2%	3068	72.5%	3063	73.7%
Cameroon	211		232		230	
Côte d'Ivoire	1748		1798		1690	
Ghana	897		740		840	
Nigeria	248		195		200	
Others	97		105		103	
America	726	16.6%	760	18.0%	714	17.2%
Brazil	228		230		210	
Ecuador	234		250		230	
Others	264		280		274	
Asia & Oceania	447	10.2%	401	9.5%	377	9.1%
Indonesia	375		325		300	
Papua New Guinea	38		38		38	
Others	38		40		41	
World total	4372	100.0%	4230	100.0%	4154	100.0%

I.1.6. Contrainte de la culture du cacao

La culture du cacao connaît plusieurs contraintes dont les plus importantes sont les contraintes économiques et les contraintes parasitaires

I.1.6.1. Contraintes économiques

Parmi les contraintes économiques auxquelles la cacaoculture fait face nous avons :

- une qualité et une productivité médiocre ou en baisse : le vieillissement des cacaoyers, le manque de formation et les mauvaises techniques de fermentations et de séchage réduisent la qualité des récoltes ainsi que les rendements ;
- les coûts de la production en hausse : le prix des fertilisants et pesticides pour combattre insectes et maladies continue d'augmenter tout comme le prix du carburant et les coûts de transport.

I.1.6.2. Contraintes parasitaires

Le cacaoyer est l'hôte de plusieurs ravageurs et microorganismes d'agressivité variable (tableau 3). Les pertes globales sont de l'ordre de 40 % de la production mondiale, mais certaines maladies peuvent détruire la totalité de la production quand les conditions sont favorables au développement de la maladie. Les principales maladies qui attaquent le cacaoyer sont la pourriture brune des cabosses causée par les champignons du genre *Phytophthora* et les mirides. Les insectes appartenant à la famille des mirides font partie des principaux enne-

mis de la cacaoculture mondiale. Les genres les plus actifs sont *Sahlbergella singularis* et *Distantiella theobroma* (Babin et al. 2010).

Tableau 3: Principales maladies du cacaoyer

Maladie	Agent pathogène	Région	Pertes	Dégâts	Moyens de lutte
Pourriture brune des cabosses	<i>Phytophthora megakarya</i>	Afrique	80%	Pertes de rendement	Lutte chimique Méthodes culturales Matériel partiellement résistant
	<i>Phytophthora palmivora</i>	Afrique Amérique latine Asie du Sud-est	30%		
	<i>Phytophthora capsici</i>	Amérique latine Asie du Sud-est	10%		
« Swollen shoot »	Cacao Swollen Shoot Virus	Afrique de l'Ouest (Togo, Ghana, Nigeria)	25 à 50%	Mort des arbres	Arrachage des plants infectés
Balai de sorcière	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	Amérique latine		Arbres improductifs	Elimination des tissus infectés
Moniliose	<i>Moniliophthora roreri</i>	Amérique latine	40 à 90%	Perte de rendements	Récolte sanitaire Lutte chimique
Vascular Streak Disease	<i>Oncobasidium theobromae</i>	Asie du Sud-est		Mort des arbres	Quarantaine Méthodes culturales

I.2. Généralités sur *Phytophthora megakarya*

I.2.1. Origine et taxonomie

Phytophthora (du Grec phyton : <<plante>>phthora :<< destruction>>) est un genre d'Oomycètes de la famille des Péronosporacées. Ce genre fut décrit pour la première fois en 1875 par Anton de Barry qui élucida le cycle de vie de *P.infestans*, agent pathogène de la pomme de terre et posa les fondements même de la pathologie végétale (Matta 2010). *P.megakarya* est un champignon originaire d'Afrique. Cette espèce a été isolée pour la première fois au Togo en 1982 (Djieckporet al. 1982). Au Cameroun, elle est la principale espèce responsable de la pourriture brune du cacaoyer (Nyassé et al. 1999). Sa systématique décrite par Attard et al. 2008 est la suivante:

Embranchement: Thallophytes

Classe: Siphonomycètes

Ordre : Péronosporales

Famille : Péronosporaceae

Genre: *Phytophthora*

Espèce: *Phytophthora megakarya*

I.2.2. Biologie et reproduction

Les *Phytophthora* spp sont des champignons qui exigent une humidité de 70 à 90 % et une température de 25 °C pour une croissance optimale. Leur appareil végétatif est un thalle filamenteux formé de mycélium coenocytique et hyalin présentant des hyphes peu ou pas abondamment ramifiées. Ce sont des organismes diploïdes pouvant se multiplier par voie sexuée ou asexuée (Attard *et al.* 2008). La reproduction asexuée ou végétative est le mode de propagation le plus fréquent chez *Phytophthora* (Nyassé 1997). Elle a lieu à la surface des organes parasités, sous forme de poudre blanche. Cette poudre contient des organes reproducteurs végétatifs. Les sporocystes se forment à l'extrémité des filaments mycéliens. On distingue deux modes de germination des sporocystes : (i) la germination directe des sporocystes par émission d'un ou plusieurs tubes germinatifs à travers le pôle apical, (ii) la germination indirecte ou zoosporogénèse par émission des zoospores unicellulaires pourvus de deux cils inégaux. Après leur libération, elles nagent puis perdent leurs cils qui s'enkystent. La reproduction sexuée est la moins répandue. Elle assure la différenciation des formes pathogènes nouvelles. Au cours de cette phase, il se produit une fusion entre une anthérozoïde (gamète mâle) et une oosphère (gamète femelle). La fusion aboutit à la formation d'oospores sphériques à parois épaisses. Cette reproduction sexuée (fig. 2) est homothallique si les deux gamètes sont formés sur le même thalle et hétérothallique si les gamètes sont formés sur des thalles différents. Dans le cas de *Phytophthora*, le champignon est considéré comme étant hétérothallique.

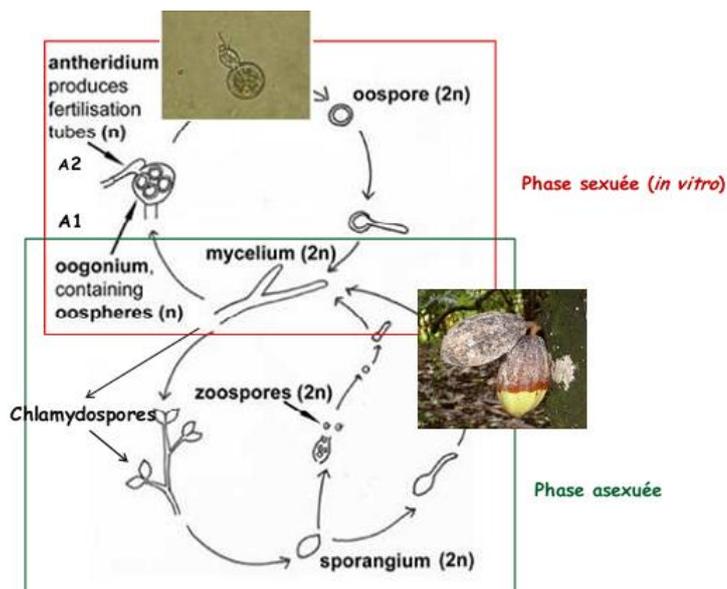


Figure 2: Cycle de reproduction des *Phytophthora* (Mfegue 2010).

I.2.3. Epidémiologie de la maladie

I.2.3.1.Symptomatologie

Dès lors qu'un cacaoyer est infecté, la maladie peut se propager tant bien sur les racines, la tige, les feuilles que les cabosses. Néanmoins la cabosse reste la principale cible, elle peut être attaquée à tous les stades de développement. La maladie commence avec l'apparition de petites taches translucides près de deux jours après infection. Cette tache prend ensuite une couleur brun sombre, se répand rapidement et de façon irrégulière, puis elle couvre entièrement la cabosse (Acebo-Guerrero *et al.* 2011). Après un délai de trois à cinq jours, la cabosse infectée (fig. 3) se recouvre d'un duvet blanchâtre constitué de sporocystes qui vont produire et libérer les zoospores. L'agent pathogène se développe d'abord en surface puis évolue à l'intérieur des fruits. Le fruit infecté reste ferme et impropre à la consommation. A la fin du processus la cabosse prend une teinte noire et se momifie (Mfegue 2010).



Figure 3: *P.megakarya* sur cabosse infectée (clichéAbou'ou).

I.2.3.2.Epidémiologie

La pourriture brune est une maladie qui s'exprime essentiellement sur les cabosses malgré les symptômes sur le tronc (chancre). C'est une maladie qui se manifeste d'une part quand il y'a conjonction entre la présence des fruits sur l'arbre quelque soit leur stade de développement et d'autre part une période pluvieuse (Muller, 1974). Les sources primaires d'infection (Maddison et Griffin. 1981) sont: les cabosses momifiées sur les arbres, les écorces du cacaoyer, les coques des cabosses éparpillées sur le tronc, les arbres d'ombrage, les feuilles issues des mêmes pousses, le sol et la litière, les mousses et les autres épiphytes recouvrant l'écorce. Les cabosses sporulant constituent la source secondaire de l'inoculum (Maddison et Griffin. 1981). Au champ, on assiste à la dissémination verticale s'effectuant de

cabosse en cabosse du bas de l'arbre vers le haut, par contact direct ou par les insectes (Babacauh 1982).

Certains facteurs favorisent aussi la maladie. Il s'agit de :

- la pluviométrie : les attaques de la pourriture brune surviennent généralement pendant la saison des pluies car l'eau a un effet important sur le développement de la maladie et en plus elle est importante pour la libération des zoospores ;

- l'humidité (hygrométrie) : l'humidité relative proche de la saturation augmente la sensibilité des cabosses ;

- l'éclairement : la reproduction sexuée des *Phytophthora* est inhibée par la lumière tandis que celle-ci induit la fructification pendant la multiplication asexuée.

Des études épidémiologiques visant à déterminer le stade de développement des fruits les plus sensibles à la pourriture brune ont montré que les chérelles étaient moins sensibles que les jeunes cabosses ainsi que les cabosses adultes (Ndoumbè-Nkeng 2002). Ces études ont également permis de connaître quantitativement les endroits du cortex où apparaissent les premiers symptômes de la maladie au Cameroun. (Ndoumbè-Nkeng 2002) a montré que 46 % des débuts d'infection se réalisaient en zone proximale, 26 % en zone médiane et 28 % en zone distale.

I.2.3.3. Méthodes de lutte

I.2.3.3.1. Lutte chimique

Couramment utilisée jusqu'à présent, elle consiste en l'application des formulations fongicides à intervalles réguliers et très fréquents par atomisation ou par pulvérisation (Muller 1974 ; Goreng 1974). Les formulations fongicides utilisées ici sont de deux types : les fongicides de contact, à base de cuivre (oxyde ou oxyde de cuivre) qui restent à la surface de l'organe et les fongicides systémiques encore appelés pénétrants, à base du métalaxyl, de bénomyl, de dimétomorphe qui pénètrent dans l'organe et se répandent dans la plante entière. Au Cameroun, les formulations fongicides étaient utilisées à raison de 12 applications par an pour les fongicides de contact (Muller 1974) ou 8 applications par an pour les fongicides systémiques (Despreaux *et al.* 1988). Les travaux menés par (Ndoumbè-Nkeng 2003) ont permis de réduire à quatre applications par an. Mais, ces applications s'effectuent par l'alternance d'un fongicide de contact pendant la première saison de pluies et d'un fongicide systémique pendant la deuxième saison. Cette méthode présente des limites d'efficacité, quand les applications sont faites juste avant les pluies, les produits

sont facilement lessivés. La lutte chimique est donc un moyen efficace, coûteux, contraignant et polluant.

I.2.3.3.2.Lutte génétique

La lutte génétique contre la pourriture brune du cacaoyer désigne l'ensemble des méthodes conventionnelles ou basées sur les techniques de marquage moléculaire qui ont pour but de développer des variétés productives et tolérantes à cette maladie.

I.2.3.3.3. Lutte biologique

En ce qui concerne la lutte biologique, on exploite certaines relations hétérospécifiques (prédation, compétition) qui existent entre les microorganismes de même espèce ou non. Les travaux de (Nwaga 1984) ont montré que *Gliocladiumroseum* produit des composés fongiques faiblement inhibiteurs de *P. palmivora*. (Melnick *et al.* 2006) ont montré qu'il existe une forte probabilité qu'une résistance durable à la maladie puisse être induite par les bactéries non pathogènes.



CHAPITRE II :MATERIEL ET METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Cadre de travail

Le matériel végétal est issu de la station de la Société de développement du cacao (SO.DE.CAO) de Mengang dans le Département du Nyong et Mfoumou, Région du Centre. Les expériences ont été menées au laboratoire de Phytoprotection et de Valorisation des Ressources Végétales (L.P.V.R.V.) du Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé I à Nkolbisson.

II.1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué des cabosses matures de huit (08) hybrides, pour un total de 120 hybrides donc 96 utilisés pour la mono-infection et 24 pour la co-infection. Elles sont issues de quatre champs semenciers bi-clonaux (fig. 4) de la station de la SODECAO de Mengang (Tableau 4).

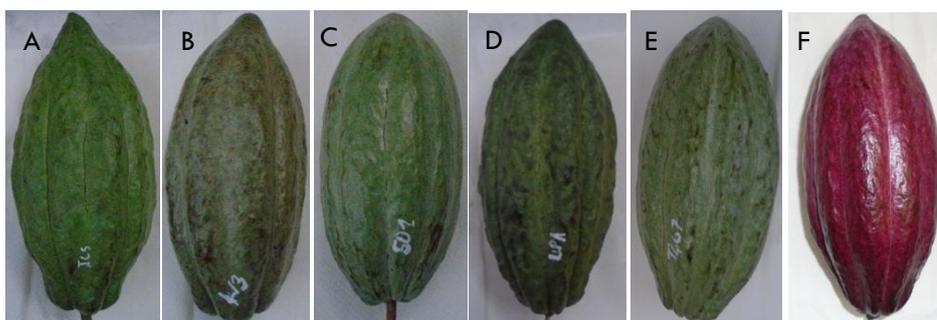


Figure 4: Morphologie de quelques cabosses hybrides de *T. cacao*. A : ICS40×UPA134; B : SNK413×T79/501 ; C : T79/501×SNK413 ; D : T79/467×SNK13 ; E: UPA134× ISC40; F: SNK13× T79/467; cliché Abou'ou (2016).

Tableau 4: Présentation des champs semenciers

Champ semencier	Clones parentaux	Hybrides
n°2	ICS40 et UPA134	- F40 : (♀) ICS40 × (♂) UPA134 - F134 : (♀) UPA134 × (♂) ICS40
n°6	SNK16 et SCa12	- F16 : (♀) SNK16 × (♂) SCa12 - F12 (♀) SCa12 × (♂) SNK16
n°7	T79/467 et SNK13	- F79 : (♀) T79/467 × (♂) SNK13 - F13 : ♀ SNK13 × (♂) T79/467
n°8	T79/501 et SNK413	- F79 : (♀) T79/501 × (♂) SNK413 - F413 : (♀) SNK413 × (♂) T79/501

II.1.3. Matériel fongique

Le matériel fongique utilisé dans le cadre de notre travail était constitué de trois isolats de *P. megakarya* Il s'agit de : Bakoa, Lebdi, et Le4 (fig. 5) ; ils ont été fournis par le L.P.V.R.V. du Centre de Biotechnologie de l'Université de Yaoundé I à Nkolbisson.

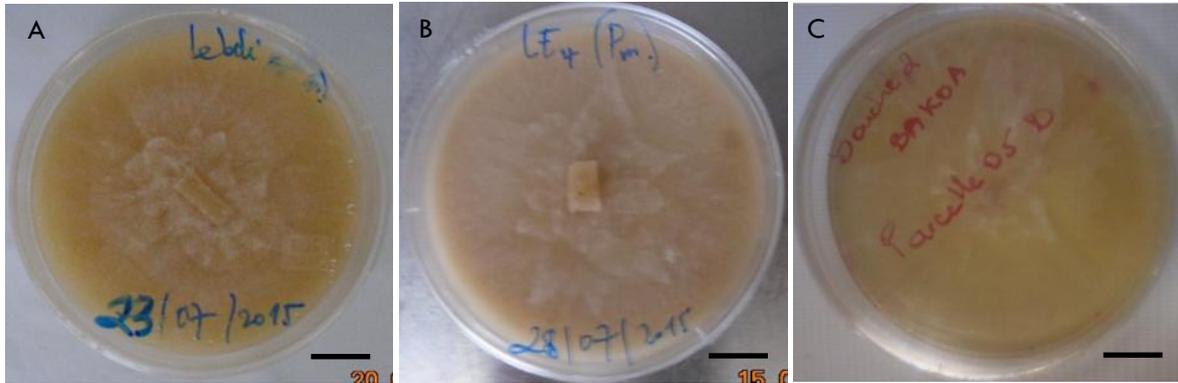


Figure 5: Souches de *Phytophthora megakarya* sur milieu V8. A : isolat Lebdi ; B : isolat Le4 ; C : isolat Bakoa. Clichés Abou'ou (2015).

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation du milieu de culture et culture du champignon

La préparation du milieu de culture nécessitait du jus de V8 (100 ml), de l'agar (7,5 g), du carbonate de calcium (1,5g), de l'eau distillée, des boîtes de Pétri, une autoclave de marque SYSTEC et une hotte. Le milieu de culture a été préparé comme suit : le carbonate de calcium (CaCO_3) était dilué dans 900ml d'eau distillée, puis la solution était portée à ébullition, et le jus de V8 était ajouté et chauffé pendant 10 min. Le milieu était ajusté avec de l'eau distillée (100ml) et de l'agar pour 1000ml de milieu de culture. Ce milieu était ensuite autoclavé à 121°C à une pression de 2 bars pendant 20 min. Après stérilisation, le milieu de culture était coulé dans des boîtes de Pétri stériles sous une hotte.

La souche de *P. megakarya*, était ensemencée sur le milieu de culture V8 préparé. Ces boîtes étaient placées dans un incubateur puis retournées pour permettre le développement du champignon à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ et à l'obscurité. Après 6 jours de culture, une croissance maximale du champignon était obtenue.

II.2.2. Production de sporocystes sur cabosses détachées

Des cabosses saines récoltées dans la parcelle clonale de l'IRAD et ramenées au laboratoire étaient vigoureusement lavées à l'eau du robinet pendant environ 2 minutes puis rincées à deux reprises à l'eau distillée stérile. Après séchage sous une hotte à flux laminaire (MEGAPLEX) des morceaux parallélépipédiques de 4×4×0,5 cm ont été soigneusement coupés à l'aide d'un scalpel pour ainsi obtenir une blessure sur la cabosse. Un morceau de gélose est découpé sur le front de croissance du champignon pathogène poussant sur milieu V8 et déposé dans la blessure faite sur la cabosse. La préparation est recouverte d'un morceau de coton imbibé d'eau distillée stérile ; puis placées dans un récipient en plastique de 28×28×20 cm étant à la base tapissée du papier buvard imbibé d'eau distillée stérile, servant à maintenir une humidité relative (75-100 %) dans l'enceinte propice à la germination des spores (Bud Platt 2008).



Figure 6: Sporocystes de *P.megakarya* sur cabosse détaché. (Cliché, Abou'ou 2015).

II.2.3. Préparation de l'inoculum fongique.

Les fructifications de sporocystes obtenues sur cabosses pourries étaient récoltées à l'aide d'un pinceau stérile au niveau du front de croissance du champignon. Ces sporocystes étaient ensuite déposés dans un bécher de 80 ml contenant de l'eau distillée stérile. La libération des spores était favorisée par un choc thermique en soumettant la solution de sporanges obtenue à une température de 4°C dans un réfrigérateur pendant 5 minutes puis immédiatement à l'obscurité à température ambiante pendant 15 minutes. La solution de zoospores était ajustée à une concentration de spores désirée grâce à des dilutions avec de l'eau distillée stérile. Le comptage des spores était réalisé à l'aide de la cellule de Malassez. Il s'agissait ici de déposer une goutte (1µl) d'inoculum fongique sur la cellule de Malassez et de

dénombrer les cellules dans les carrés. Le comptage des colonies s'est fait à l'aide d'un microscope optique (XSP 18 B) et sous objectif 40X

La solution était calibrée à environ $2,5 \cdot 10^4$ suivant la formule :

$$N = n \times 10^5 \text{ s/ml (Nyassé et al. 1995)}$$

N : nombre de spores dans la solution

n : nombre de spores énumérés dans le carré de Malassez

10^5 : nombre de Malassez

Pour la coïnfection, on a préparé une solution sporale de chaque souche, il était question pour nous de créer des combinaisons grâce à nos trois isolats et nous avons ainsi obtenu trois combinaisons donc Bakoa + Lebdi, Bakoa + Le4, et Lebdi + Le4. Ces combinaisons n'étaient obtenues que lors de l'inoculation car on prélevait avec une micropipette 50 μ l d'une solution de zoospore qu'on mettait dans bécher et on y ajoutait 50 μ l d'une autre solution de zoospores pour ainsi obtenir un inoculum de 100 μ l.

II.3. Inoculation sur cabosses

Les inoculations ont été réalisées par le biais d'une micropipette sur des cabosses préalablement scarifiées sur la partie apicale, chaque cabosse a reçue 100 μ l d'inoculum à $2,5 \cdot 10^4$ zoospores/ml sur sa blessure. Après pénétration de l'inoculum, chaque scarification inoculée était recouverte d'un morceau de coton imbibé d'eau distillée stérile puis les cabosses inoculées étaient déposées dans des bacs. Les bacs étaient ensuite refermés et transportés dans la chambre d'incubation pour une période de six jours.

II.4. Mesure de la nécrose

La progression de la nécrose fut évaluée pendant six jours, et la formule utilisée pour déterminer la surface de nécrose était celle de Blaha & Lotode 1976.

$$S = D \times d \times \Pi$$

S: surface de la nécrose (cm^2)

D: diamètre de la nécrose (cm)

d: small diameter (cm)

II.5. Analyses statistiques

Les résultats obtenus après différents traitements (calcul des surfaces de nécrose) ont fait l'objet de l'analyse descriptive (moyenne, écart type, variance). Les données ont été traitées par l'analyse de variance au moyen du logiciel SPSS version 20.0 pour Windows. Les comparaisons multiples ont été effectuées par le test de Tukey. Le dendrogramme a également permis le regroupement des hybrides en groupes semblables.



CHAPITRE III :
RESULTATSETDISCUSSION

III.1. Résultats

III.1.1. Développement de la nécrose après mono-infection

La surface nécrotique a varié en fonction de la susceptibilité de chaque hybride. Les résultats ont montré un développement différentiel de la maladie, la propagation de l'infection n'a pas obéi au même schéma, elle était génotype-dépendant (fig. 7).

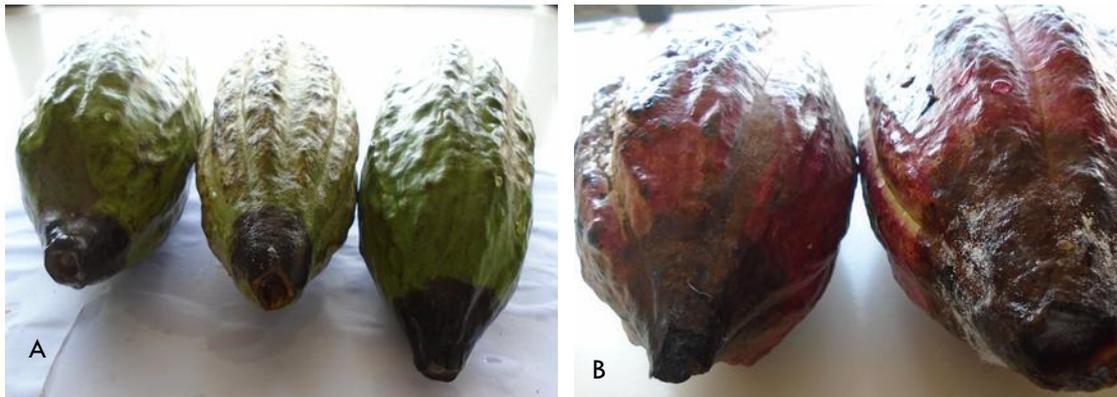


Figure 7 : Effet de l'infection sur les cabosses de *T. cacao* (Cliche Abou'ou 2016). **A** : UPA 134× ICS 40 **B** : SNK13×T79 /467

III.1.1.1. Cas de la souche "Lebdi "

Quatre jours après infection, les surfaces nécrotiques varient entre $3,59 \pm 0,63$ et $10,45 \pm 3,15$. Au sixième jour, on observe que l'hybride T79/501 × SNK 413 ($49,66 \pm 26,44 \text{cm}^2$) présente une surface nécrotique très importante après infection par la souche Lebdi. Par contre, ces surfaces nécrotiques sont moins marquées chez les hybrides SNK413×T79/501 ($9,75 \pm 0,24 \text{cm}^2$), SCA12 × SNK16 ($16,37 \pm 1,19 \text{cm}^2$) et SNK16 ×SCA12 ($17,50 \pm 4,61 \text{cm}^2$) (tableau 5).

Tableau 5 : Surfaces des nécroses obtenues sur les huit hybrides de cacao quatre et six jours après infection par la souche "Lebdi " de *P.megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Jour 4	Jour 6
SNK413 × T79/501	3	$3,59 \pm 0,63^a$	$9,75 \pm 0,24^a$
T79/501 × SNK413	3	$6,72 \pm 0,51^b$	$49,66 \pm 26,44^e$
SNK13 × T79/467	4	$8,30 \pm 0,76^{bc}$	$23,23 \pm 0,67^c$
T79/467 × SNK13	4	$9,48 \pm 5,55^c$	$21,44 \pm 2,72^c$
SNK16 ×SCA12	3	$9,75 \pm 1,16^c$	$17,50 \pm 4,61^b$
SCA12 × SNK16	3	$8,92 \pm 1,91^{bc}$	$16,37 \pm 1,19^b$
ISC40 × UPA134	3	$7,57 \pm 0,69^b$	$22,00 \pm 0,68^c$
UPA 134 × ISC40	3	$10,45 \pm 3,15^{cd}$	$28,45 \pm 1,70^d$

III.1.1.2. Cas de la souche "Le4"

Aux jours 4 et 6, la souche "Le4" montre que l'hybride SNK413 × T79/501 est le plus sensible avec les valeurs $14,15 \pm 8,50$ et $21,92 \pm 7,38$ cm² respectivement au quatrième et au sixième jour. On note, la tolérance du génotype SCA12 × SNK16 par rapport à tous les autres génotypes étudiés. Toutefois, les hybrides ayant une surface de nécrose faible sont: T79/467 × SNK13, UPA 134 × ISC40, ICS40 × UPA134 et SNK13 × T79/467 (Tableau 6)

Tableau 6. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao quatre et six jours après infection par la souche "Le4" de *Phytophthora megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Jour 4	Jour 6
SNK413 × T79/501	3	$14,15 \pm 8,50^c$	$21,92 \pm 7,38^{cd}$
T79/501 × SNK413	3	$6,96 \pm 1,89^a$	$19,00 \pm 1,09^c$
SNK13 × T79/467	4	$7,88 \pm 1,31^a$	$13,59 \pm 0,78^{ab}$
T79/467 × SNK13	4	$6,86 \pm 0,26^a$	$13,49 \pm 0,238^{ab}$
SNK16 × SCA12	3	$9,47 \pm 1,60^{ab}$	$16,33 \pm 3,475^{bc}$
SCA12 × SNK16	3	$5,97 \pm 1,10^a$	$12,59 \pm 0,860^a$
ISC40 × UPA134	3	$8,45 \pm 1,94^{ab}$	$14,90 \pm 3,450^{ab}$
UPA 134 × ISC40	3	$9,28 \pm 2,99^{ab}$	$13,59 \pm 3,020^{ab}$

III.1.1.3. Cas de la souche "Bakoa"

L'infection par la souche Bakoa, a présenté les génotypes T79/467 × SNK13, SNK16 × SCA12, UPA 134 × ISC40 et SCA12 × SNK16, comme les plus sensibles ; avec des valeurs comprises entre $15,88 \pm 5,77$ et $28,31 \pm 7,96$ cm², au jour 4, et $46,20 \pm 2,09$ et $83,22 \pm 25,23$ cm² au jour 6. Et montrait aussi des surfaces de nécrose plus élevée par rapport aux autres souches (tableau 7).

Tableau 7. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao quatre et six jours après infection par la souche "Bakoa" de *P.megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Jour 4	Jour 6
SNK413 × T79/501	3	$1,54 \pm 0,14^a$	$7,27 \pm 2,02^a$
T79/501 × SNK413	3	$20,37 \pm 15,71^c$	$19,06 \pm 17,77^b$
SNK13 × T79/467	4	$12,03 \pm 10,91^{bc}$	$50,54 \pm 23,25^c$
T79/467 × SNK13	4	$28,31 \pm 7,96^f$	$83,22 \pm 25,23^d$
SNK16 × SCA12	3	$22,04 \pm 0,56^{cd}$	$49,64 \pm 23,92^c$
SCA12 × SNK16	3	$15,88 \pm 5,77^{bc}$	$46,20 \pm 2,09^c$
ISC40 × UPA134	3	$11,98 \pm 0,68^{bc}$	$24,68 \pm 1,23^b$
UPA 134 × ISC40	3	$26,41 \pm 5,22^e$	$78,97 \pm 29,05^d$

III.1.2. Développement de la nécrose après la co-infection

Après classification hiérarchique des hybrides, les génotypes SNK413 × T79/501 et T79/467 × SNK13 ont été sélectionnés pour évaluer l'incidence de la maladie due à la co-infection.

- **combinaison de Bakoa + Lebdi au jour 4**
 - **chez l'hybride SNK413 × T79/501**

La combinaison de Bakoa + Lebdi, montre que l'hybride résiste moins à la souche Lebdi qu'à la souche Bakoa. Or l'inoculation par co-infection, crée une surface de nécrose identique à celle obtenue lors de la mono-infection à la souche Lebdi (fig.8)

- **chez l'hybride T79/476 × SNK13**

Par contre, l'hybride T79/476 × SNK13 présente une forte sensibilité à la souche Bakoa qu'à la souche Lebdi. La surface de nécrose obtenue après co-infection est plus importante que les mono-infections (fig.8).

- **combinaison de Bakoa + Le4 au jour 4**
 - **chez l'hybride SNK413 × T79/501**

L'hybride SNK413 × T79/501 présente une sensibilité plus développée à la souche Le4 qu'à la souche Bakoa et la surface de nécrose obtenue à l'issue de la co-infection par ces deux souches est plus importante que celle obtenue lors des mono-infections (fig.8).

- **chez l'hybride T79/476 × SNK13**

Toutefois, l'hybride T79/476 × SNK13 est plus sensible à la souche Bakoa qu'à la souche Le4, or la co-infection montre une surface de nécrose moins importante que celle obtenue par les différentes mono-infections (fig.8).

- **combinaison de Lebdi + Le4 au jour 4**
 - **chez l'hybride SNK413 × T79/501**

La surface de nécrose en co-infection est plus importante (98 %) que celle due à l'infection par l'isolat Lebdi et moins de (45 %) que celle due à la souche Le4 (fig.8).

- **chez l'hybride T79/476 × SNK13**

En co-infection, l'hybride T79/476 × SNK13 présente quasiment la même surface de nécrose lorsqu'il est infecté par la souche Le4. Mais cette surface est inférieure de (44 %) à celle due à la souche Lebdi (fig.8).

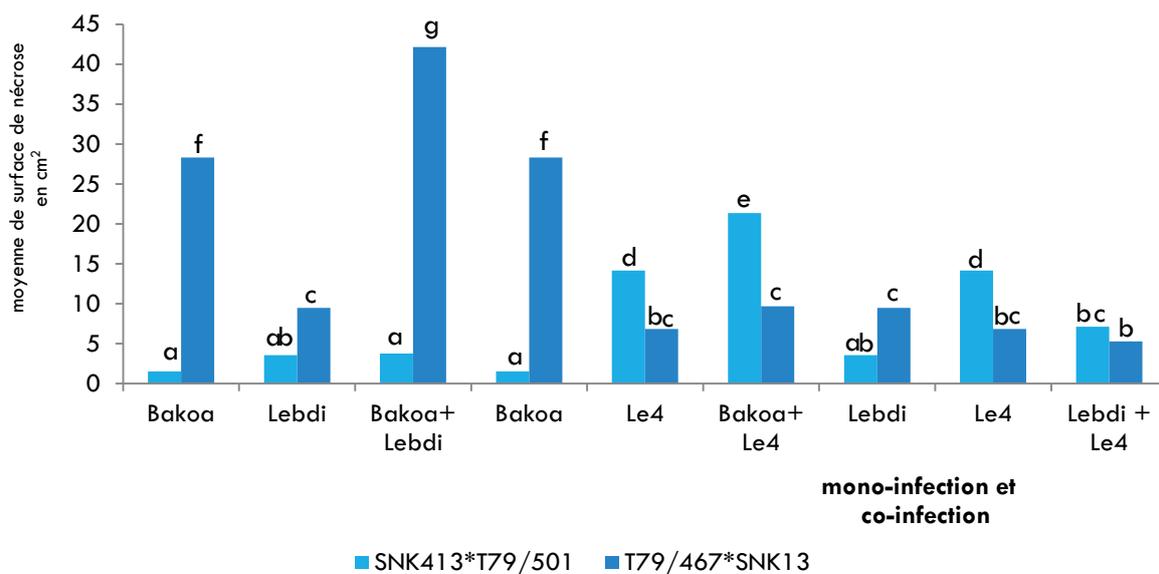


Figure 8: Surfaces de nécroses obtenues quatre jours après mono-infection et co-infection

- **combinaison de Bakoa + Lebdi au jour 6**
 - **chez l'hybride SNK413 × T79/501**

Nous constatons au sixième jour que la surface de nécrose est d'autant plus augmentée (3,7523 cm²) par rapport aux mono-infections au même jour (Fig.9).

- **chez l'hybride T79/476 × SNK13**

La surface de nécrose de T79/476 × SNK13 est considérablement supérieure à celle obtenue par les mono-infections au même jour (42,1231 cm²) (Fig.9).

- **combinaison de Bakoa + Le4 au jour 6**
 - **chez l'hybride SNK413 × T79/501**

La surface de nécrose chez cet hybride est d'autant plus élevée au jour six qu'au jour quatre et par rapport aux mono-infections (fig. 9).

- **chez l'hybride T79/476 × SNK13**

De même chez T79/476 × SNK13 la surface de nécrose a quasiment doublée, mais reste inférieure à celle obtenue par la mono-infection par la souche Bakoa (fig.9).

- **combinaison de Lebdi + Le4 au jour 6**
 - **chez l'hybride SNK413 × T79/501**

La surface de nécrose obtenue chez cet hybride a considérablement augmentée plus de (125 %) comparée à celle obtenue par les mono-infections au même jour (fig.9).

- **chez l'hybride T79/476 × SNK13**

La propagation de la nécrose ne varie pas significativement ($P < 5\%$) par rapport aux mono-infections (fig.9).

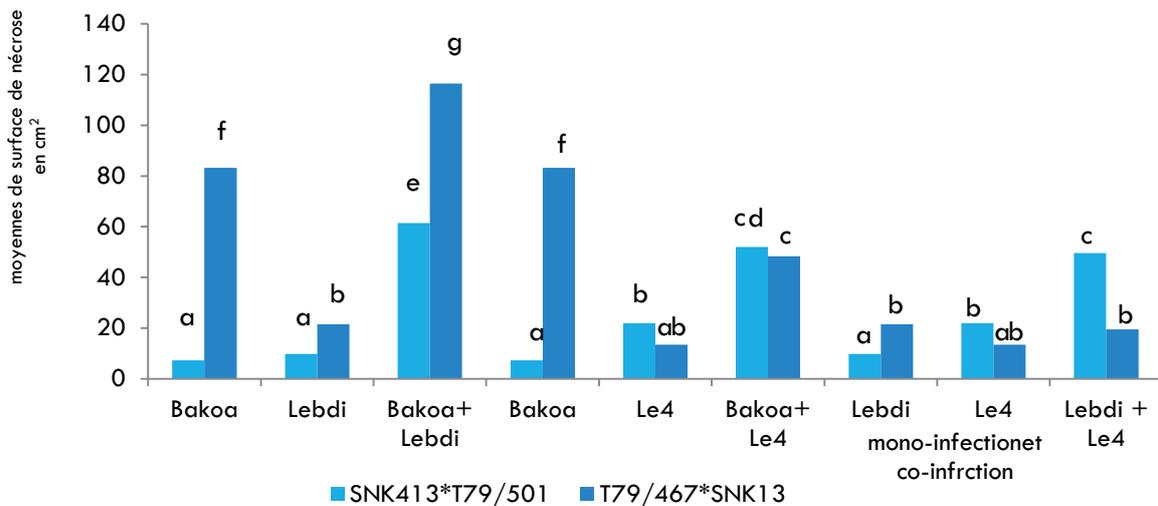


Figure 9: Surfaces de nécroses obtenues après six jours par mono-infection et co-infection

III.1.3. Classement des souches et des hybrides

La somme des moyennes des surfaces de nécrose chez nos huit hybrides au jour quatre et au jour six a permis de classer trois souches Lebdi, Le4 et Bakoa de *P.megakarya* suivant leur degré de virulence. De cet fait, l'échelle de virulence croissante a été obtenue comme suite : $Le4 < Lebdi < Bakoa$.

III.1.3.2 classement des hybrides sur la base de leur niveau de tolérance

Le dendrogramme des individus étudiés montre une similitude de 95 % d'homogénéité et 5 % d'hétérogénéité sur la base des surfaces nécrotiques à différentes conditions de traitement. Quatre groupes (Tableau9) ont été distingués : le groupe 1 constitué des hybrides $T79/476 \times SNK13$, $UPA 134 \times ICS 40$ et $SNK 16 \times SCA 12$ sont reconnus sensibles. Le second groupe, on distingue les hybrides moins sensibles. L'hybride $T79/501 \times SNK413$ est moins tolérant et constitue le groupe 3. Toutefois, $SNK413 \times T79/501$ se révèle comme l'hybride le plus tolérant après tous les traitements utilisés.

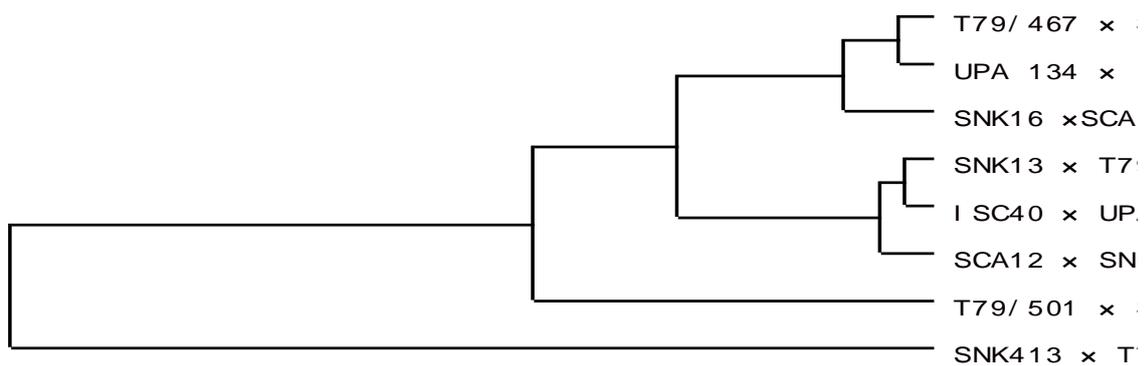


Figure 9: classification hiérarchique des génotypes sur la base de leur surface de nécrose 4 et 6 jours après infection.

III.2. Discussion

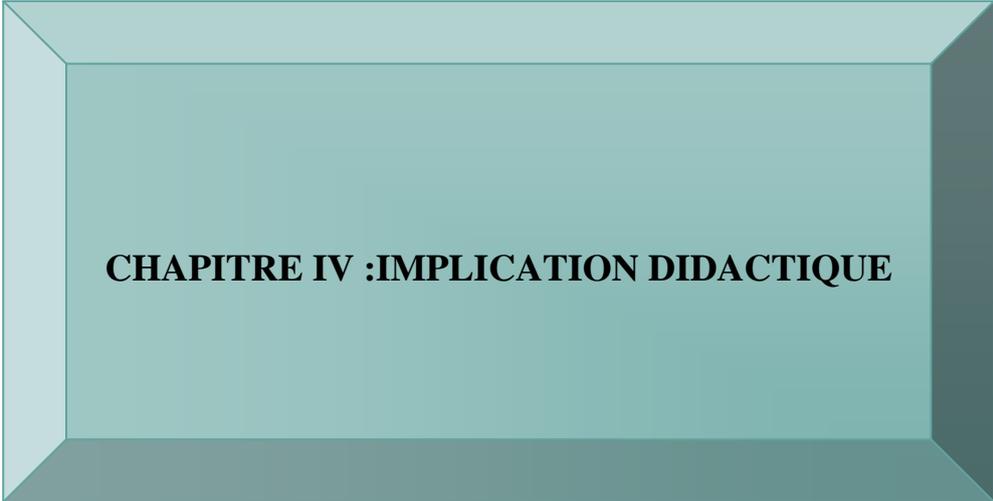
Trois isolats différents de *P. megakarya* ont été pris dans la banque de souches du laboratoire de lutte biologique de l'I.R.A.D station de Nkolbisson. Afin d'évaluer leur virulence, des cabosses de huit hybrides issus de la SO.DE.CAO ont été infectées. Des données ont été recueillies au quatrième et au sixième jour après inoculation. La vitesse de propagation de l'infection sur les génotypes mis à l'épreuve était le résultat de la présence de l'agent pathogène de la pourriture brune des cabosses de cacao. En effet, de très faibles surfaces de nécrose ont été observées avant quatre jours d'infection sur toutes les cabosses hybrides utilisées. Ce résultat serait dû soit à la faible concentration de zoospores utilisée lors de l'infection ou alors de l'état intrinsèque des cabosses hybrides, cabosses issues du croisement entre parents de tolérance moyenne et/ou élevée vis-à-vis de *P. megakarya*. Entre le quatrième et le sixième jour après infection, une augmentation moyenne de 60 à 80% de la croissance de la surface des nécroses est observée chez les hybrides. Ces résultats sont similaires à ceux de (Mpika *et al.* 2009) dans l'inhibition de *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses de cacaoyers.

L'analyse de l'évolution de la surface de nécrose sur les différents hybrides a permis de relever deux différences majeures : la surface de nécrose sur les cabosses dépend de l'hybride utilisé et de la durée post infection. En effet, les travaux de (Djocgoué *et al.* 2010) sur les croisements réciproques des clones T79/467 et SNK13 ont montré que la dynamique de la nécrose était variable non seulement d'un génotype à un autre mais aussi au sein d'une même famille. Nos résultats ont révélé une augmentation de la surface de nécrose au cours du temps. Les résultats obtenus six jours après infection révèlent des différences significatives entre les hybrides utilisés corroborant ainsi ces derniers. La même observation a été faite par (Nyasse *et al.* 2003b) après infection des disques de feuilles de quelques clones de *Theobroma cacao*.

La variabilité de la surface de nécrose est fonction des isolats de *P. megakarya*. Nos travaux ont montré que l'isolat Bakoa serait plus virulent que les autres souches en occurrence Ledbi et Le4. D'autre part, il s'est avéré que l'hybride considéré comme le plus résistant soit très sensible à la souche Le4 de *P. megakarya* contrairement à T79/467 × SNK13 qui montre une tolérance élevée à cette souche, or il a été considéré comme l'hybride le plus sensible.

De même que les mono-infections, les co-infections indiquent aussi que la propagation de l'infection varie avec le temps. Chez les deux hybrides SNK413 × T79/501 et T79/467 × SNK13, une progression de leur surface de nécrose a été observée du jour quatre au jour six

lors de la co-infection Bakoa+ Lebdi. La progression de la nécrose laissait voir une action synergique des agents pathogènes impliqués dans la co-infection et la régression de la nécrose laissait prétendre une action antagoniste de ces mêmes pathogènes. Ce résultat est similaire à celui de Mpika *et al* (2009) dans l'inhibition de *Phytophthora palmivora* par *Trichoderma sp.* En effet, ces auteurs ont démontré que la cohabitation d'autres champignons avec *Phytophthora palmivora* au niveau des tissus du cacaoyer pouvait avoir un effet antagoniste au développement et à la virulence de *Phytophthora palmivora*.



CHAPITRE IV :IMPLICATION DIDACTIQUE

FICHE PEDAGOGIQUE DE PREPARATION D'UNE LEÇON DE SVT SELON L'APO

Établissement : Lycée de Nsam-Efoulan

Domaine : Science de la vie

Module : ORGANISATION FONCTIONNELLE DES VEGETAUX
CHLORAPHYLLIENS

Chapitre 6: LE RESULTAT DE L'ACTIVITE PHOTOSYNTHETIQUE :
LA PRODUCTION VEGETALE

Titre de la leçon : ACTION DE QUELQUES FACTEURS SUR LA
PRODUCTION VEGETALE

Nom de l'enseignant : Mme Abou'ou medjo kelly rais-
sa

Classe : 2nde c

Effectif :98

- Garçons : 48

- Filles : 50

Durée : 1heure

Objectif pédagogique opérationnels (O.P.O)

A la fin de cette leçon chaque élève devra être capable à partir d'une étude expérimentale de l'action de deux facteurs sur l'intensité de la photosynthèse, de montrer l'action des facteurs du milieu sur la production végétale.

Outils pédagogiques de référence : Livre au programme

Prérequis : définir photosynthèse et donner les conditions de réalisation de la photosynthèse

Etapas	OPI	Contenus spécifiques	Matériel ou support didactique	Activités d'apprentissage		Evaluations	Durée
				enseignant	élèves		
Introduction	1-établir le contrat professeur-élève	<p>Titre : Action de quelques facteurs sur la production végétale</p> <p>OPI : Montrer l'action des facteurs du milieu sur la production végétale.</p>	Programme officiel	<p>Fait un rappel sur la leçon précédente et invite les élèves à donner le titre de la leçon du jour</p> <p>Dicte les OPI</p>	<p>-écoutent attentivement, donne le titre de la leçon et le recopie dans leur cahier</p> <p>-copie les OPI dans les cahiers</p>		

2-intérêt de la séquence d'apprentissage	Avoir une bonne production et éviter les pertes dans nos champs agricoles.	Vécu quotidien (activité)	Présente une situation problème et invite les élèves à donner l'intérêt de la leçon. Deux agriculteurs décident d'observer le rôle de la lumière sur le développement. Nicole décide de planter des plants de cacaoyers sous des grands arbres pour avoir l'ombrage et Laurie plante les siens sans ombrage. En fin d'année, la récolte de Nicole est le double de celle de Laurie.	-écoute l'enseignant et donne l'intérêt de la leçon : R : Eviter les pertes de production dans nos champs agricoles.	Déduire le facteur influençant la récolte de ces deux agriculteurs et donner l'intérêt de la leçon	10 min
3-vérification des pré-requis	Voir entête	Cours et apprentissage antérieur	-pose les questions de l'évaluation diagnostique aux élèves -fait corriger les réponses proposés par les élèves et propose une remédiation si possible	-répondent aux questions -corrigent leurs erreurs	Définir photosynthèse Donner les conditions de réalisation de la photosynthèse.	

	4-problème scientifique et hypothèse	Comment les facteurs du milieu influence la production végétale	Connaissances de l'enseignant	Crée une situation problème et invite les apprenants à donner le problème scientifique : L'exemple de tout à l'heure montrait que la lumière influençait la production du cacao. De ce constat, quel questionnement vous vient à l'esprit.	Ecoutent l'enseignant, Répondent aux questions et donnent le problème scientifique.		
Développement	Montrer l'action des facteurs du milieu sur la production végétale	<p>I-Actions des facteurs du milieu</p> <p>De multiples facteurs du milieu influencent sur la croissance d'une plante et peuvent donc diminuer la productivité d'une culture. On distingue :</p> <p>a) a— <u>Les facteurs liés à la photosynthèse</u></p> <p>il s'agit de :</p> <p>i. — <u>Influence de l'intensité d'éclairement</u></p> <p>L'intensité des échanges gazeux augmente avec l'intensité lumineuse jusqu'à un optimum variable avec les espèces, à partir duquel les échanges diminuent et la lumière devient alors</p>	Planche, document : 1	Comparer la vitesse de croissance de ces deux plantes.	Compare et donne l'allure.	Citer les facteurs de la photosynthèse qui influence la photosynthèse	15 min

		<p>nocive.</p> <p><u>ii-Influence de la teneur en CO₂ du milieu</u></p> <p>L'intensité des échanges gazeux croit avec la proportion du CO₂ jusqu'à un optimum variable avec les espèces, puis reste stable.</p>	Document :2	Analyser la courbe des échanges de CO ₂	Analyse la courbe		
		<p>b) – <u>Les facteurs climatiques</u></p> <p><u>i. – La pluviométrie</u></p> <p>Dans la détermination d'un climat, le facteur humidité est capital. L'humidité d'un milieu dépend de la quantité d'eau qui tombe sous forme de pluie.</p> <p>Une plante ombrophile est une plante qui aime l'eau.</p> <p><u>ii – Le vent</u></p> <p>Le vent a une action directe sur les végétaux en brisant les branches, les feuilles ou les tiges. Il joue un rôle dans l'évaporation qui prive le milieu d'une partie de l'eau reçue. La puissance mécanique du vent joue également un rôle important dans les phénomènes de pollinisation.</p>				Citer les facteurs climatiques liés à la production végétale	

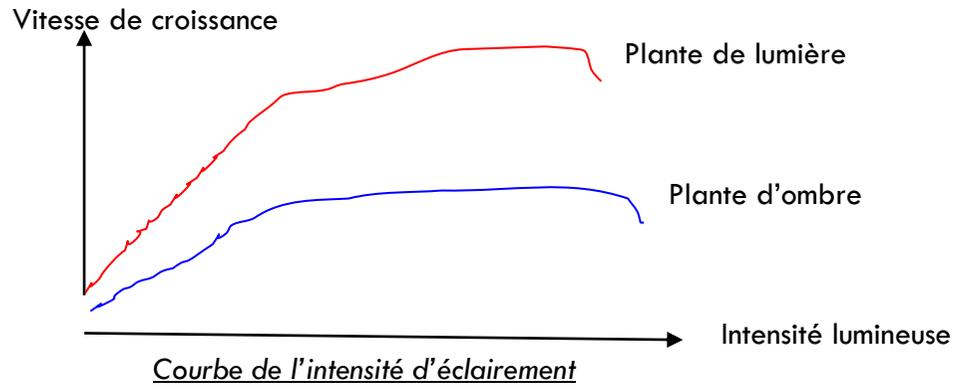
		<p>iii – La température T° optimale = t° qui assure la croissance maximale de la plante T° létale = t° mortelle pour la plante T° maximale = t° au dessus de laquelle la croissance de la plante s'arrête T° zéro de croissance = t° en deçà de laquelle la croissance s'arrête.</p>					
Conclusion		<p>NB :Notion de facteur limitant Le facteur du milieu le plus pénalisant pour la culture est appelé facteur limitant. C'est lui qui limite la production et c'est lui qui doit être amélioré en priorité.</p>		<ul style="list-style-type: none"> - demande aux apprenants de rappeler le problème scientifique -demande aux apprenants rappeler les OPI 	<ul style="list-style-type: none"> -rappel le problème scientifique -rappellent les OPI -répondent aux questions de l'évaluation sommative 	<ul style="list-style-type: none"> - Citer les facteurs de la photosynthèse qui influence la production végétale - Citer les facteurs climatiques liés à la production végétale -définir facteur limitant 	5 min

Références bibliographiques :

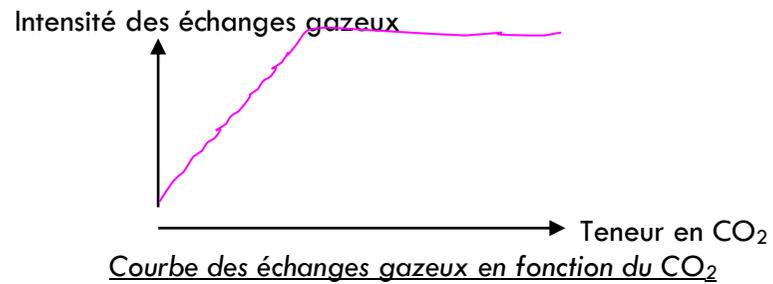
- livre programme

Planche

Document :1



Document : 2





CONCLUSION

L'objectif de cette étude était d'évaluer à l'aide de tests en laboratoire la virulence de quelques souches de *P. megakarya* sur une population homogène de cabosses (hybrides) mature de *T.cacao*. La réalisation de cet objectif s'est fait en plusieurs étapes. Entre autres, l'analyse de la surface de nécrose sur les cabosses des différents hybrides, la comparaison des souches de *P.megakarya* de même que celle des hybrides, le classement des souches de *P.megakarya* et celui des hybrides de *T. cacao*, et enfin, l'évaluation de l'incidence de la maladie due à la co-infection.

Au terme de notre étude :

- le classement des isolats de *P. megakarya* a révélé l'échelle de virulence croissante ci-après Le4 < Lebdi < Bakoa ;
- l'analyse du dendrogramme a montré que l'hybride SNK413 × T79/501 est le plus tolérant, alors que les génotypes hybrides T79/476 × SNK13, UPA 134 x ICS 40 et SNK 16 x SCA 12 sont les plus sensibles ;
- La co-infection a un effet différent en fonction du génotype, de la combinaison utilisée et des jours. Toutes fois, les combinaisons Bakoa+ Le4 et Lebdi + Le4 ont montré une action antagoniste chez l'hybride T79/476 × SNK13

PERSPECTIVES

Les résultats de cette étude nous amène à poser les orientations de recherche suivantes:

- Réaliser une cartographie et recenser les souches de *Phytophthora megakarya* des différentes régions du Cameroun et si possible déterminer leur échelle de virulence ;
- Préconiser les hybrides tolérants à cet oomycète aux planteurs pour réduire les pertes de production ;
- évaluer d'autres critères d'intérêt agronomique comme la tolérance à d'autres maladies.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Acebo-Guerrero Y., Hernandez-Rodriguez A., Heydrich-Perez M., Jaziri E.J M., Hernandez-Lauzarno A.N. (2011). Management of black pod rot in cacao (*Theobroma cacao* L.): a review. *Fruits*, 67: 41-48.S

Aguilar P. (1997) La cacaoculture à Sao Tomé et Príncipe. Publication Cirad.

Alary V. (1996) La libéralisation de la filière cacaoyère vue et vécue par les planteurs du Cameroun. *Revue Région et Développement*, n° 4, 24.

Alverson, W. S., Whitlock, B. A., Nyffeler, R., Bayer, C., Baum, D. A. (1999) Phylogeny of the core Malvales: Evidence from ndhF sequence data. *American journal of Botany*, 86:1474-1486.

Anonyme (2016) ICCO (International Cocoa Organisation). Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics Vol. XLII, No. 1.

Anonyme. (2011) Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. 37 (2).

Anonyme. (2012) Jeune Afrique, «Café cacao, le Cameroun fait monter la fève», 28 Mars 2012. <http://www.jeuneafrique.com/Article/JA2671p104---105.xml0/>

Assoumou, J. (1977) Culture *in vitro* of cambial tissue of cacao. *Nature*, 173: 351-352.

Attard A., Gourgues M., Galiana E., Panabieres F., Ponchet M., Keller H. (2008) Strategies of attack and defense in plant-oomycete interactions, accentuated for *Phytophthora parasitica* Dastur (syn. *P. Nicotianae* Breda de Haan). *Plant Physiology*, 165:83-94.

Babacauh K.D. 1980. Structure et dynamique des populations de *Phytophthora* sp. Parasite du cacaoyer. Thèse de doctorat d'Etat Université de Paris Sud Centre d'Orsay. 153.

Babacauh K. D. (1982) Rôle des communautés d'insectes et de l'eau dans les disséminations de *P.palmivora* Bult (Bult.) dans les cacaoyers de Cote d'Ivoire. *Café, Cacao, Thé* 26 (1): 31-36.

Babin J. (2010). Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. *Agricultural and Forest Entomology*, 12: 69-79.

Babin R. (2009) Contribution à l'amélioration de la lutte contre le mirride du cacaoyer *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera : Miridae). Influence des facteurs agro-écologiques sur la dynamique des populations du ravageur, Université Paul-Valéry (Montpellier III), France. Ph.D thesis.

Bacillus spp. induit une résistance systémique aux maladies du cacaoyer. 15^e Conférence Internationale sur la recherche Cacaoyère. 210.

Binam J.N. (1987) Examen en microscopie électronique de l'aspect externe des cabosses du cacao saines ou infectées par *Phytophthora megakarya*. Café, Cacao, Thé 31(1): 119-130.

Blaha G., Lotode R. (1976) un critère primordial de la sélection du cacao au Cameroun: la résistance à la pourriture brune des cabosses (*P.palmivora*). Café cacao. Thé. 20:97-115.

Braudeau J., Nkamleu G.B. (2008) Technical efficiency and productivity potential of Cocoa Farmer in west-Africa, 11: 13-14.

Budplatt. (2008) Maladies de la pomme de terre causées par des oomycètes. *Cahier d'agriculture* juillet-août volume 17 : 161-167

Cameroun tribune, vendredi 07 août (2015). Campagne cacaoyère 2015/2016 p.7.

Cuatrecasas. (1964) Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Contributions from the United States Herbarium.

Despreaux D., Cambrony D., Nyassé S., Partiot M. (1988) Étude de la pourriture brune des cabosses du cacao au Cameroun : définition de nouvelles méthodes de lutte. 10^e Conférence internationale sur la recherche cacaoyère. 407-412.

Djiekpor E.K., Partist M., Lucas P. (1982) La pourriture brune des cabosses du cacao due à *Phytophthora* spp. Au Togo: détermination des espèces responsables. Café Cacao Thé. 26: 97-108.

Djocgoué P.F., Simo C., Mbouobda H.D., Boudjeko T., Nankeu D.J., Omokolo N.D. (2010) Assessment and heritability of productivity and tolerance level to *Phytophthora megakarya* in two hybrid populations of *Theobroma cacao*. J. Plant Pathol., 92:607-617.

Duguma B., Gockowski J., Bakala J. (2001). Smallholder cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivation of agroforestry systems of West and central Africa: challenges and opportunities. Agroforestry system, 51:177-188.

Efombagn M. I. B., Nyassé S., Biéysse D., Sounigo O. (2013) Analysis of resistance to *Phytophthora* pod rot within local selections of (*Theobroma cacao* L.) for breeding purpose in Cameroon, 5(6):111-119.

Efombagn M. I. B., Sounigo O., Eskes A.B. Motamayor J.C., Manzanares-Dauleux M.J., Schell R., Nyassé S. (2009) Parentage analysis and out crossing patterns in cacao (*Theobroma cacao* L.) farms in Cameroun. Heredity, 103(1):46-53.

Eskes A.B., Lanaud C. (1997) *Theobroma cacao* L. In: L'amélioration des plantes tropicales, CIRAD, Montpellier. 141-165.

Flood J., Guest D., Holmes K.A., Keane P., Padi B., Sulistyowati E. (2004) Cocoa under attack. In: Cocoa Futurs. Flood J. and Murphy R. (Eds) CABI – FEDERACAFE, Chine à Colombia. p.164.

Gockowski J., Ndoumbé M., Ndoumbé M. (2004) The adoption of intensive monocrop horticulture in southern Cameroon. *Agricultural economics*, 30: 195-202.

Gorenz A.M. (1974). Field spraying for control of *Phytophthora* pod. Annual report of cocoa Research Institute of Nigeria 52 :1968-1969

Griffin M.J. (1976) Cocoa *Phytophthora* workshop, Rothamsted Experimental Station, England. *PANS* 23: 107-110.

Maddison A. C., Griffin M. J. (1981) Detection and movement of inoculum. In: Gregory P. H., Maddison A. C. (eds): Epidemiology of *Phytophthora* on cocoa in Nigeria. *Phytopathol.* 25: 31-50.

Matta C. (2010) Spontaneous Generation and Disease Causation: Anton de Bary's Experiments with *Phytophthora infestans* and Late Blight of Potato. *Journal of the History of Biology*, 43: 459-491.

Mbondji (2010) Le cacaoyer au Cameroun.

Melnick R.L., Bailey B.A., Maximova S., Guiltinan M.J., Backman P.A. (2006)

Mfegue C.V. (2010) Origine et mécanisme de dispersion des populations de *phytophthora megakarya*, pathogène du cacaoyer au Cameroun. Thèse Doctorat, Centre International D'étude Supérieures en Sciences Agronomiques-Montpellier Sup agro, 186.

Mossu G. (1990) Le cacaoyer. *Maisonneuse et Larose*, Paris. 160 p.

Motamayor J.C., Risterucci A.M., Lopez P.A., Ortiz C.F., Moreno A., Lanaud C. (2002) Cacao domestication: the origin of the cultivated by the Mayas, *Heredity*, 89: 380-386

Mpicka J. (2009) Inhibition de *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer en Côte d'Ivoire, par *Trichoderma sp* *Science et nature*, 6 :49-62.

Muller R. A. (1974) Effect of prophylactic measures on the dissemination of *Phytophthora palmivora*. In: Gregory P. A. ed. *Phytophthora* disease of cocoa Longman, London. 169-178.

Ndoumbè-Nkeng M. (2002) Incidence des facteurs agro-écologiques sur l'épidémiologie de la pourriture brune des fruits du cacaoyer au Cameroun: Contribution à la mise en place d'un modèle d'avertissement agricole. Thèse de Doctorat de l'institut National agronomique (Paris- Grignon).151.

Ndoubè-Nkeng M., Cilas C., Nyemb E., Nyassé S., Bieysse D., Flori A., Sache I. (2003) Impact of removing diseased pods on cocoa black pod caused by *Phytophthora megakarya* and cocoa production in Cameroon. *Crop protection* 1 (4): 1-10.

Ndoubè-Nkeng M., Cilas C., Nyemb E., Nyassé S., Bieysse D., Flori A., Sache I. (2004) Impact of removing diseased pods on cocoa black pod caused by *Phytophthora megakarya* and cocoa production in Cameroon. *Crop protection* 23: 415-424.

Niemenak N., Cilas C., Rohsius C., Bleiholder H., Meier U. and Lieberei R. (2010) Phenological growth stages of cacao plants (*Theobroma* sp.); Codification and description according to the BBCH scale. *Ann. Applied Biol.* 156:13-24.

Nwaga D. (1984) Contribution à l'amélioration génétique de la résistance du Cacaoyer (*Theobroma cacao*) à la pourriture brune des cabosses due à *Phytophthora* spp. Mémoire DEA, Université de Rennes. 54.

Nya Ngatchou, (1981) Etat d'avancement des travaux de génétique et d'amélioration au Cameroun. VIth International Cocoa Research Conference, Douala, Cameroun. 507-511.

Nyassé S. (1992) Structure d'une population de *Phytophthora* spp des cacaoyères Camerounaises atteintes de la pourriture brune. DRU. Inst. Nat. Polytech. Toulouse. 48.

Nyassé S. (1997) Etude de la diversité de *Phytophthora megakarya* et caractérisation de la résistance du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) à cet agent pathogène. Thèse de Doctorat, Inst. Nat. Polytech. de Toulouse. 133.

Nyassé S., Grivet L., Risterucci A. M., Baha G., Berry D., Lanaud C., Despéaux D. (1999) Diversity of *P. megakarya* in central and West Africa revealed by isozyme and RAPD design. *Euphytica* 123: 395-399.

Nyassé S., Efombagn M.I.B., Bouambi E., Ndoubè-Nkeng M., Eskes A.B. (2003b) Early Selection for resistance to *Phytophthora megakarya* in local introduced cocoa varieties in Cameroon. *Trop. Sci.* 43: 96-102.

Ploetz R. C. (2007) Cacao diseases: Important threats to chocolate production worldwide. *Phytopathology*, 97: 1634-1639.

Romain H. Raemaekers (2001) agriculture en Afrique tropicale.

Royaert S., Phillips-mora W., Arciniegas Leal A.M., Carriage K., Brown J.S., Kuhn D.N., Schnell R.J., Motomayor J.C. (2011) Identification of marker-trait associations for self-compatibility in a segregating mapping population of *Theobroma cacao* L.

Santos R.M.F., Lopes U.V., Silva S.D.V.M., Micheli F., Clement D. Gramocho K. (2012) Identification of QTLs linked to Ceratocystis wilt resistance in cacao. Mol Breed. Doi, 10.1007/s 11032-012-9739-2.

Sonwa D.J., Nkongmeneck B.A., Weise S.F., Tchatat M., Adesina A.A., Janssens M.J.J. (2007) Diversity of plants in cocoa agroforests in the humid forest zone of Southern Cameroun. Biodiversity Conservation, 16: 2385-2400.

Verlière G. (1981) Fertilisation et nutrition minérale de cacaoyer. Travaux et document de l'ORSTOM, Paris, 100 :275.

Wood G.A.R. (1991) A History of early and development. In Cocoa introduction. Cocoa growers Bul, 44: 7-12

Wood G.A.R. and Lass R.A. (1985) Cocoa. Essex, United Kingdom, Longman Scientist and technical. 620.

ANNEXES

ANNEXES I : Tableaux

Tableau I. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao quatre jours après infection par la souche "Lebdi " de *Phytophthora megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Moyenne \pm ET	Variance	Minimum	Maximum
SNK413 \times T79/501	3	3,59 \pm 0,63 ^a	0,401	3	4
T79/501 \times SNK413	3	6,72 \pm 0,51 ^b	0,269	6	7
SNK13 \times T79/467	4	8,30 \pm 0,76 ^{bc}	0,591	8	9
T79/467 \times SNK13	4	9,48 \pm 5,55 ^c	30,814	5	18
SNK16 \times SCA12	3	9,75 \pm 1,16 ^c	1,361	9	11
SCA12 \times SNK16	3	8,92 \pm 1,91 ^{bc}	3,670	7	11
ISC40 \times UPA134	3	7,57 \pm 0,69 ^b	9,955	8	14
UPA 134 \times ISC40	3	10,45 \pm 3,15 ^{cd}	9,135	3	18

Tableau II. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao six jours après infection par la souche "Lebdi " de *Phytophthora megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Moyenne \pm ET	Variance	Minimum	Maximum
SNK413 \times T79/501	3	9,75 \pm 0,24 ^a	0,180	9	10
T79/501 \times SNK413	3	49,66 \pm 26,44 ^e	2,098E3	23	103
SNK13 \times T79/467	4	23,23 \pm 0,67 ^c	1,821	22	25
T79/467 \times SNK13	4	21,44 \pm 2,72 ^c	29,747	18	29
SNK16 \times SCA12	3	17,50 \pm 4,61 ^b	63,832	10	26
SCA12 \times SNK16	3	16,37 \pm 1,19 ^b	4,296	14	18
ISC40 \times UPA134	3	22,00 \pm 0,68 ^c	1,387	21	23
UPA 134 \times ISC40	3	28,45 \pm 1,70 ^d	8,767	26	32

Tableau III. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao quatre jours après infection par la souche "Le41 " de *Phytophthora megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Moyenne \pm ET	Variance	Minimum	Maximum
SNK413 \times T79/501	3	14,15 \pm 8,50 ^c	72,384	5	22
T79/501 \times SNK413	3	6,96 \pm 1,89 ^a	3,591	5	9
SNK13 \times T79/467	4	7,88 \pm 1,31 ^a	1,738	6	9
T79/467 \times SNK13	4	6,86 \pm 0,26 ^a	0,068	7	7
SNK16 \times SCA12	3	9,47 \pm 1,60 ^{ab}	1,852E4	9	10
SCA12 \times SNK16	3	5,97 \pm 1,10 ^a	1,219	5	7
ISC40 \times UPA134	3	8,45 \pm 1,94 ^{ab}	3,783	6	10
UPA 134 \times ISC40	3	9,28 \pm 2,99 ^{ab}	8,959	7	13

Tableau IV. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao six jours après infection par la souche "Le41" de *Phytophthora megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Moyenne \pm ET	Variance	Minimum	Maximum
SNK413 \times T79/501	3	21,92 \pm 7,381 ^{cd}	54,476	14	29
T79/501 \times SNK413	3	19,00 \pm 1,099 ^c	1,208	18	20
SNK13 \times T79/467	4	13,59 \pm 0,781 ^{ab}	0,610	13	14
T79/467 \times SNK13	4	13,49 \pm 0,238 ^{ab}	0,057	13	14
SNK16 \times SCA12	3	16,33 \pm 3,475 ^{bc}	12,075	13	20
SCA12 \times SNK16	3	12,59 \pm 0,860 ^a	0,740	12	14
ISC40 \times UPA134	3	14,90 \pm 3,450 ^{ab}	11,901	11	18
UPA 134 \times ISC40	3	13,59 \pm 3,020 ^{ab}	9,119	10	16

Tableau V. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao quatre jours après infection par la souche "Bakoa " de *Phytophthora megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Moyenne \pm ET	Variance	Minimum	Maximum
SNK413 \times T79/501	3	1,54 \pm 0,14 ^a	0,021	1	2
T79/501 \times SNK413	3	20,37 \pm 15,71 ^c	246,944	3	33
SNK13 \times T79/467	4	12,03 \pm 10,91 ^{bc}	119,188	2	28
T79/467 \times SNK13	4	28,31 \pm 7,96 ^f	63,359	17	33
SNK16 \times SCA12	3	22,04 \pm 0,56 ^{cd}	0,320	21	23
SCA12 \times SNK16	3	15,88 \pm 5,77 ^{bc}	33,347	10	21
ISC40 \times UPA134	3	11,98 \pm 0,68 ^{bc}	0,473	11	13
UPA 134 \times ISC40	3	26,41 \pm 5,22 ^e	27,263	20	30

Tableau VI. Surface des nécroses obtenues sur quelques hybrides de cacao six jours après infection par la souche "Bakoa " de *Phytophthora megakarya*.

Hybrides	Nombre d'essai	Moyenne \pm ET	Variance	Minimum	Maximum
SNK413 \times T79/501	3	7,27 \pm 2,02 ^a	4,105	5	9
T79/501 \times SNK413	3	19,06 \pm 17,77 ^b	315,795	5	39
SNK13 \times T79/467	4	50,54 \pm 23,25 ^c	540,979	35	84
T79/467 \times SNK13	4	83,22 \pm 25,23 ^d	636,936	50	107
SNK16 \times SCA12	3	49,64 \pm 23,92 ^c	572,326	22	64
SCA12 \times SNK16	3	46,20 \pm 2,09 ^c	4,395	45	49
ISC40 \times UPA134	3	24,68 \pm 1,23 ^b	1,525	24	26
UPA 134 \times ISC40	3	78,97 \pm 29,05 ^d	844,012	47	103

ANNEXE 2 : Verreries

-barreaux et baguettes aimantées	-papiers filtre
-béchers	-pissettes
-dispositif de filtration sous vide	-pipettes
-éprouvettes graduées	-piluliers
-entonnoirs	-portoires
-erlenmeyers	-spatules
- fioles jaugées	-papiers filtre
-mortiers et pilons	-tubes à essai