

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE

DÉPARTEMENT DES SCIENCES
BIOLOGIQUES

REPUBLIC OF CAMEROON

Peace-Work-Fatherland

THE UNIVERSITY OF YAONDE I

HIGHER TEACHER TRAINING COLLEGE

DEPARTMENT OF BIOLOGICAL
SCIENCE



EFFET DE DEUX ISOLATS DE *Phytophthora megakarya* SUR QUELQUES CLONES PARENTAUX ET HYBRIDES DE CACAOYER (*Theobroma cacao* L.) DU GROUPE TRINITARIO

Mémoire rédigé et présenté en vue de l'obtention du Diplôme de professeur de l'Enseignement Secondaire Général Deuxième Grade (Di.P.E.S II)

Par

MEKUE NOUWEZEM Quisselle

Licenciée és sciences

Option : Biochimie

Matricule : 04S521

Sous la direction de

Dr EFFA ONOMO Pierre

Chargé de Cours

Année académique 2015 / 2016

À
Mes parents *Siméon* et *Elisabeth NOUWEZEM*

REMERCIEMENTS

Le travail de recherche présenté dans ce mémoire n'aurait pu être réalisé sans un ensemble de personnes à qui j'adresse mes plus sincères remerciements :

- 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 m'ont permis de fournir le meilleur de moi-même ;

- au Prof. SONKE, Chef de Département des Sciences Biologiques de l'Ecole Normale Supérieure;

- au Docteur ONDOBO Martine Louise Epse ATANGANA pour ses encouragements et son soutien dans la réalisation de ce travail;

- à tout le personnel enseignant en particulier aux Professeurs NIEMENAK Nicolas et BOUDJEKO Thaddée, pour leur assistance technique;

- à M. MANGA NDJAGA Jude pour sa grande disponibilité, ses conseils, sa rigueur et ses critiques ont permis la réalisation de cette œuvre;

- à mon époux TADZONG Hippolyte et nos enfants METIEMBE Andréa, TACHI Sulpice, TADZONG Gabriel que j'ai eu abandonné de temps en temps pour les études.

- à la famille MOUGOU de Mengang

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

- à tous les étudiants du LVPRV en particulier MOUAFFO R., ABDOULAYE, Péguy;

- à mes camarades de promotion : MANEJIO C., NGOULA K., pour leur convivialité ;

- à mes frères et sœurs Céline, Laurette, Raymond, Blaise, Viviane NOUWEZEM à qui je dois beaucoup ;

- à mes neveux et nièces : Wilfried, Corine, Pricillia, Mayerick, Hermine, Ketty, Esther, Séraphin, qui ont su me donner le sourire ;

- à mes amis Caroline, Clifford, Souley, Landry pour leurs encouragements et pour avoir été toujours là pour moi;

- à tous ceux qui m'ont permis, à un moment ou à un autre, de relativiser les succès et les difficultés.

TABLE DE MATIERE

DEDICACE	ii
REMERCIEMENTS	iii
TABLE DE MATIERE	iv
RESUME	Erreur ! Signet non défini.
ABSTRACT	vi
LISTE DES ABBREVIATIONS	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX	ix
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE	4
I.1- Généralités sur le cacaoyer	5
I.1.1- Origine et distribution géographique	5
I.1.2- Biologie et écologie	5
I.1.3- Systématique du cacaoyer	7
I.1.4- Variétés de cacaoyers	7
I.1.5- Importance du cacao.	8
I.1.6.1. Contraintes abiotiques	10
I.1.6.2. Contraintes biotiques	10
I.1.7- Méthodes de lutte	11
I.1.7.1- Lutte culturale	11
I.1.7.2- Lutte biologique	11
I.1.7.3- Lutte chimique	12
I.1.7.4- Amélioration génétique	12
I.1.7.5- Lutte intégrée	14
I.2- Généralités sur l'espèce P. megakarya	14
I.2.1- Taxonomie de P. megakarya	14
I.2.2- Biologie et reproduction	15
I.2.3- Description de la maladie.	16
I.2.4- Epidémiologie de la maladie	17
I.3. Relation plante hôte-parasite	18
I.3.1. Notion de pathogénicité	18
I.3.2. Notion de résistance	19
I.4- Greffage.	19
I.5- Hétérosis	20
I.6- Héritabilité	21
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	22
II.1- Cadre de travail	22
II.2- Matériel	23

II.2.1- Matériel végétal _____	23
II.2.2- Matériel fongique _____	23
II.3- Méthodes _____	24
II.3.1- Reconstitution des clones par greffage _____	24
II.3.2- Culture du champignon _____	25
II.3.2.1- Préparation du milieu de culture _____	25
II.3.2.2- Ensemencement de la souche _____	25
II.3.2.3- Préparation de la solution sporale _____	26
II.4- Tests sur feuilles _____	26
II.5- Détermination de l'hétérosis _____	28
II.6- Détermination de l'héritabilité _____	28
II.7- Analyses statistiques _____	29
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION _____	30
III.1- Résultats _____	30
III.1.1- Taux de réussite du greffage _____	31
III.1.2- Variations de l'index de sévérité à la pourriture brune _____	31
III.1.2.1- Comparaison des différents traitements sur les clones _____	32
III.1.2.2- Effet de la coïnfection sur les différents clones _____	32
III.1.3- Echelle de sensibilité des clones parentaux _____	33
III.1.4- Comparaison des différents traitements sur les génotypes hybrides _____	34
III.1.5- Statut de résistance _____	34
III.1.6- Dendrogramme des clones et hybrides _____	35
III.1.7- Evolution de l'effet hétérosis _____	36
III.1.7.1- Effet hétérosis par rapport au parent moyen _____	36
III.1.7.2- Effet hétérosis par rapport au meilleur parent _____	37
III.1.8- Héritabilité _____	37
III.2- Discussion _____	38
CHAPITRE IV : INTERET DIDACTIQUE _____	41
FICHE PEDAGOGIQUE _____	43
FICHE DE ELEVE _____	55
CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPECTIVES _____	56
IV.1-Conclusion _____	56
IV.2- Perspectives _____	57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES _____	58
ANNEXES _____	66

ABSTRACT

Phytophthora megakarya is a Oomycete responsible about 80% of production losses cocoa in Cameroon. Thus, the study of the behavior two isolates of *P. megakarya* (strains NPV + NGF) at monoinfection and coinfection were performed on leaves of four clones generate by graft and two hybrid's family (F20 et F25) of *Theobroma cacao* group Trinitario. The vegetal material is made up of the new leaves of four of *Theobroma cacao* group Trinitario generate by graft and two hybrid group. The fungi material is constitute by zoospore solution of two strains of *Phytophthora megakarya* at 10^6 zoospores/ml. after three, five and seven days inoculation, severity index are take. The results of this study have shown that the best success rate of grafting side slot was observed in the SNK clone 413 (85%) compared to the other clones. Inoculation of leaves by zoospore suspension NPV different strains and co-infection NGF revealed a high virulence of the strain in NGF all clones studied compared to other strains. However, coinfection was more virulent in most hybrids on day 7 with the exception of F20.01 and F20.03 hybrids. At the seven day, the evaluation of the tolerance index showed values of 2.00 ± 0.20 , 2.16 ± 0.36 ; 2.33 ± 0.26 ; 2.50 ± 0.30 respectively for SNK 413 clones; ICS 40, 16 and SNK 13 for three treatments. SNK 413 clone is the most tolerant clone. Moreover, the hybrid F25.03, F20.02 and F20.01 who presented a positive heterosis can be considered as performing genotypes manifesting all increased hybrid vigor. The heritability of reciprocal crosses necrosis surface character ($h^2 = 0.780$ to F20 and F25 to $h^2 = 0.643$) showed that the transmission of this character was nuclear but not cytoplasmic.

Keys words: *Theobroma cacao*, *Phytophthora megakarya*; coinfection, heritability, hétérosis.

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN :	Acide DésoxyriboNucléique
ARN :	Acide RiboNucléique
C.E.P.E.M:	Centre de Production et d'Expérimentation de Mengang
F:	Famille
F1:	hybride de la première generation
F2:	hybride de la deuxième generation
H²:	héritabilité au sens strict
HF1(%):	Taux d'hétérosis
ICCO:	International Cocoa Organization
ICS:	Imperial College Selection
IRAD :	Institut de Recherche Agricole pour le Développement
P.:	<i>Phythophthora</i>
SNK:	Selection de Nkoemvone
SODECAO:	Société de Développement du Cacao
SPSS :	Stastical
T.:	<i>Theobroma</i>
UPA:	Upper Amazonian
V8 :	milieu de culture du champignon

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Morphologie du Cacaoyer.....	6
Figure 2 : Cycle de reproduction de <i>Phytophthora</i>	16
Figure 3 : Cabosses de cacao atteintes de pourriture brune	17
Figure 4 : Feuilles sémi-aoutées en pépinière..	23
Figure 5 : Etape du greffage en fente latérale.	24
Figure 6: Différents ensemencements de <i>P. megakarya</i>	25
Figure 7: Production des zoospores.	26
Figure 8: Dispositif d'incubation des feuilles.....	27
Figure 9: Evolution de la nécrose.....	31
Figure 10 : Index de sévérité des différents traitements chez les clones parentaux 7 jours après infection.	32
Figure 11: Evolution de la sévérité de la maladie au cours du temps sur les clones.	33
Figure 12: Classement des différents géniteurs pour leur sensibilité à la pourriture brune des cabosses.	33
Figure 13: Index de sévérité des différents traitements chez les familles hybrides à 7 jours d'incubation.....	34
Figure 14 : Classification hiérarchique des clones et des familles hybrides F20 et F25 en fonction de l'indice de sévérité à différents traitements au cours de l'évolution de la nécrose.	36
Figure 15: Héritabilité entre les génotypes hybrides et parentaux obtenue à partir de l'indice de sévérité.....	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition de la production mondiale du cacao	9
Tableau 2: Classification des clones et d'hybrides pour leur sensibilité à <i>P. megakarya</i>	35
Tableau 3 : Valeur de l'hétérosis (%) par rapport au parent moyen en fonction de l'index de sévérité sur les feuilles des familles hybrides réciproque F20 et F25.....	37
Tableau 4: Valeur de l'hétérosis (%) par rapport au meilleur parent en fonction de l'index de sévérité sur les feuilles des familles hybrides réciproque F20 et F25.....	38

INTRODUCTION GENERALE

Le cacaoyer de son nom scientifique *Theobroma cacao* L. est une plante tropicale ayant une grande diversification en Amérique du Sud (Bailey *et al.* 2005). Il appartient à la famille des Malvacées (Alverson *et al.* 1999). Introduite en Afrique vers le dix-huitième siècle, son introduction s'est faite au Cameroun en 1892 par les allemands. Il est principalement cultivé pour ses fèves qui trouvent leur importance première dans les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Après la récolte, la fermentation et le séchage, des fèves sont commercialisées et constituent une source importante de revenue.

Ainsi, plus de 50 pays sont impliqués dans la production et l'exportation massive du cacao ; ce qui contribue à leur développement économique. La production des fèves de cacao marchand connaît depuis 2013/2014 une légère baisse. Elle est passée de 4,3 millions de tonnes en 2013/2014 à 4,23 millions de tonnes en 2014/2015, puis à 4,15 millions en 2015/2016 ; parmi les principaux pays producteurs on a la Côte d'Ivoire et le Ghana les deux premiers producteurs mondiaux, le Cameroun 4^{ème} producteur mondial du cacao, avec une production annuelle de 230 000 t de fèves par an (Anonyme 2016).

Cependant, la cacaoculture camerounaise fait face à d'énormes problèmes tels que le vieillissement des plantations, l'inefficacité des géotypes pour une production massive, et surtout l'attaque par des parasites (Ploetz 2007). Parmi les attaques parasitaires, la plus répandue et la plus destructive est la pourriture brune des cabosses (Lee & Taylor 1992). Cette maladie est causée par un Oomycète du genre *Phytophthora* spp., parmi lesquels on distingue : *P. palmivora*, *P. capsici*, *P. citrophthora*, *P. megakarya* (Iwaro *et al.* 1997). Au Cameroun, l'espèce la plus répandue est *Phytophthora megakarya* pouvant être responsable de la perte totale (100%) de la production annuelle de cacao si aucune mesure de protection n'est prise (Ndoumbe-Nkeng *et al.* 2004). L'effet direct de cet Oomycète sur les feuilles et sur les cabosses est difficile à estimer ; de plus, leur effet est notoire sur la santé et sur la productivité du cacaoyer.

Toutefois, le contrôle de cette maladie est devenu un challenge mondial. Selon Tan et Tan (1990), plusieurs méthodes ont été adoptées par les agriculteurs pour contrôler cette maladie parmi lesquelles l'utilisation prédominante des fongicides à base de cuivre (Ndoumbe-Nkeng *et al.* 2004). Bien qu'efficace, cette méthode s'avère inapproprié du point de vue commercial et environnemental. Ces fongicides sont toxiques pour les animaux en général et pour l'Homme en particulier, et causent des problèmes pour les paysans qui sont pour la plupart des illettrés (Opoku *et al.* 2000, Nyadanu *et al.* 2012). À cet effet, la technique la plus appropriée pour contrôler cette maladie serait l'utilisation des géotypes tolérants ou

résistants (Manga 2013, Ondobo 2014), donc aucun risque écologique en rapport avec l'usage des substances chimiques n'est observé.

Notre travail a pour objectif général, de déterminer le comportement de deux isolats de *P. megakarya* en mono et coinfection sur des clones et des hybrides de *T. cacao* du groupe des Trinitario.

Plus spécifiquement, il s'agit de :

- régénérer les clones parentaux par greffage ;
- déterminer l'échelle de sensibilité croissante des clones parentaux et de quelques hybrides ;
- déterminer l'effet de la coinfection sur la sévérité de la maladie ;
- estimer l'effet hétérosis de quelques hybrides et déterminer la nature de l'héritabilité du caractère « sévérité de la maladie ».

CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE

I.1- Généralités sur le cacaoyer

I.1.1- Origine et distribution géographique

Le cacaoyer est une plante ligneuse, originaire de l'Amérique du sud (Bailey *et al.* 2005). Il a été cultivé pour la première fois au Mexique par les Mayas qui l'utilisaient comme monnaie d'échange et aussi pour les rituels lors des cérémonies religieuses (Louis *et al.* 2009). Ses nombreuses vertus, lui ont prêtées une origine divine. C'est sans doute pour cela que Carl Linné attribua en 1753 au cacaoyer le nom de *T. cacao* L. qui veut dire « nourriture des dieux » dont « Theo » pour dieu et « broma » pour nourriture. Les colons espagnols ont propagé la cacaoculture en Amérique latine, puis en Asie d'où son histoire liée à celle de l'expansion coloniale. Il est introduit en Afrique Centrale à partir de l'île de Sao Tomé et Príncipe en 1882 et Fernando Pô en 1855, puis en Afrique de l'Ouest à partir du Ghana en 1879 (Bartley 2005). La culture du cacaoyer est introduite au Cameroun à Victoria en 1889, elle est surtout pratiquée par les colons allemands. La première pépinière de cacaoyer au Cameroun date de 1901 (Yousoufa 1979.). La culture de cacao au Cameroun couvre trois zones agroécologiques soit sept régions (Sud, Centre, Ouest, Nord-Ouest, Sud-Ouest, Littoral, Est) sur les dix que compte le Cameroun (Assoumou 1977).

I.1.2- Biologie et écologie

Les cacaoyers sont des arbustes atteignant 4 à 8 mètres de hauteur, mais qui peuvent néanmoins atteindre jusqu'à 20 mètres à l'état sauvage (Nyassé 1997). Ils se développent dans le sous-bois moyennement ombragés. Les feuilles, simples, alternes, lancéolées, ont de 20 à 30 cm de longueur et une largeur de 7 à 12 cm. Elles sont coriaces et luisantes, de couleur vert clair à rouge violacé à l'état jeune, elles deviennent vertes à l'état adulte.

C'est une plante diploïde ($2n=20$), et essentiellement allogame. A maturité, Les fleurs apparaissent sur le tronc et les branches maîtresses, à l'aisselle d'anciennes cicatrices foliaires développées en «coussins floraux» (figure 1). Elles sont hermaphrodites et pentamères. La fécondation est surtout croisée et la pollinisation est assurée par les insectes entomophiles (petits moucheron du genre *Forcipomyia*). Le cacaoyer est un dicotylédone dont les graines sont plantées et se développent en pépinières ombragées.

Le fruit est une sorte de baie appelé « chérelle » au stade jeune, et « cabosse » (de forme allongée ou sphérique) au stade adulte ; qui ressemble à un petit ballon de rugby d'une taille d'environ 15 à 25 cm de longueur sur 7 à 9 cm de largeur, pouvant peser, selon la variété 200 g à 1 kg. La cabosse, qui peut être verruqueuse ou lisse, suivant les variétés,

présente dix sillons dont cinq plus ou moins profonds et cinq superficiels. L'épiderme, de couleur verte, prend diverses teintes à maturité. A ce stade, il peut être verdâtre, jaunâtre, rosé ou rouge foncé. L'intérieur de la cabosse, protégé par une enveloppe extérieure dure et épaisse, est constitué de cinq loges dont les parois se détruisent à maturité pour former une pulpe molle, blanchâtre, sucrée, légèrement acidulée, enrobant quelque 20 à 40 graines ou «fèves». Celles-ci sont disposées en 5 à 8 rangées longitudinales. L'amande est blanche à violet foncé suivant l'espèce et est constituée d'un embryon à deux cotylédons charnus.

Le cacaoyer est un arbre tropical cultivé dans un climat chaud et humide, principalement dans les régions comprises entre le 20° degré de latitude nord et le 20° degré de latitude sud autour de l'équateur. Il exige une température élevée, sans grands écarts. Une température moyenne de 24 à 28°C, lui est favorable. Très exigeant en ce qui concerne le régime pluviométrique, il réclame au moins 1500 mm de précipitations.

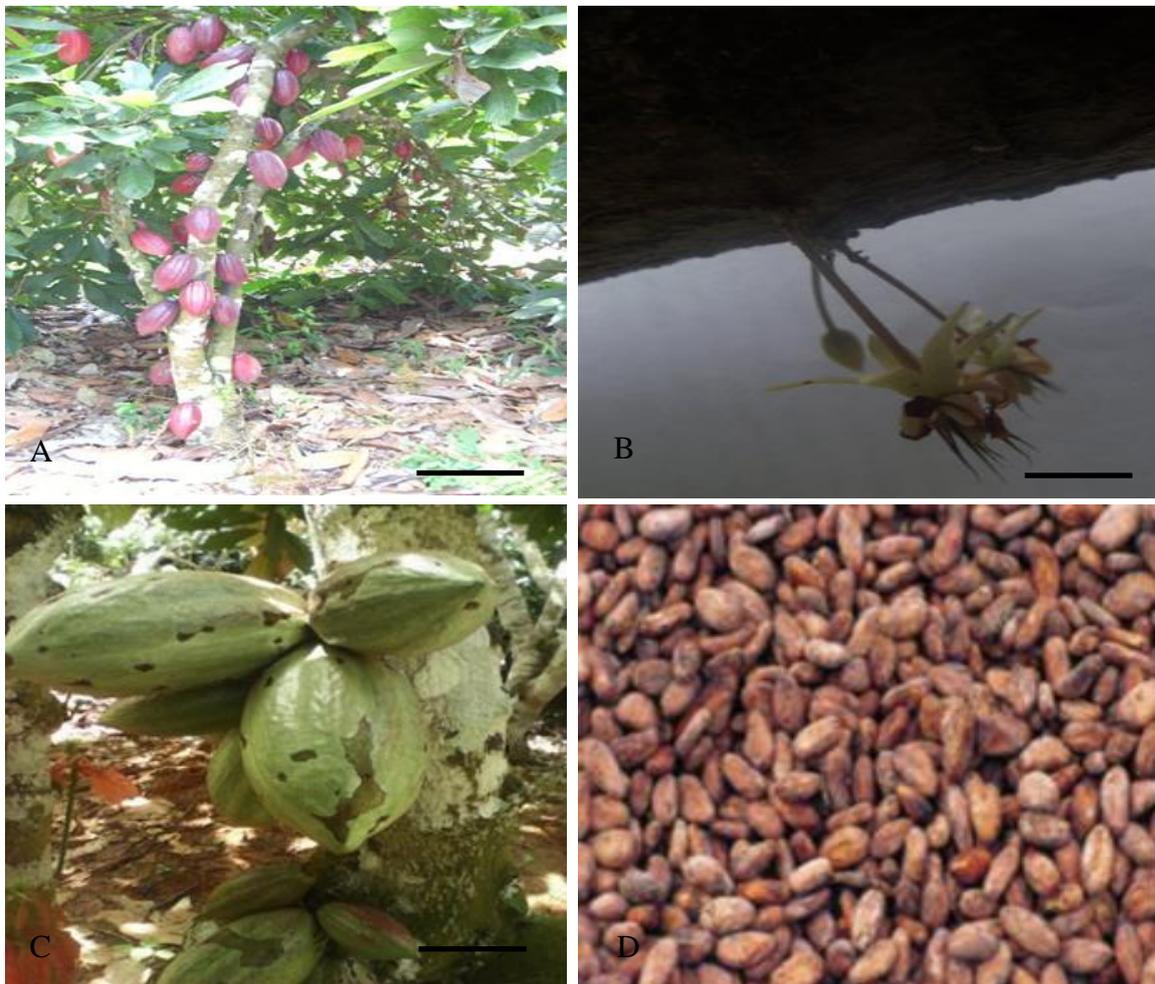


Figure 1 : Morphologie du Cacaoyer. A. Pied de cacaoyer. B. Boutons floraux et fleurs épanouies. C. Cabosses matures. D. Fèves de cacao dépourvues de mucilage. (Barre = 0,02 cm) (Clichés Mekue)

I.1.3- Systématique du cacaoyer

La taxonomie du cacaoyer selon Withlock *et al.* (2001) est la suivante :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Tribu : Byttneriées

Ordre : Malvales

Famille : Malvaceae

Genre : *Theobroma*

Espèce : *Theobroma cacao*

D'après la subdivision du cacao basée sur les caractères morphologiques, la productivité et le niveau de résistance aux maladies, on distingue trois groupes. Selon Bartley (2005), il existe deux lignées pures et une lignée hybride.

I.1.4- Variétés de cacaoyers

Le genre *Theobroma* inclut 22 espèces dont seuls le cacaoyer et le cupuacu (*Theobroma grandiflorum*) sont les espèces commercialisées (Cuatrecasas 1964). *T. cacao* est l'espèce la plus cultivée. Cette espèce comprend diverses variétés qui diffèrent les uns des autres par leur histoire de domestication et leurs caractéristiques morphologiques. Il existe principalement trois groupes de cacaoyer : deux groupes de lignée pure qui diffèrent principalement par la forme de leurs cabosses (les Criollo et les Forastero), et un groupe hybride entre ces deux variétés précédentes appelé Trinitario (Motamayor *et al.* 2001). Cette dernière espèce a été cultivée pour la première fois à Trinidad avant d'être distribuée largement dans les autres pays y compris le Cameroun (Ekes & Lanaud 1997). Une distribution entre ces trois variétés est universellement admise aujourd'hui en fonction de la forme, la couleur des fruits et/ou des cotylédons et la productivité (Braudeau 1969) :

- Forastero, originaire d'Amazonie, représente 80 à 90 % de la production mondiale. Ce sont les plus résistants aux maladies avec une production précoce et à haut rendement. La présence d'allèle d'auto-incompatibilité est caractéristique de ce groupe. Les fruits de forme variable sont en général plus courts et plus ovales que ceux du groupe de Criollo ; toujours verts à l'état immature et jaune à maturité avec des fèves pourpre-violettes. Les cacaoyers de ce groupe ont une grande habilité à s'adapter à de nouveaux territoires d'où leur grand succès.

Elle est cultivée en Afrique Occidentale, au Brésil et en Equateur. D'après leur origine géographique on distingue les Forastero de basse Amazonie et de la vallée de l'Orénoque; et les Forastero de haute Amazonie (Upper Amazon en abrégé UPA).

- Criollo, originaire du Venezuela, représente 1 à 5 % de la production mondiale. Elle est très sensible aux maladies et aux insectes. Elle est caractérisée par des fruits longs et pointus à l'extrémité inférieure, à coque verte à l'état immature et jaune-orange ou rouge à maturité avec des fèves blanche ou violettes pâles. Ces cabosses sont très verruqueuses et marquées de sillons profonds (Ekes & Lanaud 1997). Les cacaoyers de ce groupe sont peu productifs et s'adaptent difficilement aux conditions qui diffèrent de leurs sites d'origine. Elles sont cultivées en Amérique latine (Mexique, Caraïbes, Antilles, Colombie...). Les fèves de cacao qu'elles produisent ont un arôme de haute qualité avec un léger goût amer.

- Trinitario, ce groupe hybride est apparu au 18^e siècle sur l'île Trinité. Il est issu du croisement entre les Criollo et les Forastero et ont de ce fait des caractères intermédiaires entre ces deux groupes. Il représente 10 à 20 % de la production mondiale (Despéreaux, 2004). Il est plus productif que les Criollo et fournit un produit de qualité plus meilleure que la variété Forastero. Les cabosses ont une grande variété de couleurs avec un nombre irrégulier de fèves. Elle est cultivée en Amérique centrale, Trinidad, en Asie et en Afrique (surtout au Cameroun). Ce groupe est le plus répandu au Cameroun et comporte près de quatre-vingt clones (Blaha & Lotode 1976), donc les plus cultivés sont de types : SNK, ICS, UPA.

I.1.5- Importance du cacao.

Le cacaoyer est une plante pérenne cultivée pour ses fèves à partir desquelles on peut extraire le beurre de cacao ayant une propriété exfoliante servant en industrie cosmétique pour ramollir la peau et entretenir les cheveux. Ces fèves constituent la matière première pour divers industries dont l'agroalimentaire à base desquelles ont produit le chocolat qui de par sa composition (64 % de glucides, 6 % de protéines, 22 % de lipides, 4 % de sels minéraux ainsi que les vitamines du groupes A, B, D, et E) est important en nutrition (Schwan & Wheals 2004). Aussi, du fait que les fèves contiennent des substances stimulantes ou alcaloïdes (1,3 à 3 %) dont la théobromine semblable à la caféine, et deux molécules «antistress» (la phényléthylamine et la sérotonine) utilisées dans la fabrication des médicaments, elles interviennent dans l'industrie pharmaceutique. Les fèves possèdent en outre de nombreuses vertus entre autre : la lutte contre le mauvais cholestérol (LDL) grâce à l'acide stéarique, la lutte contre la constipation grâce aux tanins hydrosolubles.

Le cacao est un produit important du commerce mondial, il est cultivé dans près de 57 pays avec près de 73% venant de l’Afrique (Anonyme 2014) où il constitue l’une des principales cultures de rente et contribue ainsi à l’augmentation du produit intérieur brut (PIB). Il constitue également un secteur d’accroissement de l’économie de ces pays. Au Cameroun, le cacao se place au deuxième rang parmi les principaux produits alimentaires d’exploitation après la banane plantain (Anonyme 2009). La production du cacao au Cameroun pour l’année 2016 est moindre que celle de l’année 2015 (tableau 1). Au niveau mondial, le Cameroun est classé quatrième producteur (Anonyme 2016). Les efforts de valorisations des sous-produits du cacao ont récemment abouti à la création d’un détergent, d’un breuvage alcoolisé et des produits de confiserie entièrement à base de cacao. Les coques des cabosses peuvent être utilisées pour l’alimentation du bétail, la fabrication d’engrais organique et même dans la production du biocarburant.

Bien qu’important économiquement, la culture est malheureusement sujette à de nombreuses contraintes ; lesquelles diminuent non seulement la valeur sélective des cacaoyers mais aussi le rendement agricole.

Tableau 1 : Répartition de la production mondiale du cacao (Anonyme 2016)

	2013/14		Estimation 2014/15		Forecasts 2015/16	
Africa	3199	73.2%	3068	72.5%	3063	73.7 %
Cameroon	211		232		230	
Côte d'Ivoire	1746		1796		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		275	
Asia & Oceania	447	10.2%	401	9.5%	377	9.1%
Indonesia	375		325		300	
Papua New Guinea	36		36		36	
Others	36		40		41	
World total	4372	100.0%	4230	100.0%	4154	100.0%

I.1.6- Contraintes de production

I.1.6.1- Contraintes abiotiques

Les contraintes abiotiques sont :

- le faible rendement des variétés cultivées ;
- le faible renouvellement des plantations : environ 80 % des cacaoyères ont plus de 40 ans d'âge alors que leur durée de vie économique est comprise entre 20 et 30 ans, et peut même être considérablement raccourcie par les parasites dévastateurs (Braudeau 1969).

I.1.6.2. Contraintes biotiques

Actuellement, les divers parasites entraînent des pertes de production relativement élevées. Le cacaoyer est un arbre particulièrement sensible aux maladies et aux ravageurs dus surtout à l'environnement de croissance qui est généralement confiné, ombragé et humide (Ploetz 2007). Sa production est affectée par cinq maladies majeures qui détruisent plus de 40 % de la production annuelle totale :

- balai de la sorcière, due à *Crinipellis pernicioso* répandue dans les caraïbes et en Amérique du sud, provoque la prolifération anarchique des rameaux et des coussinets floraux, et détruit les graines dans les jeunes fruits. Elle est responsable de 18% des pertes globales.
- Swollen Shoot, seule maladie à virus répertoriée, se caractérise par un gonflement des tiges et peut entraîner la mort de l'arbre. Elle est présente au Nigéria, au Ghana et au Togo. Elle est responsable de 15% des pertes globales.
- Vascular Streak Dieback ou VSD, due à *Oncobasidium theobromae*, répandu en Asie du Sud-Est provoque la chute des feuilles et entraîne la mort des rameaux il est responsable de 9 % des pertes globales.
- Moniliose, due à *Moniliophthora roreri* est en pleine expansion en Amérique du Sud. Elle est responsable de 5 % des pertes globales.
- Pourriture brune des cabosses due à *Phytophthora* spp. répandue dans toutes les zones cacaoyères. Environ sept champignons ont été identifiés comme causant la pourriture brune du cacaoyer dont deux ont un impact sur la prévalence de la maladie : *P. megakarya* et *P. palmivora*. Plusieurs organes de *P. megakarya* sont susceptibles de provoquer la maladie sur les fruits du cacaoyer quel que soit leur stade de développement (hyphes, sporocystes, spores) (Mfegue 2012). Mais, les zoospores joueraient le rôle de dissémination le plus puissant, la

principale source d'infection au *P. megakarya* est le sol. Elle est responsable de 44% des pertes globales.

- Insectes parasites ; les plus courants sont les piqueurs, en particulier les mirides qui s'attaquent aux chérelles et aux cabosses et les insectes foreurs des cabosses tels que *Conopomorpha cramerella*.

I.1.7- Méthodes de lutte

Les différentes stratégies existantes visent à optimiser les rendements en empêchant la survenue des maladies et l'attaque des ravageurs. Il s'agit principalement des méthodes de la lutte culturale, la lutte biologique, la lutte chimique et de l'amélioration génétique.

I.1.7.1- Lutte culturale

La lutte culturale met l'accent sur les méthodes dites agronomiques permettant de créer les conditions défavorables au développement de l'agent pathogène. Il s'agit d'une part de respecter des techniques culturales visant à aérer la plantation et à réduire l'hygrométrie ambiante par l'entretien fréquent (défrichage), le réglage de l'ombrage, les tailles régulières des cacaoyers et d'autre part, d'effectuer la récolte sanitaire en tout début de campagne (à la floraison) suivie d'un ramassage systématique tout au long de l'année, des cabosses pourries et momifiées, potentielles sources d'inoculum secondaire (Partiot 1984). Ainsi, l'entretien d'une culture par destruction et élimination continue des cabosses infectées ou atteintes de maladies peut réduire de 10 à 30 % l'impact de la pourriture brune dans une plantation n'ayant subi aucun traitement préventif (Ndoumbè-Nkeng *et al.* 2004). L'association de différentes pratiques culturales donne cependant des résultats encourageants (Tondje *et al.* 1993). Cette méthode de lutte devrait être associée à d'autres stratégies pour un contrôle optimal de la maladie en champ.

I.1.7.2- Lutte biologique

La lutte biologique consiste à exploiter certaines relations hétérospecifics (prédation, compétition) qui existent entre les individus de mêmes espèces ou non. Nwaga (1984) a montré que *Gliocladium roseum* produit des composés fongiques faiblement inhibiteurs de *P. palmivora*. Plusieurs espèces fongiques (*Trichoderma* spp. et *Collectotrichum* spp.) peuvent réduire l'incidence de la maladie et il existe une forte probabilité qu'une résistance durable à la maladie puisse être induite par les bactéries non

pathogènes (Tondje *et al.* 1993, Melnick *et al.* 2006). Au Cameroun, plusieurs agents antagonistes ont été utilisés dans le cadre de la lutte biologique contre *P. megakarya* à savoir : *Trichoderma asperellum* (Tondje *et al.* 2007, Tchameni *et al.* 2011), des champignons mycorhiziens à arbuscules (Tchameni *et al.* 2012) et des actinomycètes (Mouafo 2014).

I.1.7.3- Lutte chimique

La lutte chimique vis-à-vis de *P. megakarya* passe par l'utilisation des fongicides à intervalles réguliers et très fréquents par atomisation ou par pulvérisation (Muller 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 béalaxyl, de dimétomorphe qui pénètrent dans l'organe et se répandent dans la plante entière. Mais le contrôle de la maladie est temporaire, contraignant et peu attractif du point de vue commercial (coût élevé des produits, accumulation de ces produits dans les différents maillons de la chaîne alimentaire) et environnemental (pollution, toxicité, développement des résistances aux doses couramment utilisées) (Deberdt *et al.* 2008).

Au Cameroun, les formulations fongicides sont appliquées quatre fois par an. 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 (Ndoumbè-Nkeng 2003).

I.1.7.4- Amélioration génétique

Les programmes d'amélioration ont pour objectifs principaux:

- l'augmentation de la productivité, par la sélection et la diffusion vers les cacaoculteurs des clones ou des populations hybrides à hauts potentiels de productivité et résistants ou tolérants aux maladies. De plus, les principaux pays producteurs sont ceux qui utilisent les taux élevés d'hybrides dans la régénération de parcelles : Indonésie 76 % ; Côte d'Ivoire 69,2 %, Malaisie 69 %, Ghana 63,2 %, Cameroun 25,1 % et Equateur 17,4 %. Les variétés hybrides sont caractérisées par une productivité élevée et une capacité d'adaptation à l'environnement due à l'effet additif de gènes parentaux (Djocgoué *et al.* 2006, Ondobo 2014) ;

- l'amélioration de la qualité qui tend à obtenir un cacao de caractères physiques et organoleptiques satisfaisants ;
- d'autres caractères tels que la précocité et la vigueur sont également pris en compte par les améliorateurs. Selon Nyassé (1997) et Djocgoué (1998), la manifestation d'une vigueur hybride à la tolérance est comme un facteur majeur pour l'identification des génotypes performants.

Malgré, la multitude des travaux de recherche qui sont réalisés en matière de sélection et d'amélioration génétique, il n'a pas encore été identifié des variétés de cacaoyer totalement résistantes à la pourriture brune des cabosses (Nyassé *et al.* 2006).

a- Sélection générative

La sélection générative consiste à effectuer des croisements inter-variétaux par pollinisation manuelle. L'objectif ici est de pouvoir bénéficier du phénomène d'hétérosis dans la première génération et de réunir dans la population obtenue, les caractères intéressants des clones parentaux. L'inconvénient de cette méthode réside dans la grande variabilité génétique des hybrides, qui a pour corollaire une certaine instabilité de la production due à l'allogamie naturelle de la plante. Toutefois, l'utilisation des techniques d'amélioration génétique non conventionnelle à l'instar des outils de biologie moléculaire (marqueurs d'ADN) tels que la RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) et la RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) devrait permettre à terme de pallier ces insuffisances. A cet effet, Cruzillat *et al.* (2000) identifient les séquences QTLs (Quantitative Trait Loci) impliquées dans la résistance de différentes espèces de *Phytophthora*. Cependant, certains QTLs contrôlant des caractères différents peuvent être liés, comme la taille des cabosses et la sensibilité à la pourriture des fruits (Clément 2010).

b- Sélection végétative

Cette voie est une sélection des clones hauts producteurs, vulgarisés sous forme de bouture ou de plants greffés. La sélection végétative est d'un intérêt non négligeable car elle améliore significativement les rendements (Wood *et al.* 1985). Cependant, le clonage des plantes par bouturage ou par greffage est d'une efficacité variable pour deux raisons: le coût de multiplication élevé et la sensibilité accrue à la sécheresse des plantes obtenues par bouturage. Cette sélection présente un intérêt pour la fixation et la multiplication végétative dans le but de vulgariser les génotypes particulièrement estimés ou intéressants.

I.1.7.5- Lutte intégrée

Elle apparaît comme la plus prometteuse, en ceci qu'elle consiste en la mise en œuvre raisonnée d'un large éventail de stratégies de lutte : techniques culturales, utilisation d'agents biologiques de contrôle, application raisonnée de produits chimiques et de plants sélectionnés ou améliorés génétiquement pour maintenir la présence des organismes nuisibles en dessous du seuil à partir duquel apparaissent des dommages.

I.2- Généralités sur l'espèce *P. megakarya*

Le genre *Phytophthora*, nommé en 1876 par Anton de Bary provient du grec Phytos et Phtheiro qui signifie «destructeur des plantes» ; il appartient au groupe des Oomycètes. Ce sont tous des organismes qui possèdent des spores portant deux flagelles et qui s'apparentent davantage aux algues plutôt qu'aux champignons. Les Oomycètes affectent les plantes de deux façons. Ils affectent soit les parties de la plante en contact avec le sol, c'est le cas de l'espèce *Pythium* et de certaines espèces de *Phytophthora* ; soit les parties aériennes de la plante (les feuilles, les jeunes tiges et les fruits), c'est le cas certaines espèces de *Phytophthora*.

Les études effectuées sur l'ensemble des zones cacaoyères du Cameroun ont révélé la présence d'une seule espèce majoritaire : *P. megakarya* responsable de la pourriture brune (Nyassé 1992).

I.2.1- Taxonomie de *P. megakarya*

Phytophthora est un Oomycète à l'aspect morphologique de champignon mais leur biologie est très différente. La confusion taxonomique des Oomycètes avec les champignons phytopathogènes (true fungi) a entraîné un retard dans l'acquisition des connaissances sur ce phytopathogène majeur. Les Oomycètes ne sont pas apparentés à ces derniers mais plutôt aux algues photosynthétiques (Förster *et al.* 1990). Sa systématique décrite par Attard *et al.* (2008) est la suivante:

Embranchement: Thallophytes

Classe: Siphonomeycètes

Ordre: Péronosporales

Famille: Peronosporaceae

Genre: *Phytophthora*

Espèce: *Phytophthora megakarya*

Sept espèces ont été identifiées comme causant la pourriture brune du cacao mais trois ont une grande incidence. Il s'agit de :

- *P. palmivora*: présent dans les zones tropicales et sub-tropicales, il se retrouve pratiquement dans le monde entier ;
- *P. capsici* originaire d'Amérique, il a été signalée comme la principale espèce du genre *Phytophthora* au Brésil ;
- *P. megakarya* a été identifié au Nigéria (Brasier & Griffin 1979) et est l'espèce pathogénique prédominante en Afrique Centrale (principalement au Cameroun) et en Afrique de l'Ouest.

I-2.2- Biologie et reproduction

Les *Phytophthora* sont des organismes diploïdes pouvant se multiplier par voie sexuée ou asexuée (Attard *et al.* 2008). Son cycle biologique comporte deux phases: une phase végétative ou asexuée et une phase sexuée. La reproduction sexuée assure la dissémination des formes pathogènes nouvelles. Au cours de cette phase, il se produit une fusion entre une anthéridie (gamète mâle) et une oogone (gamète femelle). La fusion aboutit à la formation d'oospores sphériques à parois épaisses. Cette reproduction sexuée est homothallique si les deux gamètes sont formés sur le même thalle et hétérothallique si les gamètes sont formés sur des thalles différents. Les *Phytophthora* sont considérés comme étant hétérothallique, et capable de reproduction sexuée *in vitro* (Forster *et al.* 1983). Cependant des oospores n'ont jamais été observées dans la nature sur cacaoyer. La reproduction asexuée ou végétative est le mode de propagation le plus fréquent chez *Phytophthora* (Nyassé 1997). Les zoospores libérées par éclatement des sporocystes représentent l'un des principaux organes disséminateurs du parasite.

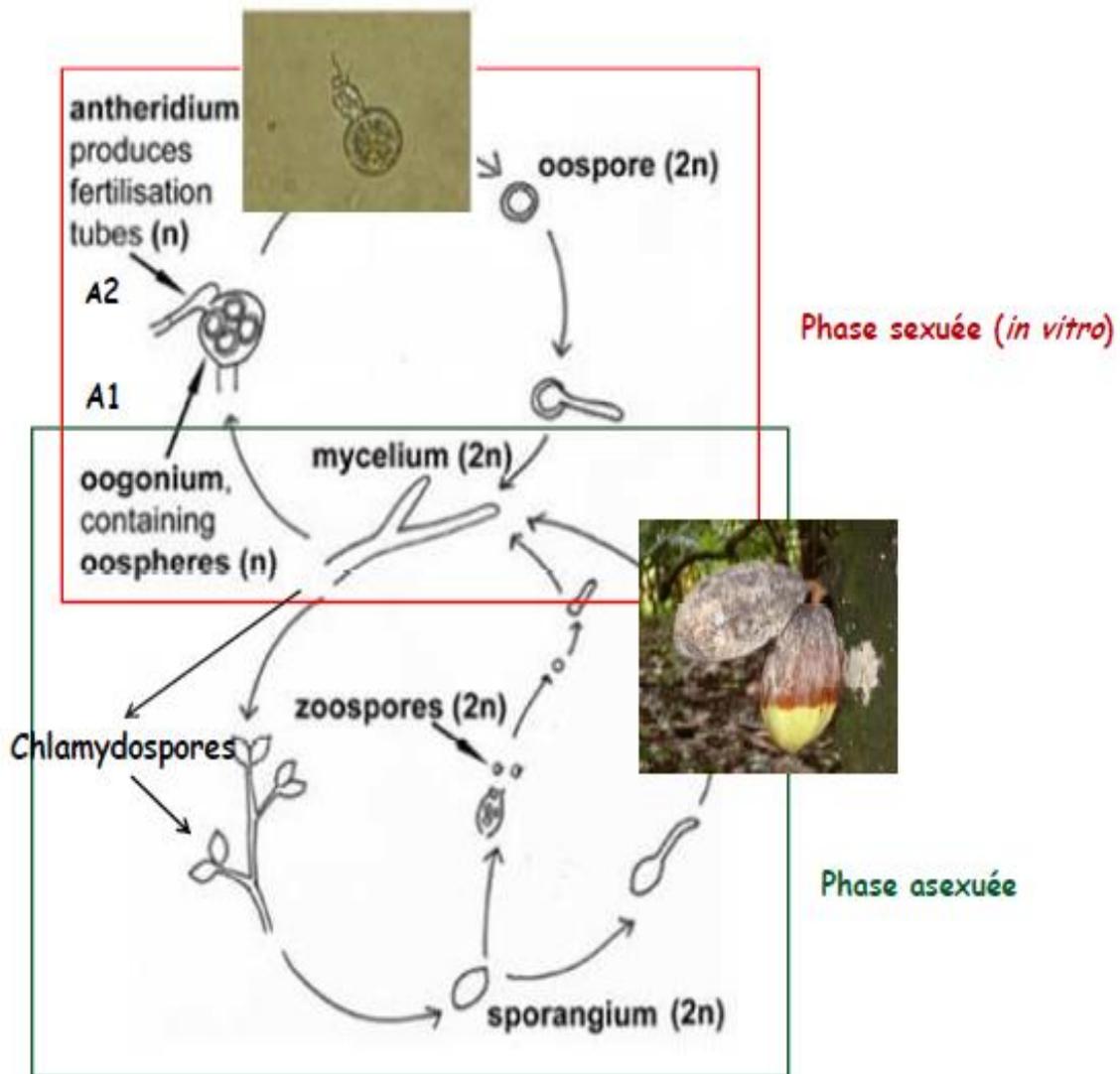


Figure 2 : Cycle de reproduction de *Phytophthora*. L'encadré vert représente la phase asexuée. La photographie montre les sporocystes (blanchâtres) couvrant les taches brunes à la surface des cabosses infectées. L'encadré rouge représente la phase sexuée du cycle. La photographie montre une oospore (Mfegue 2012).

I.2.3- Description de la maladie.

Phytophthora attaque le cacaoyer au niveau des feuilles, des troncs, et des fruits. La maladie se caractérise par l'apparition sur le cortex des fruits d'une petite tâche. D'abord translucide, elle brunit en 24 à 48 heures et s'étend plus ou moins rapidement selon les génotypes de cacaoyer ; l'agressivité des souches et les conditions environnementales. Cette tâche se couvre après quelques jours, des fructifications du champignon qui forment un revêtement blanc-crème plus ou moins abondant. Après une dizaine de jour, les fruits affectés sont totalement détruits et leurs fèves deviennent inutilisables (Blaha & Lotodé 1976). En fin d'évolution, la cabosse est complètement pourrie et desséchée. Elle est dite momifiée. Une

fois sur les cabosses et en présence de l'eau libre, les zoospores vont s'enkyster, germer et pénétrer dans les tissus du fruit (Judelson & Blanco 2005). Lorsque l'humidité relative est élevée, le développement des sporanges peut aboutir à l'infection de la cabosse en 48 heures. Une seule cabosse atteinte peut produire jusqu'à 4 millions de sporanges. Le sol, les cabosses momifiées, l'écorce, les coussinets floraux restés suspendus sur l'arbre constitue des sources primaires d'inoculum (Ndoumbe-Nkeng *et al.* 2004) ; le contact avec les cabosses infectées (figure 4) ou par les vecteurs (vent, insectes ou animaux) constituent des sources secondaires d'inoculum.

Selon Babacauch, (1980), en champ la dissémination revêt deux aspects : la dissémination verticale qui se fait du bas de l'arbre vers le haut, et la dissémination horizontale qui se fait d'arbre en arbre par des rongeurs, des insectes et même dans certains cas l'Homme.



Figure 3 : Cabosses de cacao atteintes de pourriture brune (Mfegue 2012).

I.2.4- Epidémiologie de la maladie

La pourriture brune est une maladie polycyclique (Erwin & Ribeiro 1996). Le cacaoyer est une culture pérenne persistante des régions tropicales dont la période de production est suffisamment étalée sur l'année. Il offre de ce fait à l'agent pathogène des conditions de survie sans rupture réelle de son cycle de vie (Acebo-Guerrero *et al.* 2011). C'est une maladie qui se manifeste d'une part quand il y a conjonction entre la présence des

fruits sur l'arbre quel que soit leur stade de développement et d'autre part d'une période pluvieuse (Muller 1974). Les sources primaires d'infection sont: les cabosses momifiées sur les arbres, les écorces du cacaoyer, les coques des cabosses, les arbres d'ombrages, les feuilles issues des mêmes pousses, le sol et la litière, les mousses et les autres épiphytes recouvrant l'écorce ; Les cabosses sporulantes constituent la source secondaire de l'inoculum (Maddison & Griffin 1981).

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

- la pluviométrie ; elle augmente la libération des zoospores et de ce fait les attaques de la pourriture brune surviennent généralement pendant la saison des pluies;
- l'humidité (hygrométrie) ; elle augmente la sensibilité des cabosses;
- l'éclairement ; la reproduction sexuée des *Phytophthora* est inhibée par la lumière tandis que celle-ci induit la multiplication asexuée.

I.3. Relation plante hôte-parasite

Les relations que les plantes établissent avec les autres microorganismes quel que soit leur nature (pathogène ou bénéfique), impliquent un véritable dialogue moléculaire entre les deux organismes. Les paramètres qui interviennent au point de contact sont d'une importance particulière pour l'établissement des interactions moléculaires ultérieures entre l'hôte et le parasite (Semal, 1989). Ainsi, l'expression d'un agent pathogène au sein d'une plante, loin d'être exclusivement de type infectieux, dépendra de plusieurs facteurs que sont entre autres : les facteurs environnementaux, la capacité du pathogène à attaquer et à coloniser le végétal, l'état physiologique de l'hôte et la capacité du végétal à mettre en place des mécanismes de défense efficaces.

I.3.1. Notion de pathogénicité

La pathogénicité est la capacité que possède un micro-organisme à causer des troubles physiologiques et biochimiques à son hôte. Les champignons (principal agent phytopathogène) sont des êtres hétérotrophes pour le carbone. En fonction de leur mode de vie, on distingue :

- les saprophytes qui se nourrissent de la matière organique morte ;
- les symbiotiques qui vivent en association avec les autres êtres vivants ;
- les parasites qui se nourrissent de la matière organique vivante.

P. megakarya appartient à ce dernier sous-groupe. Lorsque les conditions de vie deviennent favorables, l'agent pathogène attaque surtout les cabosses de cacao. La pathogénicité dépend de la nature du contact entre l'hôte et le champignon, de la sensibilité de l'hôte pour l'agent pathogène. Ainsi la notion de pathogénicité implique inéluctablement celle de résistance.

I.3.2. Notion de résistance

La résistance à une maladie est l'habilité pour une plante à prévenir ou à retarder le développement de celle-ci. La virulence par contre est l'habilité pour un agent infectieux à vaincre la résistance. L'immunité est le plus haut niveau de la résistance. Selon les mécanismes mis en œuvre on distingue trois types de résistance (Anonyme 2013) :

- la résistance non-hôte ; elle s'observe lorsque tous les individus d'une espèce de plante exhibent une résistance face à tous les membres d'une espèce pathogène donnée.
- la résistance non race-spécifique : Elle est contrôlée par plusieurs gènes. Un gène à lui tout seul n'est pas forcément efficace contre un agent pathogène. Ce mode de résistance est généralement durable.
- la résistance race-spécifique : Elle est contrôlée généralement par un ou plusieurs gènes (monogénique ou oligogénique). Ce mode de résistance est éphémère mais est le plus privilégiée des améliorateurs.

I.4- Greffage.

Le greffage est une méthode de multiplication permettant de reproduire une plante, tout en conservant ses caractéristiques. On l'utilise généralement sur des plantes trop fragiles pour qu'un bouturage soit possible, et pour lesquelles le semis ne donne pas de bons résultats. Le greffage peut également permettre d'aider une plante à s'adapter à un type de sol où elle avait du mal à évoluer. La technique consiste à associer, un greffon de la plante que l'on veut reproduire sur un porte-greffe compatible. Cette technique est très souvent utilisée dans la reproduction des arbres fruitiers.

On distingue différents types de greffage:

- le greffage en fente (latérale et terminale) ; cette méthode de greffage est la plus facile à effectuer. Comme son nom l'indique, il implique de fendre le porte-greffe et y insérer le greffon. Le greffon doit être au frais, de sorte qu'il soit maintenu dans sa dormance.

- le greffage en couronne ; la greffe en couronne est une des techniques de greffe demandant le plus de temps et d'investissement pour obtenir de bons résultats. La greffe se fait sur des branches d'environ 15cm de diamètre. On l'utilise généralement pour revigorer les plantes dont la productivité est faible ou qui commencent à prendre de l'âge. on peut la pratiquer soit pour permettre à un arbre de retrouver une seconde jeunesse et le rendre ainsi plus productif, ou pour satisfaire une envie de changement pour obtenir une nouvelle espèce.

- le greffage en écusson ; la greffe en écusson est l'une des techniques les plus simples, on l'utilise généralement pour la multiplication des arbustes, des arbres d'ornement, des arbres fruitiers et des rosiers. Ce type de greffage consiste à prélever un bourgeon de l'espèce que l'on souhaite reproduire, et à l'insérer sous l'écorce du porte-greffe.

- le greffage à cheval ; il consiste à tailler le porte-greffe en pointe, et à creuser le greffon en suivant la même forme, afin de pouvoir emboîter les deux ensembles.

- le greffage à l'anglaise ; ce type de greffage à l'avantage de ne demander quasiment aucune préparation, mais il ne peut être pratiquée que si le porte-greffe et le greffon font presque le même diamètre, et que celui-ci ne dépasse pas 5cm.

- le greffage par approche ; ce type de greffage consiste à inciser deux rameaux, et à rapprocher les deux parties à vif pour les souder ensemble. Le porte-greffe et le greffon doivent être cultivés dans deux pots séparés, et on rapprochera par la suite sans les déterrer. Il arrive que dans la nature, deux rameaux un peu trop proches se soudent naturellement l'un à l'autre.

I.5- Hétérosis

L'hybridation ou tout simplement le croisement entre deux individus aux caractéristiques distinctes s'accompagne très souvent d'un effet hétérosis. La notion d'hétérosis inventé en 1914 par le scientifique Harrison Shull, désigne en génétique l'accroissement particulièrement prononcé de la performance des individus hybrides ou métis (The *et al.* 1996). Le produit F1 d'un croisement entre deux variétés d'une espèce donnée possède généralement une vigueur supérieure à celle des parents caractérisée par une croissance plus rapide, un meilleur développement végétatif et génératif, un rendement en fruit supérieur, une meilleure résistance aux conditions défavorables du milieu et une réponse favorable aux améliorations culturales. En d'autres termes, l'hétérosis est synonyme de l'amplification de la vigueur hybride. Elle peut être fugace (maximale en première génération et diminuant progressivement au cours des générations) et spécifique (certaines lignées ayant

plus d'affinité les unes les autres). On parlera d'effet d'hétérosis positif lorsque la génération hybride F1 présente des performances supérieures à la performance moyenne de la génération parentale (Gay 1999). L'effet d'hétérosis n'est pas uniquement exploité pour l'augmentation du rendement, mais aussi pour tout caractère susceptible d'apporter un plus à la production (résistance aux insectes, résistance à la sécheresse...).

I.6- Héritabilité

L'héritabilité (h^2) désigne l'ensemble des effets biochimiques et moléculaires des acides nucléiques (ADN et ARN) dans la transmission des caractères selon un déterminisme strict (la synthèse des acides aminés) ou complexe (formation d'un caractère). L'héritabilité (h^2) d'un caractère se définit comme étant la proportion ou le pourcentage de ce caractère transmis aux descendants. C'est un paramètre quantitatif, pouvant être utilisé pour la sélection des variétés à rendement élevé (Noumbissie *et al.* 2002). Il existe deux méthodes d'estimation de l'héritabilité:

- l'héritabilité au sens large (h^2_l); qui est calculée à partir des variances des parents des descendants F1 et F2. Une part de la variance observée est d'origine environnementale, mais généralement l'influence du génotype est prédominante.
- l'héritabilité au sens strict (h^2_s); qui mesure la composante additive. Elle est faite à partir des variances des rétrocroisements et de la F2. En effet, la composante additive est l'effet moyen caractéristique et héritable d'un génotype (Gallais 1990).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1- Cadre de travail

Le greffage a été réalisé en pépinière à la SODECAO, station de Mengang (C.E.P.E.M) en saison pluvieuse (Mai 2015). Les manipulations se sont effectuées tout au long de ce travail au sein du laboratoire de physiologie végétal de l'ENS de Yaoundé, du laboratoire de valorisation et de protection des ressources végétales (LVPRV) de **Nkolbisson**.

II.2- Matériel

II.2.1- Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles au stade semi-aotées de *T. cacao* de type Trinitario (SNK 413 ; SNK 16 ; SNK 13 ; ICS 40) reconstituées par greffage en pépinière au C.E.P.E.M et de deux familles hybrides (figure 5) :

- F20 : (♀) SNK 16 × (♂) ICS40 ;
- F25 : (♀) ICS40 × (♂) SNK 16.



Figure 4 : Feuilles semi-aotées de *T. cacao* en pépinière. A. clone. B. Hybride. (Barre=1cm)
(Clichés Mekue).

II.2.2- Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué de deux souches de *P. megakarya* « souche NPV », «souche NGF» d'agressivité connue, fournie par le laboratoire de lutte biologique de l'IRAD de **Nkolbisson**.

II.3- Méthodes

II.3.1- Reconstitution des clones de *T. cacao* par greffage

Les porte-greffes (figure 5A) âgés de six mois ont été effeuillés à environ 10 à 15 cm du collet. Une fente en ligne oblique d'environ 2 cm de profondeur a été réalisée sur la partie de la tige effeuillée grâce à un greffoir désinfecté à l'alcool à 70°. Les greffons (figure 6B) sont des branches âgées d'un an environ, préalablement détachées des clones précédemment cités à l'aide d'un sécateur désinfecté à l'alcool à 70°, coupées en morceaux de 10 à 15 cm de long et effeuillée en sectionnant au niveau du pétiole ; puis taillé en biseau à sa base à l'aide d'un greffoir affûté et désinfecté. La partie taillée en biseau du greffon est glissée dans la fente réalisée sur le porte-greffe de manière à mettre les deux cambiums en contact sur une distance de 2 à 3 cm. Le contact est maintenu en ligature avec une bande plastique. Les points d'assemblage sont protégés par des manchons qui sont des sachets transparents en polyéthylène blancs ceci pour garder le greffon frais non sec le temps que les boutons dormants du greffon germent. La bande plastique est enlevée après l'adhésion complète entre le porte-greffe et le greffon. C'est le greffage en fente latérale.



Figure 5 : Etape du greffage en fente latérale. A et B - Porte-greffe.et greffons. C et D - Porte

greffe et greffon mis ensemble. E - Greffons protégés par des sachets transparents en polyéthylène. F - plants greffés en pépinière Cercle rouge - insertion du greffon en fente latérale sur le porte greffe. (Barre=1cm) (Clichés Mekue).

II.3.2- Culture du champignon

II.3.2.1- Préparation du milieu de culture

Les deux souches de *P. megakarya* sont cultivées sur le milieu V8, obtenu en diluant 400 ml de jus de légume avec 800 ml d'eau. A 500 ml de la solution préparée, on y a ajouté dans l'ordre de 20-25 g d'agar, 3 g de CaCO₃, 250 mg/l de pénicilline G, 20 mg/l de nystatine, d'ampicilline ; puis la solution a été complétée à 1000 ml avec de l'eau distillée. La solution de V8 a été homogénéisée à l'aide d'un agitateur magnétique, puis le milieu a été stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 20 minutes et enfin coulé dans des boîtes de Pétri stériles.

II.3.2.2- Ensemencement de la souche

L'ensemencement des disques mycéliens prélevés sur un front de croissance d'une culture de *P. megakarya* s'est déroulé sous milieu axénique. Les souches de *P. megakarya* sont ensemencées dans des boîtes de Pétri (figure 6A) contenant le milieu de culture, puis placées dans un incubateur dans des conditions humides, à l'obscurité et retournées pour permettre le développement du champignon entre 25 et 26 °C. Les souches ont été entretenues par des repiquages sur cabosses (figure 6B) tous les six jours afin de permettre la purification des champignons et d'augmenter leur agressivité.

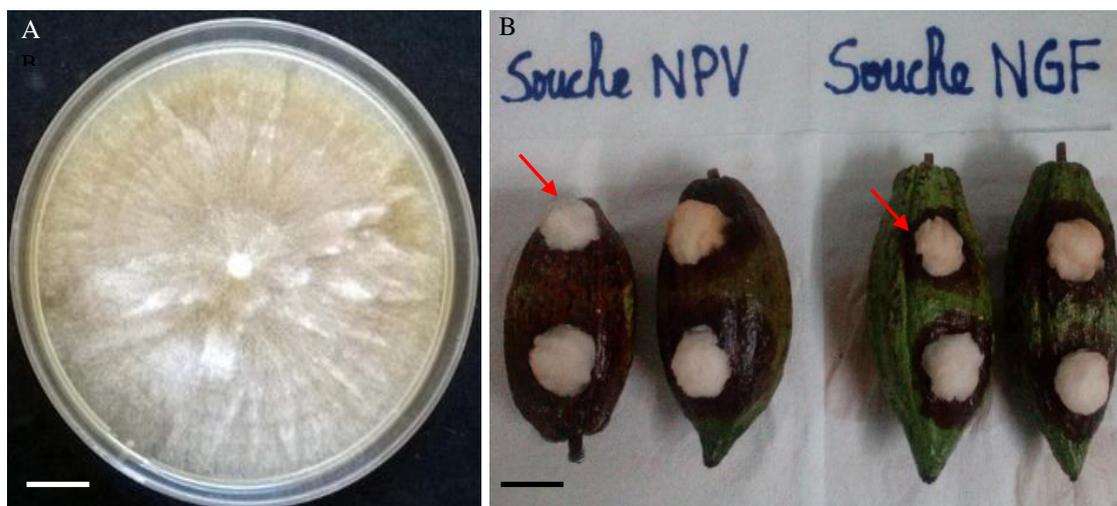


Figure 6: Différents ensemencements de *P. megakarya*. A - Mycélium sur milieu V8. B- repiquage de l'oomycète sur cabosses. Flèche rouge - point d'infection de l'oomycète sur

cabosse protégé par du coton mouillé à l'eau distillée stérile (Barre=1cm) (Clichés Mekue).

II.3.2.3- Préparation de la solution sporale

Les zoospores de *P. megakarya* ont été obtenues à partir des nécroses formées à la suite de l'inoculation artificielle sur des cabosses saines par le mycélium de *P. megakarya*. Six jours plus tard, les fructifications constituées de sporocystes ont été récoltées par lavage des cabosses pourries au niveau du front de croissance du champignon (Figure 7) pour préparer la suspension de sporocystes dans de l'eau distillée stérile. Les zoospores ont été libérées des sporocystes par un choc thermique, en incubant la suspension à une température de 4°C pendant 15 minutes, puis à température ambiante dans une enceinte noire pendant 15 minutes. Le comptage des zoospores a été réalisé au microscope à l'aide de la cellule de Malassez et le nombre de zoospores a été calibré à 10^6 zoospores/ml et utilisé pour l'inoculation des feuilles.

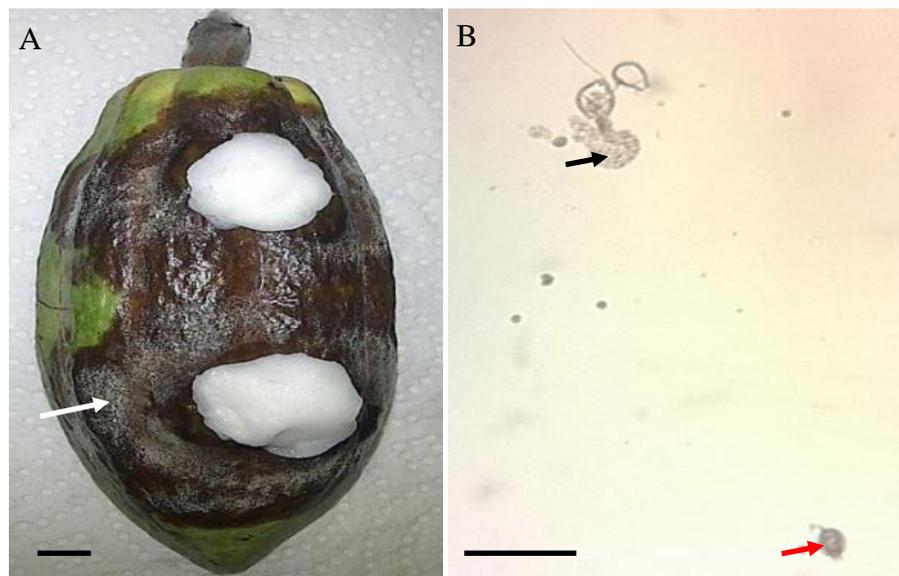


Figure 7: Production des zoospores. A- Cabosse nécrosée. B- Sporocystes libérant les zoospores. Flèche blanche-: couche blanche représentant les spores (Barre=1cm); flèche rouge - zoospores libérés par un sporocyste; flèche noire - sac sporocystique (Clichés Mekue 2016).

II.4- Tests sur feuilles

Le test sur feuilles est une méthode d'inoculation artificielle des feuilles qui permet d'évaluer la résistance des géotypes selon une échelle de notation de sensibilité allant de 0 à

5. Les feuilles sont disposées dans des plateaux (figure 8) et sont ensuite inoculées avec 10 μ l d'une suspension de zoospores de *P. megakarya*. Les observations ont été réalisées après 3 jours, 5 jours et 7 jours d'incubation à $26 \pm 1^\circ\text{C}$, suivant l'échelle de notations suivante (Nyassé *et al.* 1995, Nyassé 1997) :

- absence de symptôme : 0
- points de pénétration : 1
- points en réseau : 2
- tache réticulée : 3
- tache marbrée : 4
- tache vraie (nécrose) : 5.

Chaque groupe de génotype est soumis à trois types de traitements :

- Lot 1 : feuilles infectées par la souche NPV de *P. megakarya* (monoinfection).
- Lot 2 : feuilles infectées par la souche NGF de *P. megakarya* (monoinfection)
- Lot 3 : feuilles infectées par un mélange des souches NPV+NGF (coinfection) de *P. megakarya*.



Figure 8: Dispositif expérimental du test sur les feuilles (Cliché Mekue).

II.5- Détermination de l'hétérosis

L'hétérosis ou vigueur hybride (HF_1) s'estime de deux façons : (i) en comparant la valeur de l'hybride F_1 à la moyenne des deux parents (P_1 et P_2), et (ii) en comparant la valeur de l'hybride F_1 à celle du meilleur parent (P).

L'hétérosis par rapport au parent moyen est donnée par la formule de Zahour (1992).

$$HF_1(\%) = \frac{F_1 - \frac{P_1 + P_2}{2}}{\frac{P_1 + P_2}{2}} \times 100$$

P_1 = Premier parent ;
 P_2 = Deuxième parent;
 F_1 = Valeur de l'hybride;
 HF_1 = Vigueur hybride en pourcentage

L'hétérosis par rapport au meilleur parent est donnée par la formule de Miranda (1999).

$$HF_1(\%) = \frac{F_1 - P}{P} \times 100 \quad \left\{ \begin{array}{l} P = \text{meilleur parent} \end{array} \right.$$

Trois cas peuvent se présenter selon le paramètre étudié:

- Effet d'additivité pour des valeurs proches de 0;
- Effet d'additivité et de dominance;
- Effet d'épistasie entraînant une perte de vigueur.

II.6- Détermination de l'héritabilité

L'héritabilité (h^2) est estimée selon la méthode de Falconer et Mackay (1996). Elle est déterminée au moyen d'une droite de régression entre les moyennes des paramètres des parents et de celles de leurs progénitures. La pente de la droite obtenue représente la valeur de l'héritabilité.

Selon Lynch et Walsh (1998), trois niveaux d'héritabilité existent en fonction de la valeur de h^2 :

- $h^2 > 0,3$: forte héritabilité, l'influence du milieu est faible et la transmission du caractère est forte ;

- $0,1 \leq h^2 \leq 0,3$: hérabilité modérée, caractère partiellement transmissible (héréditaire, mais avec effet environnemental) ;
- $h^2 < 0,1$: faible hérabilité, l'influence du milieu est forte et la transmission du caractère est faible.

II.7- Analyses statistiques

Les résultats obtenus après obtention des scores sur les feuilles, 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 moyennes ont été comparées en utilisant le test de Turkey. Le dendrogramme a également permis le regroupement des hybrides et des clones en groupes semblables.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1- Résultats

III.1.1- Taux de réussite du greffage

Le développement des bourgeons sur les greffons commence trois semaines après greffage des clones. Le taux de réussite a été observé plus élevé chez SNK 413 soit 85 %, tandis que le clone SNK 16 présente un faible taux de réussite soit 47,5 %. Cependant, SNK 13 et ICS 40 présente une réussite moyenne de 77,5 % (tableau II).

Tableau 2. Taux de réussite du greffage

Observations	Clones			
	SNK 13	SNK 16	SNK 413	ICS 40
Plantes greffés	40	40	40	40
Plantes réussies	31	19	34	31
taux de réussite (%)	77,5	47,5	85	77,5

III.1.2- Variations de l'index de sévérité à la pourriture brune

La surface de la nécrose des feuilles inoculées avec 10 µl d'une suspension sporale (10^6 spores/ml) de *P. megakarya* a été évaluée après 3 jours, 5 jours et 7 jours d'incubation à 25 °C. Pour mieux évaluer cet index, les parties nécrosées ont été taillées avec un emporte-pièce de 10 mm de diamètre pour en faire des disques (figure 9). La nécrose se manifeste par des points noirs marquant la pénétration des zoospores. La nécrose progresse au cours du temps, en fonction de la virulence de la souche et de la susceptibilité de chaque génotype. L'index est obtenu en faisant la moyenne de l'expression de la maladie pour chaque génotype.



Figure 9: Evolution de la nécrose. A- coefficient 0; B- coefficient 1 ; C- coefficient 2 ; D- coefficient 3 ; E- coefficient 4 (Clichés Mekue 2016).

III.1.2.1- Comparaison des différents traitements sur les clones

Les résultats obtenus à l'issue des tests sur les feuilles (clones) au bout de 7 jours après infection, ont montré que la souche NGF est plus agressive chez les clones ICS 40 ($2,33\pm 0,27$), SNK 13 ($2,5\pm 0,50$) et SNK 413 ($2,16\pm 0,14$) excepté SNK 16 ; par contre, le clone SNK 16 est plus susceptible à la coinfection (NPV+NGF) contrairement aux autres clones (ICS 40, SNK 13 et SNK 413). Toutefois, tous les clones ont montré leur tolérance à la souche NPV (figure 11).

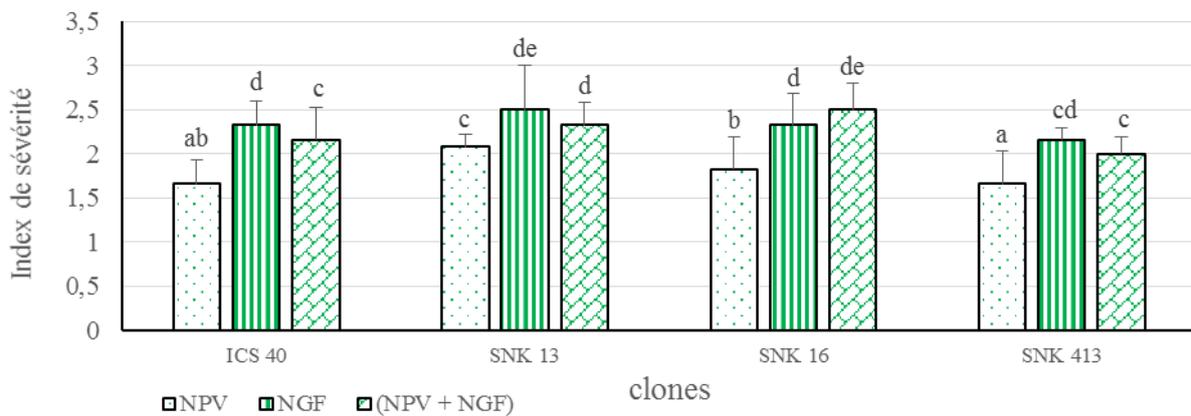


Figure 10 : Index de sévérité des différents traitements chez les clones parentaux 7 jours après infection. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de LSD au seuil de 5 %.

III.1.2.2- Effet de la coinfection sur les différents clones

La figure 11, montre l'évolution de différentes souches de *P. megalakarya* en fonction du temps. On observe dans les courbes a, b, c et d de la figure 12 que la souche NPV est moins importante (agressive) aux cours du temps par rapport à la souche NGF et la coinfection (figure 11). Au jour 5, la souche NGF s'est montrée la plus virulente chez tous les clones contrairement aux deux autres souches. Au septième jour par contre, seule la coinfection s'est montrée plus agressive chez le clone SNK 16.

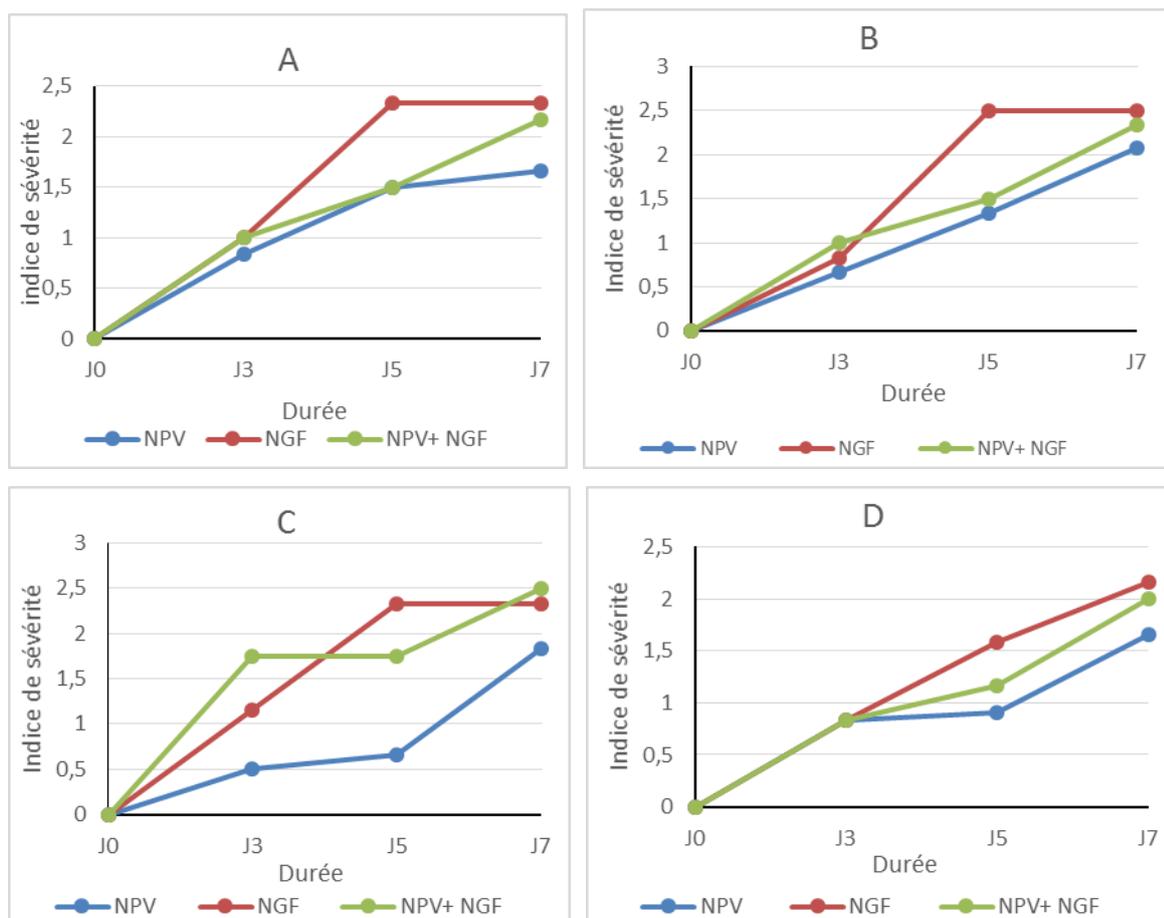


Figure 11: Evolution de la sévérité de la maladie au cours du temps sur les clones.

A, ICS 40 ; B, SNK 13 ; C, SNK 16 ; D, SNK 413.

III.1.3- Echelle de sensibilité des clones parentaux

L'évolution de l'index de sévérité due aux des souches de *P. megakarya* a permis de classer les différents clones pour leur sensibilité à la pourriture brune des cabosses. La figure 12 montre l'échelle de sensibilité décroissante : ICS40 > SNK 13 > SNK16 > SNK 413. Le clone ICS40 se révèle plus sensible et le SNK 413 le plus tolérant quel que soit la souche de *P. megakarya* utilisé de façon indépendante..

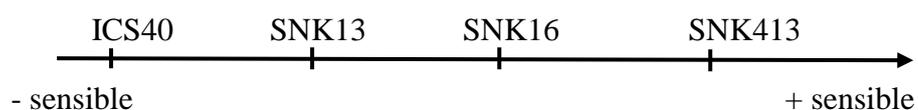


Figure 12: Classement des différents géniteurs pour leur sensibilité à la pourriture brune des cabosses.

III.1.4- Comparaison des différents traitements sur les géotypes hybrides

Les hybrides obtenus sont issus ici des croisements réciproques entre les clones parentaux SNK 16 et ICS 40. La figure 13 montre que la nécrose est très importante suite à la coinfection chez les géotypes F20.02, F20.04, F20.05, F25.02, F25.03 et F25.04. Par contre l'indice de nécrose est très faible chez le géotype F20.03 (1,33±0,75) par rapport aux deux autres traitements (souche NPV et NGF). De façon générale, la souche NPV a montrée qu'elle est la moins agressive chez presque tous les géotypes étudiés, excepté chez le géotype F20.01.

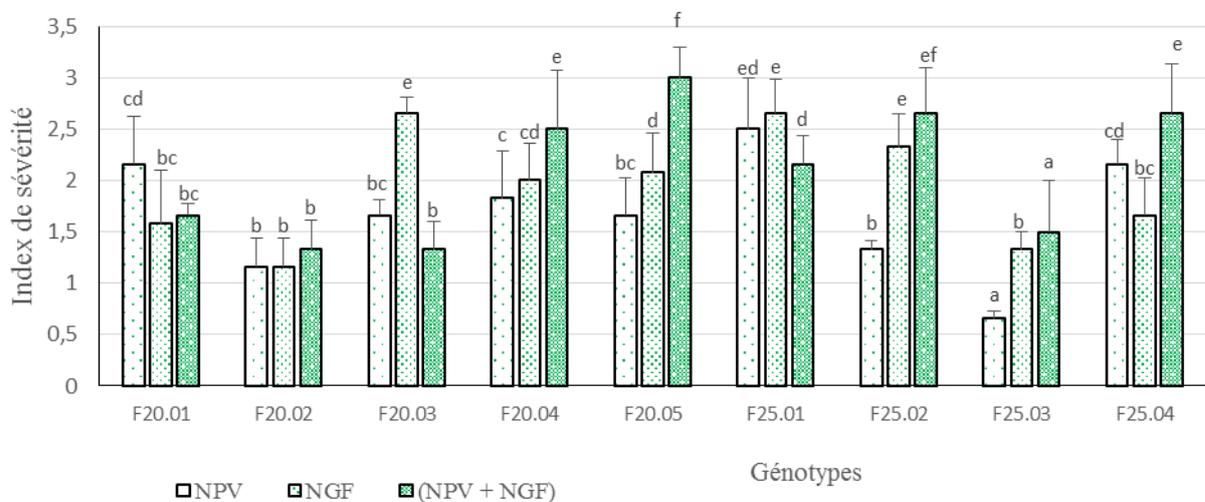


Figure 13: Index de sévérité des différents traitements chez les familles hybrides à 7 jours d'incubation. Les moyennes ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes selon le test de LSD au seuil de 5 %.

III.1.5- Statut de résistance

Le classement des clones et des hybrides suivant le degré de sensibilité a été observé. La moindre sensibilité à la pourriture brune a été révélée pour trois traitements [souche NPV, NGF et coinfection (NPV+ NGF)]. Ce classement montre que, les géotypes F25.03, F20.02 et F20.03 présentent une exemplarité de tolérance aux traitements NPV, NGF et coinfection respectivement, inclus le meilleur parent SNK 413. Toutefois, F25.01 se classe comme le géotype le plus sensible à toutes les souches, excepté au traitement coinfection (tableau 2).

Tableau 2: Classification des clones et d'hybrides pour leur sensibilité à *P. megakarya*

	souche NPV	souche NGF	NPV + NGF (coinfection)
(-) sensibilité faible	F25.03		
	F20.02	F20.02	
	F25.02	F25.03	F20.02, F20.03
		F20.01	F25.03
	SNK413, ICS40, F20.03,	F25.04	F20.01
	F20.05		
	SNK16, F20.04		
	SNK13	F20.05, SNK13, F20.04	SNK413
	F20.01, F25.04	SNK413	ICS40, F25.01
		ICS40, SNK16, F25.02	SNK13, F20.04
	F25.01		SNK16
		F20.03, F25.01	F25.02, F25.04
(+) sensibilité haute			F20.05

III.1.6- Dendrogramme des clones et hybrides

La classification hiérarchique des individus des familles hybrides F20 et F25 et des clones a permis de les regrouper en groupe semblable (figure 14). Le choix s'est fait à l'échelle 10 % de dissimilitude ou 90 % de similitude. Le groupe 1 est constitué des parents ICS40, SNK13, SNK16 et le génotype F20.04; le second groupe est formé du meilleur parent SNK 413, des génotypes hybrides F20.05, F25.02, F25.04, F20.01 ; le troisième et le quatrième groupe ne sont constitués que de l'hybride F20.03 et F25.01 respectivement ; le groupe 5 est constitué des hybrides F20.02 et F25.03.

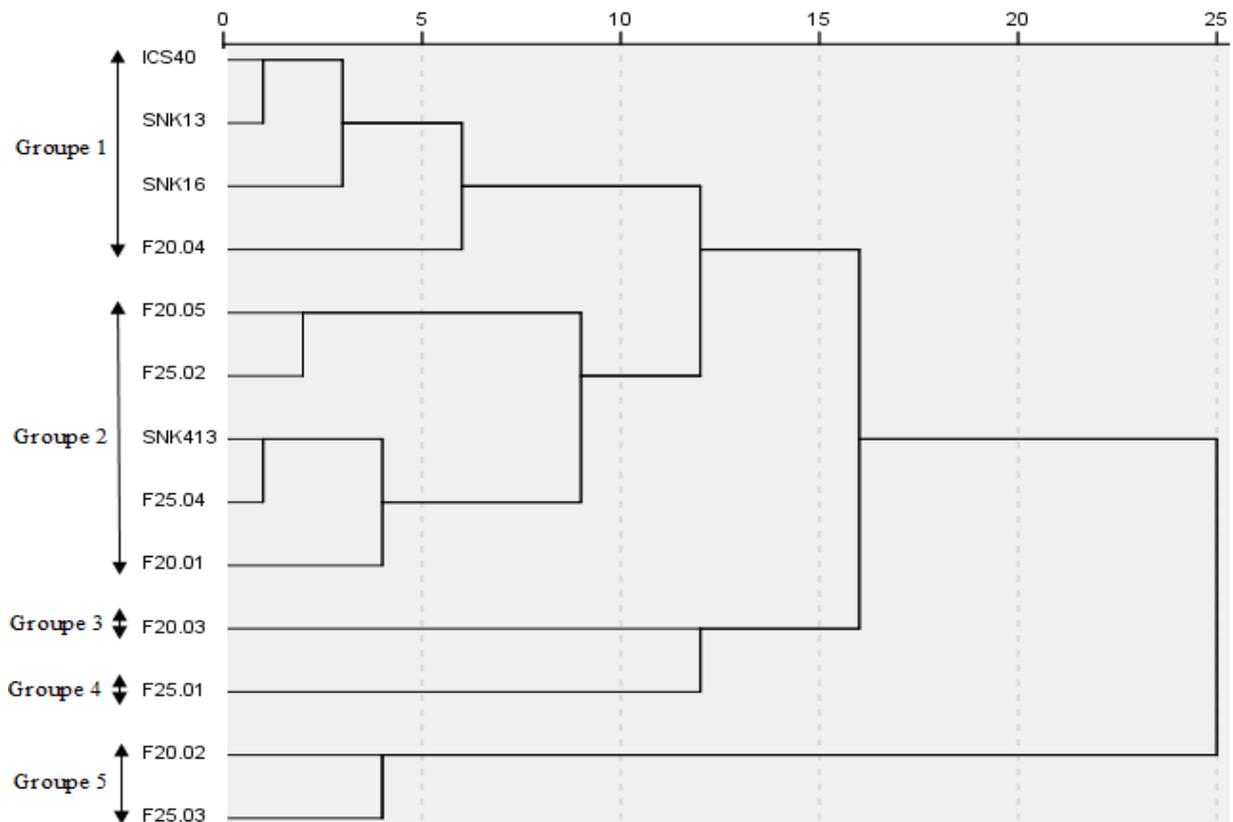


Figure 14 : Classification hiérarchique des clones et des familles hybrides F20 et F25 en fonction de l'indice de sévérité à différents traitements au cours de l'évolution de la nécrose.

III.1.7- Evolution de l'effet hétérosis

III.1.7.1- Effet hétérosis par rapport au parent moyen

Le tableau 3 montre une évolution de l'effet hétérosis par rapport à la moyenne des deux parents chez les génotypes hybrides en fonction du traitement et au cours du temps après inoculation.

Tous les hybrides traités avec la souche NPV manifestent une hétérosis positive au jour 3. Par contre aux jours 5 et 7 seulement 55,56 % d'hybrides vont présenter une hétérosis positive. Presque tous les hybrides traités à la souche NGF présentent une hétérosis positive à l'exception des génotypes F20.03 et F25.01 qui aux jours 3 et 7 présente une hétérosis négative (tableau 3). Dans le traitement avec coïnfection, l'hybride F20.04 montre une hétérosis négative de manière continue ; on note chez les génotypes F20.05 et F20.01 un effet hétérosis négatif au jour 5 et le jour 7.

Tableau 3 : valeur de l'hétérosis (%) par rapport au parent moyen en fonction de l'index de sévérité sur les feuilles des familles hybrides réciproque F20 et F25.

Hybrides	Jour 3			Jour 5			Jour 7		
	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF
F20									
F20.01	-12,78	-62,04	-57,82	+30,56	-60,94	-5,06	+23,78	-32,19	+241,79
F20.02	-0,75	-46,30	-63,64	-23,15	-71,67	-58,23	-33,52	-50,21	-28,24
F20.03	-50,38	+23,15	-76,00	-7,41	0,00	-58,23	-4,87	+14,16	-14,16
F20.04	-0,75	-23,15	+2,55	+7,41	-35,62	+58,23	+4,87	-14,16	+30,15
F20.05	-12,78	-62,04	-21,45	-7,41	-64,38	+15,82	-4,87	-10,73	+136,87
F25									
F25.01	-0,75	+23,15	-52,00	+108,33	-7,30	-15,82	+43,27	+14,16	-21,69
F25.02	-38,35	-69,44	-52,00	-38,89	-85,84	-15,82	-23,78	0,00	0,00
F25.03	-100,00	-69,44	-76,00	-100,00	-71,67	-47,47	-62,18	-42,92	-13,19
F25.04	-0,75	-23,15	-52,00	+53,70	-42,92	-26,58	+23,78	-28,76	-852,76
Pourcentage	100 %	77,78 %	88,89 %	55,56 %	100 %	77,78 %	55,56 %	66,67 %	55,56 %

III-1.7.2- Effet hétérosis par rapport au meilleur parent

Le tableau 4 montre une évolution de l'effet hétérosis des génotypes hybrides par rapport au parent le plus tolérant (SNK 16) en fonction du traitement et au cours du temps. Le traitement avec la souche NPV, montre aux jours 3, 5 et 7 des effets hétérosis très faibles 33,33, 11,11 et 55,56 % respectivement (tableau 4). Cependant, les génotypes F20.03 (+14,65 pour le jour 3 et +14,16 pour le jour 7) et F25.01 montrent un effet hétérosis négatif. En condition de coinfection, on observe une diminution du nombre d'hétérosis positive au fur et à mesure que le temps évolue ; on note 100, 77,78 et 55,56 % aux jours 3, 5 et 7 respectivement.

III.1.8- Héritabilité

L'héritabilité est un paramètre génétique, ces valeurs sont quasi-identiques pour les deux familles F20 (figure 15A) et F25 (figure 15B) issues des croisements réciproques ($h^2 = 0,780$ pour F20 et $h^2 = 0,643$ pour F25).

Tableau 4: valeur de l'hétérosis (%) par rapport au meilleur parent en fonction de l'index de sévérité sur les feuilles des familles hybrides réciproque F20 et F25.

Hybrides	Jour 3			Jour 5			Jour 7		
	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF
F20									
F20.01	+16	-64,65	-66,86	+113,64	-60,94	-14,29	+18,03	-32,19	-33,60
F20.02	+32	-50	-71,43	+25,76	-71,67	-62,29	-36,61	-50,21	-46,80
F20.03	-34	+14,65	-81,14	+51,52	0,00	-62,29	-9,29	+14,16	-46,80
F20.04	+32	-28,44	-19,43	+75,76	-35,62	+42,86	0,00	-14,16	0,00
F20.05	+16	-64,65	-38,29	+51,52	-64,38	+4,57	-9,29	-10,73	+20,00
F25									
F25.01	+32	+14,65	-62,29	+240,91	-7,30	-24,00	+36,61	+14,16	-13,60
F25.02	-18	-71,55	-62,29	0,00	-42,92	-24,00	-27,32	0,00	+6,40
F25.03	-100	-71,55	-81,14	-100,00	-71,67	-52,57	-63,93	-42,92	-40,00
F25.04	+32	-28,44	-62,29	+151,52	-42,92	-33,71	+18,03	-28,76	+6,40
pourcentage	33,33 %	77,78 %	100 %	11,11 %	88,89 %	77,78 %	55,56 %	66,67 %	55,56 %

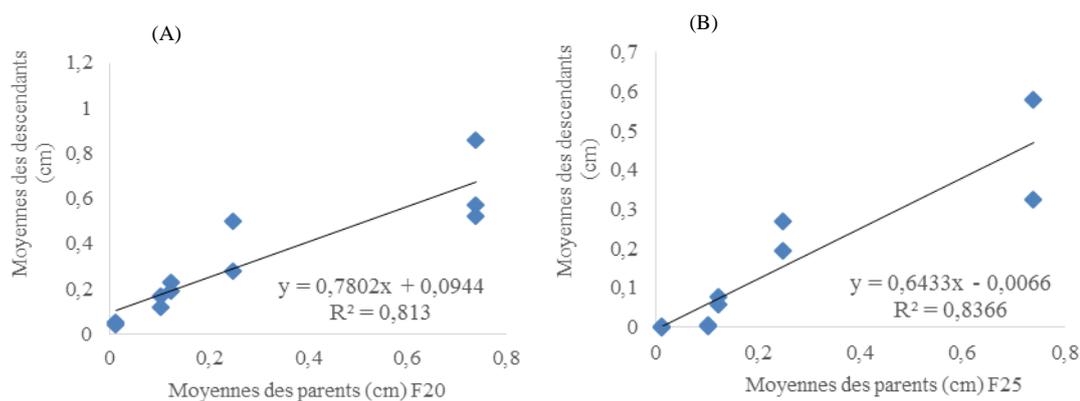


Figure 15: Héritabilité entre les génotypes hybrides et parentaux obtenue à partir de l'indice de sévérité.

III.2- Discussion

Dans notre travail, la régénération des clones par greffage en fente latérale montre un taux de réussite qui varie entre 47,5 et 85 % en fonction du clone (SNK 413, SNK 13, SNK 16 et ICS 40). A cet effet, les résultats obtenus par Temgoua (2005) et par Ondobo (2014), ne sont pas similaires chez *T. cacao* L. en pépinière. Car, leurs faibles taux de réussite seraient dus à la période de greffage et l'arrosage peu intensif. D'après Akinnifesi *et al.* (2008), le succès du greffage dépend de l'habileté du greffeur, des soins apportés après greffage et

également de la technique utilisée, cas démontré dans le greffage d'*Uapaca kirkiana*. Ces résultats ont également montré que la période de greffage et la non compatibilité des diamètres de porte-greffe et du greffon seraient aussi à l'origine du faible taux de réussite. Selon, Munjuga *et al.* (2010) dans des études portant sur le microgreffage d'*Allanblackia*, les faibles taux de réussite obtenus sont dus aux diamètres différents entre porte-greffes et greffons.

Les feuilles semi-aoutées de *T. cacao* L. âgées de un à trois mois, développent une tache (nécrose) qui varie au cours du temps et en fonction du génotype. L'infection des feuilles détachées en laboratoire, évolue régulièrement chez tous les génotypes étudiés jusqu'au septième jour. L'apparition de la nécrose sur les feuilles infectées, est due à la présence du mycélium de *P. megakarya*, qui répand ses propagules à travers les tissus de l'hôte (feuille). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Nyassé (1997) sur des disques de feuilles de *T. cacao* L. en laboratoire, Omokolo *et al.* (2002) sur les cabosses en laboratoire; par Djocgoué *et al.* (2006) et Manga (2013) sur les feuilles attachées à la plante.

Les indices de sévérité ont montré que l'infection des clones et des hybrides par la souche NPV, produisent des indices les plus bas, contrairement à la souche NGF. Les indices des coïnfections sont intermédiaire et varie beaucoup en fonction des souches suscités. Le clone SNK 413 apparaît comme le clone le plus tolérant des trois isolats de *P. megakarya*, contrairement au clone sensible SNK 16. Les mêmes observations sont enregistrées chez les hybrides étudiés. Tous les isolats de *Phytophthora* étudiés ont des caractères morphologiques différents. Selon certains auteurs, Drenth *et al.* (2001) et Martin *et al.* (2004), les sporanges caduques de forme ellipsoïde à ovoïde avec une papille proéminente sont différents selon les isolats. La longueur et la largeur moyenne des sporanges pourraient être à l'origine du comportement (virulence) des isolats de *P. megakarya*.

L'effet hétérosis qui est la manifestation de la vigueur hybride permet de montrer l'existence d'une hétérosis positive au sein des deux familles hybrides F20 et F25. De ce fait, on observe que 70,37, 81,48 et 74,07 % (parent moyen) de génotypes hybrides manifestent une vigueur hybride (par rapport aux souches NPV, NGF et coïnfection (NPV+NGF) respectivement. Par contre, l'hétérosis par rapport au meilleur parent est de 33,33 % (souche NPV), 77,78 % (souches NGF) et de 77,78 % (coïnfection). Selon Djocgoué *et al.* (2006), Manga (2013) et Ondobo *et al.* (2014), la manifestation de la vigueur hybride témoigne une tolérance vis-à-vis de *P. megakarya* après infection et impliquerait des gènes à effet additifs et dominants. Cependant, l'hétérosis négative observée pourrait expliquer un effet épistasie de

certaines gènes qui masqueraient l'expression des gènes de défense impliqués dans la tolérance chez *T. cacao* L. pendant la méthode classique de croisements.

Les valeurs de l'héritabilité au sens strict du caractère nécrose des différents croisements réciproques ne sont pas significativement différents et ceci traduit l'absence d'une héritabilité maternelle ($h^2= 0,780$ pour F20 et $h^2= 0,643$). Cette observation suggère que l'héritabilité du caractère taille de la nécrose est nucléaire et non cytoplasmique. Ceci est en accord avec les résultats de Manga (2013) après l'infection des feuilles de *T. cacao* (SCA 12 x ICS 40 et ICS 40 x SCA 12) par le mycélium de *P. megakarya*. Les travaux d'Effa *et al.* (2015) sur des feuilles jointes sur la plante montrent aussi des résultats similaires

CHAPITRE IV : INTERET DIDACTIQUE

Le processus d'enseignement apprentissage des Sciences de la Vie et de la Terre (SVT) au niveau du secondaire a été revisité depuis un certain nombre d'année. Dans le contexte actuel (Approche Par Compétence en abrégé APC), l'élève est placé au centre de son processus d'apprentissage tel que suscité par le modèle du socioconstructivisme ; l'enseignant n'est que le tuteur. Pour se faire, l'enseignant met l'accent sur la pratique et le travail en groupe afin de faire développer chez l'enfant l'esprit scientifique. Tout enseignant de SVT doit à partir d'un support didactique audible, observable ou manipulable, faire participer activement les élèves par un jeu de questions-réponses.

Pour réaliser le développement agricole voulu par le gouvernement camerounais, des vocations scientifiques doivent être suscitées chez les élèves des lycées et collèges. Les élèves sont encouragés à s'orienter vers des carrières agronomiques ou environnementales à fin d'assurer l'émergence du Cameroun.

L'enseignant que nous sommes pourra utiliser les résultats de ce mémoire comme support didactique. Plusieurs compétences ont été développées au cours des diverses manipulations ayant jalonné nos travaux. Il s'agit de:

- la pratique du greffage ;
- la culture des microorganismes ;
- l'utilisation du microscope électronique.

Lors des séances pratiques, ces compétences pourront être utilisées. Ainsi, les travaux réalisés dans le cadre de ce mémoire, nous seront utiles pour le renforcement du processus d'enseignement des SVT en classe de sixième (6^{ème}) où le domaine d'apprentissage est intitulé « Sciences et Technologie ». En particulier dans la séance II : la multiplication végétative, du module I : le monde vivant.

Préalablement au cours en salle, une fiche pédagogique de préparation de la leçon doit être établie.

FICHE PEDAGOGIQUE

ETABLISSEMENT		Nom de l'enseignant : MEKUE NOUWEZEM	
MODULE I	LE MONDE VIVANT	Quisselle	
FAMILLE DE SITUATIONS	Couverture des besoins de l'homme en ressources animales et végétales	Date	
EXEMPLE DE SITUATION	Insuffisance des ressources comestibles	Classe	6 ^{ème}
PALLIER DE COMPETENCES	Pratiquer l'agriculture	Effectif :	G : F :
CATEGORIES D' ACTIONS	Amélioration de la production animale et végétale	Durée	1h 40min
SEQUENCE D'ENSEIGNEMENT N° 2	Nécessité de la reproduction	Période	
TITRE DE LA SEANCE D'ENSEIGNEMENT N° 2	Multiplication végétative		
O.P.O	<p>A l'issue de la séance portant sur la multiplication végétative, chaque élève de la classe de 6^{ème} sera capable de :</p> <ul style="list-style-type: none"> - identifier les organes de multiplication végétative - décrire les techniques de multiplication végétative artificielle - pratiquer au moins une technique de multiplication végétative - décrire les étapes du bourgeonnement et de la bipartition - manipuler un microscope et les microorganismes - développer le sens de l'observation et l'esprit d'équipe. 		

E T A P E	ACTIONS A MENER	O.P.O.I	CONTENUS SPECIFIQUES AUX O.P.O.I	SUPPORTS DIDACTIQUES	ACTIVITES		EVALUATION DE L'ATTEINTE DES O.P.I	D U R E E
					ENSEIGNANT	ELEVES		
INTRODUCTION	Pratiquer l'agriculture	-Etablir le contrat élèves-professeur : - Communiquer le titre de la leçon et les OPOI	TITRE : II- La multiplication végétative ou asexuée Objectifs : - Identifier les organes de multiplication végétative - Décrire les techniques de multiplication végétative artificielle -Citer les différentes voies de multiplication des microorganismes Décrire les étapes du bourgeonnement - Utiliser un microscope et les microorganismes - Développer le sens de l'observation et l'esprit d'équipe	- Livre au programme (Majors, sciences et technologie 6°/1ere année)	- Ecrit le titre de la leçon au tableau et dans le cahier de texte - Dicte et copie les objectifs au tableau	- Recopient le titre de la leçon - Recopient les objectifs		10 minutes
		Mobiliser les ressources	-Schéma d'une plante au tableau (sans annotation)	Cours et apprentissag	Pose les questions de	-Réfléchissent	Evaluation diagnostique - nommer les organes d'une	

	(prérequis)	- Modalité de la multiplication sexuée - Définir microbe - Citer quelques microorganismes	es antérieurs	l'évaluation diagnostique	-Répondent aux questions	plante. - Quels sont les organes intervenants dans la reproduction sexuée - Définir microbe - Citer quelques microorganismes	
	Déterminer l'intérêt de la leçon	Cette leçon permet à l'apprenant de contribuer activement à l'amélioration de l'agriculture au sein même de la famille par la maîtrise des techniques de multiplication végétative et la distinction des types de plantes	Vécu quotidien	Brainstorming	-Réfléchissent -Répondent aux questions		1 0 n i n
	Identifier et formuler le problème à résoudre	ACTIVITE 1 : Situation-problème Comment produire les plantes telles que le manioc, les ignames etc. ? <u>Hypothèse</u> : On peut les produire par bouturage, greffage etc.	Situation-problème	Pose les questions	-Lisent le texte, Répondent aux questions -Formulent des hypothèses	Quel est le problème dont fait face Fatou?	n

INTRODUCTION: Certaines plantes à fleurs se reproduisent à partir des fragments de leur appareil végétatif : c'est la multiplication végétative. Elle peut être naturelle ou artificielle avec l'intervention de l'homme. Aussi les microorganismes se reproduisent de façon asexuée. Certains de ces microorganismes sont utiles à l'Homme.

E T A P E S	ACTIONS A MENER	O.P.O.I	CONTENUS SPECIFIQUES AUX O.P.I	MATERIELS DIDACTIQUES	ACTIVITES		EVALUATION DE L'ATTEINTE DES O.P.I	D U R E E
					ENSEIGNANTS	ELEVES		
D E V E L O P E M E N T	- recense r les fragme nts de plante impliqu és dans la multipli cation asexuée	- Identifier les organes de multiplic ation végétativ e	1- <u>La multiplication végétative naturelle</u> (<i>ACTIVITE 2 : Observation du tableau 1</i>) Les organes de la multiplication végétative sont : - Les tiges aériennes ou boutures - Les tiges souterraines ou bourgeons Exemple : bulbilles (pomme de terre, igname, macabo, ail, oignons) ; rejet (bananier, ananas) - Les racines adventives des tiges Exemple : la patate	Tableau 1: (Majors, Sciences et Technologies 6 ^e /1 ^{ère} année ; page 44) Figures 11 et 12 (Majors, Sciences et Technologies 6 ^e /1 ^{ère} année ; page 45)	A-Exploitation 1. Nommer l'appareil végétatif de multiplication de chaque plantes du tableau 1; N.B : 2. Faites une distinction entre stipes et rhizome chez le bananier.	- Recopient le titre de la partie -Observent les photographies -Répondent aux questions	Evaluation formative 1 : Identifiez et nommez les parties impliquées dans la reproduction du manioc, igname, bananier, et patate.	2 0 m in

	<p>Pratiquer la technique du greffage en champ lors d'une sortie</p>	<p>Décrire les techniques de multiplication végétative artificielle</p>	<p>2- La multiplication végétative artificielle. (<i>ACTIVITE 3</i> : Observation de la planche) L'homme exploite la multiplication végétative des plantes pour produire à grande échelle tout en conservant les caractéristiques de la plante originelle. Les techniques utilisées sont : - le bouturage : il consiste à mettre en terre un morceau de tige appelé bouture. Exemple : manioc et canne à sucre - le marcottage : il consiste à mettre en contact de la terre une branche ou un rameau de la plante jusqu'à apparition des racines ; puis on l'isole de la plante mère. - le greffage : il consiste à implanter un fragment d'une plante sélectionné (greffon) à une autre plante appelée porte greffe.</p>	<p>Planche (figures 1, 2 et 3) (Majors, Sciences et Technologies 6^e/1^{ère} année ; page 46 ; photographies personnelles)</p>	<p>A-Exploitation 1. Quel sont les techniques répertoriées sur les figures 1, 2 et 3 2. Comment se déroule chaque technique ? B- Dicte et recopie des notes au tableau</p>	<p>- Recopient le titre de la partie -Observent les figures 1, 2 et 3 -Répondent aux questions Recopient les notes dans leur cahier</p>	<p>Evaluation formative 2 : Quelle différence y a-t-il entre la multiplication végétative naturelle et la multiplication végétative artificielle ?</p>	<p>2 0 m in</p>
--	--	---	--	---	---	--	---	-----------------------------

Faire des groupes pour observation des microorganismes au microscope	- Citer les différents voies de multiplication des microorganismes - Décrire les étapes du bourgeonnement	3- La multiplication des microorganismes et leur utilisation ACTIVITE 4 : Observation de la planche L'Homme utilise des microorganismes au quotidien pour la fabrication du pain (levure de boulanger), du yaourt (lactobacilles), de l'alcool des bières et des vins (levure de bière). Les modes de multiplication des microorganismes sont : - le bourgeonnement ou formation d'un bourgeon, qui grandit et se sépare de la cellule mère pour se multiplier à son tour. Exemple : les levures (schéma du bourgeonnement) - la bipartition ou scissiparité ou division en son milieu pour donner 2 cellules filles à partir d'une cellule initiale (bactéries ou bacilles)	Planche (figure 4) (Majors, Sciences et Technologies 6 ^e /1 ^{ère} année ; page 48) Vécu quotidien	A-Exploitation 1. Identifier le type de microorganisme de la figure 4 2- Décrire la figure 3- Nommer le phénomène se déroulant. B- Dicte et recopie le cours au tableau	- Recopient le titre de la partie -Observer la figure 4 -Répondent aux questions Recopient les notes dans leur cahier	Evaluation formative 3 : - Quelles sont les voies de multiplication des microorganismes ? - Citer les trois étapes du bourgeonnement	20 minutes
CONCLUSION	La multiplication végétative ou asexuée est un mode de reproduction qui se fait à partir des fragments de plantes appelés organes végétatifs. Elle permet de reproduire à l'identique les individus. Elle est utilisée par l'homme pour : - améliorer les rendements, - réduire le temps de production, - produire à l'échelle industrielle, - sélectionner les variétés ayants des bonnes qualités..	Evaluation sommative: Quel est l'apport de la multiplication asexuée dans nos vies de tous les jours ?	15 minutes				

	<p><u>DEVOIR</u> : Recenser les plantes de votre localité qu'on peut multiplier artificiellement de façon asexuée et donner une technique permettant de le faire.</p>		
--	--	--	--

FICHE DE ELEVE

SITUATION PROBLEME CONTEXTUALISÉ

Fatou est une jeune fille de la classe de CM2 de l'école publique de Yaoundé. Elle aide pendant les vacances sa maman qui est une vendeuse de beignets et une cultivatrice. Sa maman Rose habite Ngoumou, village de Yaoundé où on cultive dans les plantations de cacao, du manioc, du plantain, et du macabo. Pendant la période des semences, Fatou ne trouve pas sur le marché des graines pour cultiver ces plantes.

Tableau 1 : fragments utilisés dans la multiplication végétative

Organe de l'appareil végétatif	Tige aérienne	Tige souterraine			Tige souterraine en forme de disque
Exemple de plante	Patate	Bananier	Pomme de terre, Macabo, Igname	Canne à sucre	Oignon Ail
Organes de multiplication artificielle	Racines adventives « yeux »	Bourgeons « rejets »	Bourgeons « bulbilles »	Bourgeons	Bulbilles
Ressources alimentaires	tubercules	fruit	tubercules	Tiges aériennes	bulbe

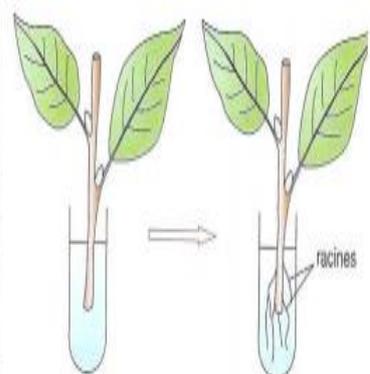
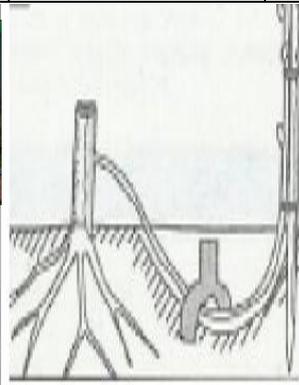


Figure 1: greffage

Figure 2: Marcottage

Figure 3: Bouturage

Tableau 2 : nombres de levures dans un milieu de culture.

Temps en heure	Nombre de levure
0	20
2	60
10	530
18	650

CHAPITRE IV : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

IV.1-Conclusion

Le présent travail qui avait pour objectif de déterminer le comportement de deux isolats de *P. megakarya* (différents) conjointement à une coinfection (des deux isolats) sur des clones et des hybrides de *T. cacao* du groupe des Trinitario.

Il ressort de ces résultats que :

- le greffage en fente latérale a donné en général un taux de réussite de 71,12 % ;
- le comportement des trois traitements (souches) sur les feuilles (clones et hybrides) de *T. cacao* a montré que la souche NGF s'est révélée la plus agressive. La coinfection entraîne une sévérité de la maladie similaire à celle de la souche NGF et supérieure à celle de NPV sept jours après infection;
- le clone SNK 413 s'est relevé le plus tolérant à *P. megakarya* selon le degré de résistance obtenu ; et que les hybrides F25.03, F20.02 et F25.02 présentaient une tolérance accrue;
- les hybrides F25.03, F20.02 et F20.01 ont manifesté une forte vigueur hybride et sont considérés comme les plus performants. L'héritabilité au sens strict du caractère « sévérité de la maladie » a montré des valeurs similaires pour les deux familles hybrides (F20 et F25) traduisant l'absence de l'effet maternel dans la transmission de ce caractère.

IV.2- Perspectives

Le présent travail pourrait être complété pour confirmer la suite des résultats par :

- des analyses biochimiques des composés pouvant intervenir dans la résistance à *P. megakarya*.

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.

Akinnifesi F.K., Sileshi G., Mkonda A., Ajayi O.C., Mhango J., Chilanga T. (2008) Germoplasm supply, propagation and nursery management of miombo fruit trees. CABI Publishing, Wallingford, UK 341-368.

Alverson W.S., Whitlock B.A., Nyffer 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. (2009) Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture. *Annuaire de la production*.

Anonyme (2013) ICCO. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol 39 (1) Cocoa year 2012/2013.

Anonyme (2014) ICCO. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, XL, No. 3, Cocoa year 2013/14.

Anonyme (2016) ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLII, No. 1, Cocoa year 2015/16

Assoumou J. (1977) L'économie du cacao. Ed. Universitaires. Paris (France). 380.

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). *J. Plant Physiology*, 165, 83-94.

Babacauh K.D. (1980) Structure et dynamique des populations de *Phytophthora* *sp.* Parasitedu cacaoyer. Thèse de doctorat d'Etat, Université de Paris Sud Centre d'Orsay, France.153.

Bailey B.A., Bae H., Strem M.D., Antunezde Mayolo G., Guittinan M.J., Venica J.A., Maximova S.N., Bowers J.H. (2005) Developmental expression of stress response genes in *Theobroma cacao* leaves and their response to Nep1 treatment and a compatible infection by *Phytophthora megakarya*. *Plant physiology and biochemistry* 43, 611-622.

Bartley B.G.D. (2005) The genetic diversity of cacao and its utilization. Wallingford, UK: CABI Publishing. 341.

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

Brasier C.M., Griffin M. (1979) Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cocoa. Transaction of the British Mycological society 72: 111-143.

Braudeau J. (1969) Le cacaoyer. Maisonneuve et Larousse, Paris. 304.

Clément D. (2010) Cartographie des QTLs contrôlant des caractères d'intérêt chez le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Thèse de Doctorat, INAPG. Paris. 156.

Crouzillat D., Phillips W., Fritz J. and Petiad V. (2000). Quantitative trait loci analysis in *Theobroma cacao* L. Using molecular markers: inheritance of polygenic resistance to *Phytophthora palmivora* in two related populations. *Euphytica* 114:25-36.

Cuatrecasas J. (1964) Cocoa and its allies. A taxonomic revision of the genus of *Theobroma*. *Cont. US. Nat. Herb.* 35: 379-614.

Deberdt P., Mfegue C.V., Tondje P.R., Bon M.C., Ducamp M., Hurard C., Begoude B.A.D., Ndoumbe-Nkeng M., Hebbar P.K., Cilas C. (2008) Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. *Biological Control*. 44: 149-159.

Despreaux, D., (2004). *Phytophthora* disease cacao tree resistance to *Phytophthora* disease. (Eds). Cirad. pp 20 – 28

Djougoue P.F. (1998) Analyse des variations biochimiques liées au Développement et l'infection par *Phytophthora megakarya* Bras. et Grif. Chez *Theobroma cacao* L. Thèse Ph.D. Université de Yaoundé I, Faculté des Sciences, Cameroun.

Djougoue P.F., Boudjeko T., Nankeu D.J., Efombagn M.I.B., Nyasse S., Omokolo D.N. (2006) Comparative assessment of the resistance of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) progenies from SNK10 x SNK413; ICS84 x ICS95 to *Phytophthora megakarya* in Cameroon by measuring size of necrotic lesion along the midrib. *Plant Pathology Journal*. 5(3): 329-33.

Drenth J.P.H., Finley W. H., Breedveld G. J., Testers L., Michiels J. J., Guillet G., Taieb A., Kirby R. L., Heutink P. (2001). The primary erythralgia-susceptibility gene is located on chromosome 2q31-32. *Am. J. Hum. Genet.* PubMed. 68: 1277-1282.

Effa O.P., Niemenak N., Djocgoue P.F., Ondobo M.L., Omokolo N.D. (2015) Heritability of polyphenols, anthocyanins and antioxidant capacity of Cameroonian cocoa (*Theobroma cacao* L.) beans. *African Journal of Biotechnology*, 14(36): 2672-2682.

Erwin D.C., Ribeiro O.K. (1996) *Phytophthora* diseases worldwide, Minnesota, USA. The American Phytopathology Society.

Eskes A., Lanaud C. (1997) Le cacaoyer. In: L'amélioration des plantes tropicales. CIRAD. Montpellier, France. 141-170.

Falconer D.S and Mackay T. F. C. 1996. Introduction to quantitative genetics, Longmans Green Edition 4 Harbour, Essex, UK. 125.

Förster H., Ribeiro O.K., Erwin D.C. (1983) Factors affecting oospore germination of *Phytophthora megakarya* f. sp. medicaginis. *Phytopathology*, 73, 442-448.

Förster H., Coffey M.D., Elwood H., Sogin M.L. (1990) Sequence analysis of the small subunit RNAs of three zoosporic fungi and implication of fungal evolution. *Mycologia* 82: 306-312.

Gallais A. (1990) Théorie de la sélection ou amélioration des plantes. Ed. Masson, Paris, 588.

Gay J.P. (1999) Maïs mythe ou réalité. Ed. Atlantica, 215.

Iwaro A., Screenivasam N.T., Umahara P. (1997) *Phytophthora* resistance in cocoa (*Theobroma cacao* L.). In: influence of pod morphological characteristics. *Plant pathology*. 46:557-565.

Judelson H.S., Blanco F.A. (2005) The spores of *Phytophthora*: weapons of the plant destroyer. *National Review of Microbiology*. 3: 47-58.

Lee S. B., Taylor J. W. (1992) Phylogeny of fungus-like protist *phytophthora* species, inferred from the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Molecular biology and Evolution*, 9: 636-653.

Louis E., Grivetti Howard-Yana Shapiro. (2009) *Chocolate: history, culture and heritage*. John Wiley and Sons. 975.

Lynch M., Walsh B. (1998) *Genetics and analysis of quantitative traits*. 1st Edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland Massachusetts. 980.

Maddison A.C., Griffin M.J. (1981) Detection and movement of inoculum. In: *Epidémiology of Phytophthora on cocoa in Nigeria*. Gregory, P.H and Maddison, A.C., editors. *Phytopathological*, 31-49.

Manga N.J. (2013). Héritabilité de la tolérance à *Phytophthora megakarya* Bras. Et Grif. De deux familles de *Theobroma cacao* L. Mémoire de Master, Université de Yaoundé I, Faculté des sciences, Cameroun.

Martin D., Brun C., Remy E., Mouren P., Thieffry D. and Jacq B.(2004).Functional analysis of gene datasets based on Gene Ontology. *Genome Biology* 2004 5:R101 DOI: 10.1186/gb-2004-5-12-r101.

Melnick R.L., Bailey B.A., Maximova S., Gultinan M.J., Backman P.A. (2006) *Bacillus* spp. induite une résistance systémique aux maladies du cacaoyer. 15^e Conférence Internationale sur la recherche Cacaoyère. 210.

Mfegué C.V. (2012) Origine et mécanisme de dispersion des populations de *Phytophthora megakarya*, pathogène du cacaoyer au Cameroun. Thèse de Doctorat, biologie intégrative des plantes, Centre International D'études Supérieures En Sciences Agronomiques de Montpellier, France.

Miranda F. J. B. (1999). Inbreeding depression. The genetics and exploitation of heterosis in crop. ASA, CSS, and SSSA Madison, Wisconsin ; USA , 69-80.

Motamayor J.C., Risterucci A.M., Lopez P.A., Ortiz C.F., Moreno A., Lanaud C. (2001) Cacao domestication. I. The origin of the cacao cultivated by the Heredity 38: 380-386.

Mouafo T.R.A. (2014). Effet de *Streptomyces* sp. JJY4 sur la croissance et la résistance des plantes de cacaoyers (*Theobroma cacao*) vis-à-vis de *Phytophthora megakarya*, agent responsable de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer. Mémoire de Master, Université de Yaoundé I, Faculté des sciences, Cameroun.

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.

Munjuga M., Mwaura L., Schmidt L. (2010) *Allanblackia stuhlmannii* (Engl.) Engl. Seed Leaflet No. 149. FLD, Denmark (4), 1-10.

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.

Ndoumbe-Nkeng M., Cilas C., Myemb E., Nyasse S., Bieysse D., Flori A., Sache I. (2004) Impact of removing diseased podes on cocoa black pod cause by *Phytophthora megakarya* and on cocoa production in Cameroon. *Crop Prot.* 23: 415-424.

Noumbissie T.J.B., Bell J.M., Tchuengang M.C., Kuegue H.G. (2002) Héritabilité du taux de fructification chez le niebé (*Vigna unguiculata* L. Walp) en zone soudano-guinéenne du Cameroun. *Biosciences Proceedings*. Vol 9.

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.

Nyadanu D., Akromah R.O., Adamako B., Kwoseh C., Dzathini-Obiathey H., Lowor S. T., Akrofi A.Y., Assuah M.K., 2012. Host plant resistance to *phytophthora* pod rot in cocoa (*Theobroma cacao* L.): The role of epicuticular wax on pod and leaf surfaces. *Int. Journal. Botanic.* 8: 13-21.

Nyassé S. (1992). Structure d'une population de *Phytophthora* spp. des cacaoyères camerounaises atteintes de la pourriture brune. DRU.Institut. National. Polytechnique.Toulouse. 48

Nyassé S., Cilas C, Herail C., Blaha G. (1995) Leaf inoculations as an early screening test for cocoa (*Theobroma cacao* L.) resistance to *Phytophthora* black pod disease. *Crop Protection.* 14: 657–663.

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, Institut National Polytechnique de Toulouse.

Nyassé S., Efombagn M.I.B., Kébé B.I., Tahi M., Desperéaux D., Cilas C. (2006) Integrated management of *Phytophthora* diseases on cacao (*Theobroma cacao L.*): Impact of plant breeding pod rot incidence. *Crop protection*. 26: 40-45.

Omokolo N.D., Nankeu D.J., Niemenak N., Djocgoué P.F. (2002). Analysis of aminoacids carbohydrates in the cortex of nine clones of *Theobroma cacao L.* in relation to their susceptibility to *Phytophthora megakarya* Bras.andGrif. *Crop Protection* 21: 395-402.

Ondobo M.L. (2014). Héritabilité de la résistance à *phytophthora megakarya* et des composés bioactifs de quelques clones de cacaoyer (*Theobroma cacao L.*). Thèse PhD, Université de Yaoundé I, Faculté des Sciences, Cameroun.

Opoku I.Y., Appiah A.A., Akrofi A.Y., Owusu G.K. (2000) *Phytophthora megakarya*: A potential threat to cocoa industry in Ghana. *Ghana J. Agricultural Sciences*. 33 : 237-248.

Patriot M. (1984) Epidémiologie de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer au Cameroun. Première réunion du groupe international de travail sur les maladies du cacao. Lomé, Togo, 20-22 Montpellier. 25-53.

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

Schawn R.F., Wheals A.E. (2004) The microbiology of cacao. Fermentation and its role in Chocolate Quality. *Critical Revue in Food Sciences and Nutrition*. 44: 1-17.

Semal J., 1989. Les maladies des plantes: concepts généraux. In : *Traité de pathologie végétale* (Ed. Semal, J). Les presses agronomiques de Gembloux, Belgique, 11-38.

Tan G.Y., Tan W.K. (1990) Additive inheritance of resistance to pod rots caused by *phytophthora palmivora* in cocoa. *Theor. Appl. Genet.* 80 : 258-264.

Tchameni S.N., Ngonkeu M.E.L., Begoude B.A.D., Nana L.W., Fokom R., Owona A.D., Mbarga J.B., Tchana T., Tondje P.R., Etoa F.X., Kuate J. (2011) Effect of *Trichoderma*

asperellum and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease. *Crop Protection*. 30: 1321-1327.

Tchameni S.N., Nwaga D., Nana L.W., Ngonkeu M.E.L., Fokom R., Kuate J., Etoa F.X. (2012) Growth Enhancement, Amino Acid Synthesis and Reduction in Susceptibility Towards *Phytophthora megakarya* by Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculation in Cocoa Plants. *Journal of Phytopathology*. 160: 220-228.

Temgoua J.P. (2005) Hybridation et évaluation du niveau de tolérance à la pourriture brune de quelques clones parentaux de *T. cacao* L. et leurs descendants. Mémoire de D.E.S.S en Technologie des semences, Université de Yaoundé I, Faculté des Sciences, Cameroun.

The C., Horst W.J., Calba H., Welker C., Zonkeng C. (1996) Identification of maize (*Zea mays* L.) genotypes adapted to acid-soil of the tropics (rapport). 8.

Tondje P.R., Berry D., Bakala J., Ebandan S., (1993). Intérêt de diverses pratiques culturales dans la lutte contre la pourriture brune des cabosses du cacaoyer due à *Phytophthora* spp. au Cameroun. *In*: 11ème conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, 1993 Yamoussoukro, Côte-d'Ivoire. 175-183.

Tondje P.R., Roberts D.P., Bon M.C., Widmer T., Samuels G.J., Ismaiel A., Begoude B.A.D., Tchana T., Nyemb-Tshomb E., Ndoumbe-Nkeng M., Bateman R., Fontem D., Hebban K. P. (2007) Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in Cameroon. *Biological Control*. 43: 202-212.

Whitlock B., Bayer C., Baund D. (2001) Phylogenetic relationship and floral evolution of the Byttnerioideae b (“Sterculiaceae” or Malvaceae S. I.) based on sequences of the chloroplast gene *F*. *Sys. Bot.* 26: 420-437.

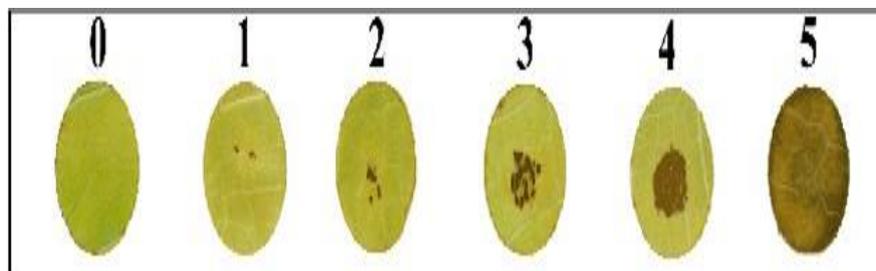
Wood G.A.R., Lass R. A., (1985). *Cacao*. Lang man, London. 69.

Youssoufa G. (1979) La cacaoculture au Cameroun. *Cacao café thé* 10 (3): 66-90.

Zahour A. (1992) *Eléments d'amélioration génétique des plantes*. Edition Actes, Rabat, Maroc. 232.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Echelle d'évaluation de la pourriture brune sur disque de feuilles (Nyassé, 1995).



ANNEXE 2 : index de sévérité des traitements sur clones parentaux

Clones parentaux	Jour 3			Jour 5			Jour 7		
	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF
ICS40	0,83 ± 0,02 a	1,00 ± 0,20 ab	1,00 ± 0,11 ab	1,50 ± 0,32 bc	2,33 ± 0,2 c	1,50 ± 0,08 bc	1,66 ± 0,27 b	2,33 ± 0,27 c	2,16 ± 0,36 abc
SNK13	0,66 ± 0,01 a	0,83 ± 0,02 ab	1,00 ± 0,08 ab	1,33 ± 0,28 bc	2,50 ± 0,12 c	1,50 ± 0,06 bc	2,08 ± 0,14 cd	2,50 ± 0,50 bc	2,33 ± 0,26 bc
SNK16	0,50 ± 0,03 a	1,16 ± 0,04 b	1,75 ± 0,35 b	0,66 ± 0,06 ab	2,33 ± 0,36 c	1,75 ± 0,32 bc	1,83 ± 0,36 bc	2,33 ± 0,36 c	2,50 ± 0,30 c
SNK413	0,83 ± 0,02 a	0,83 ± 0,03 ab	0,83 ± 0,04 ab	0,91 ± 0,14 b	1,58 ± 0,08 bc	1,16 ± 0,07 a	1,66 ± 0,37 b	2,16 ± 0,14 bc	2,00 ± 0,20 abc

ANNEXE 3 : Résultats de l'évolution de la nécrose sur les feuilles testées des clones parentaux et leurs hybrides réciproques (familles F20 et F25) en fonction du temps.

Génotypes	Jour 3			Jour 5			Jour 7		
	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF	NPV	NGF	NPV+ NGF
F20.01	0,58 ± 0,38 a	0,41 ± 0,12 a	0,58 ± 0,23 a	1,41 ± 0,94 bc	0,91 ± 0,05 ab	1,50 ± 0,86 bc	2,16 ± 0,76 cd	1,58 ± 0,52 ab	1,66 ± 0,52 a
F20.02	0,66 ± 0,27 a	0,58 ± 0,03 a	0,50 ± 0,05 a	0,83 ± 0,28 b	0,66 ± 0,14 a	0,66 ± 0,57 a	1,16 ± 0,28 a	1,16 ± 0,28 a	1,33 ± 0,28 a
F20.03	0,33 ± 0,18 a	1,33 ± 0,57 b	0,33 ± 0,17 a	1,00 ± 0,61 b	2,33 ± 0,62 c	0,66 ± 0,19 a	1,66 ± 0,15 b	2,66 ± 0,15 c	1,33 ± 0,57 a
F20.04	0,66 ± 0,32 a	0,83 ± 0,28 ab	1,41 ± 0,23 b	1,16 ± 0,09 bc	1,50 ± 0,50 bc	2,50 ± 0,50 c	1,83 ± 0,76 bc	2,00 ± 0,86 bc	2,33 ± 0,57 bc
F20.05	0,58 ± 0,10 a	0,41 ± 0,03 a	1,08 ± 0,12 b	1,00 ± 0,40 b	0,83 ± 0,16 ab	1,83 ± 0,04 c	1,66 ± 0,57 b	2,08 ± 0,38 bc	3,00 ± 1,00 c
F25.01	0,66 ± 0,27 a	1,33 ± 0,57 b	0,66 ± 0,07 a	2,25 ± 0,66 c	2,16 ± 0,08 c	1,33 ± 0,76 ab	2,50 ± 0,50 d	2,66 ± 0,33 c	2,16 ± 0,28 abc
F25.02	0,41 ± 0,09 a	0,33 ± 0,08 a	0,66 ± 0,02 a	0,66 ± 0,57 ab	0,33 ± 0,22 a	1,33 ± 0,57 ab	1,33 ± 0,28 ab	2,33 ± 0,52 c	2,66 ± 0,44 c
F25.03	0,00 ± 0,00 a	0,33 ± 0,12 a	0,33 ± 0,05 a	0,00 ± 0,00 a	0,66 ± 0,34 a	0,83 ± 0,52 a	0,66 ± 0,37 a	1,33 ± 0,17 ab	1,50 ± 0,50 a
F25.04	0,66 ± 0,15 a	0,83 ± 0,46 ab	0,66 ± 0,24 a	1,66 ± 0,53 c	1,33 ± 0,15 bc	1,16 ± 0,04 a	2,16 ± 0,24 cd	1,66 ± 0,57 ab	2,66 ± 0,57 c