

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix – Travail – Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET
PHYSIOLOGIE VEGETALES

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALES EN
SCIENCE
DE LA VIE, SANTE ET
ENVIRONNEMENT



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace – Work – Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF PLANT
BIOLOGY

CENTER FOR RESEARCH AND
DOCTORAL TRAINING IN
GRADUATE
STUDIES IN LIFE, HEALTH AND
ENVIRONMENT

**Aspects épidémiologique, physiologique et biochimique
de l'interaction *Coffea arabica* L. et *Colletotrichum
kahawae*, agent causal de l'antracnose des baies**

THESE

Présentée et soutenue en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat / PhD en Biologie des Organismes Végétaux

Par : **KACKO Agripine**
Master ès Sciences

Sous la direction de
MOUEN BEDIMO Joseph A.
Maître de Recherche
NIEMENAK Nicolas
Professeur

Année Académique : 2021





DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES
DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY

ATTESTATION DE CORRECTION DE LA THÈSE DE DOCTORAT/Ph.D

Nous soussignés, membres du jury de la soutenance de thèse de Doctorat/Ph.D en Biologie et Physiologie Végétales, Option **Biotechnologies végétales** de l'étudiante **KACKO Agripine**, Matricule **06S072**, soutenue publiquement le **Mardi, 23 Mars 2021**, en vue de l'obtention du grade de Docteur/Ph.D, sur le thème «**Aspects épidémiologique, physiologique et biochimique de l'interaction *Coffea arabica* L. et *Colletotrichum Kahawae*, agent causal de l'antracnose des baies**», attestons que toutes les corrections conformément aux remarques et recommandations demandées du jury de la soutenance de la dite thèse de Doctorat/Ph.D ont été effectuées par la candidate.

En foi de quoi, la présente attestation lui est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

Rapporteurs

MOUEN BEDIMO Joseph
Maître de Recherches

NIEMENAK Nicolas
Professeur

Membres

NYASSE Salomon
Directeur de Recherches

AMBANG Zachée
Professeur

YOUMBI Emmanuel
Professeur

Président

SONKE Bonaventure
Professeur

LISTE PROTOCOLAIRE

UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I

Faculté des Sciences

*Division de la Programmation et du
Suivi des Activités Académiques*



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

Faculty of Science

*Division of Programming & Follow-up
of Academic Affairs*

**LISTE DES ENSEIGNANTS
PERMANENTS**

**LIST OF PERMANENT TEACHING
STAFF**

ANNÉE ACADEMIQUE 2020/2021

(Par Département et par Grade)

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maitre de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maitre de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maitre de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maitre de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR :

MBAZE MEVA' A Luc Léonard, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (38)			
N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DIAGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste
9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE Garbin Boris	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE M. C. F.	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA NNOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
17	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
18	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
19	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
20	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	Inspecteur de Service MINESUP
21	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
22	EWANE Cécile Anne	Maître de Conférences	En poste
23	KOTUE KAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste
24	AKINDEH MBUH NJI	Chargée de Cours	En poste
25	BEBOY EDZENGUELE Sara <i>Nathalie</i>	Chargée de Cours	En poste
26	DAKOLE DABOY Charles	Chargée de Cours	En poste
27	DJUJKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
28	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
29	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
30	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste

32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	PACHANGOU NSANGOU Sylvain	Chargé de Cours	En poste
35	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
36	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
37	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
38	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste
2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (46)			
1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	Chef de Département
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>VICE / Doyen/FMSB/UIYI</i>
6	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
7	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
8	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
9	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
10	NOLA Moïse	Professeur	En poste
11	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
12	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINSANTE</i>
13	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste
14	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En poste
15	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épouse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
19	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
20	MONY Ruth épouse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
21	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
22	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
23	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Maître de Conférences	En poste
24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste

25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargée de Cours	En poste
29	KANDELA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
30	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
34	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
35	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
36	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
37	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	Chef Div. UBA
38	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
39	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
40	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
41	YEDE	Chargé de Cours	En poste
42	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
43	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
44	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
45	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
46	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (31)

1	AMBANG Zachée	Professeur	Chef Division/UYII
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste
4	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
5	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département
6	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste
7	MBOLO Marie	Professeur	En poste
8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste

11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	CT/UDs
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
13	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
14	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	DJEUANI Astride Carole	Chargée de Cours	En poste
17	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
18	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
19	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
20	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
21	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
22	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
23	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
24	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste
25	GODSWILL NTSOMBAH NTSEFONG	Assistant	En poste
26	KABELONG BANAHO Louis-Paul-Roger	Assistant	En poste
27	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
28	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
29	LIKENG6LI6NGUE Benoit C	Assistant	En poste
30	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
31	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (35)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice Recteur Univ ,Bamenda</i>
2	ELIMBI Antoine	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé deMiss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI/Chef de Departement</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste
9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>

10	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
11	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
12	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
13	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
14	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
15	NDI NSAMI Jilius	Maître de Conférences	En poste
16	NJOMOU C. épouse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
17	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
18	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
19	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
20	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	CS / ENS Bertoua
21	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
22	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAOUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	CT/ MINFEM
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
33	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
34	PTOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
35	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En poste
5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (35)			
1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen / PSAA
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	Dir. IBAF/UDS
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	En poste
4	NKENGFAK Augustin Ephreïm	Professeur	Chef de Département
5	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur/UN</i>
6	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP</i>
7	WANDJI Jean	Professeur	En poste

8	MBAZOA née DJAMA Céline	Professeur	En poste
9	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>DEPE/ Rectorat/UII</i>
10	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	<i>Chef Service DPER</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
13	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
14	KEUMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
15	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	Chef Service/MINESUP
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	Sous/Direct. MINERESI
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	En poste
20	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
21	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
22	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
23	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
24	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
25	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
26	MVOT AKAK CARINE	Maître de Conférences	En poste
27	KAMTO Eutrope Le Doux	Chargé de Cours	En poste
28	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
29	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
30	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
31	SIELINOU TEDJING Maurice	Chargée de Cours	En poste
32	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
33	ZONDENDEGOUNBA Ernestine	Chargée de Cours	En poste
34	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
35	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6 - DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (26)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>
3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
4	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	En poste

5	DJAM Xaviera YOUHEP KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
6	EBELE Serge	Chargé de Cours	En Poste
7	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste
8	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
9	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
10	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
11	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
12	KAMGUEU Patrick Olivier	Chargé de Cours	En poste
13	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
14	OLLE OLLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	C/D Enset. Ebolowa
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
18	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
19	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
20	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
21	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
22	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
23	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistante	En poste
23	MAKEMBE. S. Oswald	Assistant	En poste
24	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
25	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
26	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste
7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (30)			
1	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>CD Info/ Chef division MINESUP</i>
2	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	Chef de Département
3	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
4	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	Directeur/AIMS Rwanda
7	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
8	TAKAM SOH Patrice	Maître de Conférences	En poste

9	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste
10	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	Chef Cellule MINPLAMAT
11	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
12	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
13	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
14	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
15	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
16	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
17	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
18	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUNKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
24	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargée de Cours	En poste
25	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste
26	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistant	En poste
28	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
29	MEPENZA NOUNTU TIERY	Assistant	En poste
30	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste

8 - DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (18)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	DRV/IMPM
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	En poste
3	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
4	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
5	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
6	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
7	ASSAM ASSAM Jean Paul	Chargé de Cours	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste

10	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste
13	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
14	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
15	MEYIM A EBONG Solange	Assistante	En poste
16	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
17	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
18	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9 - DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (40)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
3	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
4	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
5	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
6	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
7	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	<i>Sous Directeur/ MINRESI</i>
8	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
9	TABOD Charles TABOD	Professeur	Doyen Univ/Bda
10	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
11	WOAFO Paul	Professeur	En poste
12	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
13	NANA NDENDJO Blaise Roméo	Professeur	En poste
14	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste
15	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	DG/HYDRO Mekin
16	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
17	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Division. UN</i>
18	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
19	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
20	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
21	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
22	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
23	SAIDOU	Maître de Conférences	MINRESI

24	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
25	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
26	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
27	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Sous Directeur/ MINESUP</i>
28	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
29	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
32	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	Chef Cell. MINADER
33	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
34	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
35	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
36	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>DA/Univ Inter Etat/Sangmalima</i>
37	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste
38	CHAMANI Roméo	Chargée de Cours	En poste
49	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
40	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste
10 - DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (42)			
1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	KAMGANG Pierre	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	Chef de Département
5	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
6	NGOS III Simon	Professeur	DAAC/Uma
7	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
8	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
9	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
10	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/UMa
11	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
12	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	<i>CEA/MINRESI</i>
13	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
14	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	En poste

15	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
16	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
17	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
18	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>
23	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
24	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
25	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
26	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
27	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
28	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
29	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
30	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
31	MBESSE CECILE OLIVE	Chargée de Cours	En poste
32	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
33	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
34	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	<i>CD/Uma</i>
35	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
36	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste
37	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
38	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
39	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
40	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste
41	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
42	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

DEDICACE

- *A ma mère DEMANOU Marceline Virginie*
- *A ma fille CHOUAMENI NGANDEU Francette Olivia*

En reconnaissance à votre amour inconditionnel et votre soutien pour la réalisation de cette thèse.

REMERCIEMENTS

Je rends grâce à Dieu qui m'a guidé et m'a conduit durant cette thèse.

Ce travail n'aurait pu se faire sans les collaborations établies au cours de cette thèse.

Je tiens à remercier :

- Professeur YOUMBI Emmanuel, Chef de Département de Biologie et Physiologie Végétales pour ses remarques, son assistance et pour les partages de connaissances scientifiques ;
- ceux qui m'ont confié ce sujet et qui l'ont guidé : Les professeurs NIEMENAK Nicolas, Christian CILAS et Docteur MOUEN BEDIMO Joseph A., je tiens par ces quelques mots à leur témoigner ma sincère reconnaissance pour leur disponibilité, leur investissement et leur encouragement bienveillants ;
- Docteur Fabienne RIBEYRE, pour votre accueil au Département des Bioagressions du CIRAD Montpellier et votre suivi dans la réalisation de cette thèse ;
- Mrs. AMOUGOU MBARGA MANGA, SOUGA AMOUGOU Romuald, pour leur implication et les précieux coups de main qu'ils m'ont apportés au cours des travaux de terrain et de laboratoire respectivement. Je tiens à remercier mes compagnons de route : Mr TEGNIKEU Fidel, Mr LEKEBOU Victor, KAPCHIER Beaudelaire, pour leur soutien et leur collaboration ;
- Patric DESPLACE, le fondateur de la plantation (les frères du Noun), à Mr GOUCHEMI ADAMOU son superviseur, de nous avoir permis de mener une partie de ce travail dans ladite plantation, pour leur soutien financier et pour tous leur collaboration ;
- le personnel du projet Fond des filières Café et Cacao du Ministère de la Recherche Scientifique et de l'Innovation (FODECC/MINRESI) de l'unité d'exécution de Foubot pour leur accompagnement durant la phase pratique de cette thèse. Ce fut une période de dur labeur pour nous. Que le chef d'unité d'exécution du projet de l'IRAD de Foubot (Mr NGUEGUIM Martin), le chef de station IRAD de Foubot (Mr NTCHOUTJI Ibrahim), trouvent ici l'expression de ma reconnaissance pour avoir été à l'écoute de mes multiples difficultés et pour leurs encouragements ;
- Mr KEMULAH John de Santa et ses collègues, pour leur implication dans les observations épidémiologiques.

Cette thèse a bénéficié de l'appui de plusieurs institutions. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux responsables de chacune de ces institutions :

- L'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD) à travers le Budget d'Investissement Public (BIP) des cultures pérennes ;
- Docteur KUATE Jean (coordonnateur scientifique des cultures pérennes) ;

- Le Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) à travers l'Action Incitative (Appui aux doctorants du Sud) ;

- Dr Fabienne RIBEYRE pour l'organisation et l'analyse des données, ainsi que tous les membres du département des Bio - agrisseurs pour leur hospitalité et pour tous les échanges que nous avons eu durant mes deux stages académiques dans ledit département ;

- La Humboldt foundation (www.humboldt-foundation.de) pour son appui financier et logistique ; pour les analyses biochimiques au Biozentrum Klein Flottbek, Université de Hamburg.

Mes remerciements s'adressent également :

- Aux membres du laboratoire de phytopathologie de l'IRAD de Nkolbisson pour leur collaboration ;

- Aux Membres du laboratoire de Biochimie et de Physiologie Végétales de l'ENS : Pr OMOKOLO NDOUMOU Denis, qui m'a accueilli dans son laboratoire ;

- tous les enseignants du Département de Biologies et Physiologie Végétales pour la formation reçue ;

- Pr FOTSO, Pr MBOUOPDA Hermann, Pr EFFA, Dr SANONNE, Pr ONDOLO, Dr SIMO, Dr NEHEMIE, Dr MEGUEKAM Liliane, pour leurs encouragements à la réalisation de ce travail ;

- mes aînés du laboratoire de Biochimie et de Physiologie Végétales de l'ENS: Dr NOAH Alexandre, Dr NGO NGWE Sandrine, Dr NZWEUNDJI Justine Germe, Dr FOTSO Beaulys, Dr EYAMO Jos, Dr MANGA Jude, Dr DJEUANI Astride Carole, Dr DJABOU Astride, Dr TCHOUATCHEU Audrey, GWAN Elvis, pour leurs multiples conseils ;

- tous mes camarades du Laboratoire de Biochimie et de Physiologie Végétales de l'ENS: MBARGA Simon, NGAHA Eric, NOUMI Christelle, AKITIO Olive, Tchouga Alvine, pour leur assistance conviviale.

Je tiens à adresser mes chaleureux remerciements à tous mes proches :

- Mr ZOGNIN Abel, Mr KOUMS Martin, Mme EYANGO Marie Claire, Mr NKEZE Charles, Dr LIBALAH Moses, Dr MONO TAKOUDJOU Stéphane, pour leur amitié et soutien ;

- Mr COUDOU SOULEMANOU de la Côte d'Ivoire pour les échanges sympathiques qui ont jalonné mes deux stages académiques au CIRAD ;

- mes parents qui m'ont toujours écouté et soutenu. Un remerciement particulier à ma maman Demanou Marceline Virginie, pour ses conseils, son affection et pour avoir pris soin de ma fille pendant toutes ces années d'étude ;

- ma grande sœur NOUBISSIE Chanceline Flore, Mon petit frère KAMENI Bénisert, pour leur soutien et leur encouragement;

- Mes frères et sœurs TCHOLOM Daniel, NGASSI Julienne, ENTHIEU Flore, la famille PATIPE Dieudonné, la famille LADJE Benjamin, ma marraine KAMENI Marceline, Maman NGOUANBE Née DJEUKAM, mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines, pour leur soutien moral et matériel ;

- Dr NOUMBISSIE TOUKO Guy Blaise, pour son affection, son amour et ses encouragements, pour avoir égayé ma thèse de moment de bonheur et pour la lecture du manuscrit ;

- mes camarades de promotion dont la convivialité m'a permis de braver beaucoup d'épreuves ;

Que toutes celles et tous ceux que je n'ai pas cités ici et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici mon profond remerciement.

SOMMAIRE

LISTE PROTOCOLAIRE	i
DEDICACE	xiii
REMERCIEMENTS	xiv
SOMMAIRE	xvii
LISTE DES FIGURES	xix
LISTE DES TABLEAUX	xxi
LISTE DES ABBREVIATIONS	xxiii
RESUME	xxiv
ABSTRACT	xxvi
INTRODUCTION	1
Chapitre I. REVUE DE LA LITTERATURE	3
I.1. Généralités sur les caféiers	3
I.1.1. Origine et distribution du caféier Arabica dans le monde	3
I.1.2. Production du café dans le monde	4
I.1.3. Taxonomie et diversité	8
I.1.4. Ecologie et biologie du caféier	9
I.1.5. Culture du caféier	13
I.1.6. Importances du café	14
I.2. Contraintes liées à la caféiculture	16
I.2.1. Ravageurs	16
I.2.2. Maladies cryptogamiques	17
I.2.3. Généralités sur <i>Colletotrichum kahawae</i>	20
I.2.4. Méthodes de lutte contre l'antracnose des baies	25
I.2.5. Rôles des métabolites primaires (acides aminés, les sucres) et secondaires (les polyphénols et les alcaloïdes) dans la plante	26
I.2.6. Influence de facteurs environnementaux (altitude, type d'ombrage) sur les métabolismes du café.	32
Chapitre II. Matériel et méthodes	34
II.1. Matériel	34
II.1.1. Sites d'étude	34
II.1.2. Matériel végétal	35
II.1.3. Matériel fongique	37
II.2. Méthodes	37

II.2.1. Evaluation de l'influence des facteurs environnementaux sur l'épidémiologie de l'antracnose des baies du caféier <i>in situ</i>	37
II.2.2. Evaluation de l'influence des situations culturales, du génotype et des stades ontologiques des baies sur le profil des métabolites primaires et secondaires	39
II.2.3. Evaluation de la teneur en sucres solubles des baies infectées <i>in vitro</i> chez les caféiers soumis à différents modes d'éclairement <i>in situ</i>	41
II.2.4. Évaluation de l'effet des fongicides et la position des baies par rapport aux niveaux des branches sur l'antracnose des baies	43
II.2.5. Analyses statistiques	46
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION	49
III.1. Resultats	49
III.1.1. Influence de la variété, de l'altitude et du type d'ombrage sur l'antracnose des baies par année	49
III.1.2. Influence des différentes situations culturales du caféier et des stades phénologiques des baies sur l'accumulation des acides aminés et des métabolites secondaires dans les baies vertes	54
III.1.3. Développement de l'antracnose sur des baies inoculées <i>in vitro</i>	68
III.1.4. Effet des fongicides, de la position des baies par rapport au niveau de branches de caféier et des paramètres climatiques sur le développement de l'antracnose des baies en milieu paysan dans les conditions naturelles	72
III.2. Discussion	87
III.2.1. Effet de l'altitude et de l'ombrage du caféier sur l'antracnose des baies	87
III.2.2. Effet de l'altitude et de l'ombrage sur l'accumulation des acides aminés des baies	88
III.2.3. Effet de l'altitude et de l'ombrage sur l'accumulation des métabolites secondaires des baies	90
III.2.4. Variation de la teneur en sucres solubles au cours de l'infection des baies <i>in vitro</i>	92
III.2.5. Effet des fongicides et de la position des baies par rapport au niveau de branches de caféier sur l'antracnose des baies en milieu réel	93
Chapitre IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	96
IV.1. Conclusion	99
IV 2. Perspectives	101
BIBLIOGRAPHIE	102
ANNEXES	120
Publication issue de la thèse	128

LISTE DES FIGURES

Fig. 1. Zones de production caféière au Cameroun.....	7
Fig. 2. Morphologie du caféier.....	12
Fig. 3. Etapes de développement des baies.....	12
Fig. 4. Coupe longitudinale d'un fruit de caféier.....	13
Fig. 5. Symptômes de l'antracnose des baies.....	20
Fig. 6. Conidiophore de <i>C. kahawae</i>	21
Fig. 7. Cycle de développement simplifié de <i>Colletotrichum kahawae</i>	24
Fig. 8. Principales voies de biosynthèse des composés secondaires chez les plantes supérieures.	28
Fig. 9. Localisation du site d'étude de Foubot.....	34
Fig. 10. Localisation du site d'étude de Santa.	35
Fig. 11. Localisation du site d'étude de Kouoptamo.....	35
Fig. 12. Matériel végétal	36
Fig. 13. Matériel fongique	37
Fig. 14. Dispositif expérimental parcellaire.....	38
Fig. 15. Baies infectées marquées à l'aide d'un vernis de couleur blanche	39
Fig. 16. Baies inoculées réparties dans les boîtes de Pétri.....	42
Fig. 17. Plantation expérimentale de Kouoptamo	44
Fig. 18. Dispositif expérimental de Kouoptamo.	44
Fig. 19. Effet de l'interaction entre le nombre initial de baies sur les branches de caféiers de la variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) et l'infection en 2016.....	50
Fig. 20. Comparaison du nombre de nouvelles baies malades à différents stades de développement en fonction de la variété et de l'année : variétés Java et Caturra cultivées à Foubot (1100 m d'altitude)	51
Fig. 21. Comparaison du nombre de nouvelles baies infectées en fonction de l'altitude (variété Java cultivée à 1100 m d'altitude et à 1800 m d'altitude)	51
Fig. 22. Comparaison du pourcentage instantané de nouvelles baies infectées en fonction de l'altitude, de la variété, du type d'éclairément et de l'âge des baies en 2016.	53
Fig. 23. Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des acides aminés des baies de la variété Java sous ombrage cultivée à 1800 m d'altitude	55
Fig. 24. Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des acides aminés des baies de la variété Java plein soleil située à 1800 m d'altitude.....	56
Fig. 25. Analyse en composantes principales des acides aminés incluant les variétés Java et Caturra cultivées à Foubot et Java cultivée à Santa.....	61
Fig. 26. Dynamique des acides aminés en fonction de la variété et de l'âge des baies.....	62
Fig. 27. Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des métabolites secondaires des baies de <i>C. arabica</i> sous ombrage.....	63
Fig. 28. Chromatogrammes RI-HPLC des extraits des métabolites secondaires des baies du caféier Arabica exposé en plein soleil	64

Fig. 29. Dynamique des métabolites secondaires en fonction de la variété et l'âge des baies	67
Fig. 30. Baies infectées 10 jours après l'inoculation.....	68
Fig. 31. Moyennes du niveau d'infection des baies <i>in vitro</i> en fonction du temps (en jour)	70
Fig. 32. Comparaison de la teneur en glucose des variétés Java et Caturra dans les baies immatures du caféier Arabica en fonction du type d'éclairage (A) et de traitements	72
Fig. 33. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de branches portant des baies infectées en fonction du niveau de branche du caféier	74
Fig. 34. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de branches portant des baies infectées en fonction du traitement appliqué au caféier.....	74
Fig. 35. Moyenne marginale estimée pour la proportion des fruits attaqués en fonction du niveau de branches	75
Fig. 36. Moyenne marginale estimée pour la proportion de baies infectées en fonction du traitement appliqué aux caféiers.	76
Fig. 37. Proportion de chutes de fruits en fonction de la proportion des baies infectées et de l'état de la branche (portant les baies infectées ou saines) et de l'arbre (malade ou apparemment saint).....	77
Fig. 38. Moyenne marginale estimée (MME) de la proportion de chute des fruits en fonction du niveau de branches du caféier.....	77
Fig. 39. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de chute des fruits due à l'anthracnose des baies en fonction de l'état de la branche.	78
Fig. 40. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de chute des fruits en fonction du traitement dans le caféier.....	79
Fig. 41. Histogramme du poids frais des baies mûres récoltées par caféier pour chaque année. ...	80
Fig. 42. Corrélogramme du nombre de jours de pluies (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers traités avec l'Azoxystrobine - Kouoptamo 2016.....	82
Fig. 43. Corrélogramme du nombre de jours de pluie (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers témoins (non traités) - Kouoptamo 2016	83
Fig. 44. Corrélogramme du nombre de jours de pluie (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers traités avec l'Azoxystrobine- Kouoptamo 2017.....	84
Fig. 45. Corrélogramme du nombre de jours de pluie (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers témoins (non traités) - Kouoptamo 2017	85
Fig. 46. Pourcentage instantané de nouvelles baies infectées en fonction des maximums et minimums hebdomadaires de température, des quantités de pluie, du nombre de jours de pluie et l'âge des baies.	86

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Volume de production de café des principaux pays producteurs au niveau mondial entre 2013 et 2017.....	5
Tableau II : Production commercialisée du café (en milliers de sacs de 60 kilogrammes) et le volume du Cameroun dans la production mondiale et Africaine.	6
Tableau III : Classification du caféier Arabica.	9
Tableau IV. Comparaison de la composition chimique du <i>C. arabica</i> et <i>C. canephora</i> (torréfiés)	16
Tableau V. Les polyphénols des végétaux.....	32
Tableau VI. Protocole de traitements fongicides.	45
Tableau VII. Analyse de variance du nombre de nouvelles baies malades des variétés Java et Caturra cultivées à Foubot (1100 m d'altitude) et la variété Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude).....	49
Tableau VIII. Acides aminés identifiés sur les baies vertes de caféiers Arabica avec le temps de rétention.....	54
Tableau IX. Profil des acides aminés libres (mg/kg msd) dans les baies des caféiers situés à 1100 m d'altitude (Foubot) sous-ombrage et en plein soleil	58
Tableau X. Profil des acides aminés libres (mg/kg msd) dans les baies de la variété Java Santa (1800 m d'altitude et Java Foubot (1100 m d'altitude), sous ombrage et en plein soleil.	59
Tableau XI. Profil des métabolites secondaires (mg/kg msd) dans les baies des caféiers Java et Caturra cultivés à Foubot.	65
Tableau XII. Profil des métabolites secondaires (mg/kg msd) dans les baies des caféiers cultivés à Foubot et à Santa.....	65
Tableau XIII. Analyse de variance du taux d'infection <i>in vitro</i>	68
Tableau XIV. Moyennes du niveau d'infection à l'antracnose des baies en fonction de la variété, de l'âge des baies et du type d'ombrage.	69
Tableau XV. Analyse de variance de la teneur en glucose dans les baies du caféier Arabica	71
Tableau XVI. Moyennes annuelles des baies sur les branches de caféier en fonction de leur état et l'état des autres branches observées sur le même arbre.....	73

Tableau XVII. Coefficient de corrélation optimum en fonction des semaines de décalage entre le taux des baies nouvellement infectées et les paramètres climatiques - Kouoptamo 2016 et 2017.....	81
--	----

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN :	Acide désoxyribonucléique
CIRAD :	Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement
CBD	Coffee Berry Disease
EC	Emulsifiable concentré
Ffdm/msd	Fat free dry material/ Matière sèche délipidée
GABA :	gamma aminobutyrique acid/ acide gamma aminobutyrique
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry
IRAD :	Institut de Recherche Agricole pour le Développement
JC :	Jésus Christ
MeOH :	Méthanol (CH ₃ OH)
MME	Moyenne marginale estimée
MS :	Mass spectrometry ; spectrométrie de masse
OIC :	Organisation International du Café
ONCC/NCCB :	Office National du Cacao et du Café / National Cacao and Coffee BOARD of Cameroun
PDA :	Potato Agar Dextrose
PIB :	Produit Intérieur Brut
pH	Potentiel d'hydrogène
RP – HPLC:	Reverse Phase – High Performance Liquid Chromatography
RI – HPLC:	Refractive Index detector - High Performance Liquid Chromatography
SAF/ WAF	Semaine après floraison/ week after florewing
SC :	Suspension concentrée
UCCAO :	Union central des coopératives agricoles de l'Ouest Cameroun
UV :	Ultraviolet
WP :	Wetable powder/ poudre mouillable

RESUME

Le caféier (*Coffea arabica* L.) est cultivé pour ses grains qui constituent la matière première la plus commercialisée à travers le monde après le pétrole. Le café Arabica est apprécié pour sa faible teneur en caféine et son arôme. Malgré sa forte production (65 % de la production mondiale du café), le caféier Arabica fait face à plusieurs contraintes parmi lesquelles l'antracnose des baies représente la majeure dans les zones de production. La maladie se manifeste par la présence des taches nécrotiques noires apparaissant à la surface des baies. De nos jours, les molécules biochimiques et les probables interactions entre ces biomolécules impliquées dans l'infection des baies ne sont pas très bien élucidées. L'objectif de la présente thèse est d'évaluer l'effet des différentes situations culturales des caféiers et des stades phénologiques des baies sur la dynamique de l'antracnose et les événements biochimiques associés au développement des baies.

Les expérimentations ont été menées dans les plantations expérimentales, à 1100 m d'altitude (Foumbot), 1800 m d'altitude (Santa) et en milieu paysan à 1200 m d'altitude (Kouoptamo) pendant deux ans (2016 et 2017). La plantation expérimentale de Foumbot était constituée des variétés Java (tolérante) et Caturra (sensible), tandis que celles de Santa et Kouoptamo étaient constituées uniquement de la variété Java. Cette dernière étant la seule variété homologuée. Trente-deux (32) caféiers de chacune des deux variétés ont été utilisés à Foumbot et à Santa. La moitié des caféiers (16) était sous ombrage artificiel arbre par arbre et l'autre moitié était exposée en plein soleil. Les observations hebdomadaires ont été effectuées entre la 6^{ème} et la 27^{ème} semaine après la floraison (SAF) sur trois branches de caféier disposées à la partie haute, médiane et basse de chacun des caféiers étudiés. Les acides aminés libres et les métabolites secondaires des baies prélevées chaque deux semaines, entre la 8^{ème} et la 16^{ème} SAF de chaque variété par aire culturale ont été analysés par chromatographie liquide. Cette même méthode a été utilisée pour l'analyse des sucres solubles des baies inoculées *in vitro* prélevées à la 22^{ème} et à la 25^{ème} SAF sous différents modes d'éclaircissements *in situ*. De plus, l'effet des fongicides nommés Propiconazole, Diféconazole, Chlorotalonil/Carbendazime et Azoxystrobine était évalué sur la propagation de l'antracnose en milieu paysan dans les conditions naturelles.

Les résultats ont montré à 1100 m d'altitude un taux d'infection de 0,72 et 1,44 pour la variété Java ; 8,28 et 16,78 % pour la variété Caturra, respectivement sous ombrage et en plein soleil. A 1800 m d'altitude, où il y'avait seulement la variété Java, le taux d'infection était respectivement 8,28 et 36,78 % sous ombrage et en plein soleil. L'ombrage a atténué de façon significative l'infection des baies à l'antracnose.

L'analyse chromatographique a permis d'identifier 14 acides aminés libres et un acide aminé non protéique, l'acide γ -aminobutyrique (GABA) dans les baies des deux variétés. La

teneur élevée en acides aminés acides a été obtenue des baies de la variété Caturra sous ombrage artificiel, l'asparagine étant l'acide aminé dominant ($19,32 \pm 2,98$ g/kg matière sèche délipidée/msd). La plus faible teneur d'acide aminé libre a été obtenue des baies de la variété Java en plein soleil avec l'aspartate comme l'acide aminé faiblement représenté ($0,36 \pm 0,04$ g/kg msd). Pour ce qui concerne les acides aminés hydrophobes, une forte teneur en tyrosine a été observée dans les baies de la variété Java indépendamment du type d'ombrage. De plus, parmi les autres acides aminés identifiés, une teneur élevée en GABA a été mesurée dans les baies de la variété Java cultivée à 1100 m d'altitude. Contrairement à tous les autres acides aminés identifiés dans les baies, la lysine, la tyrosine, l'arginine et le tryptophane ont montré des teneurs élevées entre la 8^{ème} et la 10^{ème} SAF qui correspond au début de la phase d'expansion des baies où les infections sont à de niveaux faibles. A 1800 m d'altitude, les acides aminés hydrophobes tels que valine, leucine, isoleucine et phénylalanine ont montré de fortes teneurs dans les baies de la variété Java. En somme, l'asparagine, l'aspartate et le glutamate interviendraient dans le métabolisme et le développement des baies. Cependant, la phénylalanine, la tyrosine, le GABA, la lysine, l'arginine et le tryptophane interviendraient dans la réponse des baies aux stress. De même la valine, leucine, l'isoleucine et la glycine seraient des molécules de signalisation en réponse aux stress.

Ces analyses ont également permis d'identifier l'acide chlorogénique, l'épicatéchine et la caféine comme principaux composés secondaires des baies vertes. Les teneurs élevées ont été observées avec les baies de la variété Caturra exposée en plein soleil de $7,66 \pm 2,10$ g/kg msd d'acides chlorogénique et $0,68 \pm 0,38$ g/kg msd d'épicatéchine. Les plus faibles teneurs ont été obtenues dans les baies de la variété Java sous ombrage de $5,56 \pm 0,38$ g/kg msd d'acide chlorogénique et $0,12 \pm 0,08$ g/kg msd d'épicatéchine. L'acide chlorogénique et la caféine seraient des déterminants constitutifs importants pour la protection des baies à l'antracnose et au stress abiotique.

L'analyse des sucres solubles a révélé que le glucose est le sucre soluble accumulé dans les baies 10 jours après inoculation avec l'isolat purifié de *Colletotrichum kahawae in vitro*. La variété Java exposée en plein soleil a présenté une teneur en glucose 4 fois plus élevée que celle observée avec les baies de la variété Caturra sous ombrage.

L'évaluation de l'effet des fongicides sur l'antracnose des baies a montré que l'azoxystrobine a un effet inhibiteur hautement significatif sur le développement de la maladie. Ceci est un premier rapport sur l'utilisation de l'Azoxystrobine contre l'antracnose et peut ouvrir de nouvelles perspectives pour optimiser le contrôle efficace dans les plantations de caféier.

Mots clés : *Coffea arabica*, *Colletotrichum kahawae*, métabolites, altitude, type d'ombrage.

ABSTRACT

The coffee tree (*Coffea arabica* L.) is cultivated for its seeds which constitute the most traded raw material worldwide after oil. Arabica coffee is the most popular for its low caffeine content and aroma. Despite its very high production (65 % of world production), the Arabica coffee tree still faces several constraints, including the anthracnose of the berries, which represents the most important in the production areas in Africa. The disease is manifested by the presence of black necrotic spots appearing on the surface of the berries. Nowadays, the biochemical molecules and the likely interactions between these biomolecules involved in the establishment of the disease are not very well understood. The objective of this thesis is to evaluate the effect of different cultural situations of coffee trees and development stages of berries on the evolution of coffee berry disease and on the accumulation of primary and secondary metabolites in developing berries.

The experiments were carried out in the experimental plantations, at 1100 altitude meters (Foumbot), 1800 altitude meters (Santa) and in a peasant farm at 1200 altitude meters (Kouoptamo) for two years (2016 and 2017). The Foumbot experimental plantation consisted of the Java (tolerant) and Caturra (susceptible) varieties, while those of Santa and Kouoptamo consisted only of the Java variety. Thirty-two (32) coffee trees of each of the two varieties were used in this study. Half of the coffee trees (16) were under artificial shade tree by tree and the other half was located in full sun. Weekly observations were carried out between the 6th and the 27th week after flowering (WAF) on three branches coffee tree arranged in the upper, middle and lower part of each of the coffee trees studied. The amino acids and secondary metabolites of the berries collected each after two weeks between the 8th and 16th WAF of each variety by crop area were analyzed by liquid chromatography. This same method was used for the analysis of soluble sugars in inoculated berries *in vitro* collected at the 22nd and 25th WAF under different lighting modes *in situ*. Moreover, the effect of the fungicides named propiconazol, difeconazol, chlorotalonil/carbendazim and azoxystrobin on the spread of anthracnose in berries was evaluated in a peasant farm in natural conditions in Kouoptamo on 640 coffee trees distributed in an experimental set-up in five completely Randomized blocks.

The results showed an infection rate of 0.72 % and 1.44 % for the Java variety; 8.28 and 16.78 for the Caturra variety at 1100 altitude meters under artificial shade and full sunlight, respectively. At 1800 altitude meters where there was only the Java variety, the infection rate was 8.28 % and 36.78 % on trees under artificial shade and those exposed to the full sunlight, respectively. Shading significantly reduce coffee berry disease incidence.

Chromatographic analysis identified 14 free amino acids and a non-proteinogenic amino acid, γ -aminobutyric acid (GABA) in berries of both varieties. The high content of acidic amino

acids was obtained in the Caturra variety from berries taken under artificial shading, asparagine being the dominant amino acid (19.32 ± 2.98 g/kg fat free dry material /ffdm). The lowest content was obtained in the Java variety of berries taken in full sunlight and aspartate as a weakly represented amino acid (0.36 ± 0.04 g/kg ffdm). As regards hydrophobic amino acids, high tyrosine content was observed in the Java variety regardless of the type of shading. In addition, among the other identified amino acids, a high content of GABA has been observed in the Java variety. Unlike all the other amino acids identified in berries, lysine and tyrosine showed high levels between the 8th and 10th WAF. This is the start of the berry expansion phase where the first symptoms of the disease are seen on the berries. At 1800 altitude meters, hydrophobic amino acids such as valine, leucine, isoleucine and phenylalanine showed high levels in the berries of the Java variety. In short, asparagine, aspartate and glutamate are believed to be involved in the metabolism and development of coffee berries. However, phenylalanine, tyrosine, GABA, lysine, arginine and tryptophan are thought to be involved in the berry's response to stress. The same, valine, leucine isoleucine and glycine are thought to be signaling molecules in response to stress.

Analysis of secondary metabolites identified chlorogenic acid, epicatechin and caffeine as the major secondary compounds of developing green berries. High levels were observed in berries of the Caturra variety, from coffee trees exposed to full sunlight, 7.66 ± 2.11 g/kg ffdm of chlorogenic acid and 0.68 ± 0.38 g/kg ffdm of epicatechin. While the lowest levels were obtained in the berries of the Java variety located under artificial shade, 5.56 ± 0.89 g/kg ffdm of chlorogenic acid and 0.12 ± 0.08 g/kg ffdm of epicatechin. Chlorogenic acid and caffeine could be constitutive determinants for the protection of berries against biotic and abiotic stress.

Analysis of the sugar contents revealed that glucose is the soluble sugar accumulated in berries after inoculation with the purified isolate of *Colletotrichum kahawae*. The berries of the full sunlight Java variety exhibited a 4 times higher glucose content than that observed on the Caturra variety under shade.

The evaluation of the effect of fungicides on coffee berry disease showed that azoxystrobin has a highly significant inhibitory effect on coffee berry disease. This is the first report of the use of azoxystrobin against coffee berry disease and can open a new perspective in to optimize effective control of disease in Arabica coffee plantations.

Keywords: *Coffea arabica*, *Colletotrichum kahawae*, metabolites, altitude, shade type

INTRODUCTION

Le caféier est une plante pérenne appartenant à la famille des Rubiacées (Charrier and Berthaut, 1987) ; Muller, 1980). Parmi plus de cent espèces connues de nos jours, seules deux cultivées dans le monde ont un intérêt agricole pour la production du café (Muller, 1980). Il s'agit de *Coffea arabica* L. et *Coffea canephora* P. Ces deux espèces représentent respectivement environ 65 % et 35 % de la production mondiale (Bertrand et al., 2012). Les grains de caféier occupent la deuxième place dans le commerce international après le pétrole (Anonyme, 2007). Originaire des hauts plateaux du Sud-Ouest de l'Ethiopie (Labouisse et Adolphe, 2012), le café Arabica est très apprécié pour sa faible teneur en caféine et son arôme (Charrier et Eskes, 2004). La plupart des exploitations sont mises en valeur par une main d'œuvre essentiellement familiale (Bertrand et al., 2012). Au Cameroun, la culture du café contribue à la création de la valeur ajoutée de l'économie et au produit intérieur brut national (Commelin, 2001). Le secteur café camerounais emploie environ 423 000 ménages, soit près de 2 961 000 personnes (Anonyme, 2017a). Entre 2017 et 2018, la production mondiale du café a connu une légère augmentation passant de 157,69 millions de sacs de 60 kg en 2017 à 158,93 millions de sacs de 60 kg en 2018 (Anonyme, 2018).

La production camerounaise reste très erratique avec une nette tendance en dent de scie. Le volume commercialisé est passé de 439 000 sacs en 2011 à 409 000 sacs en 2016 (Anonyme, 2017a) et 421 916 sacs en 2018 (Anonyme, 2018). Cette tendance en dent de scies de la production caféière camerounaise est due à plusieurs contraintes notamment un potentiel de rendement faible, le vieillissement des plantations, des pratiques culturales inappropriées, les maladies et les ravageurs de cultures. Parmi ces contraintes, l'anthracnose des baies causée par *Colletotrichum kahawae* (Waller et al., 1993) est un facteur majeur de la réduction de rendements des plantations. *C. kahawae* est un champignon ubiquiste qui affecte les baies vertes dans les zones où la température, l'humidité relative et la précipitation sont favorables à son développement (Nicholson, 1992 ; Mouen Bédimo et al., 2008 ; Gadisa et al., 2016). Au Cameroun, les pertes de récoltes dues à l'anthracnose des baies sont de l'ordre de 80 % de la production dans les zones localisées à 1800 m d'altitude (Bieysse et al., 2002 ; Mouen Bedimo et al., 2008). Le développement de l'anthracnose des baies du caféier Arabica est dépendant de l'altitude (Bieysse et al., 2002 ; Garedew et al., 2017), du nombre initial des baies produites par branche, de la fertilisation (Vaast et al., 2005 ; Zuru et al., 2009), de l'association des arbres d'ombrage tels que les bananiers, les arbres fruitiers et les légumineuses (Phiri et al., 2001 ; Mouen Bedimo et al., 2007a, 2012b ; Motisi et al., 2019), du microclimat dans les caféières (Vaast et al., 2006 ; Avelino et al., 2007 ; Lòpez-Bravo et al., 2012).

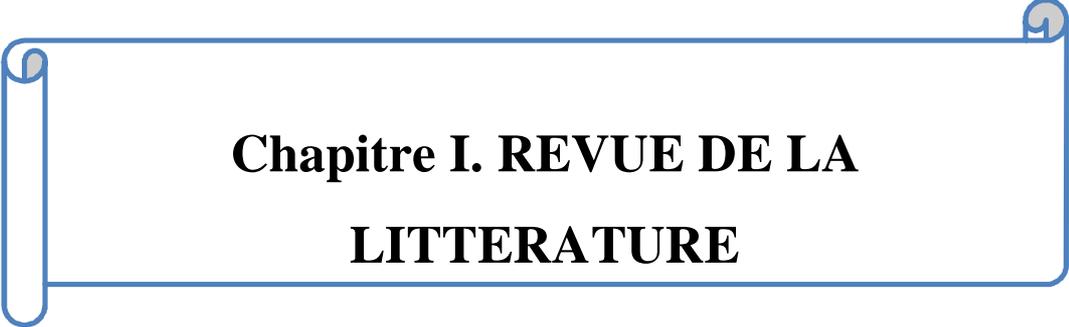
Plusieurs méthodes de contrôle ont été développées pour lutter contre l'anthracnose des baies. Parmi ces méthodes il y'a la lutte génétique qui a permis de mettre à la disposition des producteurs la variété Java au Cameroun (Bouharmont, 1992) et la Ruiru 11 au Kenya (Van Der Vossen and

Walyaro, 1980). Malgré son aptitude à la régénération, sa forte productivité, et sa robustesse, la variété Java présente une sensibilité à *C. kahawae* en altitudes élevées (Mouen Bedimo, 2006). Au Cameroun la méthode d'irrigation qui consiste à induire la floraison des arbres pendant la saison sèche a permis de réduire considérablement l'incidence de l'antracnose des baies (Muller, 1980). La méthode de la récolte sanitaire a permis de réduire des sources d'inoculum primaire susceptibles de contaminer les baies à la campagne suivante (Masaba and Waller, 1992 ; Hillocks et al., 1999). Par ailleurs l'utilisation de certains fongicides tels que le Mancozeb, le Propiconazole, le Chlorothalonil/Carbendazime (Regazzoni et al., 1997 ; Garedew et al., 2017 ; Mercelo et al., 2019) a montré non seulement une action limitée à long terme sur la propagation de la maladie mais aussi un impact significatif et négatif qui augmente le coût de production allant jusqu'à 30 % à cause du nombre élevé de traitements par campagne (Masaba and Waller, 1992 ; Me Dowel and Woolfenden, 2003). On s'est alors posé les questions suivantes : i) les métabolites primaires et secondaires n'auront-ils pas un effet sur l'établissement de l'antracnose des baies du caféier Arabica ? ii) si oui comment le microenvironnement du caféier influe sur l'accumulation des différents métabolites dans les baies ? iii) comment les teneurs en sucres solubles des baies varient en fonction de la variété, des facteurs environnementaux et l'agent pathogène ? iv) quelle méthode de lutte permettrait un contrôle durable et à court terme contre l'antracnose des baies ? Pour répondre à ces questions, plusieurs hypothèses ont été émises : i) la susceptibilité des baies de *Coffea arabica* vis-à-vis de *Colletotrichum kahawae* serait contrôlée par certains métabolites primaires (acides aminés) et secondaires (composés phénoliques, alcaloïdes) ; Les différentes situations culturales du caféier et les stades de développement des baies auraient une influence sur l'accumulation des métabolites dans les baies ; l'infection des baies à l'antracnose aurait une influence sur la variation de la teneur en sucres solubles des baies ; iii) une lutte intégrée par l'association d'un fongicide approprié permettrait de réduire à court terme les pertes de récolte causées par l'antracnose des baies et d'augmenter significativement la productivité du caféier Arabica.

L'objectif général de la présente thèse est d'évaluer l'effet des différentes situations culturales des caféiers et des stades phénologiques des baies sur la dynamique de l'antracnose et les événements biochimiques associés au développement des baies.

Plus spécifiquement il s'agit de :

- ✓ mettre en évidence l'effet des différentes situations culturales du caféier et des stades de développement des baies sur l'épidémiologie de l'antracnose;
- ✓ évaluer l'influence des situations culturales du caféier et des stades de développement des baies sur leur profil en métabolites primaires et secondaires;
- ✓ évaluer la variation de la teneur en sucres solubles dans les baies inoculées *in vitro* ;
- ✓ évaluer l'effet des fongicides et la position des baies par branches de caféiers sur l'antracnose en milieu paysan dans les conditions naturelles.



**Chapitre I. REVUE DE LA
LITTERATURE**

I.1. Généralités sur les caféiers

I.1.1. Origine et distribution du caféier Arabica dans le monde

Coffea arabica (Waller et *al.*, 1993) est originaire d'Afrique principalement des montagnes humides du Sud-Ouest de l'Ethiopie où se trouvent les peuplements spontanés de *Coffea arabica*, seraient le berceau du caféier (Gascon, 2006 ; Bart, 2007 ; Bertrand et *al.*, 2012). D'Ethiopie, le café se développe dans les pays du monde arabe d'où il prend le nom de « Vin d'Arabica » (Anonyme, 2001). Il aurait traversé la mer rouge vers le Yémen (Bert, 1994 ; Gascon, 2006) où le café était consommé dans les « sufis » yéménites dès le XIV^e et le XV^e siècle pour faciliter les rites religieux nocturnes en tenant éveillés les officiants. Les graines qui servaient à la préparation de ce café étaient importées de la région de Kaffa en Ethiopie où il aurait été découvert 2000 ans avant Jésus Christ. Très vite, le breuvage gagne les villes de l'islam comme la Mecque, la Médine et quitte le milieu fermé des « sufis » pour faire son apparition dans les maisons publiques de café (Bart, 2007). Dans une étude récente sur l'origine, la diversification et l'expansion des plants sauvages de caféier, il est montré que le café aurait été découvert en Ethiopie au VIII^e siècle, mais que bien avant d'être cultivé dans plus de 50 pays tropicaux, les caféiers seraient apparus en Afrique central atlantique 400 000 ans avant Jésus Christ (Anthony et *al.*, 2010). Selon ces auteurs, le café aurait colonisé au cours de cette période, les forêts d'Afrique et de la région malgache. Ces résultats contredisent l'hypothèse émise dans les années 1980 selon laquelle ces arbustes seraient originaires du Kenya (Charrier and Berthaud, 1987 ; Charrier and Eskes, 1997). Ces auteurs ont également rapporté que la distribution actuelle des caféiers en Afrique, à Madagascar et jusqu'en Inde laisse penser à la présence en Afrique de l'Est de formes ancestrales. Elles auraient ensuite été isolées par la dislocation du supercontinent, Gondwana il y a plus de 100 millions d'années (Anthony et *al.*, 2010).

Après la découverte du café en Ethiopie, sous l'impulsion des Arabes, il s'est ensuite étendu au Yémen en se diversifiant en deux populations : *C. arabica typica* et *C. arabica bourbon*. Il a emprunté quatre voies principales. Au 17^e siècle, les caféiers ont été transférés vers Ceylan (actuel Sri Lanka) puis vers l'Indonésie. Vers 1700, un exemplaire de la variété Java est parvenu aux Antilles après avoir transité par Amsterdam et Paris (variété *typica*). A la même époque, une autre variété du Yémen a été introduite à l'île Bourbon (la Réunion), puis a gagné l'Amérique (variété Bourbon). A la fin du 20^{ème} siècle, des transferts multiples ont été réalisés vers l'Afrique de l'Est à partir de Java, de la Réunion et de l'Ethiopie (Charrier and Eskes, 1997).

Au Cameroun, les caféiers ont été introduits par le colon allemand, Von Puttmaker en 1905. Les variétés introduites provenaient de la Jamaïque, du Kenya et de Java (Wrigley, 1988 ; Bella, 1994). Cependant, la culture du caféier Arabica au Cameroun a véritablement commencé en 1927, avec la distribution des jeunes plants issus des semences du caféier Jamaïque, cultivés dans une

station expérimentale à Dschang (Wrigley, 1988). En 1928, 200 000 plants de café ont été plantés à Dschang (Anonyme, 2015). En 1929, le développement de la culture du café au Cameroun a été important grâce à René Coste, un ingénieur agronome français nommé à la tête de la Station de Dschang (Anonyme, 2015). Les caféiers provenant du Kenya et de Java y ont été introduits plus tardivement. Les caféiers de type Jamaïque, communément appelés « Dschang coffee » et très sensibles à l'antracnose des baies, ont constitué les premières plantations de caféier Arabica au Cameroun. Par contre, les caféiers Java qui sont très productifs et assez tolérants à l'antracnose des baies, n'ont commencé à être vulgarisés qu'au début des années 80, sous l'impulsion de l'Union Centrale des Coopératives Agricoles de l'Ouest Cameroun (Mouen Bedimo, 2006).

I.1.2. Production du café dans le monde

Le Caféier est cultivé pour ses grains qui sont considérés comme la matière première la plus commercialisée à travers le monde après le pétrole (Anonyme, 2007). Deux types de caféiers sont principalement cultivés dans les pays producteurs : le caféier *Canephora* et le caféier Arabica. Le café *Canephora*, pourvu d'une forte teneur en caféine est largement répandu dans les pays d'Asie (Vietnam, Indonésie, Inde, Philippines) et dans les pays d'Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire, Togo et Guinée) Centrale (RDC). Le café Arabica est très apprécié pour sa faible teneur en caféine et son arôme, (Charrier and Eskes, 2004 ; Mouen Bedimo, 2006). La production mondiale du café est estimée à 158,93 millions de sacs de 60 kg pour la campagne 2017/2018 contre 157,69 millions pour la campagne précédente. La production du café Arabica dans la production mondiale représente respectivement 62,2 % et 64.8 % pour les campagnes 2017/2018 et 2016/2017 (Anonyme, 2018). Le Brésil, le principal pays producteur du monde représente 40 % de la production mondiale de café. Il produit en moyenne 45 à 50 millions de sacs de 60 kg de café chaque année. Le Vietnam occupe la deuxième place avec environ 20 % de la production mondiale (Tableau I) (Anonyme, 2017b).

Tableau I. Volume de production de café des principaux pays producteurs au niveau mondial entre 2013 et 2017 (en millions de sacs de 60 kilogrammes) (Anonyme, 2017b).

Pays producteurs du café	2013	2014	2015	2016	2017
Brésil	54,698	52,299	50,376	55,000	51,000
Vietnam	27,610	26,500	28,737	25,540	29,500
Colombie	12,163	13,339	14,009	14,634	14,000
Indonésie	11,265	11,418	12,317	11,491	12,000
Ethiopie	6,527	6,575	6,714	7,297	7,650
Inde	5,075	5,450	5,800	5,200	5,840
Honduras	4,578	5,268	5,786	7,457	6,349
Mexique	3,916	3,591	2,903	3,781	4,000
Ouganda	3,633	3,744	3,650	4,962	5,100
Guatemala	3,189	3,310	3,410	3,684	3,800

Sur le plan régional, la production de café en Asie et en Océanie est estimée à 47,64 millions de sacs de 60 kg pour la campagne caféière 2017/2018. Les principaux producteurs sont : le Vietnam avec 28,5 millions de sacs et l'Inde avec 5,84 millions de sacs. La production de l'Indonésie a connu une baisse de 6 % estimée à 10,8 millions de sacs. Celle du Mexique et de l'Amérique Centrale est estimée à 21,92 millions de sacs soit 7,1 % de plus par rapport à la campagne précédente (2016/2017). La production du Honduras est largement représentée avec 8,25 millions de sacs et celle du Guatemala qui a connu une hausse est estimée à 3,6 millions de sacs. En Afrique, la culture du caféier est pratiquée sur une superficie de 13 millions de km² environ (Onzima et al., 2002, Mouen Bedimo, 2006). Sa production mondiale est estimée à 17,93 millions de sacs de 60 kg. Les deux principaux producteurs sont : l'Ethiopie avec 7,65 millions de sacs et l'Ouganda avec 5,1 millions sacs (Anonyme, 2017b) (Tableau I). La production est restée faible dans la plupart de pays producteurs de café en Afrique avec un rendement moyen de 400 kg/ha (Anonyme, 2017c). L'Ethiopie et l'Ouganda font l'exception ; ces deux pays ont accru leur production après les années 1990. L'Ethiopie produit essentiellement l'arabica et l'Ouganda quant à lui cultive principalement le caféier *Canephora*.

Au Cameroun, le caféier Arabica et le caféier *Canephora* coexistent. Ils sont cultivés dans huit régions du pays à savoir le Centre, l'Est, le Littoral, le Nord-Ouest, l'Ouest, le Sud, le Sud-Ouest et l'Adamaoua (Bankim) (Fig. 1). Le caféier Arabica se cultive dans les régions de haute altitude. C'est-à-dire, à l'Ouest, au Nord-Ouest, et au Sud-Ouest ; sur quelques 10 000 hectares, pour une superficie moyenne de deux hectares par producteur (Anonyme, 2017a). Le volume commercialisé du café passe ainsi de 439 000 sacs pour la campagne 2010/2011 à 409 000 sacs pour celle de 2015/2016

(Tableau II). Le café Arabica représente en moyenne 10 % de la production commercialisée. La production du café camerounais est restée à de niveaux faibles à partir des années 1990. Un des motifs importants a été la libéralisation de la filière café après le démantèlement du système des quotas d'exploitation nationale. Les cadres réglementaires et les institutions nationales du café (offices du café) qui achetaient du café aux producteurs à des prix institutionnels pour commercialiser en Europe et dans d'autres centres de consommation à l'époque ont été supprimés. Les prix du café ont chuté en raison de l'offre excédentaire qui a immédiatement suivi l'abandon des clauses économiques de l'accord de nombreuses filières nationales. Malgré cette tendance à une stagnation de la production, le café reste une source de devise pour le Cameroun et d'autres pays producteurs en Afrique.

Tableau II : Production commercialisée du café (en milliers de sacs de 60 kilogrammes) et le volume du Cameroun dans la production mondiale et Africaine (Anonyme, 2017a).

Année	2010/11	2011/12	2012/13	2013/2014	2014/2015	2015/2016
Robusta	397	536	230	499	364	336
Arabica	42	49	39	48	34	73
Total	439	585	269	547	398	409
Production africaine	16134	16098	16668	16214	16055	17449
Part (%) du Cameroun	2,72	3,94	1,61	3,37	2,48	2,34
Production mondiale	134243	140617	144960	146506	142278	143306
Part (%) du Cameroun	0,37	0,41	0,25	0,28	0,37	0,29

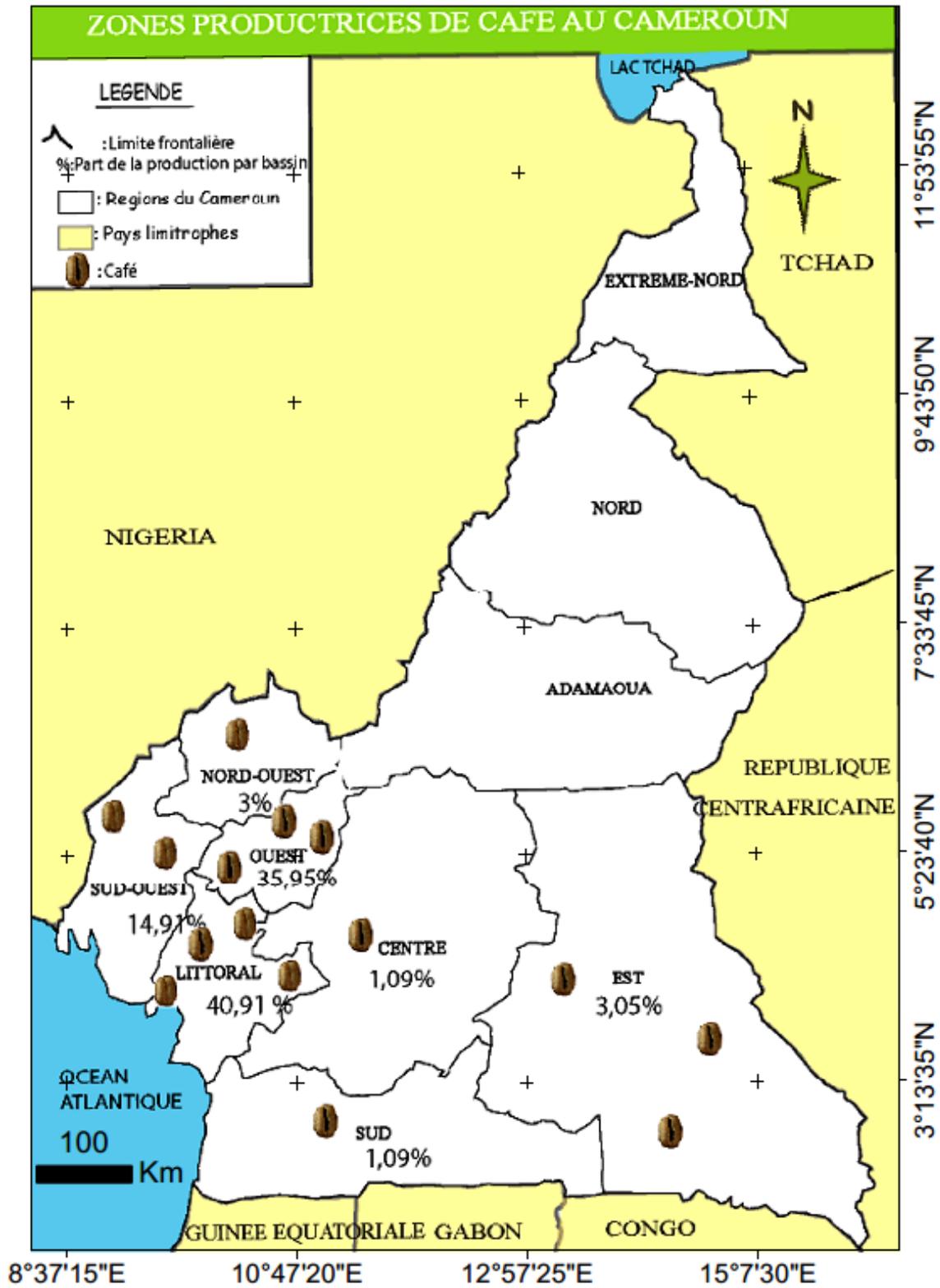


Fig. 1. Zones de production caféière au Cameroun (Anonyme, 2017a).

I.1.3. Taxonomie et diversité

Le genre *Coffea*, découvert en 1753 par Linné, appartient à la famille des Rubiacées (Muller, 1980 ; Charrier and Berthaud, 1987). Les espèces du genre *Coffea* sont toutes diploïdes ($2n = 2x = 22$) sauf le *C. arabica* qui est la seule espèce allopolyploïde ($2n = 4x = 44$) (Bertrand et al., 2012). L'espèce *C. arabica* serait née de la fusion de deux espèces parentales diploïdes : *Coffea eugenioides* (espèce sauvage) et *C. canephora* (Lashermes et al., 1999). Elle est principalement basée en Amérique Latine (82 % de la production, contre seulement 9 % en Afrique, en Asie et en Océanie). Entre autres la puissance socio-écologique (Samper, 1999), le climat frais (Anthony et al., 2002) des territoires de montagne (Amérique centrale et Andine) ou les plateaux brésiliens, proches de celui de son aire d'origine expliquent la concentration de la production en Amérique latine. Le genre *Coffea* fait partie de la sous famille des Ixoroïdeae, tribu des Coffeae (Tableau III). Cette tribu est constituée des genres *Coffea* et *Psilanthus*. Une étude récente basée sur des données moléculaires et morphologiques a permis d'obtenir jusqu'à onze genres composant cette tribu (Davis et al., 2006 ; 2007). La classification du genre *Coffea*, a subi de nombreuses modifications avec l'avancée de recherches. Les botanistes se sont reposés essentiellement sur la description morphologique et les aires naturelles de distribution. Les travaux menés ces dernières années, sur la fertilité des hybrides interspécifiques entre caféiers africains diploïdes (Louarn, 1993 ; Cros et al., 1995 ; Noirot et al., 2003), sur la variation de la taille de leur génome (Lashermes et al., 1997) ; sur la relation phylogénétique des caféiers d'après les séquences de leurs ADN ribosomiaux et sur l'organisation du génome (Hamon et al., 2009) ont permis de faire un regroupement biogéographique des espèces africaines. Le résultat de ces études a permis de regrouper les caféiers du continent en deux groupes : les caféiers de l'Ouest et du centre qui correspondent à la section des Eucoffea et le groupe de l'Est et du Sud-est pour la section des Mozambicoffea. Les peuplements spontanés du sous-genre *Coffea*, endémiques de la zone forestière intertropicale sont ainsi répartis en trois ensembles biogéographiques limités par le canal de Mozambique et la dorsale du Kivu à l'est de la République Démocratique du Congo : la région malgache pour les Mascarocoffea, l'Afrique orientale pour les Mozambicoffea et l'Afrique occidentale et centrale pour les Eucoffea. Les caféiers de la section Mozambicoffea semblent tenir une position intermédiaire entre les caféiers Ouest africains et ceux de la région de Madagascar. Dès 1947, Chevalier soulignait déjà que cette section établissait la liaison entre les Eucoffea et les Mascarocoffea qu'il considérait à l'époque sans caféine. Une position confortée par les travaux d'Anthony et al. (1993) qui ont montré que les caféiers Est africains présentaient des valeurs intermédiaires pour les concentrations en caféine et en acides chlorogéniques par rapport aux caféiers Ouest africains (à teneurs élevées) et les caféiers de la région de Madagascar (à faible teneur) en ces composés.

Tableau III : Classification du caféier Arabica (Linné., 1753).

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Rubiale
Famille	Rubiaceae
Sous famille	Ixoroideae
Tribu	Coffeae
Genre	Coffea L.
Espèce	<i>Coffea arabica</i> L.

I.1.4. Ecologie et biologie du caféier

I.1.4.1. Ecologie du caféier

Le caféier Arabica est cultivé dans des climats relativement froids dans la région située entre les tropiques du Cancer et du Capricorne où il bénéficie des conditions climatiques optimales de croissance (Benjamin de Lapparent, 2013). Certains éléments climatiques tels que la température et les précipitations ont un impact majeur sur son développement (Davis et *al.*, 2012 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2010 ; 2012b). Toutefois Il supporte les variations de températures entre 17 et 29 °C (Benjamin de Lapparent, 2013) et une précipitation annuelle de 1500 à 2500 mm qui s'étalent sur une période de huit mois (Mouen Bedimo, 2006 ; Davis et *al.*, 2012). Le caféier se rencontre dans des situations ombragées ou semi-ombragées. Son comportement à l'égard de la lumière l'a fait longtemps considérer comme une plante ombrophile (Muschler, 2004) exigeant en plantation un couvert plus ou moins dense. Sa culture nécessite un sol perméable légèrement argileux ou sablonneux. Elle ne peut pas être installée sur des versants ou des fonds de vallée à cause du manque d'ensoleillement qui peut y régner ou d'un ensoleillement trop important qui peut brûler les caféiers (Benjamin de Lapparent, 2013). En dessous de 12 °C pendant une période d'environ 15 jours on observe un début de dégradation du feuillage et des branches, suivi d'un arrêt de croissance, voire un pourrissement de la graine. Davis et *al.* (2012) ont rapporté qu'une température moyenne annuelle inférieure à 17 - 18 °C et supérieure à 29 °C diminue la production des plants de caféier. IL supporte tout de même de courtes périodes de sécheresse (environ 2 à 4 mois). De plus, une période de stress hydrique (pluie après une période sèche) permet de provoquer une floraison homogène et favorise donc une saison de récolte clairement définie. Une précipitation excédante 2500 mm/an (Botineau, 2010), rend les caféiers plus sensibles aux maladies et à la dégradation de leurs ramures.

I.1.4.2. Biologie du caféier

Le caféier est une plante ligneuse vivace dicotylédone. Il peut vivre jusqu'à 50 ans mais la production diminue au bout de 30 ans (Benjamin de Lapparent, 2013). Il est de la taille d'un arbrisseau, d'un arbuste voire d'un arbre (Fig. 2 A). Il est souvent composé de plusieurs troncs, ce qui lui donne un aspect buissonneux (Botineau, 2010 ; Benjamin de Lapparent, 2013).

Les feuilles du caféier Arabica sont persistantes, lancéolées et positionnées sur la branche de manière opposée, parfois verticillée par 3 (3 feuilles sur le même nœud) (Botineau, 2010).

Les inflorescences sont rassemblées en glomérules (grappes serrées) de 8 à 15 fleurs en moyenne à l'aisselle des feuilles avec une corolle blanche et odorante (Van Der Graaff, 1992 ; Cannell, 1987) (Fig. 2 B). Elles apparaissent souvent une dizaine de jours après le premier épisode pluvieux important en fin de saison sèche (Muller, 1980). Dans les zones équatoriales à régime bimodal, le cycle de la plante comporte deux floraisons et dans celles ayant un régime monodal de précipitation (zone agroécologique des hauts plateaux de l'Ouest Cameroun), l'on compte une floraison principale (Bieysse et *al.*, 2002).

Les fruits vulgairement appelés baies (Fig. 3 A, B, C et D), sont charnus de couleur rouge à maturité et caractérisés par une faible épaisseur de l'endocarpe (Costa, 1955), (Fig. 3 C et D). Elles contiennent deux graines séparées par un sillon et protégées par une pulpe (mésocarpe) différenciée en un tissu très vacuolisé riche en sucres et en acides. Les graines contiennent tout d'abord l'embryon, celui-ci est contenu dans une structure de réserve qui nourrit l'embryon (albumen) à l'abri dans un tissu protecteur appelé tégument résistant (Botineau, 2010) (Fig. 4). L'endocarpe de la graine est entouré par une fine pellicule argentée appelée spermoderme recouverte par une enveloppe cellulosique. C'est la parche de la baie (Fig. 3 D 1).

Le système racinaire est composé de 4 à 8 racines principales pivotantes, des racines secondaires et tertiaires de 10 à 40 cm de long. La surface d'absorption compte jusqu'à 400 à 500 m². 80 à 90 % de l'alimentation/absorption se fait dans les 20 premiers cm du sol, par les racines horizontales. C'est pour cela que l'on coupe les racines verticales afin de favoriser les racines horizontales qui puisent mieux l'eau (Botineau, 2010 ; Garedew et *al.*, 2017). Toutefois le système racinaire reste influencé par le type de sol et la teneur en minéraux (N, Ca, Mg) (Bénac, 1968).

La croissance du fruit a été décrite à partir des travaux de Botineau (2010) suivant les différentes phases de développement ci-après :

- stade tête d'épingle. Il commence à la nouaison et se termine vers la 8^{ème} SAF. Cette phase est marquée par le début des divisions cellulaires pour la formation des drupes (Fig. 3 A) ;

- stade d'expansion des fruits qui s'étend de la 8^{ème} à la 15^{ème} SAF. Les loges des ovaires se gonflent et la cavité est ensuite remplie par l'embryon. Cette phase caractérise la période de croissance rapide du péricarpe ;
- stade de formation de l'endosperme qui se situe entre la 16^{ème} et la 21^{ème} SAF. Ce stade correspond à la phase de remplissage des fruits. Les deux graines de la drupe se forment et la pulpe continue de croître et absorbe près de 70 % des photosynthétats produits par le caféier en stoppant sa croissance ;
- stade d'accumulation de matière sèche entre la 22^{ème} et la 30^{ème} SAF. L'endosperme est complètement formé. C'est la période de la lignification de l'endocarpe et d'endurcissement de la drupe (Fig. 4 B). Les fèves sont entièrement formées et passent de la couleur verte à la couleur rouge ;
- stade de maturation des fruits. La drupe appelée cerise est prête pour la récolte à partir de la 32^{ème} SAF. Ce stade se distingue par le ramollissement et l'expansion du mésocarpe. La baie a la couleur rouge vif (Fig. 3 C).



Fig. 2. Morphologie du caféier (A) Pied de caféier ; (B) Inflorescences du caféier : (1) stigmates, (2) étamines, (3) pétales, (4) ovaires (photos prises par Kacko en 2016). Barre = 40 cm (A) et 0.6 cm (B).



Fig. 3. Etapes de développement des baies (A) baies stade tête d'épingle ; (B) baies vertes et (C) baies mures, (D. 1) parche (photo prise par Kacko en 2016). Barres = 1 cm (A); 1,4 cm (B), 0.6 cm (C); 0.7 cm (D).

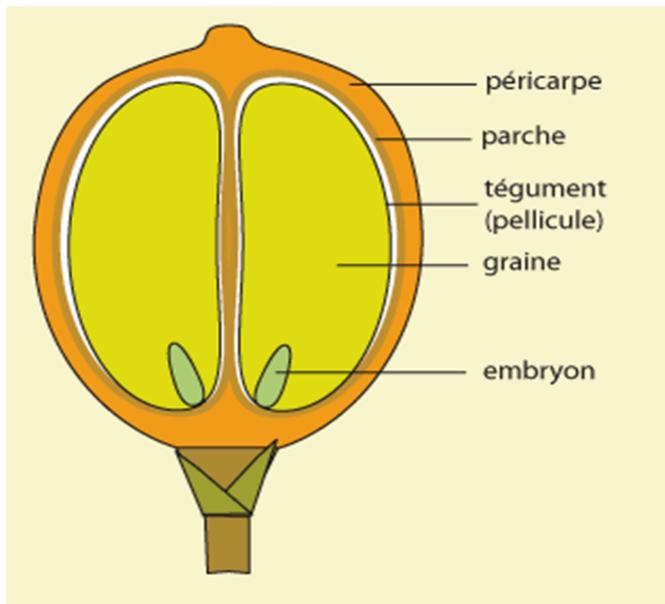


Fig. 4. Coupe longitudinale d'un fruit de caféier.

I.1.5. Culture du caféier

Les modes de multiplication du caféier sont : le semis direct à travers les graines et le bouturage. Les graines sélectionnées sont mises en germoir pendant environ 2 mois. Les plants qui en sont issus sont transférés ensuite en pépinière où ils sont entretenus pendant 9 à 12 mois avant leur transfert en champs (Mouen Bedimo, 2006). La densité de plantation dépend du développement végétatif des caféiers, du climat, de la nature et de la richesse du sol, du système de culture et selon des dispositifs variés (lignes de niveau de terrain). Au Cameroun, la densité de plantation est de 1200 plants / ha où la pratique d'associations culturales est très fréquente. En condition de culture intensive, les densités de 2222 caféiers / ha aux écartements de 3 m x 1,50 m ou 2,50 m x 1,80 m sont indiquées (Bouharmont, 1992 ; Mouen Bedimo, 2006). Dans les exploitations paysannes, les caféiers sont généralement cultivés sous couvert des plantes d'ombrage telles que les arbres fruitiers et des bananiers (Phiri et *al.*, 2001 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2007b, 2008). Les espèces du genre *Leucaena*, *Albizia* et *Acacia* sont utilisées comme arbres d'ombrage dans les caféières en condition intensive à des écartements de 6m x 6m (Muller, 1980 ; Bouharmont, 1992 ; Heuzé et *al.*, 2015). Toutefois, la densité des arbres d'ombrage et des caféiers sur les plantations pose un problème de compétition quant à la nutrition hydrique, minérale et carbonée entre les arbres d'ombrage et les caféiers, et entre les caféiers eux-mêmes. Les opérations agricoles indispensables pour l'entretien annuel des caféiers en vue d'une production optimale de fruits sont : la taille, le désherbage (2 à 3 fois / an), la fertilisation et les traitements phytosanitaires. Le paillage est l'une des techniques les plus appropriées pour augmenter la suivi et la production du caféier. L'engrais composé (N- P- K / 20 10

10) et (N- P- K- Mg) est recommandé. Leur dose varie en fonction du site et du niveau d'aménagement des caféiers. Une fertilisation organique générée par des déchets domestiques, des déjections d'animaux d'élevage (porcs, poulets, etc...) et le compost de pulpe de café est pratiquée dans les plantations paysannes. Un épandage d'engrais minéraux (N-P-K / 20-10-10) est souvent appliqué en mi - campagne. Dans les caféières camerounaises conduites suivant un itinéraire technique de type intensif, l'application des fertilisants est effectuée en trois passages : une à deux semaines après la nouaison (en mi-Avril), la deuxième en mi - campagne (en Juillet) et la troisième vers la fin de la saison des pluies (Octobre) (Bouharmont, 1992 ; Mouen Bedimo, 2006). Les traitements phytosanitaires consistent en l'application d'insecticides contre les chenilles défoliatrices, les punaises, les foreurs de tiges et les cochenilles. Dans les zones à forte incidence d'antracnose des baies, des traitements fongicides nécessitent 7 à 8 applications annuelles, à partir de la 6^{ième} semaine après la floraison (Berry et *al.*, 1992 ; Bieyesse et *al.*, 2002).

Le caféier Arabica peut rester en production pendant 15 à 70 ans. Les premières fleurs peuvent apparaître 2 ans après la pousse des premières feuilles sur le plant. La floraison est induite par plusieurs facteurs : un facteur interne, qui est l'âge de la plante, ensuite il y a les facteurs externes environnementaux, principalement les photopériodes (rapport entre la durée du jour et la durée de la nuit), la température (période relativement fraîche pour la région) et la répartition des précipitations. Ainsi, c'est un manque d'eau (saison sèche bien marquée) suivi d'une pluie qui favorise la floraison chez le caféier Arabica (une ou deux floraisons par an) (Botineau, 2010). Lors de la pollinisation, le grain de pollen est amené à l'organe reproducteur du sexe opposé soit par les insectes (pollinisation entomophile), soit par le vent (pollinisation anémophile), soit par les oiseaux (pollinisation ornithophile). La fécondation chez le caféier est de deux types : pollinisation croisée (*C. canephora*) ou l'autofécondation qui est le plus souvent le mode de fécondation du caféier Arabica. Les récoltes ont lieu à des périodes qui dépendent de la situation géographique du pays. Elle a lieu au Cameroun en Novembre et en mi-Décembre.

I.1.6. Importances du café

Le caféier est cultivé pour ses grains qui constituent la matière première de l'industrie de la décaféination pour l'extraction de la caféine (Anonyme, 2016). La caféine entre dans la fabrication de certains médicaments, cosmétiques et certaines boissons gazeuses. Cet alcaloïde est un stimulant du système nerveux central et cardiovasculaire. Il diminue la somnolence, le temps de réaction et augmente l'attention (Coelho, 2014). Il entre dans la fabrication des suppositoires utilisés pour le soulagement des migraines et l'hyperémèse (Brødbaek and Damkier, 2007). La caféine a également un effet thérapeutique contre les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson ou Huntington) (Bonnin, 2016). Le café attire aujourd'hui des groupes industriels comme l'Oréal et Coca-Cola

(Anonyme, 2017c). Ses extraits sont aussi utilisés en pâtisserie, en confiserie et dans la confection des boissons chaudes et froides. Les propriétés du café sont liées à la composition chimique de leurs graines. Celle-ci diffère en fonction de l'origine, de la variété et des conditions de culture. L'acide chlorogénique, les tanins condensés, les lignanes et les anthocyanes font partie des composés phénoliques présents dans le grain de café (Tableau IV). L'acide chlorogénique représente 21 à 55 % de matière sèche du café vert (Debry, 1993). Ces composés font l'objet d'une attention particulière quant à leurs effets bénéfiques sur la santé humaine qui seraient principalement liés à leur action antioxydante. Ils auraient en effet une action protectrice contre les maladies cardiovasculaires, les maladies dégénératives et les cancers (Scarlbet et *al.*, 2005). Le café apporte également les fibres alimentaires solubles (galactomannane, arabinogalactane) et insolubles (cellulose) de l'ordre de 470 à 750 mg pour une tasse de 100 ml consommée (Bonnin, 2016)

Le rendement peut varier en fonction du type d'exploitation : 300 kg / ha dans une exploitation sans apport en engrais et produits phytosanitaires ; 800 kg / ha dans une exploitation biologique et 1000 kg / ha dans une exploitation avec apport en engrais et produits phytosanitaires (Anonyme, 2017a).

Tableau IV. Comparaison de la composition chimique du *C. arabica* et *C. canephora* (torréfiés) (Nehlig, 2012 ; Bonnin, 2016).

Composants	Pourcentage de matière sèche		Pourcentage d'extraction par l'eau à 100 °C
	Arabica	Robusta	
Caféine	1,3	2,4	75 - 100
Trigonelline	1,0	0,7	85 - 100
Minéraux	4,5	4,7	90
Acides :			
Chlorogénique	2,5	3,8	100
Quinique	0,8	1,0	100
Sucre :			
Saccharose	0	0	
Sucre réducteurs	0,3	0,3	100
Polysaccharides	33	37	10
Lignine	2,0	2,0	0
Pectines	3,0	3,0	–
Protéines	10	10	15 - 20
Lipides	17	11	1
Produits caramélisés (ex : mélanoidines)	23	22,5	20 – 25
Substances volatiles	0.1	0,1	40 - 80

I.2. Contraintes liées à la caféiculture

Les caféiers hébergent une faune et une flore parasites très riches. La production du café est ainsi soumise aux attaques de plusieurs ravageurs et maladies.

I.2.1. Ravageurs

I.2.1.1. Scolytes des baies

Hypotenemus hampei Ferr. est le principal insecte ravageur du caféier qui s'attaque aux grains (Dufour, 2002). C'est un coléoptère d'origine africaine qui affecte les plantations de la quasi-totalité des pays producteurs de café dans le monde.

I.2.1.2. Scolytes des branchettes

Xyleborus spp (Hillocks et *al.*, 1999). C'est un parasite primaire du caféier où les dégâts se manifestent par une perte importante des rameaux plagiotropes.

I.2.1.3. Nématodes

Meloidogyne incognita, *Meloidogyne exigua* et *Pratylenchus coffeae* sont responsables de très importants dommages sur les racines dans les plantations de certains pays producteurs. Ces nématodes entraînent des dysfonctionnements de la nutrition minérale et hydriques de la plante. Ces perturbations physiologiques se traduisent par un ralentissement de la croissance et une chlorose des feuillages pouvant évoluer vers un dépérissement plus ou moins rapide de la plante (Villain et *al.*, 2002). Dans cette catégorie de parasite, les nématodes à galles des racines peuvent être recensés tels que *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White), *Meloidogyne exigua* Goeldi et les nématodes des lésions des racines tel que *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann) Filip. Et Shu. Steck. Ils constituent une forte menace à la culture du caféier (Charrier and Eskes, 1997 ; Hillocks et *al.*, 1999 ; Villain et *al.*, 2002).

I.2.1.4. Chenilles défoliatrices

Epicampoptera andersoni, *Epicampoptera strandi*, *Cephonodes*, *Dichocrocis*, *Ascotis* (Morize, 1992). Elles détruisent les feuilles, entraînant parfois la défoliation complète des arbres.

I.2.1.5. Chenilles mineuses

Perileucoptera coffeela, *Leucoptera* spp. Elles occasionnent des pertes les plus considérables à l'échelle mondiale (Morize, 1992). La consommation du parenchyme palissadique par la larve a pour effet direct une forte réduction de l'activité photosynthétique de l'arbre ce qui a pour conséquence une diminution significative des rendements.

I.2.2. Maladies cryptogamiques

I.2.2.1. Cercosporiose ou maladie des yeux bruns

L'agent causal de cette maladie est *Cercospora coffeicola* Berk. et Cook. Cette mycose attaque les feuilles du caféier de tous les âges mais son impact est plus poussé sur les jeunes plants. Elle cause également une pourriture des baies sur les caféiers Arabica (Claude Boisson, 1984). Les symptômes apparaissent sur les feuilles comme des taches circulaires de couleur gris- marron. Au milieu de ces taches, apparaît un point de couleur claire, et sur les baies apparaissent des taches concaves (Muller et *al.*, 2004). Les méthodes préventives contre cette maladie consistent à maintenir la plantation dans un bon état sanitaire. La fertilisation azotée est aussi recommandée. L'application

des fongicides peut réduire la présence de *Cercospora* mais elle ne peut pas résoudre le problème à la base (Muller et *al.*, 2004).

I.2.2.2. Trachéomyose

Le champignon responsable de cette maladie est *Fusarium xylarioides* Steyaert. La maladie se manifeste par un arrêt brutal de la végétation, le jaunissement des feuilles qui se dessèchent par la suite et tombent. Les symptômes se manifestent assez souvent par un dépérissement soudain de la plante dû à l'envahissement des vaisseaux conducteurs par l'agent pathogène. Ces symptômes sont suivis par la mort des branches et finalement par celle de l'arbre entier. Cette mort du caféier est due à la colonisation des vaisseaux conducteurs par le mycélium et les thylls qui bloquent la circulation de l'eau et de la sève. L'infection peut avoir lieu à tous les stades de développement (Muller et *al.*, 2004 ; Sibelet et Nguyen, 2012). Le meilleur moyen de lutte reste l'arrachage et l'incinération des arbustes morts ou malades pour éviter la propagation de la maladie (Muller et *al.*, 2004).

I.2.2.3. Rouilles

Deux types de rouille ont été décrits sur le caféier : la rouille orangée causée par *Hemileia vastatrix* Berk et Ber. La rouille farineuse causée par *Hemileia coffeicola* Maublanc et Roger. La rouille orangée est apparue à Ceylan (actuel Sri-Lanka) en 1869 et a provoqué des dégâts énormes sur les caféiers Arabica en absence de traitements efficaces et des variétés résistantes (Muller, 1980 ; Bella Manga, 1999). Les symptômes apparaissent à la face inférieure des feuilles sous forme de petites taches (sores), visibles par transparence ayant l'aspect d'une tache huileuse. Elles s'agrandissent et se recouvrent d'une matière pulvérulente orangée formée par des spores (urédospores) du champignon. La partie centrale de la tache se nécrose et devient visible à la face supérieure de la feuille et la feuille entière noircit par la suite et tombe (Meffren, 1957). Contrairement à *Hemileia vastatrix*, *Hemileia coffeicola* trouvé au Cameroun en 1929 par Muller et *al.* (2004), ne cause pas de nécroses sur les feuilles (Muller, 1980 ; Muller et *al.*, 2004). Elle se caractérise également par la présence d'une pulvérulence jaune orangée couvrant l'ensemble de la face inférieure du limbe. La feuille jaunit complètement, puis tombe. Les rouilles réduisent la capacité assimilatrice des arbres et entraînent par conséquent des baisses sensibles de rendement (Mouen Bedimo, 2006).

I.2.2.4. Anthracnoses

De nombreux symptômes plus ou moins différents ont été mis en évidence sur les caféiers permettant de caractériser ces maladies. Ils ont été localisés au niveau des feuilles, des rameaux et des baies. L'anthracnose des rameaux et des feuilles est causée par *Colletotrichum gloeosporioides*

(Gielink and Vermeulen, 1983 ; Masaba and Waller, 1992) et celle des baies est causée par *C. kahawae*. (Waller et *al.*, 1993).

Sur les feuilles, la maladie se manifeste par l'apparition de petits points brunâtres le plus souvent sur les bords du limbe (Muller et *al.*, 2004). Ces points noirs s'étendent progressivement à partir de leur centre pour donner finalement des taches arrondies irrégulières, brunes sombres avec généralement une marge, visibles sur les deux côtés de la feuille. Le centre des taches nécrosées devient souvent décoloré et brun grisâtre. Les fructifications du parasite apparaissent à la face supérieure du limbe sous forme de ponctuations noirâtres devenant rosées. Lorsque l'attaque est importante, la feuille nécrosée tombe. Les nécroses et les chutes de feuilles présentent quelques risques pour la récolte et pour la maturation des fruits en cours. Ils empêchent l'arbre de se constituer des réserves amylacées, et le prédisposent aux attaques des parasites secondaires (Claude Boisson, 1984).

Sur les rameaux, les symptômes se manifestent par un noircissement et un dessèchement de ceux-ci (Muller et *al.*, 2004).

Sur les baies, la maladie se manifeste sous deux formes : les lésions « actives » et les lésions de forme « scab » (Muller, 1980 ; Bieysse et *al.*, 2002). Les lésions actives se manifestent par l'apparition des taches nécrotiques noires avec parfois des acervules de couleur orangée sur des baies vertes (Muller, 1980 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2008). Ces attaques commencent généralement à l'insertion pédonculaire, soit au contact entre deux fruits, soit à l'insertion du calice aux endroits où les gouttes d'eau peuvent séjourner (Fig. 5. A). Ces taches nécrotiques se développent pour donner des taches brunes légèrement déprimées qui entraînent une pourriture molle et humide de la pulpe et des grains. Dans les conditions d'hygrométrie favorables, les acervules apparaissent de façon concentrique à la surface des taches et libèrent les conidies, organes de dissémination de la maladie (Bella Manga, 1999 ; Bieysse et *al.*, 2002 ; Mouen Bedimo, 2006). Un dessèchement suivi d'un noircissement de la baie est observé lui donnant un aspect caractéristique de sac vide (Fig. 5. B). Le fruit momifié chute à la moindre action du vent et de la pluie. Les lésions de forme « scab » sont une forme particulière de la maladie peu importante économiquement. Elles se manifestent par des lésions aux contours irréguliers et d'évolution lente. Elles ont un aspect légèrement liégeux et sont de couleur beige clair. Leur développement est généralement limité en surface (Bieysse et *al.*, 2002).



Fig. 5. Symptômes de l'antracnose des baies (A) Taches nécrotiques sombres au contact de deux fruits et (B) Baies momifiées (photo prise par Kacko en 2016). Barre = 0,6 cm (A) ; 1,25 cm (B).

I.2.3. Généralités sur *Colletotrichum kahawae*

I.2.3.1. Taxonomie et dispersion

Les espèces du genre *Colletotrichum* sont des champignons ubiquistes appartenant à la classe des Deutéromycètes, à l'ordre des Mélanconiales (Roger, 1953 ; Lepoivre, 2003 ; Sharma and Shenoy, 2016). Les conidies (Fig. 6. C) sont unicellulaires et hyalines ; les hyphes fructifères (Fig. 6. B) sont regroupés en acervules (Fig. 6. A) (Lepoivre, 2003). Plusieurs espèces dont *Colletotrichum kahawae* sont considérées comme des champignons imparfaits parce que leur mode de reproduction sexuée n'est pas connue. Les *Colletotrichum* présentent des structures de fructification ou acervules qui sont constituées de conidiophores accolés les uns aux autres (Cox and Irwin, 1988). Ces structures sont entourées d'une couche mucilagineuse hydrosoluble orangée, essentiellement composée de glycoprotéines, de polysaccharides et de diverses autres enzymes (Bailey et al., 1992). Le mucilage des acervules assure la viabilité des conidies dans les conditions défavorables du milieu (Nicholson, 1992 ; Mouen Bedimo, 2006). Les caractéristiques des acervules et la morphologie des conidies ont constitué les critères de base pour la première description de *Colletotrichum* spp. Il a originellement été décrit sous le nom *Vermicularia* par Tode (1790) avant d'être révisé comme *Colletotrichum* par Corda en 1837 (Sharma and Shenoy, 2016). Plus tard, la séparation entre les espèces a été effectuée sur la base des faciès cultureux *in-vitro* (Simmonds, 1965 ; Baxter et al., 1983 ; Sutton, 1992). Les travaux réalisés par Duke (1928) ont montré que la structure des conidiophores et la présence ou non des filaments et leur arrangement dans les acervules étaient extrêmement différents. Ce résultat a permis le transfert d'un grand nombre d'espèce du genre *Vermicularia* au genre *Colletotrichum* (Duke, 1928 ; Cannon et al., 2012). L'utilisation des techniques de la biologie moléculaire a permis aujourd'hui d'établir une discrimination entre diverses espèces de *Colletotrichum* (Nilson et al., 2008 ; Damm et al., 2009, 2010 ; Cannon et al., 2012 ; Sharma et al., 2013).

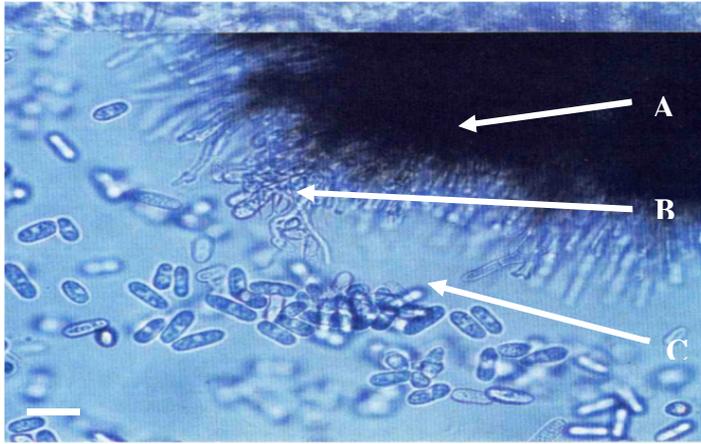


Fig. 6. Conidiophore de *C. kahawae* (A) Acervules; (B); hyphes ; (C) conidies (Mouen Bedimo, 2006). Barre = 0,2 cm.

Colletotrichum a été décrit pour la première fois par Noack en 1901 sous l'appellation *Colletotrichum coffeanum* à partir des feuilles du caféier Arabica provenant du Brésil où l'antracnose des baies n'est pas encore présente. Ce matériel était utilisé quelques années avant par Delacroix en 1897 qui avait décrit *Colletotrichum* sur le nom *Gloeosporium coffeanum*. Plus tard, Les travaux de Mc Donald (1926) et de Rayner (1952) menés au Kenya ont permis d'identifier des colonies à croissance lente, sombre et gris verdâtre de l'agent pathogène de l'antracnose des baies. Ces auteurs ont précisé le caractère pathogène du champignon sur baies vertes en développement. L'agent pathogène de cette forme d'antracnose avait été décrit comme une variante de *Colletotrichum coffeanum* Noack, dénommée « var. virulans » (Rayner 1952, Nutman and Roberts, 1960 ; Waller et al., 1993). Ces travaux ont été repris en 1969 par Gibb qui a défini quatre groupes de *Colletotrichum* à partir des isolats provenant des caféiers Arabica sur la base des caractères morphologiques de leur colonie. A partir de ces travaux, Hindorf en 1970 a pu identifier quelques espèces de *Colletotrichum* : *Colletotrichum acutatum* Simmonds, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz et a identifié *Colletotrichum coffeanum* Noack comme agent causal de l'antracnose des baies. D'où la dénomination *Colletotrichum coffeanum* Noack (sensu Hindorf) pour marquer la spécificité de cet agent pathogène vis-à-vis des baies du caféier Arabica. A la suite des travaux Hindorf, la pathogénie sur baies ou sur hypocotyle de semences d'une variété sensible et une analyse biochimique de plusieurs isolats de *Colletotrichum* issus du caféier Arabica a permis d'identifier les isolats pathogènes sur baies vertes, grâce à leur incapacité d'utiliser le citrate ou le tartate comme unique source de carbone pendant leur métabolisme (Waller et al., 1993 ; Mouen Bedimo, 2006). Cet agent pathogène a donc été renommé *Colletotrichum kahawae* sp. nov. (Waller and Bridge) (Waller et al., 1993). *C. kahawae* cohabite naturellement avec *C. acutatum* et *C. gloeosporioides* dans les caféières atteintes par l'antracnose des baies (Mouen Bedimo, 2006).

I.2.3.2. Biologie

Le cycle de base de *Colletotrichum* sp. débute par la germination des conidies à la suite de leur contact avec les tissus des plantes hôtes (phase de pollution). Il s'en suit une élongation des tubes germinatifs dont la partie apicale se différencie plus tard en une structure spécialisée appelée appressorium (Bailey et al., 1992 ; Jeffries et al., 1990). Les hyphes d'infection se développent à partir des appressoria pour coloniser l'organe attaqué, entraînant la nécrose des tissus sur lesquels se forment de nouvelles acervules (Waller et al., 2007).

La germination des conidies est favorisée par des humidités relatives proches de la saturation (Goos and Tschirsch, 1962 ; Gupta and Pathak, 1979) et par des températures optimales estimées entre 20 et 22 °C (Muller, 1980 ; Masaba and Waller, 1992). Toutefois, elle n'est déclenchée que s'il existe une compatibilité entre le parasite et les organes concernés par l'infection.

Les appressoria sont des structures infectieuses qui assurent l'adhésion de certains champignons pathogènes à la surface des plantes hôtes et leur pénétration dans les organes contaminés (Emmet et Parbery, 1975 ; Young et Kaus, 1984 ; Muruganandam et al., 1991). La formation des appressoria débute par le gonflement apical des tubes germinatifs des conidies dont les parois cellulaires s'épaississent et se mélanisent progressivement. Lorsque les appressoria arrivent à maturité, les conidies à partir desquelles ils sont issus se vident et dégènèrent (Emmet et Parbery, 1975). La mélanine leur assure la rigidité nécessaire pour supporter la pression mécanique des cellules des plantes hôtes, car ils mettent en jeu une importante force hydrostatique pour traverser la cuticule des tissus épidermiques des organes hôtes (Wolkow et al., 1983 ; Coates et al., 1993). Les appressoria de *Colletotrichum* sp. sont de forme lobée et sont séparés des tubes germinatifs des conidies par une cloison (Emmet et Parbery, 1975). Leur développement est favorisé par des humidités relatives saturantes (Estrada et al., 1993) et par des températures optimales variables suivant les espèces.

La pénétration peut se faire par voie mécanique ou par voie enzymatique par sécrétion des enzymes de dégradation (cutine) dans les parois cellulaires de la plante hôte ou par les deux voies (Chen et al., 2004 ; Silva et al., 2006). Le point de contact entre les appressoria et les tissus hôtes constitue le site de pénétration des organes contaminés (Chen et al., 2004). Il s'agit d'une zone privilégiée où la pression hydrostatique des appressoria et la dégradation enzymatique des parois cellulaires favorisent la pénétration des hyphes d'infection dans les cellules hôtes (Emmet et Parbery, 1975 ; Coates et al., 1993 ; Prusky et Keen, 1993 ; Chen et al., 2004). La pénétration des *Colletotrichum* spp. dans ces cellules peut aussi survenir via des blessures ou des orifices naturels (les stomates) des tissus épidermiques des organes contaminés. Dans ce cas, les tubes germinatifs des

conidies s'établissent directement dans les cellules hôtes, sans se différencier au préalable en appressoria (Wolkow *et al.*, 1983 ; Latunde-Dada *et al.*, 1999).

La colonisation est caractérisée par l'invasion des tissus de la plante hôte par les hyphes d'infection qui sécrètent des enzymes comme les polygalacturonases et la pectine lyase, provoquant ainsi la mort des cellules infectées (Bailey *et al.*, 1992). Il en résulte des tissus nécrosés sur lesquels de nouvelles fructifications de l'agent pathogène apparaissent lors de la phase terminale du processus infectieux (Bailey *et al.*, 1992 ; Silva *et al.*, 2006 ; Laureiro *et al.*, 2012). *C. kawawae* utilise une voie hémibiotrophique impliquant une phase biotrophique asymptomatique post - pénétration au cours de laquelle le parasite s'installe à l'intérieur de la cellule hôte sans la détruire. Une phase nécrotrophique destructive, suivi de la reproduction des champignons (Mouen Bedimo *et al.*, 2008 ; Laureiro *et al.*, 2012). D'autres espèces de *Colletotrichum* ne s'établissent pas directement à l'intérieur des cellules hôtes au début de l'infection, mais plutôt dans les parois cellulaires qu'elles dégradent progressivement par la suite. Dans ce cas la croissance du parasite se fait sous la cuticule des cellules de la plante hôte (Bailey *et al.*, 1992).

I.2.2.3. Epidémiologie de l'antracnose des baies de *C. arabica*

L'intensité de l'antracnose de baies varie d'un endroit à un autre et d'une saison à une autre, elle dépend largement de la susceptibilité de l'hôte, de l'agressivité de l'agent pathogène et des conditions climatiques favorables (Muller, 1980 ; Mouen Bedimo *et al.*, 2008, 2012b ; Gadisa *et al.*, 2016 ; Garedew *et al.*, 2017). Le cycle de maturation du café est de 32 à 36 semaines après la floraison. Les conditions d'une forte attaque se trouvent réunies si le stade jeune vulnérable des fruits coïncide avec une période de forte humidité (Muller, 1980 ; Bieysse *et al.*, 2002 ; Mouen Bedimo, 2006). Le déroulement de la maladie comporte cinq phases qui correspondent aux stades de développement des baies (Mouen Bedimo, 2006 ; Garedew *et al.*, 2017) (Fig. 7) :

- stade tête d'épingle (3^{ème} – 6^{ème} SAF) ;
- stade d'expansion des fruits (8^{ème} – 17^{ème} SAF) ;
- stade de croissance de l'endosperme (18^{ème} – 25^{ème} SAF) ;
- stade de durcissement de l'endocarpe (26^{ème} – 32^{ème} SAF) ;
- stade de murissement des baies (32^{ème} – 36^{ème} SAF).

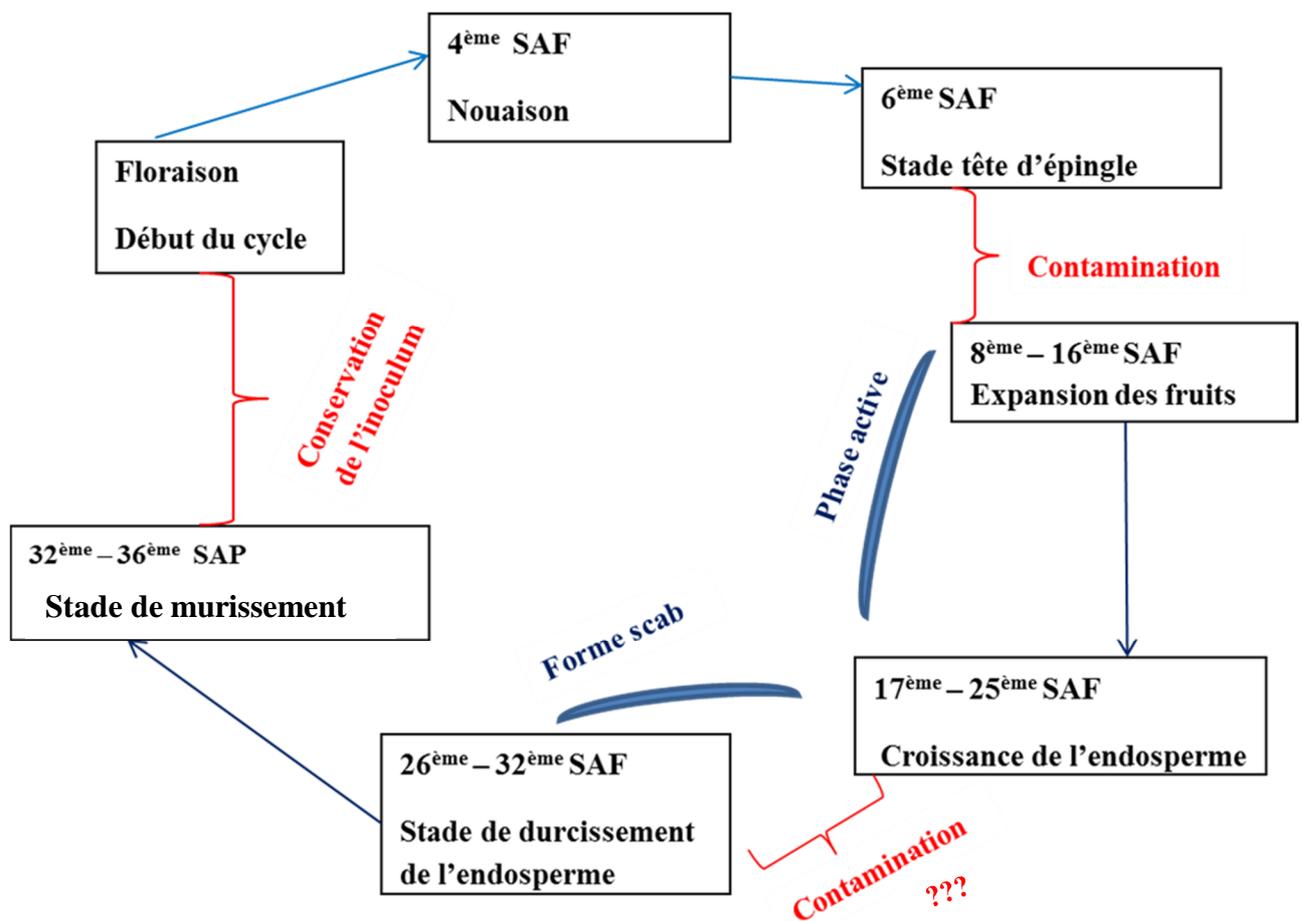


Fig. 7. Cycle de développement simplifié de *Colletotrichum kahawae* (Mouen Bedimo, 2006 ; Garedeu et al., 2017).

Les premières contaminations des baies au *C. kahawae* surviennent vers la 6^{ème} semaine mais aucun symptôme n'est visible. Les symptômes de la maladie commencent à être visibles dès la 8^{ème} SAF. Les baies attaquées noircissent et se momifient. Les fruits momifiés tombent sous l'action du vent ou de la pluie. Certains restent accrochés sur les branches et constituent les sources d'inoculum secondaire à partir desquelles de nouvelles conidies de *C. kahawae* vont se disperser pour contaminer d'autres baies saines (Mouen Bedimo, 2006). Plusieurs cycles de développement de l'agent pathogène se produisent entre la 8^{ème} et la 20^{ème} SAF (Mouen Bedimo, 2006). C'est la phase active de la maladie. A ce stade les tissus hôtes sont très réceptifs et les conditions climatiques sont très favorables pour le développement de la maladie. Au-delà de la 20^{ème} SAF, les baies deviennent peu sensibles à la maladie (Muller, 1980 ; Van Der Graaff, 1992). La sensibilité des baies se stabilise pendant le stade d'endurcissement de l'albumen. La résistance physiologique des baies est restaurée durant la phase de maturation des baies (Waller et al., 2007 ; Mouen Bedimo et al., 2010 ; Garedeu et al., 2017). Les contaminations qui surviennent à ce stade de développement des baies évoluent en lésions superficielles non dommageables pour les graines : c'est la forme dite « Scab » de la maladie (Muller, 1980 ; Masaba and Waller, 1992). La susceptibilité des baies à l'antracnose est aussi

affectée par d'autres facteurs tels que l'altitude, le nombre initial des baies produites par branche et certaines pratiques agronomiques telle que la fertilisation (Vaast et *al.*, 2005; Zuru et *al.*, 2009). Un nombre élevé de baies sur la branche prédispose à un grand niveau d'infection par réduction de la masse sèche des fruits dans les glomérules (Vaast et *al.*, 2005, Garedeu et *al.*, 2017).

I.2.4. Méthodes de lutte contre l'antracnose des baies

Plusieurs méthodes de contrôle de l'antracnose des baies ont été déjà développées pour réduire l'incidence de la maladie.

I.2.4.1. Utilisation des variétés tolérantes

Le contrôle génétique a permis de mettre à la disposition des producteurs des variétés tolérantes : la Java au Cameroun (Bouharmont, 1992) et la Ruiru 11 au Kenya (Van Der Vossen and Walyaro, 1980).

I.2.4.2. Mise en place des opérations agricoles nouvelles

La méthode d'irrigation précoce a été expérimentée avec succès au Cameroun par Muller (1980) ; cette méthode visait d'induire la floraison des arbres pendant la saison sèche au moment où les conditions climatiques ne sont pas favorables au développement de l'agent pathogène. Ce décalage du cycle de production permet aux jeunes fruits de croître en saison sèche et atteindre leur stade de sensibilité maximale dans une période climatique défavorable à l'activité de l'agent pathogène. Elle n'a pas pu être appliquée au niveau des planteurs du fait de leurs coûts et des difficultés de réalisation (Bella Manga, 1999)

La méthode de la récolte sanitaire qui consiste à éliminer les sources d'inoculum primaire (baies momifiées, les baies malades, les branches mortes) après la récolte susceptible de contaminer les baies à la campagne suivante (Muller, 1980 ; Masaba and waller, 1992 ; Hillocks et *al.*, 1999). Elle s'avère fastidieuse et demande une main d'œuvre importante.

I.2.4.3. Association des arbres d'ombrage

L'association des arbres d'ombrage (bananiers, arbres fruitiers) dans la caféière réduit considérablement l'incidence de la maladie (Phiri et *al.*, 2001 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2007b, 2008, 2012a). La canopée des arbres d'ombrage réduit la vitesse des gouttes d'eau avant qu'elles n'atteignent les caféiers (Mouen Bedimo et *al.*, 2012a). Par ailleurs Vaast et *al.* (2006) ont rapporté que les conditions microclimatiques dispensées par les plantes d'ombrage contribuent à retarder la maturation des fruits en décalant la période de grandes sensibilités des baies vers la période de faibles pressions parasitaires. Les plantes d'ombrage constituent une entrave à la dispersion efficace des

conidies, mais constituent un habitat pour certains parasites et ravageurs de cultures (Mouen Bédimo et *al.*, 2007 ; Lòpez-Bravo et *al.*, 2012).

I.2.4.4. Contrôle chimique

De nombreux produits phytosanitaires connus pour leurs propriétés fongicides (à base de cuivre, du soufre) ont déjà été testés contre l'antracnose des baies au Cameroun (Berry et *al.*, 1992 ; Regazzoni et *al.*, 1997) et en Ethiopie (Garedew et *al.*, 2017). Ces produits sont souvent associés au Chlorothalonil, à des fongicides organiques et d'autres appartenant aux familles des dithiocarbamates, benzimidazoles ou des triazoles. Tous ces produits fongicides ont montré un certain contrôle sur l'antracnose des baies (Berry et *al.*, 1992 ; Regazzoni et *al.*, 1997, Garedew et *al.*, 2017). Malgré les coûts élevés, le nombre de traitement varie généralement de 7 à 12 applications par année (Berry et *al.* 1992 ; Mouen bedimo et *al.*, 2012b). Au Kenya, le nombre de traitement est supérieur à 12 par année à cause de la présence de deux populations des baies en permanence sur les arbres (Berry et *al.*, 1992 ; Muller et *al.*, 2004). Le contrôle chimique à lui seul peut compter pour plus de 30 % des coûts de production (Nyoro and Sprey, 1986 ; Masaba and Waller, 1992 ; Me Dowel and Woolfenden, 2003).

I.2.5. Rôles des métabolites primaires (acides aminés, les sucres) et secondaires (les polyphénols et les alcaloïdes) dans la plante

La production et la capacité d'une plante à résister aux conditions défavorables sont dépendantes de son aptitude à partitionner une proportion significative d'assimilats au sein des fruits. L'accumulation des composés de réserve dans les graines est un processus hautement orchestré. Les sucres et les composés azotés confèrent un contrôle réglementaire sur les activités de stockage. Leurs niveaux sont contrôlés pendant le développement des graines (Weber et *al.* 1997, 1998). Ces composés sont impliqués dans la structure, la physiologie des cellules ainsi que celle des tissus. Ils assurent la croissance et la survie de la plante (Calatayud et *al.*, 2013).

I.2.5.1. Rôles des acides aminés et des sucres dans la plante

Les acides aminés sont des produits primaires de l'assimilation de l'azote et sont des précurseurs des protéines et des acides nucléiques (Stewart and Lahrer, 1980). Dans la plupart des plantes, les acides aminés représentent la principale forme de transport de l'azote organique (Rainbied et *al.* 1984 ; Hernández-Sebastià, 2005). Ils sont distribués par le xylème et le phloème à tous les organes où ils peuvent être métabolisés immédiatement ou utilisés pour la synthèse des protéines de réserve dans les tissus. La composition en acides aminés libres des différents organes de la plante dépend de nombreux facteurs : la génétique, les pratiques culturales et l'environnement (Miele et *al.*, 2000). Outre le rôle des acides aminés comme constituants des protéines, ils sont aussi impliqués

dans de nombreuses réactions cellulaires. De ce fait, Ils influencent plusieurs processus physiologiques tels que la croissance, le développement des plantes, le contrôle du pH intracellulaire, la génération de l'énergie métabolique ou du pouvoir redox et la résistance aux stress abiotiques et biotiques (Moe, 2013 ; Watanabe et *al.*, 2013 ; Fagard et *al.*, 2014 ; Galili et *al.*, 2014 ; Pratelli and Pilot, 2014). Certains acides aminés (sérine, proline, leucine et la phénylalanine) agissent comme des molécules de signalisation et sont des précurseurs pour la synthèse des phytohormones ou des métabolites secondaires ayant un rôle de signalisation dans les plantes soumises à des conditions de stress (Hannah et *al.*, 2010 ; Timm et *al.*, 2012 ; Häusler et *al.*, 2014 ; Ros et *al.*, 2014) (Fig. 8). C'est le cas des glucosinolates (produits antimicrobiens) qui peuvent être synthétisés à partir de la méthionine, l'alanine, les acides aminés des chaînes branchées et aromatiques (Halkier and Gershenzon, 2006) ; du L- pépicolate qui est un régulateur impliqué dans l'induction de l'immunité des plantes, synthétisé à partir de la lysine (Hildebrandt et *al.*, 2015). Au cours de l'infection de *Medicago truncatula* par *Colletotrichum trifolli*, l'un des premiers composés accumulés est la phytoalexine (Torregrosa et *al.*, 2004 ; Silva et *al.*, 2006). Les phytoalexines sont des composés antimicrobiens synthétisés à travers la mobilisation des enzymes de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes à partir de la phénylalanine. Par ailleurs, le tryptophane, la lysine, l'aspartate, la tyrosine et l'arginine sont utilisés comme substrats dans les voies de biosynthèse des alcaloïdes (Elkholli, 2017). Chez le soja (*Glycine max*), les acides aminés principalement l'asparagine et la glycine sont les premières sources de carbone et d'azote disponibles pour le développement des graines (Rainbied et *al.*, 1984 ; Hernández-Sebastià, 2005). Par ailleurs, le rôle des acides aminés protéiques et non protéiques dans l'induction des mécanismes de résistance chez les plantes a été rapporté (Vahideh Hasabi et *al.*, 2004). La méthionine est impliquée dans la résistance de *Xanthomonas citri subsp vis-à-vis de Citrus Bactérial Canker*. Elle induit significativement la résistance, diminue la sévérité de la maladie et la surface des lésions nécrotiques chez l'hôte.

Les sucres représentent la principale source d'énergie des plantes. Ils sont indispensables comme élément de base dans la constitution des réserves (amidon) (Fernie et *al.*, 2002), des parois (cellulose), comme squelette carboné dans la synthèse des métabolites (acides aminés ou métabolites secondaires) (Fig. 8) ou comme molécules signales (Lalonde et *al.*, 2003).

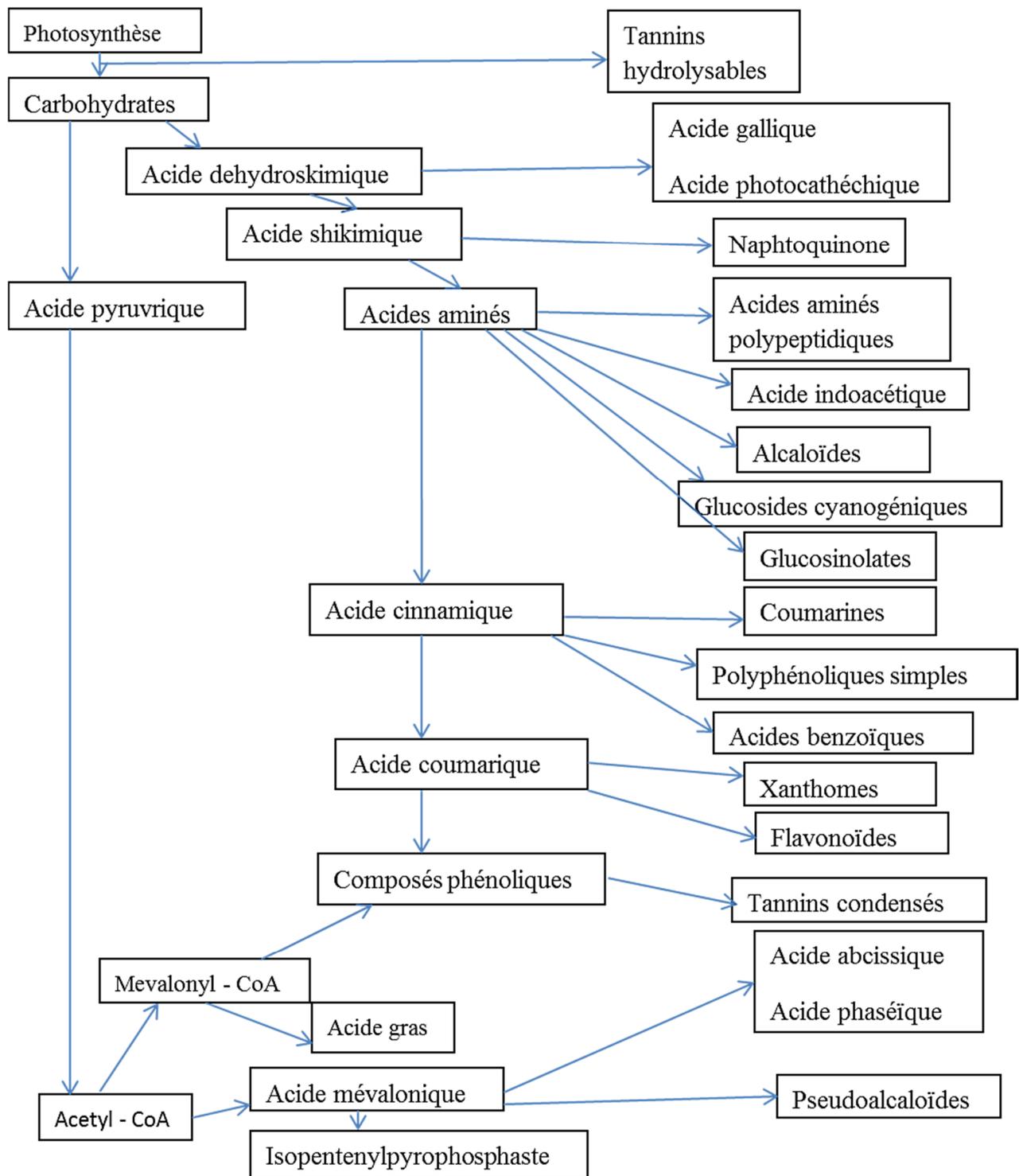


Fig. 8. Principales voies de biosynthèse des composés secondaires chez les plantes supérieures (Schoonhoven et al., 2005).

La répartition du carbone dans tous les organes de la plante est fortement dépendante de l'activité des organes puits (racines, tiges, fleurs, les graines ou les feuilles en développement) de la plante. La capacité d'un organe puit à accumuler les assimilats carbonés est fonction de sa force de puit. Celle-ci est influencée par le stade de développement ou les facteurs environnementaux

auxquels la plante peut être soumise (Wardlaw, 1990). L'activité d'un puit se mesure par sa capacité à prélever les photoassimilats en provenance du phloème mais aussi à mobiliser ces derniers (Walswinkel, 1984). Tous les organismes vivants utilisent les voies de signalisation par les sucres solubles (Derridj et al., 2011). La plante les met en œuvre pour intégrer les éléments internes et externes, et maintenir à niveau constant certaines caractéristiques nutritionnelles. Ceci afin de gérer les processus hormonaux de croissance et de développement ; et pour articuler les réponses aux stress biotiques et/ou abiotiques (Koch, 2004 ; Rosa et al., 2009). Le fructose agit sur la germination du champignon *Botrytis cinerea* par des voies de signalisation (Doehlemann et al., 2005). Il a été rapporté que les applications exogènes foliaires des infra-doses de sucres (glucose, fructose, saccharose, raffinose) permet d'augmenter la défense des végétaux contre certains herbivores et d'autres bioagresseurs des plantes tels que les chenilles de lépidoptères ravageurs (pyrale, carpocapse), des insectes piqueurs suceurs (thrips, cicadelle), des oomycètes (mildiou de la vigne). La stimulation de voies de signalisation de systèmes de défense (acides jasmoniques et protéines de résistances) a été observée sur la tomate 6 heures après application des sucres solubles (Arnault et al., 2015). Herbers et al. (1996) ont rapporté que les hexoses (sucrose) induisent l'expression des gènes incluant les gènes de résistance qui déterminent la production des peroxydases et autres protéines de résistances (PR).

1.2.5.2. Rôles des polyphénols et des alcaloïdes dans la plante

Chez les plantes supérieures, les acides aminés aromatiques (la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane) sont les précurseurs d'un large éventail de métabolites secondaires et de nombreux changements se produisent dans la séquence métabolique au cours de la vie de la plante (Hermann, 1995). La modulation du flux de carbone est nécessaire pour répondre aux variations de la demande en métabolites primaires et secondaires (Weaver and Herrmann, 1997). Les profils d'expression des gènes de la voie d'acide shikimique (Fig. 8) varient, d'un tissu à l'autre, au cours du développement et en réponse à des stimuli environnementaux. La production des composés phénoliques via l'induction simultanée des enzymes de la voie de l'acide shikimique et celles du métabolisme des phénylpropanoïdes constituent une réponse générale aux stress (Görlach et al., 1995). Les phénylpropanoïdes et la lignine phénylpropanoïde constituent une large gamme de substances structurales cycliques possédant de nombreuses fonctions physiologiques. Ils sont formés à la suite de la désamination de l'acide aminé phénylalanine par l'enzyme phénylalanine – ammonia - lyase (PAL) (Hans – Water and Birgit, 2011). Le PAL catalyse les réactions de rupture de liaison carbone-azote. Il participe à cinq voies métaboliques : le métabolisme de la tyrosine, de la phénylalanine, de la biosynthèse des phénylpropanoïdes et des alcaloïdes (Halpin, 2004 ; Hans – Water and Birgit, 2011). Une activité tyrosine ammonia - lyase (TAL) a été découverte chez les graminées. Chez le

maïs, il a été découvert *in vitro* que la PAL possède une activité TAL (Rösler et *al.*, 1997 ; Whetten et *al.*, 1998). Cette réaction de désamination de la tyrosine permet d'aboutir directement à l'acide coumarique sans passer par l'acide cinnamique dans la voie de l'acide shikimique. Les plantes utilisent également la voie de biosynthèse du tryptophane pour produire les précurseurs de nombreux métabolites secondaires tels que l'auxine, les alcaloïdes indoliques, les phytoalexines et les glucosinolates indoliques.

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans la plante et ne sont pas toujours nécessaires à la survie de cette dernière. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes, les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires des végétaux (Boizot and Charpentier, 2006). Ils y jouent différents rôles dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Le café est essentiellement constitué des méthylxanthines, des acides hydroxycinnamiques et leurs dérivés (Farah and Donangelo, 2006). Les méthylxanthines sont formés à partir des nucléotides puriques (Astrihara and Grozier, 1999). Les plus connus sont la caféine (1, 2, 7 - triméthylxantine) et la théobromine (3, 7 - diméthylxantine).

La caféine est l'alcaloïde purique le plus important dans le café. Plusieurs auteurs ont émis des hypothèses sur le rôle écologique de la caféine dans la plante. La théorie de la défense chimique avance qu'une forte concentration en caféine dans les jeunes feuilles, les fruits et les bourgeons floraux des espèces végétales joue le rôle de défense de la plante et protège les jeunes tissus contre les organismes pathogènes et les herbivores (Uefuji et *al.*, 2005 ; Kim et *al.*, 2006 ; Kim and Sano, 2008). La théorie de l'activité allélopathique ou fonction autotoxique qui suppose que la caféine des grains de café et des feuilles mortes de la litière inhibe la germination des graines autour de la plante mère (Anaya et *al.*, 2006).

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils dérivent de la voie de l'acide shikimique qui conduit à la formation des oses, aux acides aromatiques (phénylalanine, tyrosine) et par désamination de ces derniers aux acides cinnamiques et leurs dérivés : acides benzoïques, acétophénones, lignanes, lignines et coumarines (Bruneton, 1993 ; Benhammou, 2011) (Fig. 9). Les composés phénoliques sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racine, tige, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines, la maturation des fruits et la défense des plantes contre les agents pathogènes (Nathalie Boizot and charpentier, 2006). Deux groupes se distinguent classiquement : des composés non flavonoïdes et des composés flavonoïdes basés sur un squelette en C6-C3-C6 (Singleton and Esau, 1969) (Tableau V). Les acides hydroxycinnamiques constituent l'un des

groupes les plus diversifiés des composés phénoliques. Les acides chlorogéniques sont les plus répandus des esters d'acide hydroxycinnamique dans les végétaux. Ils sont souvent considérés comme des formes de stockage des dérivés d'acide cinnamique et apparaissent comme un composé intermédiaire de la voie de biosynthèse de la lignine (Schroch et *al.*, 2001). Les acides phénoliques s'accumulent dans les grains de café au fur et à mesure de leur maturation (Clifford and Kazi, 1987). Ils assurent la résistance des fruits et de la plante face aux stress environnementaux, biologiques et mécaniques (Macheix and Billot, 1990). Les teneurs élevées en acide chlorogénique ont été observées et corrélées avec des grains défectueux ou immatures par rapport aux grains sains (Farah and Donangelo, 2006). Certains auteurs ont rapporté que la préexistence d'acide chlorogénique dans un végétal confère à ce dernier une immunité vis-à-vis des attaques bactériennes et cryptogamiques ou virales (Uritani, 1961 ; Brzozowska et *al.* 1978). Ceci s'explique soit par la préexistence d'un composé toxique pour un agent pathogène, soit à la formation de telles substances en réaction à une infection. C'est le cas de l'acide protocatéchique d'une variété d'oignon contre *Collectotrichum* et *Diplodia*. Chez le café il a été rapporté qu'il existe une corrélation positive entre la résistance à la trachéomyose et la teneur en acide chlorogénique du bois de la tige (Meiffren, 1961). Certains auteurs ont rapporté que la résistance du *C. arabica* vis-à-vis de *C. kahawae* résulte des mécanismes constitutifs et induits s'opérant à différents stades de la pathogénicité (Gichuru, 1997). D'autres ont suggéré un rôle possible des composés antifongiques préformés au niveau de la cuticule dans la résistance à l'antracnose des baies (Silva et *al.*, 2006). Des études histologiques ont révélé que pour certains génotypes de caféier, *C. ramosa* et *C. canephora* la résistance était caractérisée par la réduction de la croissance des hyphes, associée à la mort de la cellule hôte hypersensible et l'accumulation des composés phénoliques dans les parois cellulaires et dans le contenu cytoplasmique ; suivi d'un dépôt de la callose autour des hyphes intracellulaires (Loureino et *al.*, 2012). Ces auteurs ont également rapporté que chez les génotypes résistants du caféier, des séquences de réponses induites par l'agent pathogène telles que la mort de la cellule hôte hypersensible et l'accumulation des composés phénoliques (flavonoïdes, acides hydrocinnamique), la lignification de la paroi cellulaire étaient étroitement associées avec la réduction de la croissance du champignon. Chez le raisin, il a été démontré que certains acides phénols inhibent la croissance de *Botrytis cinera* (Nyerges et *al.*, 1975 ; Carole Lambert, 2011). Les acides phénols semblent jouer un rôle dans les baies du raisin avant la véraison (Keller, 2002 ; Pezet et *al.*, 2003).

Les acides benzoïques et hydroxycinnamiques sont les voies de biosynthèse des phénylpropanoïdes, de la lignine et des flavonoïdes (Dixon and Paiva, 1995). Les flavonoïdes sont les plus représentatifs des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons telles le thé, le vin rouge et d'autres parties de la plante (Tsimogiannins and Oreopoulou,

2006). Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photosynthétiques (Mukohata et *al.*, 1978), dans la régulation des gènes et dans le métabolisme de croissance (Havsteen, 2002).

Tableau V. Les polyphénols des végétaux (Farah & Donangelo, 2006).

Classes et sous classes	Exemples de composés spécifiques
Composés non flavonoïdes	
Acides phénoliques ; acides benzoïques	Acides galliques ; acides protocatéchiques ; acides P-hydroxybenzoïques
Acide hydrocinnamique	Acide coumarique ; acide caféique ; acide ferulique
Tannins hydrolysables	Pentagalloyglucose
Stilbène	Resveratrol
Lignanes	Scoisolariciresinol ; matarésinol ; lariciresinol ; pinoresinol
Composés flavonoïdes	
flavanols	Kaempferol ; quercitine ; myricétine ;
Flavones	Agigenine ; luteoline
Flavanones	Aaringenine ; herperetine
Flavanols	Catéchine ; gallo catechine ; épicatechine
Anthocyanidines	Pelargonidine ; cyanidine ; malrudine
Tannins condensés ou proanthocyanidines	Procyanidine trimérique ; prodelphinidines
Isoflavones	Daidzéine ; genistéine ; glycitéine

I.2.6. Influence de facteurs environnementaux (altitude, type d'ombrage) sur les métabolismes du café.

Les conditions environnementales modulent de nombreux processus métaboliques qui à terme, régulent la capacité de la plante à tolérer certains agents pathogènes (Eastburn et *al.*, 2011). Les changements dans le ratio biosynthèse/dégradation des métabolites du café (caféine, acide chlorogénique) peuvent être influencés par l'altitude (Worku et *al.*, 2018). La température moyenne de l'air durant le développement des graines contrôle le taux de métabolisme et la biosynthèse-biodégradation dans les baies (Joët et *al.*, 2009, 2010). L'effet de l'ombre sur la composition biochimique des fruits de caféier est controversé. Geromel et *al.* (2008) ont montré que les baies cultivées à l'ombre présentaient une réduction des teneurs en lipides et en saccharose par rapport à celles exposées en plein soleil. Les mêmes auteurs ont indiqué que les teneurs en acide

chlorogénique, en protéines, en tanin, en trigonelline et en caféine ne différaient pas significativement entre les régimes de lumière. La haute altitude ou l'ombre provoque généralement une diminution de la température ambiante réduisant le stress induit par la chaleur sur les plantes et augmente le ratio feuilles-fruits et par conséquent le taux net de photosynthèse et le prolongement de la période de maturation des baies (DaMatta and Ramalho, 2006 ; Vaast et *al.*, 2006). Dans cette situation, il y a plus d'apport de glucides aux baies en développement et de temps pour leur remplissage. Cheng et *al.* (2016) ont également montré la contribution du génotype et de l'environnement dans le métabolisme des végétaux.



Chapitre II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Sites d'étude

Cette étude a été conduite au sein des plantations expérimentales de Foubot dans le département du Noun, région de l'Ouest Cameroun (1100 mètres d'altitude, 5° 30' 00'' latitude Nord et 10° 38' 00'' longitude Est) (Fig. 9) et de Santa dans le département de Mezen, région du Nord – Ouest Cameroun (1800 mètres d'altitude, 5° 50' 00'' latitude Nord et 10° 09' 00'' longitude Est) (Fig. 10). Une étude en milieu réel a été également menée à Kouoptamo dans le département du Noun, région de l'Ouest Cameroun (1200 m d'altitude entre 24° 18' 00'' latitude Nord et 54° 18' 00'' longitude Ouest) (Fig. 11).

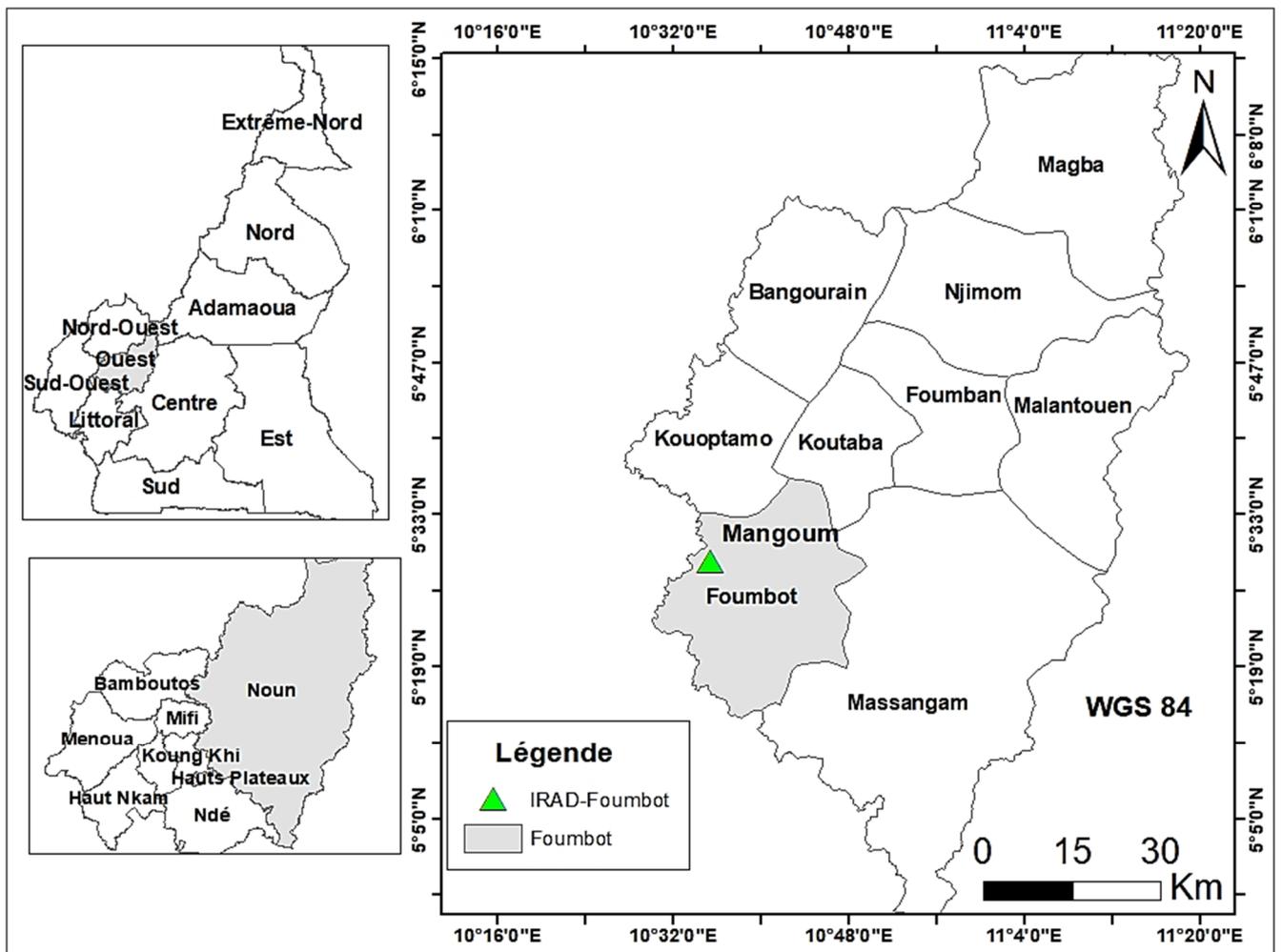


Fig. 9. Localisation du site d'étude de Foubot.

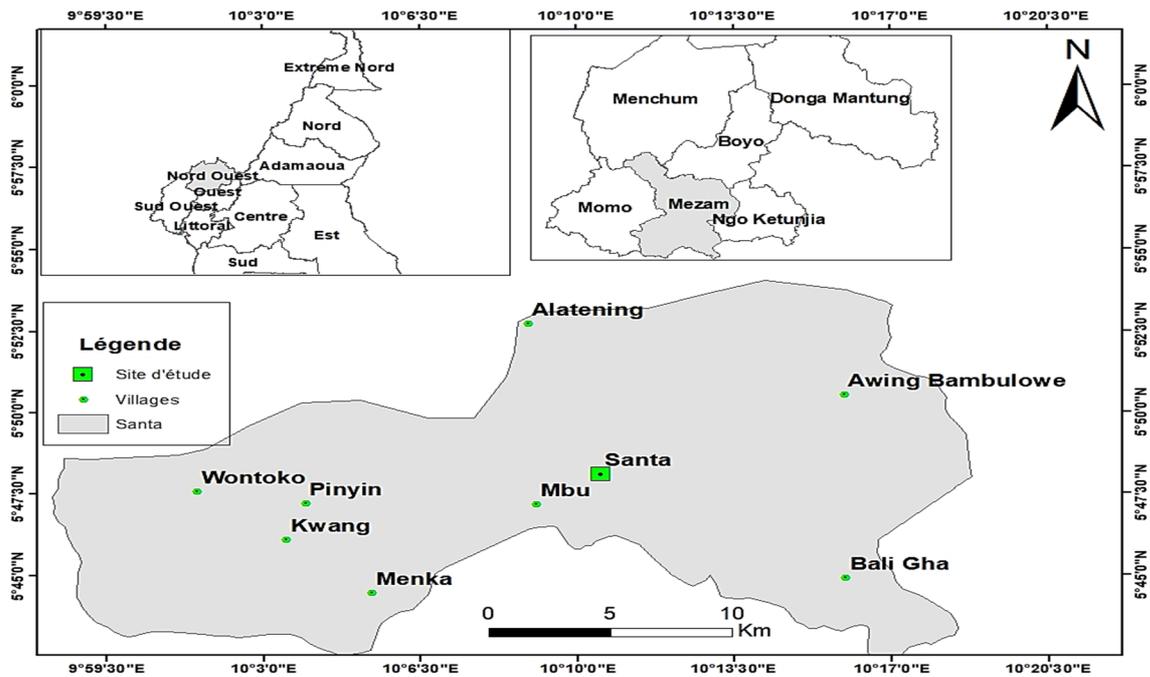


Fig. 10. Localisation du site d'étude de Santa.

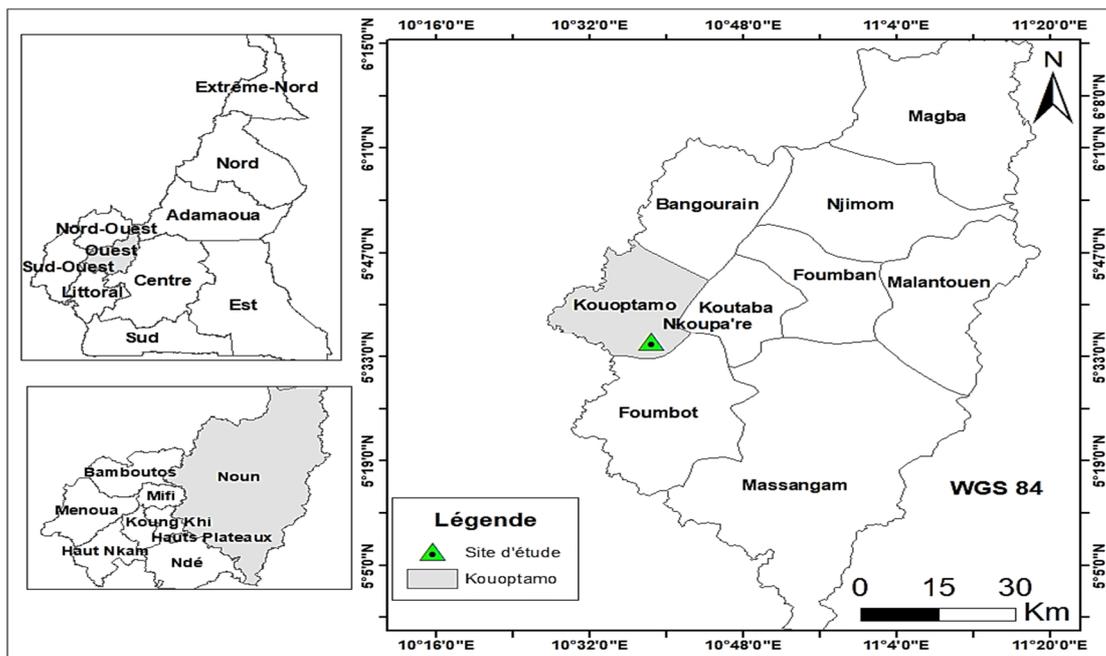


Fig. 11. Localisation du site d'étude de Kouoptamo.

II.1.2. Matériel végétal

Les variétés Java et Caturra connues pour leur tolérance et leur sensibilité respectives à l'antracnose des baies (Bouharmont 1992 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2008) ont été utilisées dans cette étude (Fig. 12 A et B). Les caféiers cultivés à Foubot et Santa étaient âgés de douze (12) ans et ceux cultivés à Kouoptamo étaient âgés de onze (11) ans. Les baies prélevées sur des caféiers au stade d'expansion des baies (phase active de l'antracnose des baies) à la 8^{ème}, 10^{ème}, 12^{ème}, 14^{ème} et

16^{ème} SAF ont été lyophilisées et stockées à -20 °C dans un congélateur. Ces baies ont été utilisées pour l'analyse des acides aminés et des métabolites secondaires (Fig. 12 C et D). Les baies vertes prélevées à la 22^{ème} et à la 25^{ème} SAF de façon aléatoire sur des caféiers sélectionnés ont été utilisées pour les inoculations artificielles *in vitro*. Les baies malades prélevées en champs (Fig. 12 F) ont été utilisées pour l'isolement de *C. kahawae*. Les baies inoculées infectées (Fig. 12 E) ou non *in vitro* ont été utilisées pour l'analyse des sucres solubles. En 2016, la floraison a eu lieu dans la semaine du 3 au 11 mars tandis qu'en 2017 elle avait eu lieu dans la semaine du 19 au 28 mars.



Fig. 12. Matériel végétal : (A et B) Baies vertes accrochées sur les branches de caféiers au stade "tête d'épingle" et à la 16^{ème} SAF ; (C et D) baies vertes de la 8^{ème} et de la 10^{ème} SAF respectivement ; (E) Baies inoculées infectées ; (F) baies malades prélevées en champs (photos prises par Kacko en 2016). Barre = 0,8 cm (A) ; 2 cm (B) ; 0,6 (D) ; 1,4 (E).

II.1.3. Matériel fongique

Le matériel fongique était des isolats purifiés de *C. kahawae* (Fig. 13 A et B) isolées à partir des baies vertes infectées des caféiers Arabica (Fig.12 F) prélevées dans la collection caféière à la station IRAD de Foumbot.

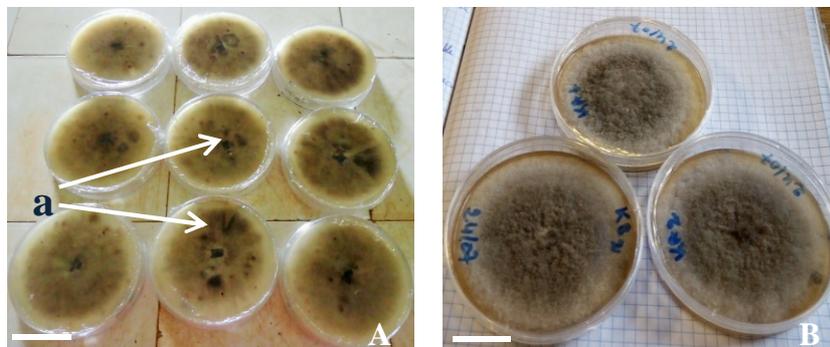


Fig. 13. Matériel fongique : (A et B) isolats de *C. kahawae* ; (a) acervules (photos prises par kacko en 2018). Barre = 5.6 cm (A) ; 2.64 cm (B).

II.2. Méthodes

II.2.1. Evaluation de l'influence des facteurs environnementaux sur l'épidémiologie de l'antracnose des baies du caféier *in situ*.

II.2.1.1. Dispositif du suivi épidémiologique

Cette étude a été menée à Foumbot et à Santa. Trente-deux caféiers de la variété Java et Caturra ont été au préalable identifiés et marqués par des pancartes numérotées à Foumbot et à Santa. Ces caféiers étaient répartis aléatoirement dans une parcelle comportant des lignes alternées de chaque variété. A Santa, seuls les caféiers Java (tolérantes) ont été étudiés à cause de l'absence de la variété Caturra dans les plantations, la variété Java étant la seule variété homologuée actuellement. Pour chacun de ces sites et pour chacune des variétés, la moitié des caféiers était sous un ombrage artificiel, arbre par arbre, établi à l'aide d'une toile d'ombrière noire, laissant passer 50 % de lumière (Tildnnel EC 50 %, Tilden Industries U.K.) (Fig. 14. A) et l'autre moitié était localisée en plein soleil (Fig. 14. B). L'unité expérimentale de la présente étude est constituée d'un caféier. Trois caféiers ont été réservés pour chaque variété et dans chaque condition expérimentale pour le prélèvement des baies destinées aux analyses ultérieures des acides aminés, des métabolites secondaires et pour les inoculations artificielles sur baies détachées. Le dispositif expérimental de suivi épidémiologique a consisté en :

(1) - deux facteurs étudiés qui sont les variétés (Java et Caturra) et les types d'ombrage (50 % d'éclaircissement et le plein soleil) ;

(2) - Seize répétitions pour la variété Java située à 1100 mètres d'altitude (Foumbot) et à 1800 mètres d'altitude (Santa) et seize (16) répétitions pour la variété Caturra située à 1100 mètres d'altitude.



Fig. 14. Dispositif expérimental parcellaire : (A) caféier sous une toile d'ombrière noire ; (B) caféier exposé en plein soleil (photos prises par Kacko en 2016). Barre = 0.5 cm.

II.2.1.2. Observations et évaluation des pertes dues à la maladie

Les observations hebdomadaires ont été effectuées pendant deux années consécutives (2016 et 2017), sur trois branches disposées à la partie haute, médiane et basse de chacun des caféiers étudiés suivant la méthode décrite par Mouen Bedimo et *al.* (2008). Sur la variété Java, les branches étaient disposées en moyenne respectivement à 1,60 m, 1,24 m et 0,82 m de hauteur à partir du sol. En ce qui concerne la variété Caturra, les branches étaient disposées en moyenne à 1,53 m, 1,01 m et 0,52 m de hauteur à partir du sol respectivement pour la branche supérieure, médiane et basse. Ces branches ont été marquées dès la deuxième SAF. En 2016 la période de la floraison était située entre le 3 et le 12 Mars tandis qu'en 2017, elle était située entre le 19 et le 28 Mars. Les cerises issues des floraisons suivantes ont été éliminées afin d'avoir des baies au même stade physiologique. Les observations épidémiologiques ont été effectuées entre la 6^{ème} SAF (15 Avril 2016 et le 8 Mai 2017) et la 27^{ème} SAF (19 Septembre 2016 et 9 Octobre 2017). Elles ont consisté au comptage du nombre total de baies sur la branche (B_{tot}), de celui du nombre de nouvelles baies infectées (B_{inf}) et du nombre d'anciennes baies malades (B_{marq}). Les baies nouvellement attaquées ont été marquées (Fig. 15) afin d'éviter de les comptabiliser lors des observations ultérieures.

L'ensemble des pertes ont été exprimées par le pourcentage de pertes totales (P_{perte}) enregistrées au cours des observations par la formule :

$$P_{perte} = B_{tot_1} - \frac{B_{tot_n} - B_{marq_n} - B_{inf_n}}{B_{tot_1}}$$

où : B_{tot_1} est le nombre total de baies à la première semaine d'observation ; $(B_{tot_n} - B_{marq_n} - B_{inf_n})$ est le nombre de baies saines à la dernière semaine d'observation ; B_{marq_n} est le nombre de baies marquées à la dernière semaine d'observation et B_{inf_n} est le nombre de nouvelles baies malades à la dernière semaine d'observation.

Le pourcentage des baies malades (PBinf) était estimé par le rapport entre la somme des baies infectées comptabilisées pendant toutes les semaines d'observation ($\sum B_{inf_{1-n}}$) et le nombre initial des baies (B_{tot_1}) par la formule : $PBinf = ((\sum B_{inf_{1-n}}) / B_{tot_1}) \times 100$

Les pertes non dues à l'antracnose des baies ou les chutes physiologiques (Pchute) sont la différence entre les pertes totales (Pperte) et les pertes dues à l'antracnose des baies (PBinf). $Pchute = Pperte - PBinf$. Les données climatiques (température, pluviométrie) ont été enregistrées pendant toutes les semaines d'observation à l'aide d'une station météorologique installée dans la plantation de Kouoptamo en milieu réel.



Fig. 15. Baies infectées marquées à l'aide d'un vernis de couleur blanche (photo prise par Kacko en 2016). Barre = 1,25 cm.

II.2.2. Evaluation de l'influence des situations culturales, du génotype et des stades ontologiques des baies sur le profil des métabolites primaires et secondaires

II.2.2.1. Analyse des acides aminés libres par chromatographie liquide haute performance en phase inverse (RP-HPLC)

II.2.2.1.1. Extraction des acides aminés libres

L'extraction des acides aminés libres a été réalisée suivant la méthode décrite par Roshuis et *al.* (2006). Les baies lyophilisées et broyées (100 mg) ont été pulvérisées et agitées à 4 °C pendant 1 heure avec 200 mg de polyvinyl-polypyrrolidone (PVPP) dilué dans 10 ml d'eau distillée. Le pH a été ajusté à 2,5 après dilution avec de l'acide trifluoroacétique aqueux à 10 %. L'homogénat est centrifugé pendant 10 minutes à 5 000 tr/min. Le surnageant était filtré à travers un papier filtre de

0,45 µl (Multoclear, Chromatographie CS). Environ 30 µl de chaque échantillon ont été lyophilisés pendant 1 heure à -20 °C, et à 0,05 mbar directement dans le flacon et conservés à -20 °C jusqu'à l'analyse.

II.2.2.1.2. Analyse chromatographique des acides aminés libres

Les acides aminés libres ont été analysés suivant la méthode décrite par Rohsius et *al.* (2006). Les acides aminés libres ont été dérivatisés avec du O-phthalaldéhyde (OPA) avant l'analyse chromatographique. La séparation chromatographique a été réalisée sur une colonne LiChroCART 250 - 4 (Merck) muni d'une pré-colonne LiChrospher 100 RP-18 (5 µm) (Merck). Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un gradient binaire en phase inverse [A: 1,6 l de solution d'acétate de sodium / acide acétique glacial (50 mmol l⁻¹; pH 6,2), 50 ml de MeOH (Lichrosolv®, HPLC gradient grade), 20 ml de tétrahydrofurane (Lichrosolv®) ; HPLC gradient grade); B: 200 ml de solution d'acétate de sodium / acide acétique glacial (50 mmol l⁻¹; pH 6,2), 800 ml de MeOH (Lichrosolv®, HPLC gradient grade)] à un débit de 1,3 ml min⁻¹. 20 µl d'extrait dérivatisés a été injecté dans la colonne et le processus de dérivatisation a été stoppé après 2 min par injection de l'éluant. Les acides aminés ont été détectés par spectrophotométrie à fluorescence. (Hitachi F-1050 $\lambda_{ex} = 334$ nm, $\lambda_{em} = 425$ nm). La température de la colonne a été de 30 °C. L'échantillonneur automatique provenant de Merck-Hitachi AS-4000. Le dégazeur de solution est constitué du Degassex DG-4400 de Phenomenex. La quantification est effectuée via la surface de pic des chromatogrammes à partir de mélanges standard contenant 1 à 10 pmol µl⁻¹ de chaque acide aminé.

II.2.2.2. Analyses chromatographiques des extraits contenant les métabolites secondaires

Tous les solvants utilisés pour les différentes analyses sont obtenus à partir de Merck (Darmstadt, Germany). L'eau est purifiée dans un système de purification Milli-Q water (Millipore, Bedford, MA, USA). L'épicatchine est obtenu à partir de Sigma. La catéchine était de Aldrich et Fluka alors que la caféine était de Merck.

II.2.2.2.1 Extraction des composés phénoliques

Les polyphénols et les alcaloïdes ont été extraits au méthanol suivant la méthode décrite par Stoll (2010) utilisant le solvant acétone/eau 60 :40 (v/v). 500 mg de matériel végétal lyophilisé étaient broyés à l'aide d'un broyeur de type Retsch kroll-or MM 200 (Germany). La poudre obtenue est mélangée dans un solvant acétone/eau à l'aide d'un mixer Ultra-TuraxT25 (Janke et Kundel IKA®). Les composés phénoliques ont été extraits par agitation constante de mélange d'échantillon en 3 temps sur glace à 5000 rpm pendant 15 min. Pour chaque échantillon, l'extraction a été effectuée en 3 temps et ces extraits ont été mélangés et concentrés par évaporation rotatoire. Les composés polyphénoliques séchés ont été remis en suspension dans 1,5 ml de méthanol pur (Lichrosolv, Merck)

et filtrés avec un papier Millipore de 045 µm. L'extrait polyphénolique pur a été stocké à -20 °C jusqu'à l'analyse par HPLC.

II.2.2.2.2. Analyses chromatographiques des extraits des composés phénoliques

Les métabolites secondaires ont été analysés suivant la méthode de Niemenak et *al.* (2008). Les analyses chromatographiques sont effectuées sur un système Waters HPLC équipé d'un injecteur automatique (A2-200 automatic injector), Knauer HPLC pump 64, Knauer HPLC programme 50 solvent controller, Waters 996 Photo – diode Detector (PDA) avec un logiciel Millennium™ 3.2 (Millipore corporation, Milford, MA, USA). Les polyphénols ont été séparés sur un LicroCart 250-4 octadecylsilyl (ODS) C18, 5 µm particle RP-18 (5 µm) column (Merck) à 26 °C. La colonne de garde consistait en un LicroCart 4-4 Lichrospher 100 RP-18 (5 µm) (Merck) at 26°C. La phase binaire mobile est constituée d'un mélange de 2 % d'acide acétique dans l'eau (A) et un mélange acetonitrile - eau – acide acétique concentré (4:9:1 v/v/v) (B). 20 µl d'échantillon sont injectés dans la colonne. Les polyphénols ont été détectés avec un PDA detector à 280 nm. L'identification de chaque pic était confirmée par comparaison du temps de rétention et de coélution avec les standards de catechin-hydrate, épicatechine, caféine, d'acide chlorogénique

II.2.3. Evaluation de la teneur en sucres solubles des baies infectées *in vitro* chez les caféiers soumis à différents modes d'éclairage *in situ*.

II.2.3.1. Préparation de l'inoculum et inoculation sur baies détachées *in vitro*

Le protocole utilisé dans ce cadre est celui défini par Mouen Bédimo et *al.* (2008). L'agent pathogène, *Colletotricum kahawae* utilisé est obtenu à partir des baies infectées des caféiers Caturra de la collection variétale de la station IRAD de Foubot. Il est purifié à partir d'une culture monoconidie, en boîte de Pétri réalisée sur milieu PDA. Cet isolat est caractérisé par une croissance radiale lente et un mycélium aérien laineux de couleur gris foncé. Sa pathogénicité a été préalablement testée sur les baies détachées de la variété Caturra avant son utilisation pour les inoculations artificielles proprement dites.

L'inoculum a consisté en un filtrat de la suspension des conidies obtenue à partir du grattage des cultures pures de cet isolat imbibées d'eau distillée stérile. Il a été calibré à l'aide d'un hématimètre (cellule de Malassez) à 10⁶ conidies par ml avant l'inoculation. Les baies prélevées sur chaque caféier ont été réparties dans cinq boîtes de Pétri tapissées d'un papier buvard imbibé d'eau distillée stérile, à raison de 25 baies par boîte (Fig. 16). Une goutte de 10 µl de l'inoculum a été déposée sur chacune de ces baies à l'aide d'une micropipette. Les baies ont été ensuite mises en incubation dans un phytotron réglé à une température de 21 °C et à une photopériode 12 / 12.

Les principaux facteurs étudiés étaient :

- l'année : deux séries d'inoculations artificielles ont été effectuées en 2016 et 2018 ;
- la variété : les caféiers Java et Caturra ;
- l'âge des baies lors de l'inoculation artificielle : Les baies étaient prélevées à la 22^{ème} et 25^{ème} SAF ;
- le type d'éclairage du caféier : les caféiers exposés en plein soleil et sous ombrage artificiel.

Les observations ont été menées pendant 10 jours, 24 heures après l'inoculation. Les observations journalières ont consisté à compter le nombre total de baies infectées dans chaque boîte de Pétri.



Fig. 16. Baies inoculées réparties dans les boîtes de Pétri (photo prise par Kacko en 2016). Barre = 2,43 cm.

II.2.3.2. Evaluation de l'antracnose des baies *in vitro*

Le taux d'infection des baies (T_{xinf}) par boîte de Pétri a été calculé selon la formule de Mouen Bedimo *et al.* (2008) : $T_{xinf} = B_{inf} \times 100/N$. B_{inf} Représente le nombre total des baies malades comptabilisé dans les boîtes de Pétri au 10^{ème} jour d'observation. N est le nombre total des baies inoculées (N = 25).

II.2.3.3. Analyse des sucres par chromatographie liquide haute performance avec indice de réfraction (RI – HPLC)

L'analyse des sucres solubles a été effectuée suivant la méthode décrite par Tihomirova *et al.* (2016). Le grain de café lyophilisé (1 g) a été broyé dans un homogénéisateur en acier inoxydable à 3 billes (MN200, Retsch, Haan, Allemagne) à une fréquence de 1/25 s pendant 10 min et avec un excès d'hexane. L'homogénat a été pulvérisé avec 25 ml d'éther de pétrole sous Buchner à vide puis séché à température ambiante. Après séchage sous vide, 100 mg de la poudre dégraissée ont été utilisés pour l'extraction avec 1 ml d'eau ultrapure (type I, ELGA purelab, High Wycombe, Royaume-Uni). La suspension a été homogénéisée à l'aide d'un vortex pendant 20 s et incubée sur un Thermomixer confort (Eppendorf, Hambourg, Allemagne) pendant 1 heure à 1300 tr/min et à 80 °C. Après une centrifugation pendant 10 minutes à 16060 g (Biofuge pico, Heraeus, Hanau, Allemagne), 500 µl du surnageant ont été recueillis et 300 mg de PVPP ainsi que 1,5 ml d'eau ultrapure y ont été ajoutées. La suspension a été soumise à un bain d'eau ultrasonique Elmasonic S30H (Elma, Singen, Allemagne) pendant 10 min et centrifugée pendant 30 min à 4010 g. Le surnageant a été filtré à

travers un filtre à membrane de seringue de 0,2 µm (PES Perfect Flow, Wicom, Heppenheim, Allemagne) et était soumis à une analyse HPLC.

Les sucres ont été séparés par chromatographie d'échange de ligands sur une colonne Rezex RCM-Monosaccharide Ca²⁺ avec une réticulation à 8 % (Phenomenex, Torrance, USA). Un échantillon de 10 µl a été séparé à 85 °C utilisant un débit de 0,6 ml/min d'eau ultrapure. Un ensemble de cinq standards de 0,02 à 0,1 mg/ml a été appliqué pour la quantification. Le système HPLC utilisé a consisté en un dégazeur ERC 3512 (Erma, Tokyo), un échantillonneur automatique AS-2000A (Merck), une pompe intelligente L-6200 (Hitachi), un four à colonne L-7350D (Darmstadt) et un détecteur d'indice de réfraction L-7490 (Allemagne) (tous de Merck Hitachi, Darmstadt, Allemagne). Le logiciel D-7000 HPLC-System-Management HSM version 4.1 a été utilisé pour enregistrer les données.

II.2.4. Évaluation de l'effet des fongicides et la position des baies par rapport aux niveaux des branches sur l'antracnose des baies

II.2.4.1. Dispositif du suivi épidémiologique de la maladie

Une parcelle de 1,536 ha a été délimitée au sein d'une plantation de 65 hectares constituée de caféiers Arabica, variété Java, sur le site de Kouoptamo a été retenue dans ce travail. Cette parcelle homogène était constituée des arbres d'ombrage à base des légumineuses (*Leucaena glauca*) (Fig. 17a). Le dispositif expérimental utilisé était un plan de cinq blocs complètement randomisés contenant huit parcelles élémentaires de seize caféiers chacune (Fig. 18). Chaque parcelle élémentaire était séparée de l'autre par quatre rangées de caféier (lignes de bordure). Les caféiers disposés à des écartements de 2 m × 3 m ont été traités pendant deux années successives avec des fongicides tels que le Propiconazole, le Diféconazole, le Chlorothalonil/Carbendazime dans le ratio 5:1 et l'Azoxystrobine. Le Propiconazole, l'Azoxystrobine et le Chlorothalonil / Carbendazime ont été fournis par la société Aristalife Sciences (Noguères – France) tandis que le Diféconazole a été fourni par la société Syngenta.



Fig. 17. Plantation expérimentale de Kouoptamo : (a) arbres d’ombrage (photo prise par Kacko en 2016).

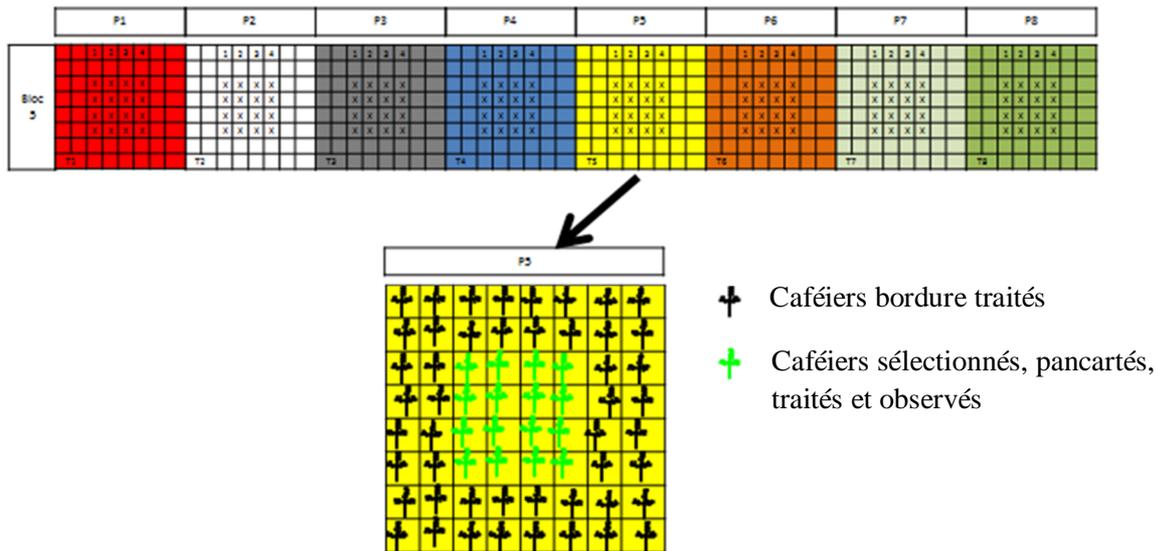


Fig. 18. Dispositif expérimental de Kouoptamo (blocs complètement randomisés) : (P) unité expérimentale, chaque couleur représente un traitement fongicide.

II.2.4.2. Evaluation de l’effet de l’application des fongicides sur la récolte

Les fongicides ont été appliqués à l’aide des pulvérisateurs dorsaux à pression entretenue (3 bars) fournis par le groupe Goizper – Inter 16 Agro. Les buses à disque et spéciales de la même taille ont été ajustées de manière à fournir un jet de gouttelettes de pulvérisation fines et régulières de 300 à 400 DV (microns). Les traitements ont été appliqués entre 7 heures et 8 heures du matin lorsque l’humidité est élevée et la température basse afin d’optimiser l’action des fongicides. Chaque traitement

a été identifié par des pancartes de la même couleur et chaque unité élémentaire par un numéro d'identification (Fig. 15. b). Les traitements se faisaient à la fréquence de 21 et 28 jours avec 4 et 5 applications annuelles suivant le type de fongicide. Quatre (4) fongicides ont été testés avec des traitements variables. Les mêmes traitements ont été appliqués sur les mêmes caféiers en 2016 et en 2017. Les applications ont été effectuées à partir de la 8^{ème} SAF. En 2016, elles étaient le 8 mai, le 29 mai, le 19 juin, le 10 juillet et le 31 juillet pour les traitements 1, 3, 5, 6 et 7. En 2017 ces traitements étaient appliqués le 25 mai, le 15 juin, le 6 juillet, le 27 Juillet et le 17 août. En 2016 les traitements 2 et 4, étaient appliqués le 8 mai, le 5 juin, le 3 juillet et le 31 juillet et en 2017, ils étaient appliqués le 25 mai, le 22 juin, le 20 juillet et le 17 août. Le protocole de traitement utilisé est représenté dans le Tableau VI.

Les caféiers ont été fertilisés avec un engrais contenant N-P-K (20-10-10) à 250 kg/ha et l'urée (azote 46 %) à 150 kg/ha). L'engrais N-P-K a été appliqué le 5 Mai en 2016 et le 15 Mai en 2017 (deuxième SAF), pendant que l'urée était appliquée en mi-Septembre 2016 et 2017. Les baies ont été récoltées et pesées à partir de la 32^{ème} SAF afin d'évaluer l'effet des fongicides sur le rendement. Les données climatiques durant les deux années d'expérimentation ont été enregistrées à partir d'une station météorologique installée dans la plantation.

Tableau VI. Protocole de traitements fongicides (2016 et 2017).

Traitements	Fongicides	Type de Formulation	Dose (15 litres d'eau/pulvérisateur)	Intervales entre traitements (Jours)	Nombre d'applications par année	Quantité par hectare
1	Propiconazole	Emulsifiable Concentré, EC	20 ml	21	5	833,33 ml
2	Propiconazole	EC	20 ml	28	4	666,67 ml
3	Propiconazole	Poudre Mouillable, PM	50 g	21	5	2083,33 g
4	Difeconazole	PM	50 g	28	4	1666,67 g
5	Difeconazole	PM	50 g	21	5	2083,33 g
6	Azoxystrobine 250	Suspension Concentrée, SC	52 ml	21	5	2166,66 ml
7	(Chlorothalonile et Carbendazime)	SC	80 ml	21	5	3333,33 ml
8	TNT (Témoin non traité)	/	/	/	/	/

(EC) Emulcifiable concentré ; Poudre mouillable (PM) ; (SC) Suspension concentrée

II.2.4.3. Observations et évaluation de l'effet des traitements sur des pertes dues à la maladie et les chutes physiologiques

Les observations hebdomadaires ont été effectuées pendant deux années consécutives (2016 et 2017), sur trois branches disposées à la partie haute, médiane et basse de chacun des caféiers étudiés comme précédemment décrit par Mouen Bedimo et *al.* (2008). Ces branches étaient disposées en moyenne à 0,7 m, 1,20 m et 1,62 m de hauteur respectivement pour les branches basses, médianes et supérieures à partir du sol.

II.2.5. Analyses statistiques

Pour l'évaluation de l'effet des facteurs environnementaux sur l'épidémiologie du CBD des baies du caféier *in situ*, les analyses de variance du taux de nouvelles baies malades ont été réalisées en utilisant le Modèle Général Linéaire, binomial négatif (General Linear Model négatif binomial) (GLM nb) grâce au logiciel R version 3.1.3 utilisant le test de X^2 avec la fonction Link - log (logarithme népérien). Dans le but de modéliser le développement de la maladie avec le temps, le meilleur ajustement de la maladie a été effectué sur la base du coefficient de corrélation (r) et du plus grand coefficient de détermination (R^2). Le modèle additif généralisé mixte (MAGM) a été utilisé pour évaluer la somme des effets des différents facteurs étudiés sur l'antracnose (Hastie and Tibshirani, 1990). Ce modèle utilisé prenait en compte le nombre initial de baies sur la branche, les baies malades, la variété, le type d'éclairage, la localisation des caféiers et l'année d'observation. La moyenne marginale estimée (MME) entre les variétés, les types d'éclairage et les niveaux d'altitude des caféiers a été calculée avec 75 % de déviance expliquée. La significativité des moyennes entre les différents facteurs a été évaluée en utilisant le test de X^2 à partir de l'analyse de déviance. Ces analyses ont été effectuées sur les données épidémiologiques enregistrées sur les caféiers cultivés à Foubot (1100 m d'altitude) et à Santa (1800 m d'altitude).

Le modèle général linéaire binomial négatif (MGL nb) a été également utilisé pour l'analyse de variance de la teneur en acide aminé des baies utilisant le test de X^2 avec la fonction Link - log (logarithme népérien). L'analyse était basée sur l'évaluation de l'effet des facteurs principaux (la variété, l'altitude, l'ombrage des caféiers et l'âge des baies) sur la teneur en acide aminé des baies. L'analyse en composante principale (ACP) a été utilisée pour établir les liaisons entre les acides aminés et les facteurs étudiés. L'ACP a été effectué utilisant le package FactoMineR (Le et *al.*, 2008). Le modèle additif généralisé mixte (MAGM) a été utilisé pour évaluer la somme des effets des différents facteurs sur la teneur en acide aminé des baies. Toutes les analyses précédemment décrites ont été effectuées utilisant le logiciel R 3.1.1 (R Core Team, 2017). La comparaison des moyennes des teneurs en acide aminé des baies en fonction de la variété et du type d'ombrage a été effectuée suivant le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5 % avec le logiciel Statistica version 7.1. Les

analyses de variance de la teneur en métabolites secondaires des baies étaient réalisées suivant le modèle général linéaire en fonction des facteurs (variétés, altitudes, types d'éclairage et l'âge des baies). La comparaison des moyennes était effectuée suivant le test de Student-Newman-Keuls au seuil de 5 % avec le logiciel Statistica version 7.1.

La procédure GLM (General Linear Model) a été utilisée pour l'analyse de variance du taux d'infection *in vitro* des baies chez les caféiers soumis à différents modes d'éclairage *in situ* et la teneur en sucres solubles des baies inoculées infectées ou non *in vitro*. La significativité des moyennes entre les différents facteurs étudiés a été réalisée utilisant le test F à partir de l'analyse de déviance. La comparaison des moyennes des baies malades entre les facteurs étudiés a été réalisée avec le test de Student - Newman - Keuls au seuil de 5 %. Le test LSD de Fisher a été utilisé pour comparer la teneur en glucose entre les facteurs étudiés au seuil 5 %. Ces analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel Statistica version 7.1.

Pour l'évaluation de l'effet des fongicides et la position des baies par rapport aux niveaux des branches sur l'antracnose des baies, le modèle général linéaire avec la fonction link - log et la distribution quasibinomiale des erreurs (à cause de la grande dispersion des données enregistrées) a été utilisé pour déterminer si les symptômes de la maladie et les chutes varient avec le traitement. Les données cumulées ont été utilisées sur toute la période d'observation. Le modèle général linéaire avec la fonction link-log et une distribution des erreurs quasipoisson a été utilisé à cause de la grande dispersion des données enregistrées pour déterminer si le poids frais des baies à la récolte varie avec le traitement.

En raison du niveau élevé des branches ne portant pas des baies infectées, les modèles séparés ont été utilisés pour évaluer la proportion des branches portant des baies infectées au cours de l'expérimentation et la proportion des baies infectées sur les branches portant des baies infectées. La proportion des branches portant les baies infectées était calculée comme la proportion entre le nombre de branches portant les baies infectées sur tous les arbres dans le bloc (par bloc, niveau de branche, année et traitement) et le nombre de branches dans le bloc. Seules les branches portant les fruits malades étaient utilisées. La proportion des baies infectées était calculée comme la proportion entre la somme des baies infectées sur les branches dans le bloc (par block, niveau de branche, année et traitement) et la somme des fruits sur les mêmes branches. Dans ces modèles, les prédicteurs étaient les traitements, le niveau des branches, l'année, le bloc et l'interaction entre les deux derniers facteurs.

Les pertes étaient estimées en se basant sur le nombre de baies chutées. Ces dernières étaient calculées comme la différence entre le nombre initial et final des baies sur tous les arbres dans le bloc pour chaque modalité (branche/ année, et / traitement). Les prédicteurs utilisés dans le modèle étaient

la proportion des baies infectées, le nombre initial de baies sur la branche, l'état des branches (saines ou portant des baies infectées), les traitements, le niveau des branches, l'année, le bloc et l'interaction entre les deux derniers facteurs.

Le poids des baies fraîches à la récolte était additionné par blocs, par traitements et par années. Le modèle quasibinominal incluant l'année, le traitement et le bloc comme des facteurs explicatifs et le nombre initial de baies comme un facteur linéaire.

La significativité de ces facteurs était évaluée utilisant le test de F à partir de l'analyse de déviance. Les effets étaient considérés comme significatifs lorsque la probabilité était inférieure à 0.05. En ce qui concerne les facteurs traitements et le niveau des branches, la moyenne marginale estimée (MME) a été calculée avec 95 % d'intervalle de confiance. Les comparaisons par paire étaient effectuées en utilisant la méthode de Bonferroni (Dunn, 1961).

Toutes ces analyses étaient réalisées en utilisant le logiciel R 3. 5. 3 (R Core Team, 2019). La manipulation des données est effectuée en utilisant le package Plyr version 1.8.4 (Wickham, 2011). La manipulation des graphes a été effectuée en utilisant le package ggplot2 version 3.1.1 (Wickham, 2016) et l'estimation des moyennes marginales a été effectuée en utilisant le package emmeans version 1.3.3 (Lenth, 2019). L'analyse de variance suivant le modèle binomial négatif était effectuée avec le package Mass (Veneble and Ripley, 2002).

L'interaction climat/maladie était évaluée avec des corrélations croisées entre chaque paramètre climatique et le taux des baies nouvellement infectées. Cette analyse permet de décrire les relations décalées dans le temps, entre les variables explicatives et les variables biologiques (Tomassone et *al.*, 1983). Dans la présente étude, les paramètres climatiques ont été décalés d'une semaine par rapport aux taux de nouvelles baies infections observées entre la 6^{ème} et la 27^{ème} SAF, ce qui permet de déterminer l'effet des événements climatiques antérieurs sur la progression de l'épidémie.

Les corrélogrammes obtenus à la suite de l'analyse des corrélations croisées disposent de bornes d'intervalle de confiance (en pointillés) qui permettent d'identifier les coefficients de corrélation significatifs. Les graphes qui sortent de cet intervalle indiquent des corrélations significatives au seuil de 5%. Ces analyses ont été effectuées utilisant le logiciel Statistica version 7.1. (Mouen Bedimo, 2006).



**Chapitre III : RESULTATS ET
DISCUSSION**

III.1. Resultats

III.1.1. Influence de la variété, de l'altitude et du type d'ombrage sur l'antracnose des baies par année

III.1.1.1. Analyse de variance de l'incidence de la maladie

L'analyse de l'effet de la production des caféiers par branche sur la maladie a montré en 2016 que la variété, l'ombrage et la localisation des caféiers ont un effet significatif sur la maladie à $p \leq 0,05$ (Tableau VII). Il ressort de ce tableau qu'en 2016, les baies de la variété Caturra (Moyenne marginale estimée / MME 24,9) ont été plus attaquées par rapport à celles de la variété Java (MME 1,6). Les baies de caféiers exposés en plein soleil (MME 10,2) étaient plus attaquées que celles des caféiers sous ombrage (MME 4,0). A Santa (1800 m altitude) les baies de la variété Java ont montré un taux d'infection plus élevé comparé à celui des baies de la variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) (MME 31,4 contre 1,3).

En 2017, le nombre initial de baies et le site des caféiers ont montré un effet significatif sur la maladie comme en 2016 mais avec une faible production. L'effet variété a été significatif dans le modèle global, mais la différence entre la variété Java et la variété Caturra n'a pas été significative à $P = 0,15$ (Tableau VII).

Tableau VII. Analyse de variance du nombre de nouvelles baies malades des variétés Java et Caturra cultivées à Foubot (1100 m d'altitude) et la variété Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude).

	Année 2016			Année 2017		
Production moyenne / branche	48			19		
Variables	modalités	Pr (>Chi)	Moyennes marginales estimées	Pr (>Chi)	Moyennes marginales estimées	
Variétés	Caturra	0,032 *	24,9 ^b	1e ⁻¹⁰ ***	1,1 ^a	
	Java		1,6 ^a		1,3 ^a	
Types d'éclairage	Plein soleil	3e ⁻¹² ***	10,2 ^b	0,15	1,1 ^a	
	Sous ombrage		4,0 ^a		1,4 ^a	
Sites	Foubot	<2e ⁻¹⁶ ***	1,3 ^a	< 2e ⁻¹⁶ ***	0,4 ^a	
	Santa		31,4 ^b		4,1 ^b	

*Effet significatif ; *** effet hautement significatif. Les valeurs de la même colonne ayant les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes à $P \leq 0,05$.

III.1.1.2. Influence de la variété, de l'ombrage et de l'altitude sur la contamination des baies à l'antracnose par année

Le modèle additif généralisé mixte utilisé pour les analyses a montré un effet sur le nombre de nouvelles baies malades à $P \leq 0,05$ en fonction de l'année, du site, de la variété et du type d'ombrage du caféier. En 2016, la production par branche (une moyenne de 48 baies) et le nombre moyen de baies malades par branche (7) ont été plus élevés qu'en 2017 avec une moyenne de production de 19 baies par branche et 3,1 baies malades par branche respectivement. Le pourcentage de baies infectées n'a pas été significativement différent sur les deux années (14,6 en 2016 comparé à 15,8 en 2017). Cependant, le nombre initial de baies sur la branche prédispose à un grand niveau d'infection des baies (Fig.19). Un effet significatif de l'âge de baies est obtenu dépendant de l'année et de la variété (Fig. 20 A et B).

En 2016, la variété Caturra a montré un nombre élevé de nouvelles baies infectées, comparé à celui de la Java cultivé à 1100 m d'altitude. La différence augmente jusqu'à la 15^{ème} SAF et diminue par la suite. A partir de la 21^{ème} SAF, la dynamique des nouvelles baies infectées est la même pour les deux variétés (Fig. 20 A). En 2017, les baies de la variété Caturra ont montré une grande susceptibilité à la maladie comparée à celles de la variété Java. Mais la différence n'a pas été significative à partir de la 17^{ème} SAF (Fig. 20 B).

Par ailleurs, un effet significatif à $P \leq 0,05$ du site des caféiers est noté sur le nombre de nouvelles baies infectées de la variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) et Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude) (Fig. 21). Il ressort que le nombre de nouvelles baies infectées augmente significativement à 1800 m d'altitude de la 6^{ème} SAF à la 20^{ème} SAF. Ce modèle a montré une qualité de prédiction limitée à 76 % de pouvoir explicatif (R^2) avec un coefficient de corrélation (r) entre les valeurs réelles et les valeurs ajustées (prédites) de nouvelles baies infectées de 35 %.

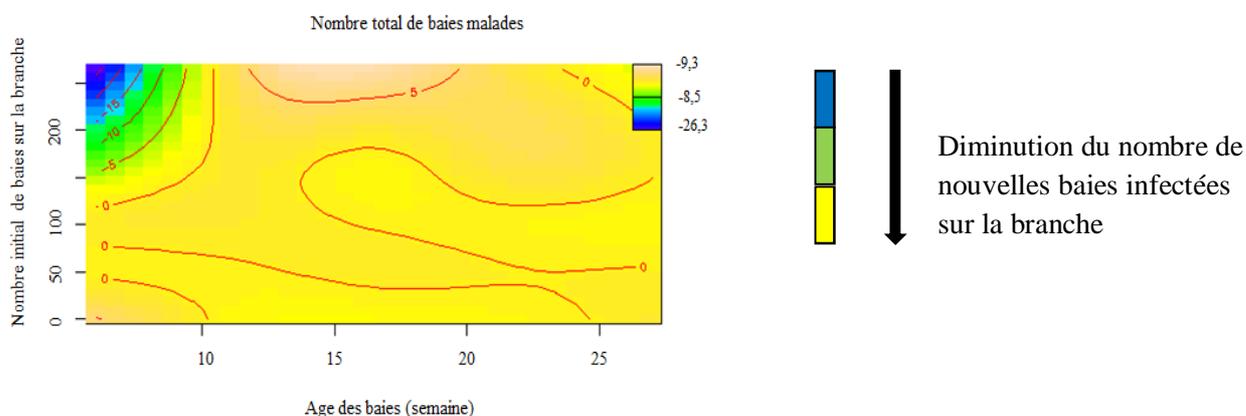


Fig. 19. Effet de l'interaction entre le nombre initial de baies sur les branches de caféiers de la variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) et l'infection en 2016.

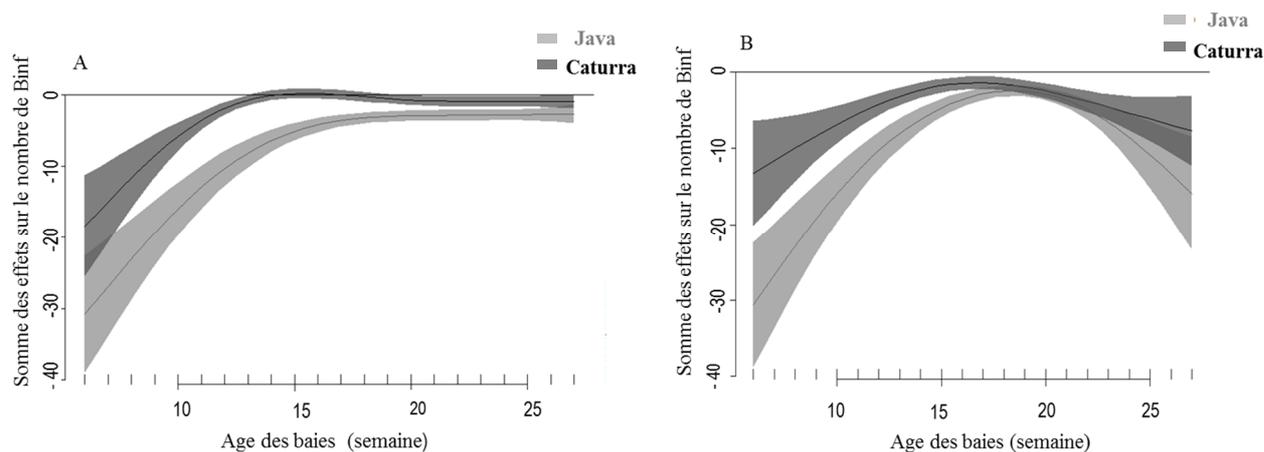


Fig. 20. Comparaison du nombre de nouvelles baies malades à différents stades de développement en fonction de la variété et de l'année : variétés Java et Caturra cultivées à Foubot (1100 m d'altitude) ; (A) 2016 et (B) 2017) ; (Binf) nombre de nouvelles baies infectées.

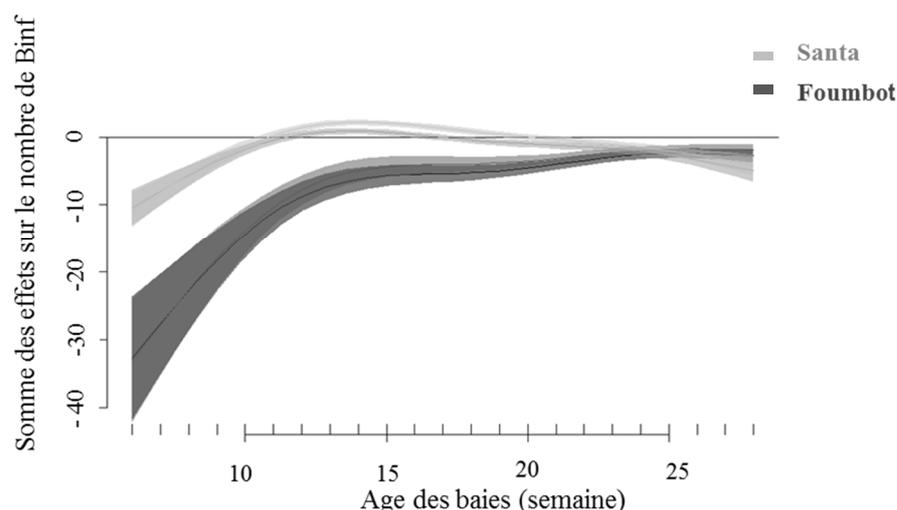


Fig. 21. Comparaison du nombre de nouvelles baies infectées en fonction de l'altitude (variété Java cultivée à 1100 m d'altitude et à 1800 m d'altitude) ; (Binf) nombre de nouvelles baies infectées.

III.1.1.3. Variabilité du nombre de nouvelles baies infectées au cours du développement des baies

Les observations effectuées en 2016, révèlent un très faible taux de baies infectées dans les deux sites sur les caféiers sous ombrage artificiel et ceux exposés au soleil. Il est en moyenne de 0,72 % et 1,44 % (variété Java cultivée à 1100 m d'altitude) ; 9,46 % et 15,38 % (variété Caturra sensible) et 8,28 % et 36,78 % (la variété Java cultivée à 1800 m d'altitude) pour les caféiers sous ombrage artificiel et ceux exposés en plein soleil respectivement (Fig. 22 A, B et C). Le taux d'infection est deux fois plus élevé à 1100 m d'altitude sur les caféiers exposés en plein soleil

comparée à ceux sous ombrage artificiel. Il est quatre fois plus élevé sur les baies des caféiers cultivés à 1800 m d'altitude par rapport à celles des caféiers cultivés à 1100 m d'altitude.

A 1100 m d'altitude, sur la variété Java, les premières baies infectées ont été observées à la 24^{ème} SAF sur les caféiers sous ombrage. Le pic de l'infection ayant été atteint à la 25^{ème} semaine avec 0,46 % de nouvelles baies infectées. Les caféiers exposés en plein soleil ont présenté les premiers symptômes de l'infection à la 25^{ème} SAF. Le pic ayant été atteint à la 26^{ème} SAF avec 1,5 % de nouvelles baies infectées enregistrées (Fig. 22 A).

Les premiers symptômes de la maladie sont apparus à la 13^{ème} SAF sur les baies de la variété Caturra en 2016 sur les deux niveaux d'éclairement des caféiers. Le taux élevé de nouvelles infections a été enregistré à la 13^{ème} SAF sur les caféiers sous ombrage avec 3,44 % de baies nouvellement infectées. Sur les caféiers exposés au soleil, le taux élevé de baies infectées a été enregistré à la 16^{ème} SAF avec 8,22 % de baies nouvellement infectées (Fig. 22 B).

A 1800 m d'altitude, quel que soit l'éclairement des caféiers, la maladie est apparue à la 11^{ème} SAF. La période de grande sensibilité des baies s'est révélée de la 11^{ème} à la 21^{ème} SAF sur les caféiers sous ombrage. Le taux d'infections le plus élevé ayant été atteint à la 12^{ème} SAF avec 2,41% de nouvelles baies infectées. Le pic d'infections est atteint à la 14^{ème} SAF, avec 10,17 % de nouvelles baies infectées enregistrées chez les caféiers exposés en plein soleil (Fig. 22 C).

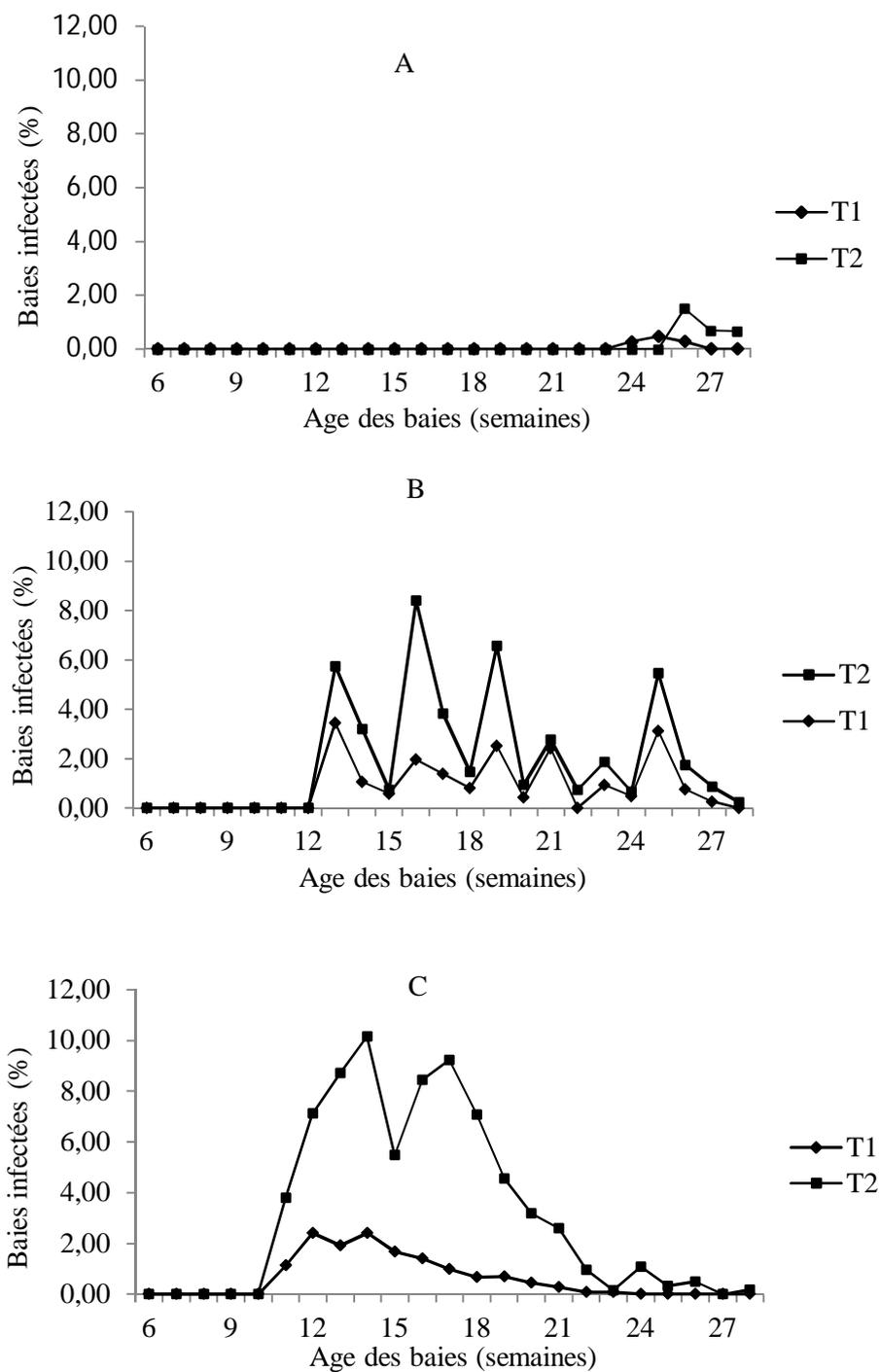


Fig. 22. Comparaison du pourcentage instantané de nouvelles baies infectées en fonction de l'altitude, de la variété, du type d'éclairage et de l'âge des baies en 2016. (A) variété Java cultivée à Foubot, (B) variété Caturra cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) et (C) variété Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude). (T1) caféiers sous ombrage ; (T2) caféiers exposés en plein soleil.

III.1.2. Influence des différentes situations culturales du caféier et des stades phénologiques des baies sur l'accumulation des acides aminés et des métabolites secondaires dans les baies vertes

III.1.2.1. Influence de l'altitude, de la variété et du type d'éclairage du caféier sur l'accumulation des acides aminés dans les baies vertes

III.1.2.1.1. Identification des acides aminés libres dans les baies vertes

L'analyse RP-HPLC a permis d'obtenir des chromatogrammes constitués des pics dont chacun représente un composé absorbant entre (334 nm – 425 nm). L'identification des acides aminés était basée sur le temps de rétention (Rt) (Tableau VIII).

Tableau VIII. Acides aminés identifiés sur les baies vertes de caféiers Arabica avec le temps de rétention

Acides aminés	Temps de rétention (Rt)/ min
Asp	Rt = 5,985
Glu	Rt = 9,899
Asn	Rt = 13,851
Ser	Rt = 16,711
His	Rt = 18,251
Gly	Rt = 25,44
Thr	Rt = 26,645
Arg	Rt = 27,722
Ala	Rt = 31,647
GABA	Rt = 32,853
Val	Rt = 37,277
Phe	Rt = 37,787
Ile	Rt = 39,146
Leu	Rt = 39,614
Lys	Rt = 41,554
Met	Rt = 36,556
Trp	Rt = 36,910

L'amplitude des pics ou l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base ont permis de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange (Fig. 23 et 24).

Parmi les acides aminés identifiés dans les baies de la variété Java située à 1800 m d'altitude et sous ombrage, la lysine a présenté un pic significativement développé à la 8^{ème} SAF comparé à celui observé à la 14^{ème} SAF (Fig. 23 A et B).

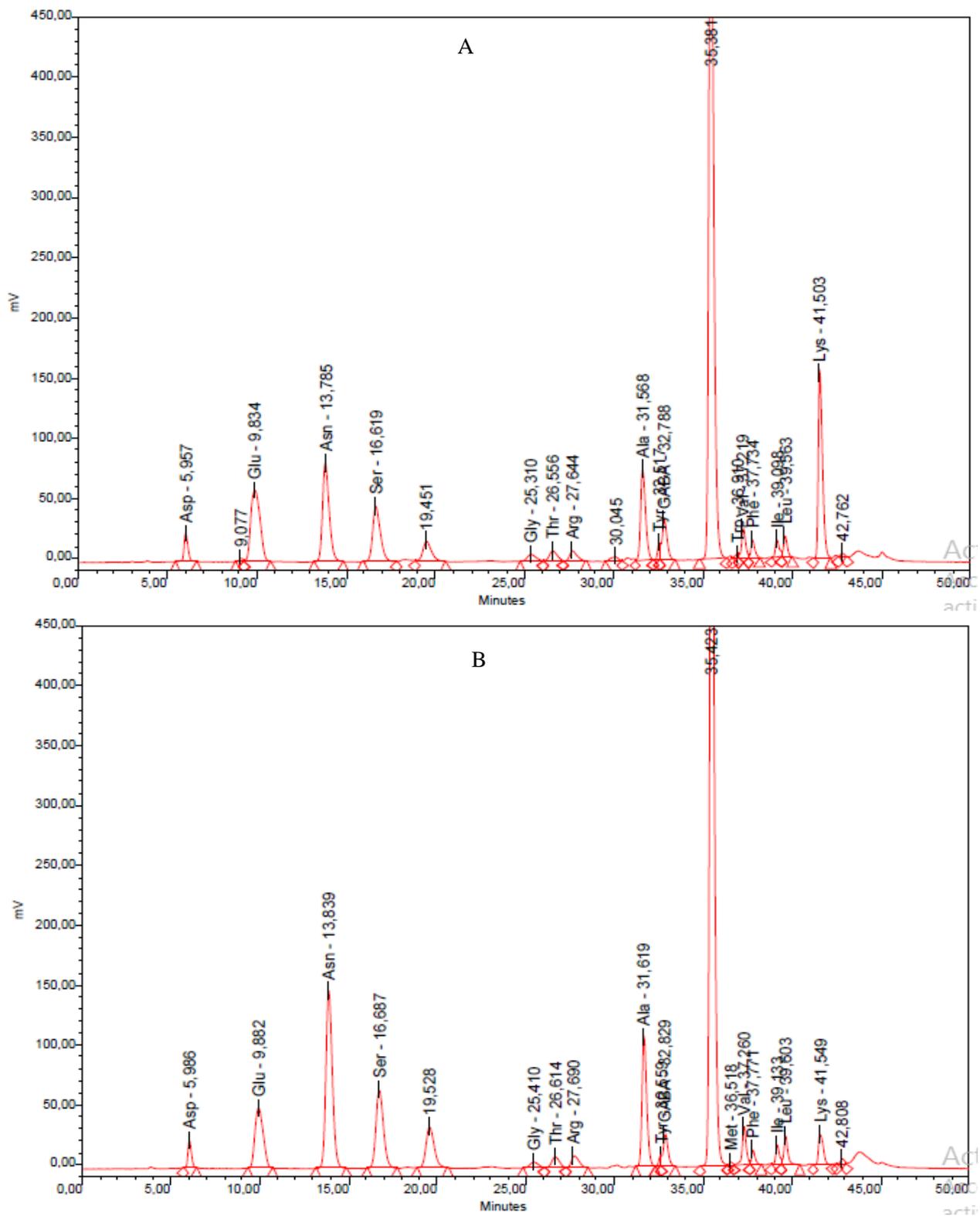


Fig. 23. Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des acides aminés des baies de la variété Java sous ombrage cultivée à 1800 m d'altitude (Asp, Glu, Asn, Ser, His, Gly, Thr, Arg, Ala, GABA, Met, Trp, Val, Phe, Ile, Leu, Lys) : (A) 8^{ème} SAF et (B) 14^{ème} SAF.

Dans les baies de la variété Java prélevées à 1800 m d'altitude et en plein soleil, la lysine a également présenté une amplitude de pic plus développée à la 8^{ème} SAF comparée à celle observée à la 14^{ème} SAF. L'amplitude des pics des autres acides aminés a varié très faiblement (Fig. 24 A et B).

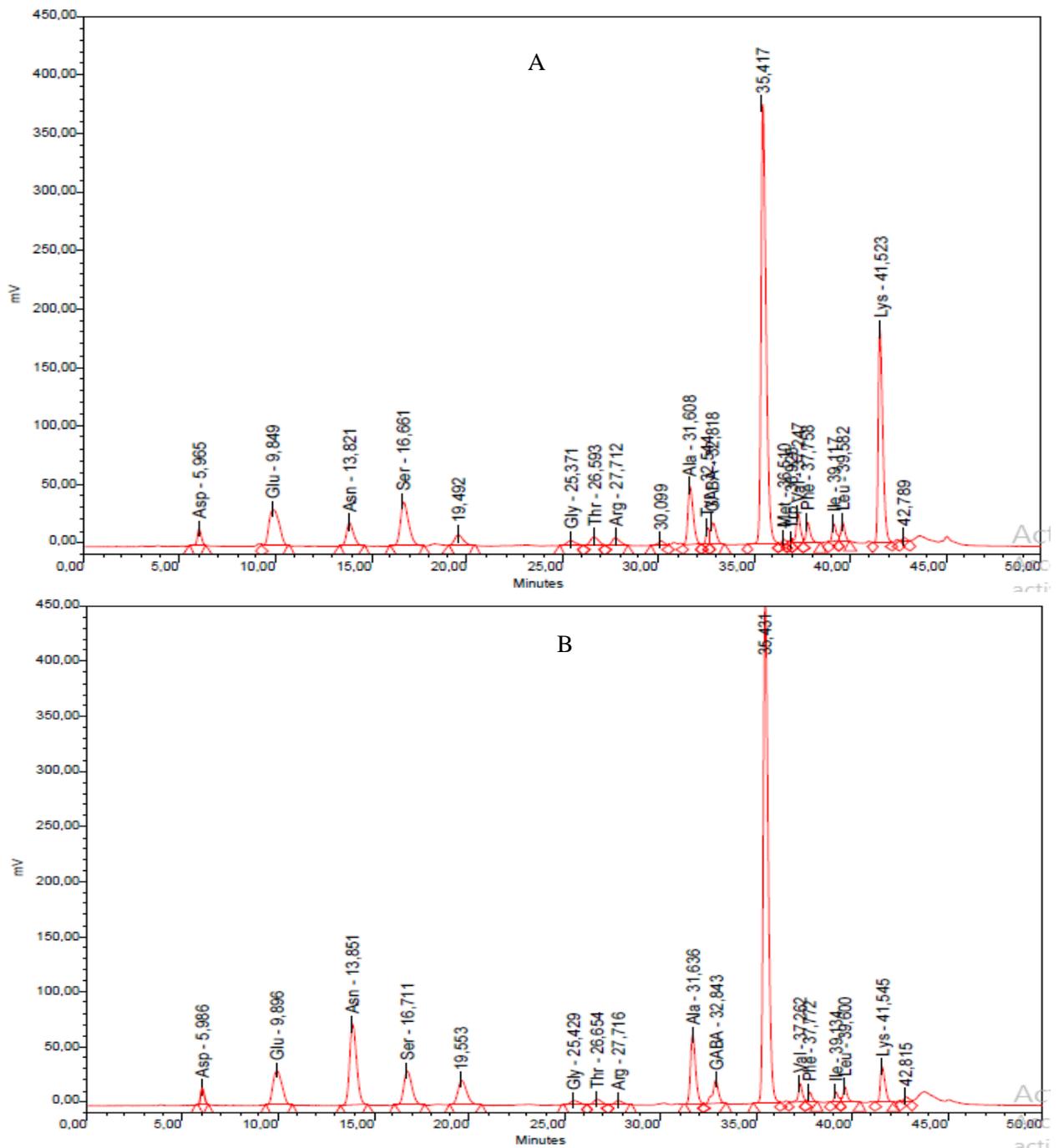


Fig. 24. Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des acides aminés des baies de la variété Java plein soleil située à 1800 m d'altitude (Asp, Glu, Asn, Ser, His, Gly, Thr, Arg, Ala, GABA, Met, Trp, Val, Phe, Ile, Leu, Lys) : (A) 8^{ème} SAF ; (B) 14^{ème} SAF.

III.1.2.1.2. Influence de la variété et de l'ombrage du caféier sur la teneur des acides aminés des baies vertes

L'analyse HPLC a permis d'identifier les acides aminés acides qui sont fortement accumulés dans les baies, suivi des autres acides aminés et en fin les acides aminés hydrophobes suivant la classification de Kirchhoff (1989) (Tableau VIX).

La comparaison des moyennes des acides aminés acides a montré que les teneurs élevées sont obtenues dans les baies prélevées sous ombrage artificiel et l'asparagine comme acide aminé dominant avec $12162,85 \pm 1457,20$ mg/kg matière sèche délipidée (msd) et $19328,24 \pm 2986,76$ mg/kg ffdm respectivement pour les variétés Java et Caturra. La plus faible teneur a été obtenue dans les baies prélevées chez les caféiers exposés en plein soleil, l'aspartate étant l'acide aminé faiblement représenté avec $355,84 \pm 40,71$ mg/kg msd et $595,74 \pm 76,64$ mg/kg msd respectivement pour les variétés Java et Caturra. Les résultats ont également montré une différence significative entre les variétés pour le type d'ombrage en ce qui concerne les teneurs en glutamate et en asparagine. Toutefois, quel que soit le type d'ombrage du caféier, les teneurs en acides aminés acides (aspartate, glutamate et asparagine) de la variété Caturra sont plus élevées par rapport à celles de la variété Java. Quel que soit la variété, l'analyse des acides aminés hydrophobes (valine, leucine, isoleucine, alanine, tyrosine et la phénylalanine) a montré que l'alanine est fortement accumulée dans les baies. Cependant, il n'y a pas eu de différence significative pour la teneur en acides aminés hydrophobes entre les variétés Java et Caturra et ce quel que soit le type d'ombrage. Par contre, la tyrosine a été fortement accumulée dans les baies de la variété Java par rapport à la variété Caturra. D'autres acides aminés ont été identifiés (arginine, glycine, lysine, sérine, thréonine et GABA). Quel que soit la variété et le type d'ombrage du caféier, les plus représentatifs sont la lysine et la sérine. Les résultats ont également montré que le GABA est fortement accumulé dans les baies de la variété Java tolérante (Tableau VIX).

Tableau IX. Profil des acides aminés libres (mg/kg msd) dans les baies des caféiers situés à 1100 m d'altitude (Foumbot) sous-ombrage et en plein soleil

	Variétés			
	« Java »		« Caturra »	
	Sous ombrage	Plein soleil	Sous ombrage	Plein soleil
Asp	504,11 ± 58,17 ^{ab}	355,84 ± 40,714 ^b	595,74 ± 76,64 ^a	617,54 ± 75,79 ^a
Glu	1742,65 ± 99,05 ^b	1276,05 ± 63,95 ^c	2165,69 ± 161,63 ^a	1987,20 ± 133,48 ^{ab}
Asn	12162,85 ± 1457,20 ^b	6272,35 ± 730,04 ^c	19328,24 ± 2986,76 ^a	18437,41 ± 2202,37 ^a
Acides aminés acides	14409,61 ± 1614,42^c	7904,24 ± 834,71^b	22089,67 ± 3225,05^a	21042,16 ± 2411,65^a
Val	150,15 ± 9,22 ^a	145,95 ± 8,65 ^a	154,93 ± 14,28 ^a	142,03 ± 16,92 ^a
Leu	145,68 ± 6,78 ^a	140,53 ± 13,53 ^a	114,80 ± 8,74 ^{ab}	90,42 ± 10,61 ^b
Ile	77,11 ± 4,23 ^a	72,86 ± 3,74 ^a	78,76 ± 9,16 ^a	67,00 ± 8,41 ^a
Ala	1148,20 ± 156,97 ^a	1062,99 ± 137,30 ^a	1652,23 ± 319,49 ^a	1526,45 ± 249,46 ^a
Tyr	315,92 ± 28,51 ^a	256,89 ± 29,61 ^a	56,43 ± 38,24 ^b	0,00 ± 0,00 ^b
Phe	178,24 ± 9,65 ^a	162,45 ± 9,56 ^a	163,96 ± 18,47 ^a	137,59 ± 20,29 ^a
Acides aminés hydrophobes	2015,33 ± 215,39^a	1841,69 ± 202,42^a	2221,13 ± 408,41^a	1963,51 ± 305,70^a
Arg	1278,01 ± 197,03 ^a	593,87 ± 63,17 ^b	1124,00 ± 216,50 ^a	701,15 ± 99,95 ^{ab}
Gly	136,46 ± 4,35 ^{bc}	118,58 ± 4,255 ^c	161,97 ± 12,29 ^{ab}	172,96 ± 12,64 ^a
Lys	2243,12 ± 400,35 ^a	1925,60 ± 214,59 ^a	2611,21 ± 625,74 ^a	1651,27 ± 216,26 ^a
Ser	1397,61 ± 165,24 ^a	1249,41 ± 116,66 ^a	1781,59 ± 311,82 ^a	1801,09 ± 277,04 ^a
Thr	266,94 ± 18,60 ^{ab}	179,25 ± 15,51 ^b	303,49 ± 45,81 ^a	288,95 ± 36,90 ^{ab}
GABA	316,80 ± 7,67 ^a	293,30 ± 18,48 ^a	236,85 ± 16,71 ^b	192,42 ± 17,67 ^b
Autres acides aminés	5638,96 ± 793,28^a	4360,04 ± 18,48^a	6219,14 ± 1228,89^a	4807,86 ± 660,49^a

Les teneurs ayant les mêmes lettres pour chaque ligne ne sont pas significativement différentes à $P \leq 0,05$ d'après le test Students Neuman Keuls.

III.1.2.1.3. Influence de l'altitude et l'ombrage du caféier sur la teneur des acides aminés des baies vertes

La comparaison des moyennes a montré une différence significative intra et inter sites sur la teneur en acides aminés acides au sein des baies prélevées aussi bien sous ombrage qu'en plein soleil. Les teneurs totales en acides aminés acides des baies de la variété Java cultivée en basse altitude sont de $14409,61 \pm 1614,42$ mg/kg msd et $7904,24 \pm 834,71$ mg/kg msd respectivement pour les caféiers sous ombrage et les caféiers exposés en plein soleil. Elles sont deux fois plus importantes que celles des caféiers cultivés en haute altitude ($7945,44 \pm 1304,09$ mg/kg msd et $3884,82 \pm 841,1$ mg/kg msd). Toutefois, les teneurs élevées sont obtenues des baies prélevées sur les caféiers sous ombrage artificiel par rapport aux arbres exposés au soleil. L'analyse des acides aminés hydrophobes a mis en évidence une différence significative entre les baies des caféiers cultivés à différents niveaux

d'altitude. Quel que soit le type d'éclairage, les teneurs élevées sont obtenues des baies prélevées à 1800 m d'altitude. Cependant, les teneurs élevées en tyrosine sont obtenues des baies prélevées à 1100 m d'altitude. La phénylalanine est fortement accumulée dans les baies prélevées à 1800 m d'altitude en plein soleil. Quel que soit le site et le type d'éclairage du caféier, l'alanine est l'acide aminé hydrophobe le plus représentatif. Parmi les autres acides aminés, l'arginine, la glycine, la lysine, la sérine, la tyrosine et le GABA ont été identifiés dans les baies de la variété Java cultivée à 1100 m d'altitude et à 1800 m d'altitude. La méthionine et le tryptophane ont été caractérisés uniquement dans les baies de la variété Java cultivée à 1800 m d'altitude. Les teneurs élevées en lysine ont été obtenues des baies prélevées à 1800 m d'altitude principalement en plein soleil (Tableau X).

Tableau X. Profil des acides aminés libres (mg/kg msd) dans les baies de la variété Java Santa (1800 m d'altitude et Java Foubot (1100 m d'altitude), sous ombrage et en plein soleil.

	Sites			
	Foubot (1100 m d'altitude)		Santa (1800 m d'altitude)	
	Sous ombrage	Plein soleil	Sous ombrage	Plein soleil
Asp	504,11 ± 58,17 ^a	355,84 ± 40,714 ^b	260,14 ± 28,60 ^c	210,74 ± 10,27 ^d
Glu	1742,65 ± 99,05 ^b	1276,05 ± 63,95 ^d	1900,75 ± 196,04 ^a	1580,05 ± 101,60 ^c
Asn	12162,85 ± 1457,20 ^a	6272,35 ± 730,04 ^b	5784,55 ± 1079,45 ^b	3884,82 ± 729,23 ^c
Acides aminés acides	14409,61 ± 1614,42^a	7904,24 ± 834,71^b	7945,44 ± 1304,09^b	3884,82 ± 841,1^c
Val	150,15 ± 9,22 ^b	145,95 ± 8,65 ^b	177,53 ± 17,70 ^a	173,60 ± 11,35 ^a
Leu	145,68 ± 6,78 ^b	140,53 ± 13,53 ^b	188,47 ± 20,52 ^a	176,35 ± 10,49 ^a
Ile	77,11 ± 4,23 ^b	72,86 ± 3,74 ^b	98,37 ± 11,50 ^a	98,34 ± 9,01 ^a
Ala	1148,20 ± 156,97 ^a	1062,99 ± 137,30 ^{ab}	1092,56 ± 108,19 ^{ab}	1000,86 ± 77,81 ^b
Tyr	315,92 ± 28,51 ^a	256,89 ± 29,61 ^a	133,13 ± 30,75 ^b	152,18 ± 33,67 ^b
Phe	178,24 ± 9,65 ^b	162,45 ± 9,56 ^b	180,22 ± 14,65 ^b	205,35 ± 10,43 ^a
Acides aminés hydrophobes	2015,33 ± 215,39^a	1841,69 ± 202,42^b	1870,28 ± 203,31^b	1806,68 ± 143,75^b
Arg	1278,01 ± 197,03 ^a	593,87 ± 63,17 ^b	251,23 ± 34,18 ^c	271,30 ± 56,52 ^c
Gly	136,46 ± 4,35 ^a	118,58 ± 4,25 ^b	113,58 ± 6,00 ^b	111,53 ± 5,32 ^b
Lys	2243,12 ± 400,35 ^c	1925,60 ± 214,59 ^d	2734,48 ± 586,67 ^b	3510,78 ± 679,60 ^a
Ser	1397,61 ± 165,24 ^{ab}	1249,41 ± 116,66 ^b	1513,68 ± 204,79 ^a	1288,77 ± 88,93 ^b
Thr	266,94 ± 18,60 ^a	179,25 ± 15,51 ^c	237,34 ± 31,25 ^b	238,21 ± 21,07 ^b
GABA	316,80 ± 7,67 ^a	293,30 ± 18,48 ^a	319,88 ± 35,75 ^a	320,90 ± 27,22 ^a
Met	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	80,73 ± 53,90 ^b	218,03 ± 76,48 ^a
Trp	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	11,82 ± 7,88 ^a	4,46 ± 4,46 ^b
Autres acides aminés	5638,96 ± 793,28^a	4360,04 ± 18,48^b	5262,74 ± 755,63^a	5963,98 ± 959,6^a

Les teneurs ayant les mêmes lettres pour chaque ligne ne sont pas significativement différentes à $P \leq 0,05$ d'après le test Students Neuman Keuls.

III.1.2.1.4. Caractérisation de l'interaction entre l'âge et la teneur en acides aminés des baies par analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales (ACP) a permis d'établir les liaisons entre les acides aminés et les stades de développement des baies d'une part, et d'autre part d'établir les corrélations entre les acides aminés et les différents facteurs étudiés (site, variété et type d'ombrage du caféier). Ainsi, cinq groupes se sont discriminés constitués de : (1) – tyrosine, lysine et tryptophane ; 2) leucine, méthionine et GABA ; (3) – l'isoleucine, la phénylalanine et la valine ; (4) – la thréonine, glutamate, sérine et alanine ; (5) – aspartate, glycine, asparagine et arginine (Fig. 27 A).

Selon les deux axes qui ont généré 65,37 % de la variabilité totale, la variété Java se discrimine de la variété caturra. Cette discrimination est observée sur les baies de la variété Caturra avec des fortes teneurs en glycine, aspartate, asparagine et arginine, tandis que les baies de la variété Java se sont discriminées par tous les autres acides aminés (Fig. 25 A, B et C).

Les baies de la variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) se sont discriminées d'une part, par les fortes teneurs en lysine, tyrosine et tryptophane qui diminuent avec l'âge des baies et d'autre part, avec les fortes teneurs en thréonine, sérine, glutamate et alanine qui augmentent avec l'âge des baies. Cependant, les baies de la variété Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude) se discriminent par des fortes teneurs en leucine, méthionine, GABA, isoleucine, phénylalanine et valine. Par ailleurs, la teneur en arginine diminue aussi avec l'âge des baies de la variété Caturra où elle est fortement accumulée (Fig. 27 B).

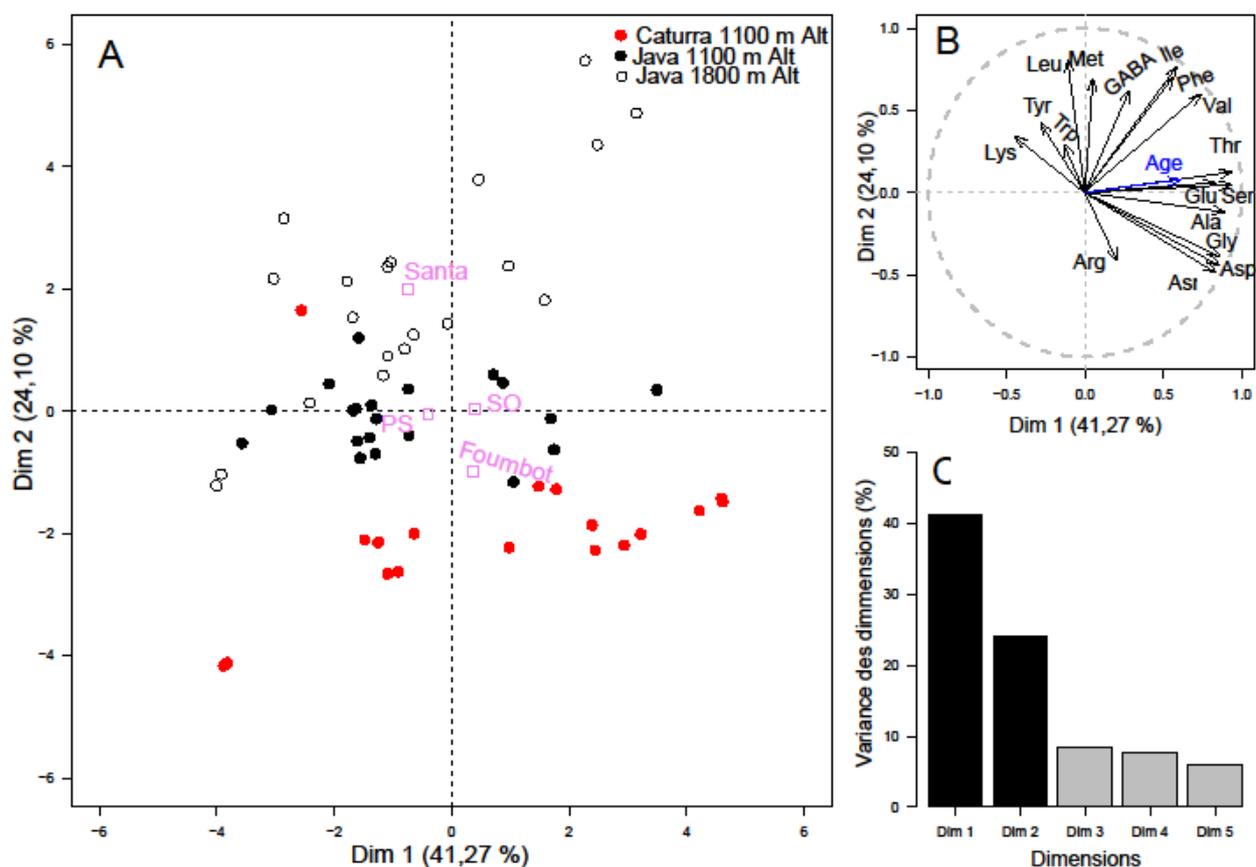


Fig. 25. Analyse en composantes principales des acides aminés incluant les variétés Java et Caturra cultivées à Foubot et Java cultivée à Santa : (A) Cercle de corrélation entre les variétés ; (B) Nuage de points des individus ; (C) Valeurs propres. (Alt) altitude ; (PS) plein soleil ; (SO) sous ombrage.

III.1.2.1.5. Variation de la teneur des acides aminés au cours du développement des baies.

L'analyse du modèle additif généralisé mixte a montré que la teneur en lysine des baies du caféier varie en fonction des SAF et non en fonction de la variété. Elle diminue rapidement avec l'âge des baies et se stabilise au-delà de la 12^{ème} SAF (Fig. 26 A). La teneur en GABA augmente de façon linéaire avec le temps. Sa teneur est significativement faible dans les baies du caféier Caturra. (Fig. 26 B) par rapport à celle du caféier Java. La teneur en glutamate augmente également de façon linéaire avec l'âge des baies. Cette teneur augmente rapidement avec l'âge des baies du caféier Caturra par rapport à celle des baies du caféier Java (Fig. 26 C). La teneur en aspartate augmente au-delà de la 10^{ème} SAF pour atteindre le maximum presque à la 14^{ème} semaine après la floraison. Cette teneur est plus élevée dans les baies de la variété Caturra par rapport à celles de la variété Java (Fig. 26 D). De même, la teneur en phénylalanine augmente de façon linéaire avec l'âge des baies (Fig. 28 E).

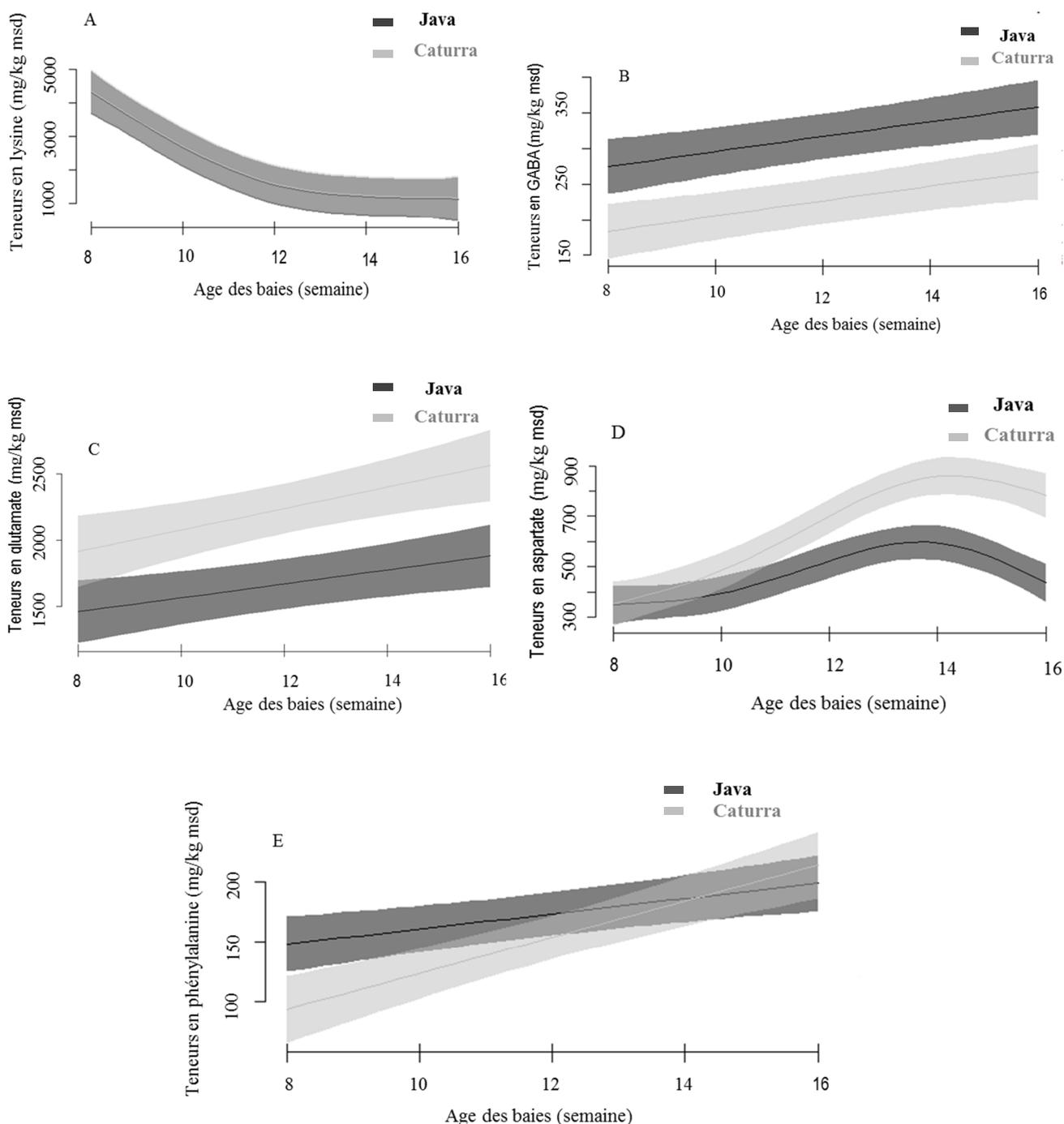


Fig. 26. Dynamique des acides aminés en fonction de la variété et de l'âge des baies (année 2016). (A) lysine, (B) GABA; (C) du glutamate, (D) aspartate et (E) phénylalanine

III.1.2.2. Effet de l'altitude, de la variété et du type d'ombrage du caféier sur l'accumulation des métabolites secondaires dans les baies vertes

III.1.2.2.1. Identification des métabolites secondaires dans les baies vertes

L'analyse HPLC a permis d'identifier deux types de composés phénoliques : un acide phénolique (l'acide chlorogénique, $R_t = 13,635/\text{min}$) et un flavanol (l'épicatéchine, $R_t = 17,011/\text{min}$) ;

un alcaloïde (la caféine, $R_t = 15,268/\text{min}$) dans les baies immatures des cafés Arabica des variétés Java et Caturra (Fig. 27 et 38). En plus ces trois composés, les baies de la variété Java exposée en plein soleil à 1800 m d'altitude ont présenté la catéchine sous forme de trace (Fig. 28 A). Les chromatogrammes relèvent un ensemble de pics dont chacun représente un composé absorbant à 280 nm en fonction des différentes situations culturales (Fig. 27 et 28). Les pics sont plus développés avec les métabolites secondaires des baies prélevées sur des cafés exposés en plein soleil par rapport à ceux des baies prélevées sur des cafés sous ombrage.

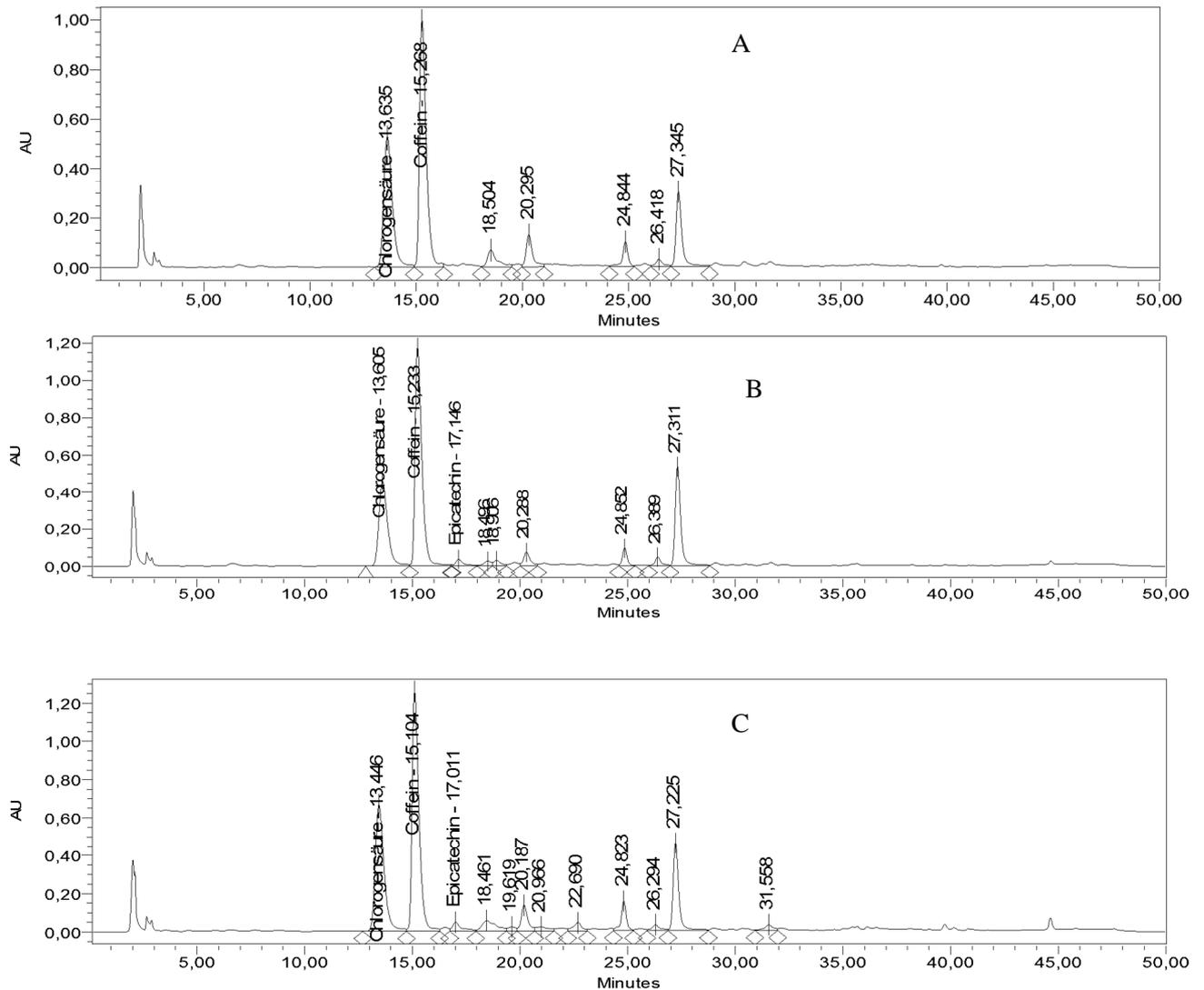


Fig. 27. Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des métabolites secondaires des baies de *C. arabica* sous ombrage: (A) variété Java cultivée à Foubot ; (B) variété Java cultivée à Santa et (C) variété Caturra. AU (unité arbitraire).

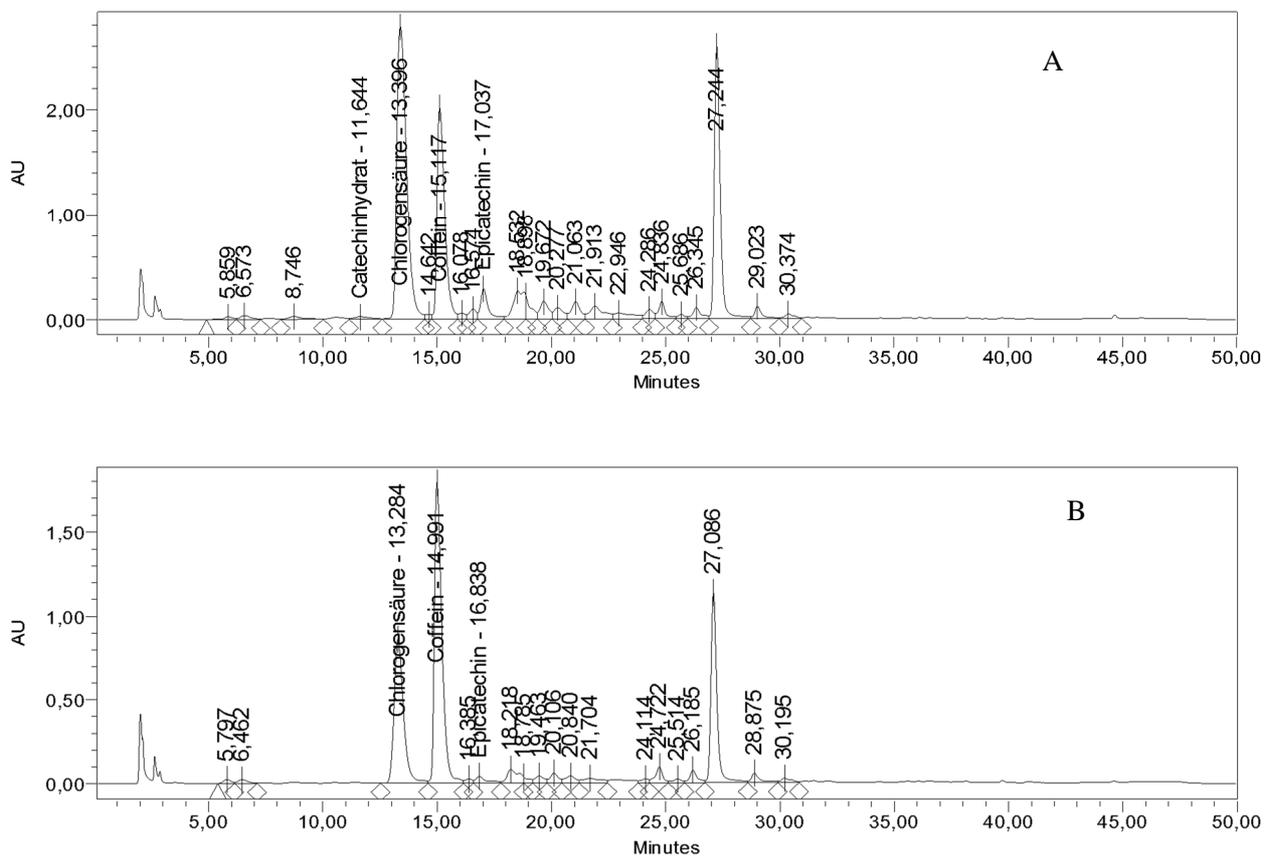


Fig. 28. Chromatogrammes RI-HPLC des extraits des métabolites secondaires des baies du caféier Arabica exposé en plein soleil : (A) variété Java cultivée à Foubot ; (B) variété Java cultivée à Santa.

III.1.2.2.3. Variation de la teneur des métabolites secondaires des baies vertes

A 1100 m d'altitude, l'analyse des teneurs en acide chlorogénique et en épicatechine a montré une différence significative entre les variétés Java et Caturra à $P \leq 0,05$. Les teneurs élevées sont obtenues dans les baies prélevées des caféiers Caturra exposés en plein soleil ($7666,11 \pm 2108,66$ mg/kg msd et $687,06 \pm 387,37$ mg/kg msd) respectivement pour l'acide chlorogénique et l'épicatechine. Les faibles teneurs sont obtenues avec la variété Java, principalement sous ombrage artificiel soit $5562,52 \pm 896,56$ mg/kg msd et $121,28 \pm 80,96$ mg/kg msd pour l'acide chlorogénique et l'épicatechine respectivement. Aucune différence significative n'a été observée avec la teneur en caféine, entre les baies des variétés Java et celle de la variété Caturra quels que soient les modes d'éclairage (Tableau XI).

Tableau XI. Profil des métabolites secondaires (mg/kg msd) dans les baies des caféiers Java et Caturra cultivés à Foubot.

Métabolites secondaires	Variétés			
	Java		Caturra	
	Sous ombrage	Plein soleil	Sous ombrage	Plein soleil
Acide chlorogénique	5562,52 ± 896,56 ^b	6368,43 ± 852,57 ^{ab}	6744,44 ± 2359,27 ^{ab}	7666,11 ± 2108,66 ^a
Caféine	6 031,58 ± 731,37 ^a	6482,41 ± 982,14 ^a	6800,11 ± 977,50 ^a	5968,38 ± 777,59 ^a
Épicatéchine	121,28 ± 80,96 ^b	609,90 ± 406,96 ^a	436,52 ± 248,57 ^{ab}	687,06 ± 387,37 ^a

Les valeurs ayant les mêmes lettres pour chaque facteur ne sont pas significativement différentes à $P \leq 0,05$ d'après le test de Student Newman – Keuls.

Les analyses ont également montré une différence significative entre les teneurs de l'acide chlorogénique et de l'épicatéchine des baies de la variété Java cultivée à Foubot et celles de la variété Java cultivée à Santa à $p \leq 0,05$. Les teneurs élevées ont été obtenues sur les baies de la variété Java Santa (1800 m d'altitude), principalement en plein soleil ($14277,77 \pm 3973,19$ mg/kg msd et $2531,26 \pm 508,40$ mg/kg msd) respectivement pour l'acide chlorogénique et l'épicatéchine. Les faibles teneurs sont obtenues des baies de la variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) sous ombrage ($5562,52 \pm 896,56$ mg/kg msd d'acide chlorogénique et $121,28 \pm 80,96$ mg/kg msd d'épicatéchine). Les analyses n'ont pas montré un effet de la variété, l'altitude et du type d'ombrage du caféier sur la teneur de la caféine dans les baies vertes (Tableau XII).

Tableau XII. Profil des métabolites secondaires (mg/kg msd) dans les baies des caféiers cultivés à Foubot et à Santa.

Métabolites secondaires	Sites			
	Foubot (1100 m d'altitude)		Santa (1800 m d'altitude)	
	Sous ombrage	Plein soleil	Sous ombrage	Plein soleil
Acide chlorogénique	5562,52 ± 896,56 ^c	6368,43 ± 852,57 ^{bc}	8702,60 ± 3055,59 ^b	14277,77 ± 3973,19 ^a
Caféine	6 031,58 ± 731,37 ^a	6482,41 ± 982,14 ^a	5741,60 ± 1418,69 ^a	6415,16 ± 1256,94 ^a
Épicatéchine	121,28 ± 80,96 ^c	609,90 ± 406,96 ^b	694,96 ± 341,06 ^b	2531,26 ± 508,40 ^a

Les valeurs ayant les mêmes lettres pour chaque facteur ne sont pas significativement différentes à $P \leq 0,05$ d'après le test de Student-Newman - Keuls

III.1.2.2.4. Variation de la teneur en métabolites secondaires au cours du développement des baies

Les analyses ont montré que, quels que soient la variété et le site, l'acide chlorogénique et la caféine sont les métabolites les plus représentatifs (Fig. 29 A, B et C).

L'acide chlorogénique et la caféine diminuent avec l'âge des baies. Ils sont prédominants à la 8^{ème} SAF (Fig. 29 A, B et C). Une chute drastique de ces derniers est observée à la 10^{ème} SAF. Toutefois, la différence n'est pas significative entre les teneurs en acide chlorogénique à partir de la 10^{ème} SAF et à partir de la 12^{ème} SAF avec la caféine jusqu'à la 16^{ème} SAF. L'épicatéchine n'est prédominante qu'à la 8^{ème} SAF en très faible teneur dans les baies de la variété Java issue de Foumbot (Fig. 29 A). Par contre il a été observé à tous les stades de développement dans les baies de la variété Caturra et celles de la variété Java issue de Santa également en très faible teneur (Fig 29 B et C). La teneur en acide chlorogénique est sensiblement deux fois plus élevées à la 8^{ème} SAF sur les baies des caféiers Java situés à 1800 m d'altitude par rapport à celles des caféiers situés à 1100 m d'altitude. Cette teneur dans les baies de la variété Java issue de Foumbot est cependant très faible par rapport à celle de la variété Caturra. Quels que soient le niveau d'altitude et la variété, les teneurs en caféine varient faiblement au cours du développement des baies (Fig. 29 A, B et C).

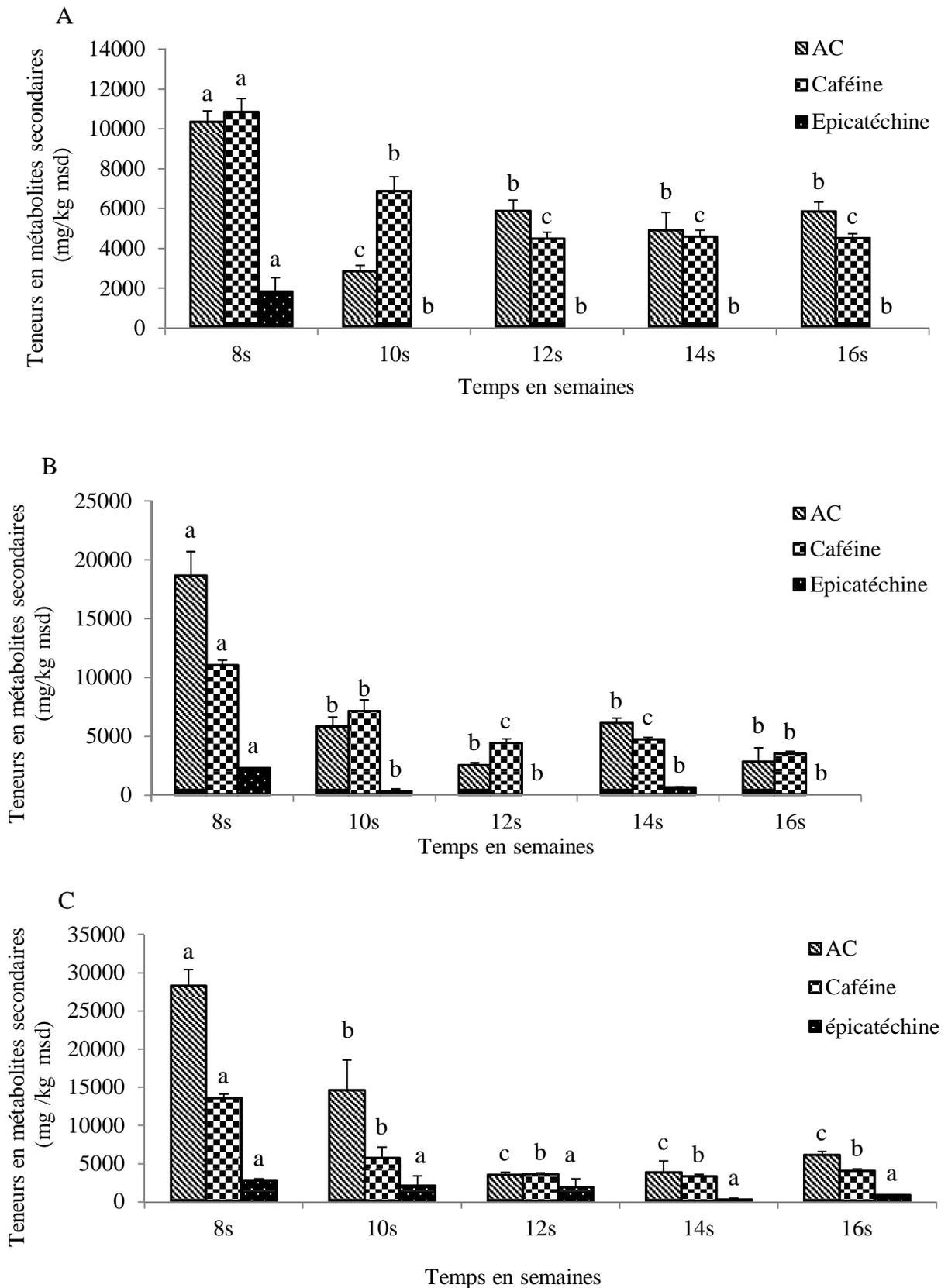


Fig. 29. Dynamique des métabolites secondaires en fonction de la variété et l'âge des baies : (A) et (B) variétés Java et Caturra issues de Foubot (1100 m d'altitude) et (C) variété Java issue Santa (1800 m d'altitude). (AC) acide chlorogénique.

III.1.3. Développement de l'antracnose sur des baies inocuées *in vitro*

III.1.3.1. Variabilité du taux d'infection des baies *in vitro*

L'analyse de variance a montré que la variété a un effet significatif ($p= 0,027864$) sur le taux d'infection des baies *in vitro*. Cependant, l'âge des baies pendant les inoculations artificielles, l'année d'expérimentation et le type d'ombrage n'ont pas montré un effet significatif sur l'infection des baies *in vitro* ainsi que les interactions à $P \leq 0,05$ (Tableau XIII).

Tableau XIII. Analyse de variance du taux d'infection *in vitro*.

Variables	DDL	MC	Test de F	Pr > F
Année	1	660,08	082	0,36432
Age de baies	1	1386,75	1.73	0,189123
Variété	1	3924,08	4,91	0,027864**
Type d'ombrage	1	784,08	0,98	0,32291
Année*age des baies	1	140,08	0,17	0,6757
Année et variété	1	520,08	0,65	0,42057
Age des baies*variété	1	114,08	0,14	0,070580
Année*type d'ombrage	1	44,08	0,05	0,81449
Age des baies *type d'ombrage	1	954,08	1.19	0,27568
Variété*type d'ombrage	1	0,08	0,00010	0,991858
Erreur	176	797,96		

**Facteurs ayant un effet significatif sur l'infection des baies *in vitro* à $P \leq 0,05$

III.1.3.2. Influence de la variété, de l'âge des baies et du type d'ombrage sur la contamination des baies à l'antracnose *in vitro*

La période d'incubation a été de 6 jours pour la variété Java et 5 jours pour la variété Caturra. L'antracnose a été significativement sévère sur les baies de la variété Caturra par rapport à celle de la variété Java sur les deux années d'expérimentation (Fig. 30 A et B).



Fig. 30. Baies infectées 10 jours après l'inoculation : (A) Variété Caturra ; (B) Variété Java (photo prise par Kacko en 2018). Barre = 1,25 cm.

En 2016 une différence significative est notée entre les baies prélevées à la 22^{ème} SAF et celles prélevées à la 25^{ème} SAF. Toutefois, les baies de la 22^{ème} SAF ont été plus infectées. Les analyses n'ont pas montré de différence significative entre les deux séries d'inoculation en 2018. Les baies prélevées sous ombrage artificiel ont présenté un niveau d'infection statistiquement équivalent à celui des baies des caféiers exposés au soleil en 2016 et en 2018 (Tableau XIV). Même si les résultats ont montré une augmentation ascendante du taux d'infection *in vitro* en 2016 et 2018 en fonction du temps (Fig. 31 A, B), aucune différence significative n'a été observée au 10^{ème} jour d'observation entre les deux années à $P = 0,36432$ pour le pourcentage de baies infectées (Tableau XIII).

Tableau XIV. Moyennes du niveau d'infection à l'antracnose des baies en fonction de la variété, de l'âge des baies et du type d'ombrage.

Variables	Modalités	Pourcentages moyens de baies malades <i>In vitro</i>	
		Années	
		2016	2018
Variétés	Java	29,00 ± 12,34 ^b	27,50 ± 11,79 ^b
	Caturra	35,50 ± 13,08 ^a	47,00 ± 17,90 ^a
Age des baies	22 ^{ème} SAF	38,50 ± 14,57 ^a	37,00 ± 16,15 ^a
	25 ^{ème} SAF	25,50 ± 10,08 ^b	37,50 ± 15,02 ^a
Type d'ombrage	Sous ombrage	35,50 ± 14,11 ^a	40,50 ± 16,34 ^a
	Plein soleil	28,50 ± 11,12 ^a	34,00 ± 14,71 ^a

Les valeurs ayant les mêmes lettres pour chaque facteur ne sont pas significativement différentes à $P \leq 0,05$ d'après le test de Student -Newman – Keuls.

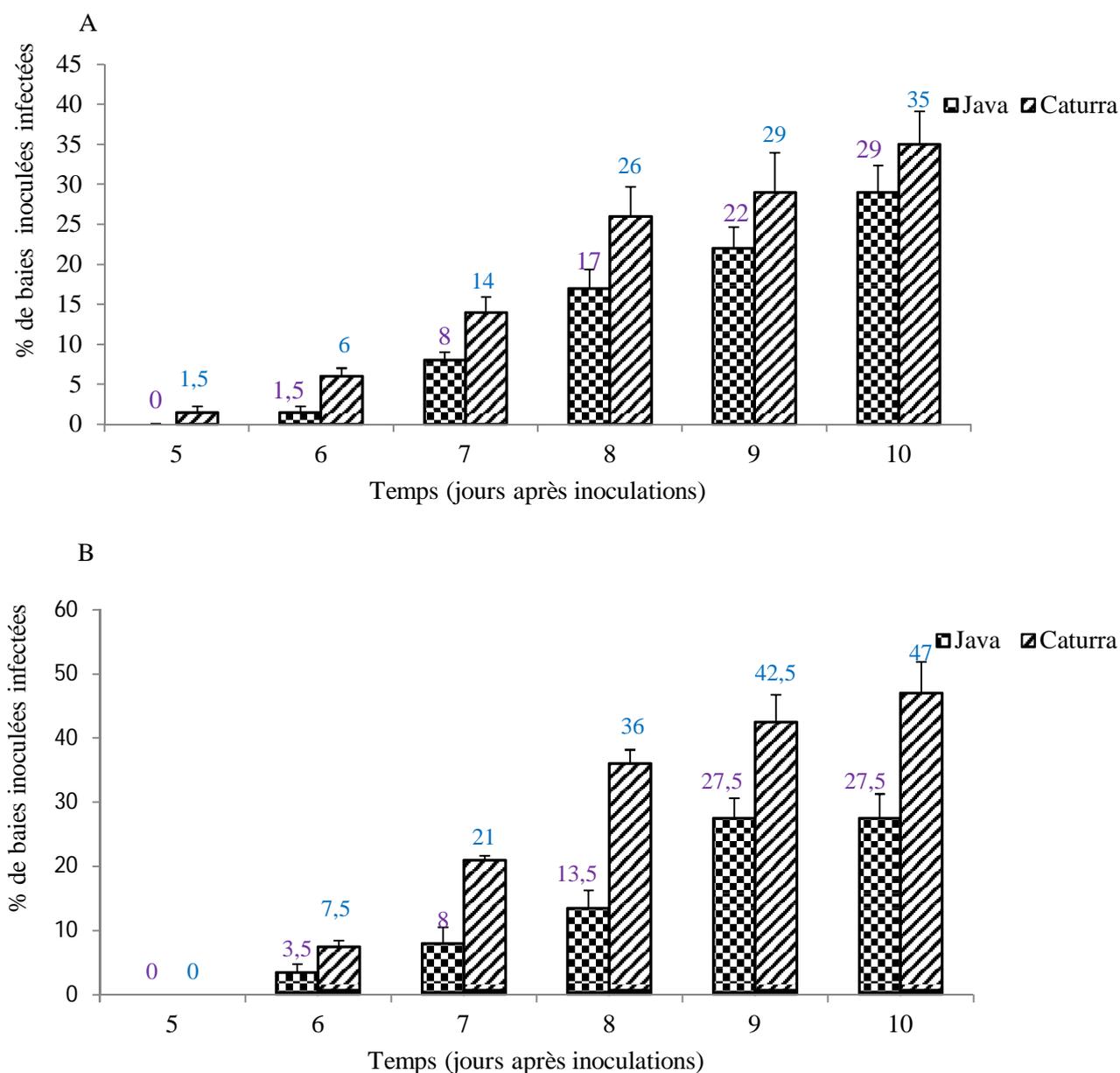


Fig. 31. Moyennes du niveau d'infection des baies *in vitro* en fonction du temps (en jour) : (A) 2016 ; (B) 2018.

III.1.3.4.1. Effet de la variété, du type d'éclaircissement et de l'inoculum sur la teneur en glucose des baies *in vitro*

L'analyse HPLC des sucres solubles a montré que le glucose était le principal sucre soluble produit par les baies 10 jours après l'inoculation. La variété ($P = 0,000405$) et le type d'ombrage ($P = 0,013018$) ont montré un effet significatif sur la teneur en glucose. (Tableau XV).

Tableau XV. Analyse de variance de la teneur en glucose dans les baies du caféier Arabica

Sources de variabilité	DDL	MC	Test de F	Pr > F
Variété	1	8,15	33,6315	0,000405***
Type d'ombrage	1	2.44	10,1056	0,013018***
Traitement	1	0.54	2,2595	0,171209
Variété*type d'ombrage	1	1.06	4,3773	0,069778
Variété*traitement	1	0.07	0,3120	0.591723
Type d'ombrage*traitement	1	0.19	0.8171	0,392446
Variété*type d'ombrage*traitement	1	0.004	0.0202	0,890447
Erreur	8	0.24236		

*** paramètres ayant un effet hautement significatif

III.1.3.4.2. Variation de la teneur en glucose des baies inoculées *in vitro*

La comparaison des moyennes a montré une différence significative de la teneur en glucose entre les baies prélevées sous ombrage artificiel et celles prélevées en plein soleil sur la variété Java à $P \leq 0.05$. Cependant, aucune différence significative n'a été notée entre les baies de la variété Caturra prélevées en plein soleil et celles prélevées sous ombrage artificiel (Fig. 32 A). Une teneur élevée en glucose a été observée chez les baies de la variété Java exposées en plein soleil tandis qu'une faible teneur a été observée chez les baies de la variété Caturra sous ombrage artificiel ($2,96 \pm 0,42$ mg/g msd et $0,75 \pm 0,03$ mg/g msd pour les variétés Java et Caturra respectivement). Aucune différence significative n'a été observée sur la teneur en sucre des deux variétés entre le contrôle (baies inoculées avec de l'eau distillée stérile) et les baies inoculées infectées (Fig. 32 B).

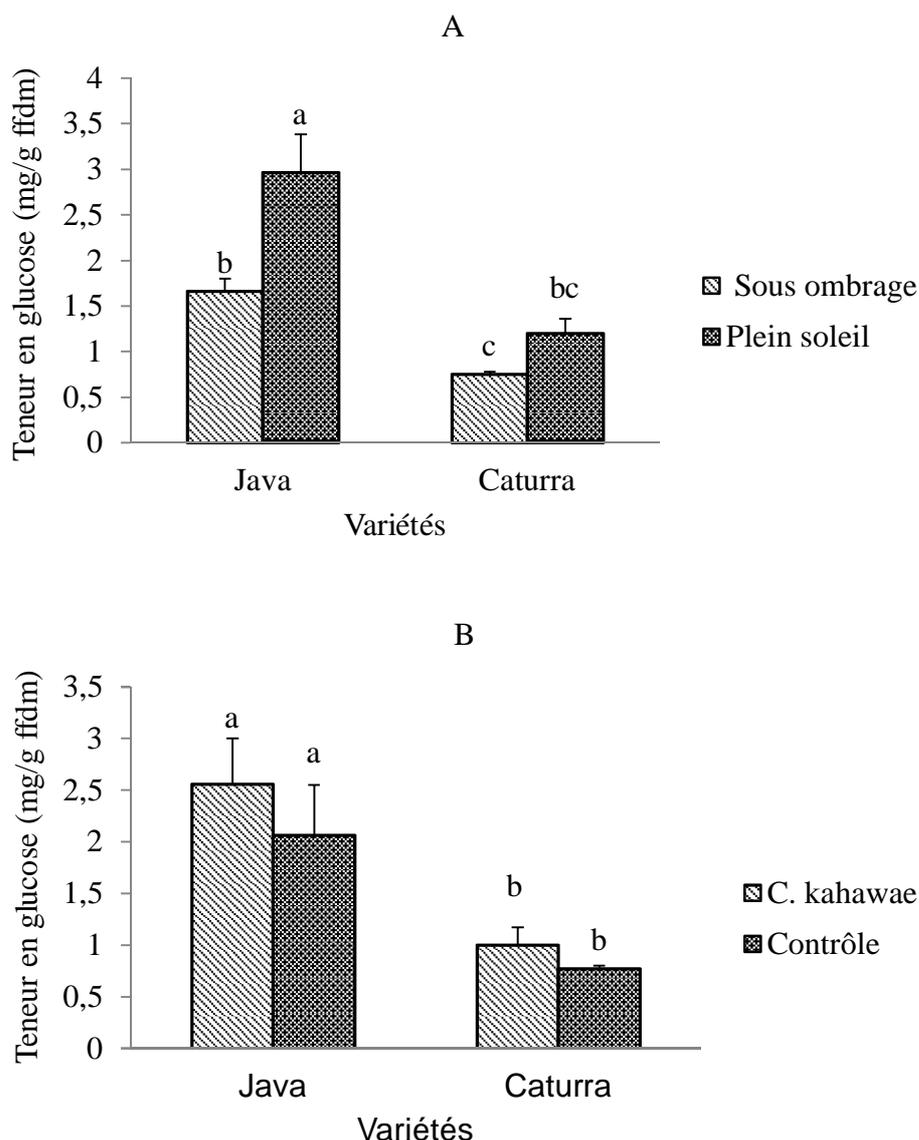


Fig. 32. Comparaison de la teneur en glucose des variétés Java et Caturra dans les baies immatures du caféier Arabica en fonction du type d'éclairage (A) et de traitements (avec l'inoculum de *C. kahawae* et l'eau distillée stérile). Les valeurs ayant les mêmes lettres pour chaque facteur ne sont pas significativement différents à $P \leq 0,05$ d'après le test de Students Newman – Keuls.

III.1.4. Effet des fongicides, de la position des baies par rapport au niveau de branches de caféier et des paramètres climatiques sur le développement de l'antracnose des baies en milieu paysan dans les conditions naturelles

Les branches des caféiers observées ont été classées en trois catégories selon qu'elles portaient des baies malades, qu'une des deux autres branches observées sur le même arbre portait des baies infectées ou que les trois branches observées sur l'arbre étaient saines. Les variations sur le nombre initial de baies, sur des baies infectées et les chutes sont observées entre les catégories de branches mais aussi entre les niveaux de branches sur l'arbre (Tableau XVI).

Tableau XVI. Moyennes annuelles des baies sur les branches de caféier en fonction de leur état et l'état des autres branches observées sur le même arbre.

Différentes classes des Branches	Nombre de branches	Niveaux de branches	Nombre initial de baies	Nombre final de baies	Nombre total de baies attaquées	Nombre total de baies saines	Nombre total de chutes
Branches portant des baies infectées	455	Inférieures	25,1	8,1	5,3	7,8	17,0
	475	Médianes	33,4	11,8	5,3	11,5	22,0
	604	Supérieures	33,8	12,8	5,9	12,4	19,6
Branches portant les baies saines sur les arbres attaqués	386	Inférieures	18,3	9,9	0	9,9	8,4
	367	Médianes	25,0	12,6	0	12,6	12,4
	238	Supérieures	26,2	14,2	0	14,2	12,1
Branches portant les baies saines sur les arbres apparemment sains	421	Inférieures	15,1	8,9	0	8,9	6,2
	421	Médianes	20,6	11,8	0	11,8	8,7
	423	Supérieures	21,5	13,9	0	13,9	7,6

III.1.4.1. Variabilité de proportions de branches portant des baies infectées

Les analyses se sont focalisées sur l'état de la branche. En moyenne, sur les 2790 branches observées et ayant des fruits, 1534 (40 %) avaient des fruits infectés. Le modèle binomial de la présence ou de l'absence de la maladie sur les branches par niveau de branche et par bloc a expliqué 63 % de déviance. Tous les prédicteurs testés étaient significatifs (le traitement, le nombre initial de baies, le niveau de branches, l'année, le bloc et l'interaction entre année et bloc). La seconde année (2017) a montré une proportion de branches attaquées significativement faible par rapport à la première année ($P < 0,05$). Le nombre initial de baies sur la branche a montré un effet positif significatif sur la proportion de branches portant les baies infectées. La proportion des branches portant des baies infectées varie suivant le niveau de branche (Fig. 33). Une branche portant des baies au niveau supérieur de l'arbre a montré une grande susceptibilité à l'antracnose qu'une branche portant des baies au milieu de l'arbre (MME 43 % contre 32 %). Les traitements ont influencé la proportion des branches portant des baies infectées (Fig. 34). Le traitement 8 (témoin non traité) a montré une proportion élevée de branches portant des baies infectées (MME 55 %). Mais les traitements 1 (Propiconazole EC 21 jours), 2 (Propiconazole EC 28 jours), et 3 (Propiconazole WP 21 jours) n'ont pas été significativement différents du témoin. Les traitements 5 (Diféconazole WP 21 jours), et 7 (Chlorothalonil/carbendazime 21 jours), ont montré moins de branches attaquées que le témoin mais n'ont pas été différents des traitements 1, 2, 3. Le traitement 4 (Diféconazole WP 28 jours) a montré significativement moins de branches portant des baies infectées par rapport aux traitements 8 et 2. Le

traitement 6 (Azoxystrobine SC 21jours) a montré significativement moins de branches portant des baies infectées par rapport à tous les autres traitements (MME 14 %).

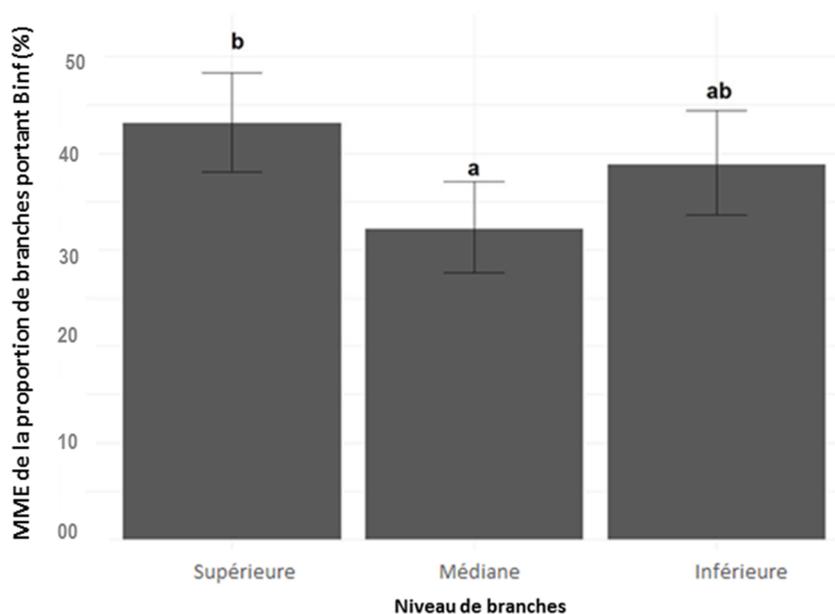


Fig. 33. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de branches portant des baies infectées en fonction du niveau de branche du caféier

Les lignes verticales représentent les intervalles de confiance à 95 % pour la MME. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes sur la base d'une comparaison par paire avec la correction de Bonferroni. Binf (Baies infectées).

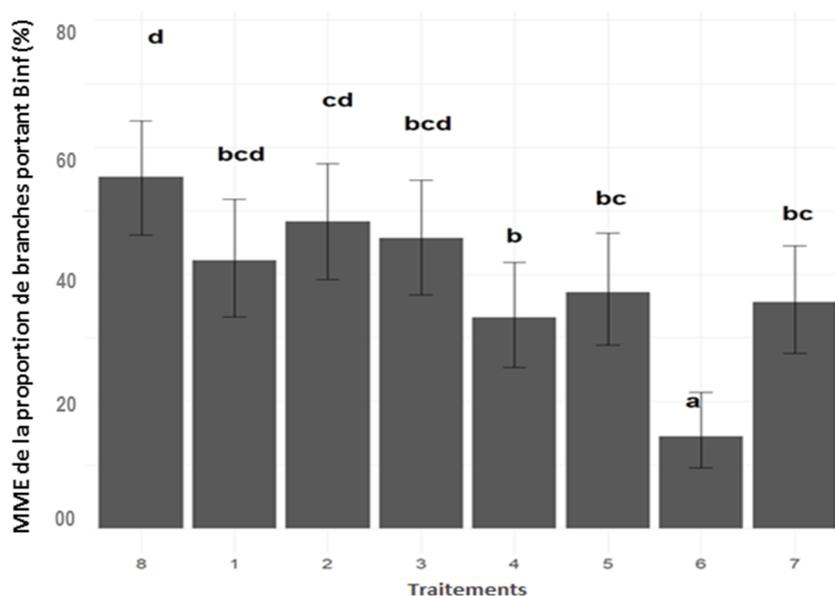


Fig. 34. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de branches portant des baies infectées en fonction du traitement appliqué au caféier.

Les lignes verticales représentent les intervalles de confiance à 95 % pour la MME. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes sur la base d'une comparaison par pair avec la correction de Bonferroni. Binf (baies infectées).

III.1.4.2. Variabilité de la proportion cumulée des fruits infectés sur les branches portant les baies attaquées

Les analyses se sont sommes focalisées uniquement sur les branches avec les fruits infectés. En moyenne, sur les branches portant des baies infectées, 18 % de baies présentaient de l'antracnose. Le modèle binomial des baies infectées ou non par niveau de branches et bloc a expliqué 42 % de la déviance. Tous les prédicteurs testés sont significatifs (traitement, niveau de la branche, année, bloc et interaction entre année et bloc). La deuxième année (2017) a montré une proportion significativement plus élevée de baies infectées sur les branches portant les baies attaquées qu'à la première année ($p < 0,05$). La proportion de baies infectées a varié selon le niveau de la branche (Fig. 35). Une branche située au niveau inférieur de l'arbre a montré une grande susceptibilité d'avoir plus de baies infectées qu'une branche au niveau moyen ou au niveau supérieur de l'arbre (EMM 19 % contre 16 et 14 %). Le traitement a influencé la proportion des baies infectées (Fig. 36). Le traitement 8 (témoin) a montré la proportion élevée de baies infectées (EMM 21 %), mais seul le traitement 6 (Azoxystrobine 250 SC) a été significativement différent du témoin et de tous les autres traitements. Le traitement avec azoxystrobine a montré significativement moins de baies infectées (EMM 7 %) sur les branches portant des baies infectées que tous les autres traitements 1 (Propiconazole EC, 21 jours), 2 (Propiconazole EC, 28 jours), 3 (Propiconazole WP, 21 jours), 5 (Difeconazole WP, 28 jours) et 7 (Difeconazole WP, 28 jours).

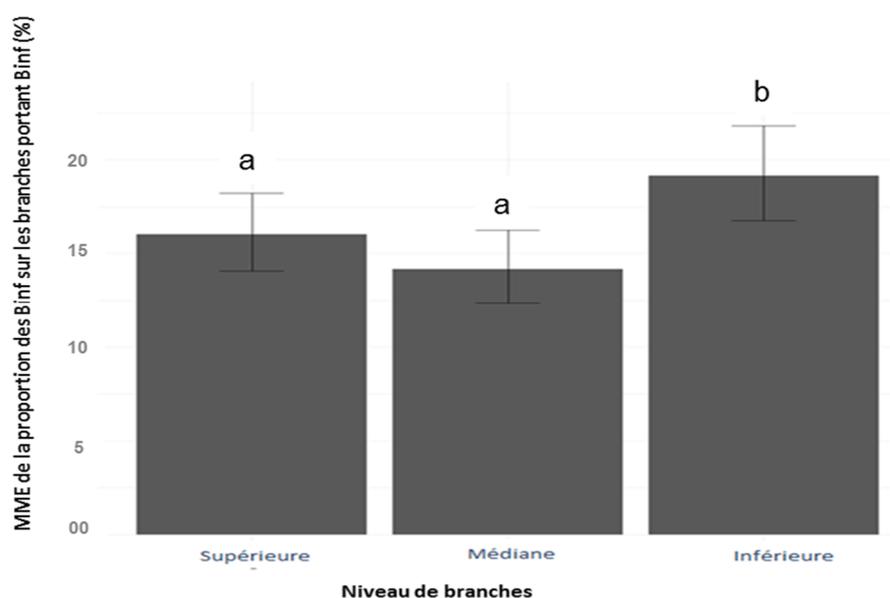


Fig. 35. Moyenne marginale estimée pour la proportion des fruits attaqués en fonction du niveau de branches

Les lignes verticales représentent les intervalles de confiances à 95 % pour la MME. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes sur la base d'une comparaison par paire avec la correction de Bonferroni (uniquement les branches portant les baies malades ont été considérées dans cette analyse). Binf (baies infectées).

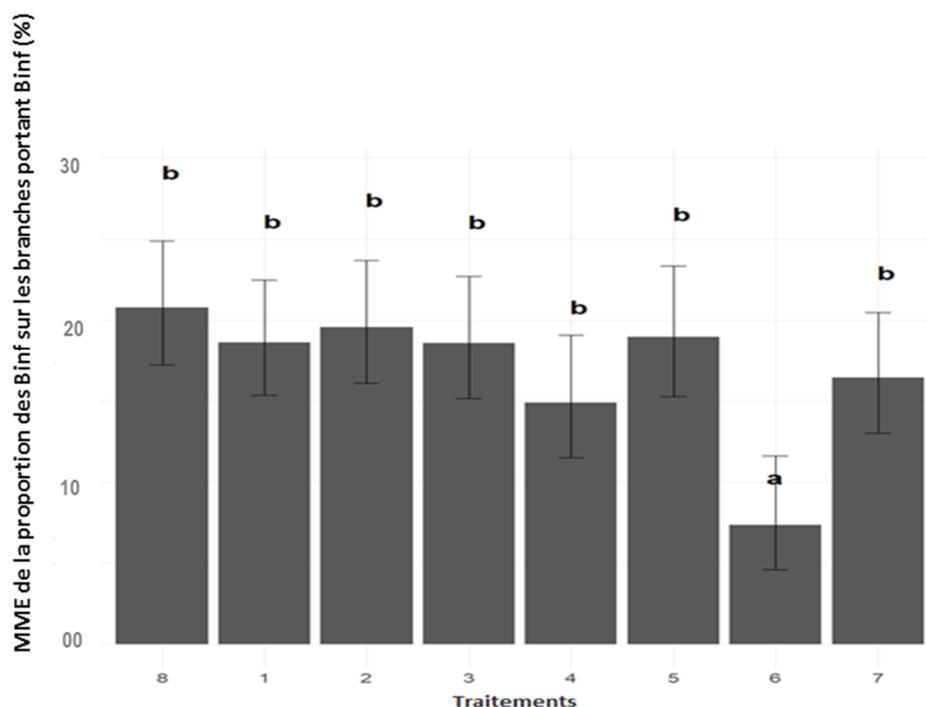


Fig. 36. Moyenne marginale estimée pour la proportion de baies infectées en fonction du traitement appliqué aux caféiers.

Les lignes verticales représentent les intervalles de confiance à 95 % pour la MME. Les moyennes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes sur la base d'une comparaison par paire avec la correction de Bonferroni. Binf (baies infectées).

III.1.4.3. Effet des traitements sur les pertes annuelles

Le nombre de baies chutées est variable, quels que soient la position et l'état des branches (Fig. 37). La moitié des baies (51 %) a chuté en moyenne. Le modèle binomial des chutes de baies par niveau de branche, a expliqué 58 % de déviance. Tous les prédicteurs testés ont montré un effet significatif (proportion de fruits infectés, traitement, état de la branche, niveau de la branche, nombre initial de fruits, bloc et interaction année et bloc) excepté l'année. La proportion de chutes des baies dépend de la proportion des baies infectées (coefficient de relation dans le modèle 4,3). La relation entre la proportion de chutes des baies et le nombre initial de baies est moins importante quantitativement (coefficient de relation dans le model -0,0004) et négative.

La chute est influencée par le niveau de la branche (Fig. 38). Une baie d'une branche médiane de l'arbre a montré une plus grande susceptibilité de chuter qu'une baie d'une branche du niveau inférieur de l'arbre (MME 54,5 % contre 51,3 %). Cependant, les baies d'une branche au niveau supérieur de l'arbre a présenté le risque de chute le plus faible par rapport aux baies d'une branche au niveau inférieur (MME 48 %).

La chute des baies est influencée par l'état de la branche (Fig. 39). Les branches saines, provenant d'arbres apparemment sains, c'est-à-dire sans baies infectées sur les trois branches étudiées, ont présenté une plus faible proportion de chute que les branches saines d'arbres malades (MME, 47 % contre 54 %). Les branches portant les baies saines ou infectées d'arbres malades ont présenté la même proportion de chute (MME 54 % contre 53 %).

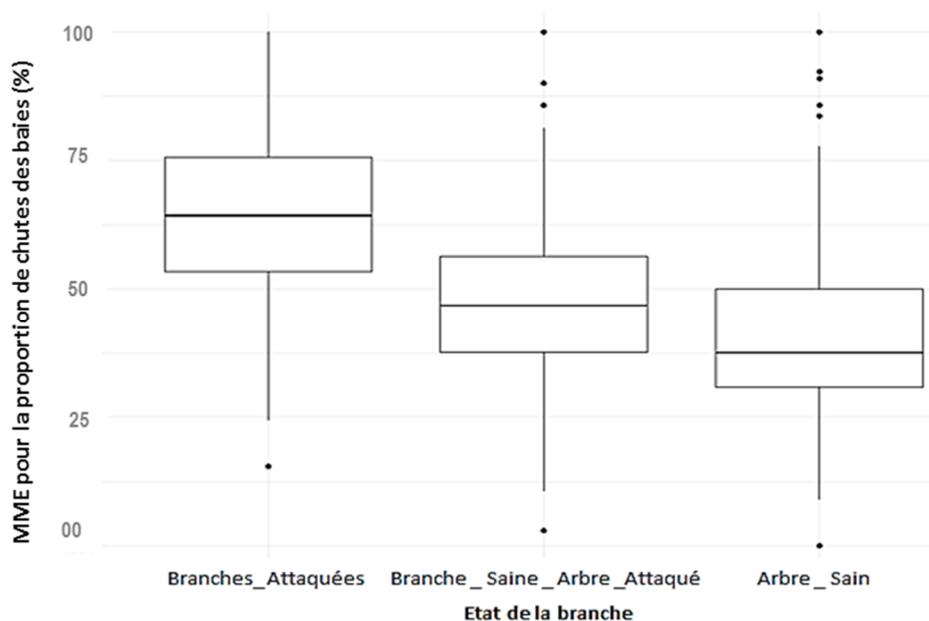


Fig. 37. Proportion de chutes de fruits en fonction de la proportion des baies infectées et de l'état de la branche (portant les baies infectées ou saines) et de l'arbre (malade ou apparemment saint). Binf (baies infectées), Bs (baies saines).

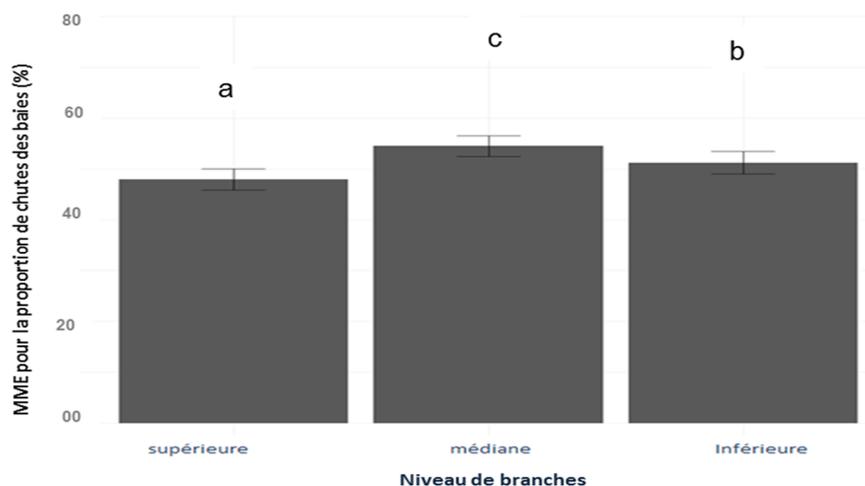


Fig. 38. Moyenne marginale estimée (MME) de la proportion de chute des fruits en fonction du niveau de branches du caféier.

Les lignes verticales représentent les intervalles de confiance à 95 % pour l'MME avec la correction de Bonferroni. Les moyennes avec la même lettre ne sont pas significativement différentes sur la base d'une comparaison par paire avec la correction de Bonferroni.

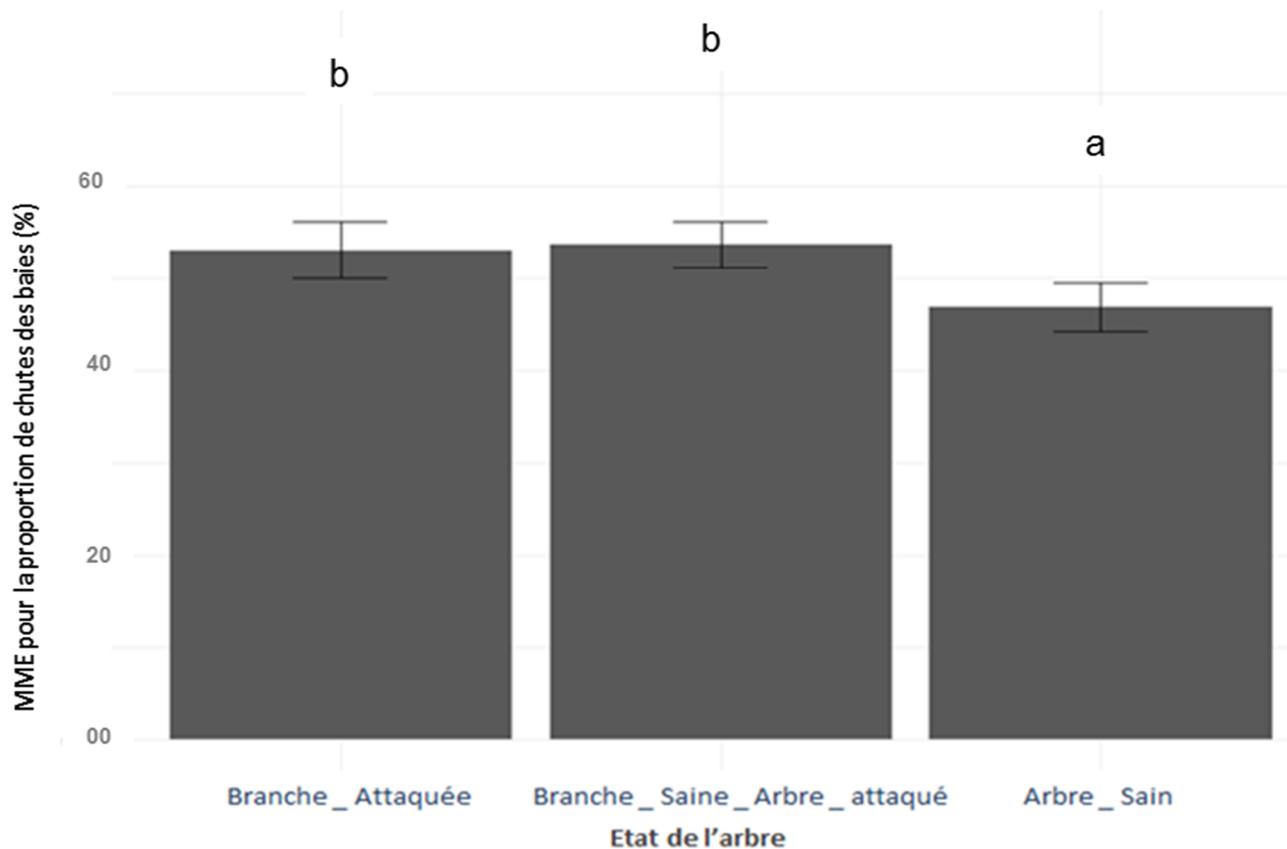


Fig. 39. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de chute des fruits due à l'antracnose des baies en fonction de l'état de la branche.

Les lignes verticales représentent les intervalles de confiance à 95 % pour l'EMM avec correction de Bonferroni. Les moyennes avec la même lettre ne sont pas significativement différentes sur la base d'une comparaison par paire avec la correction de Bonferroni. Branches _ Bs (branches portant les baies saines).

Comme la proportion de baies infectées est incluse dans le modèle, l'effet du traitement a été considéré indépendamment de son action sur le pourcentage d'infection expliquant une partie des chutes (Fig. 40). Le traitement 8 (témoin) a présenté la plus grande proportion de pertes (EMM 56 %), mais les traitements 1 (Propiconazole EC, 21jours), 2 (Propiconazole EC, 28jours), 4 (Diphéconazole WP, 28 jours), 5 (Diféconazole WP, 21 jours) et 6 (Azoxystrobine SC, 21 jours) ne diffèrent pas de manière significative de ce témoin. Les traitements 3 (Propiconazole WP, 21 jours) et 7 (Chlorothalonil et carbendazime SC, 21 jours) ont présenté une proportion significativement faible de chute de baies que le témoin mais ne diffèrent pas des autres traitements (EMM 49 % contre 56 %).

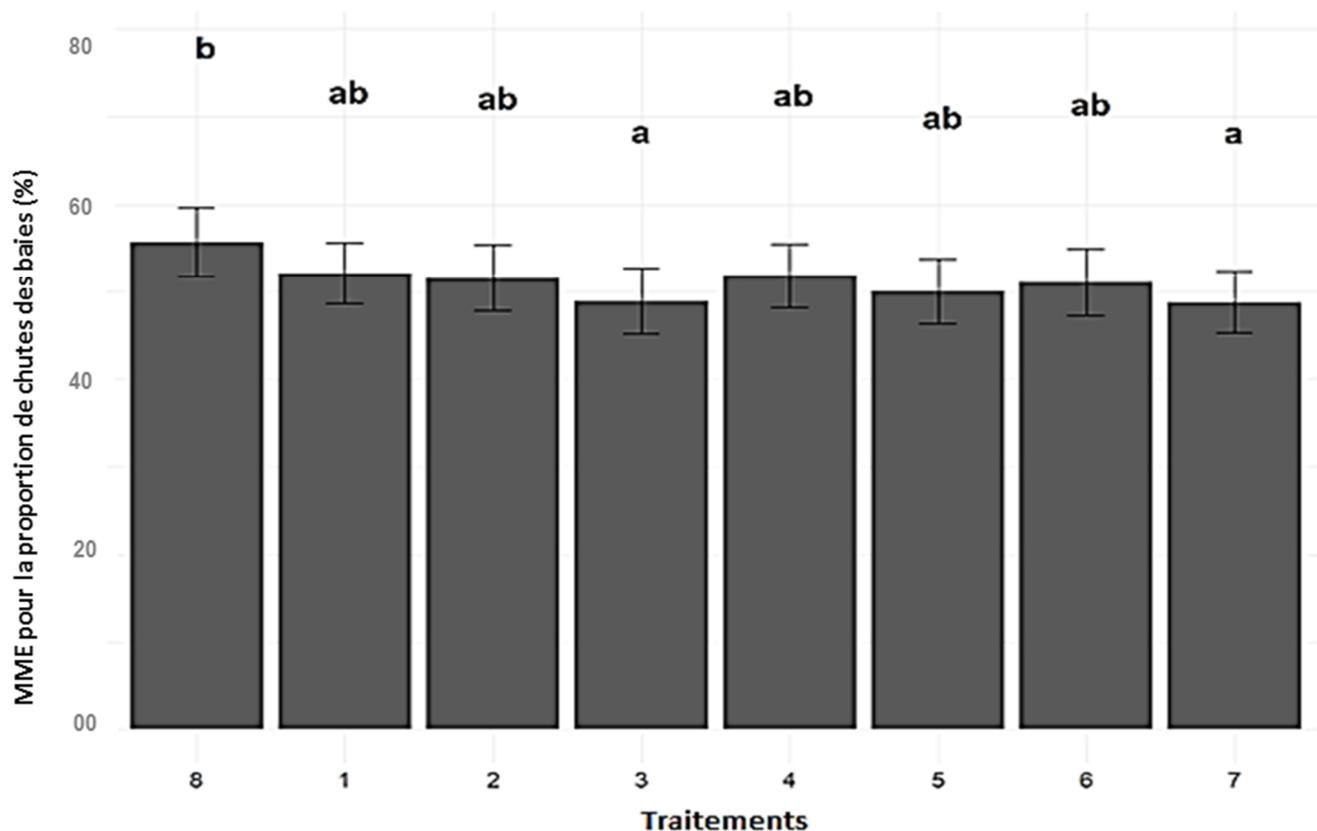


Fig. 40. Moyenne marginale estimée (MME) pour la proportion de chute des fruits en fonction du traitement dans le caféier.

Les lignes verticales représentent les intervalles de confiance à 95% pour la MME avec la correction de Bonferroni. 1 (propiconazole CE 21 jours), 2 (propiconazole CE 28 jours), 3 (propiconazole WP 21 jours), 4 (diféconazole WP 28 jours), 5 (diféconazole WP 21 jours), 6 (azoxystrobine SC 21 jours), 7 (chloronitril/carbendazime) SC 21 jours), 8 (contrôle non traité).

III.1.4.4. Biomasse fraîche de baies mûres à la récolte

La biomasse fraîche de baies mûres à la récolte, considérée comme une mesure du rendement, a varié considérablement d'une année à l'autre. La distribution a été trop dispersée en 2016 et en 2017 (Fig. 41). En 2016, elle a varié de 0 à 10,8 kg par arbre, avec une moyenne de 1,6 kg ; 50 % des arbres ont donné un rendement frais inférieur à 0,9 kg. En 2017, la biomasse fraîche de baies mûres à la récolte est inférieure à celle de 2016. Elle a varié de 0 à 5,1 kg par arbre, avec une moyenne de 0,7 kg ; 50 % des arbres ont donné un rendement frais inférieur à 0,4 kg.

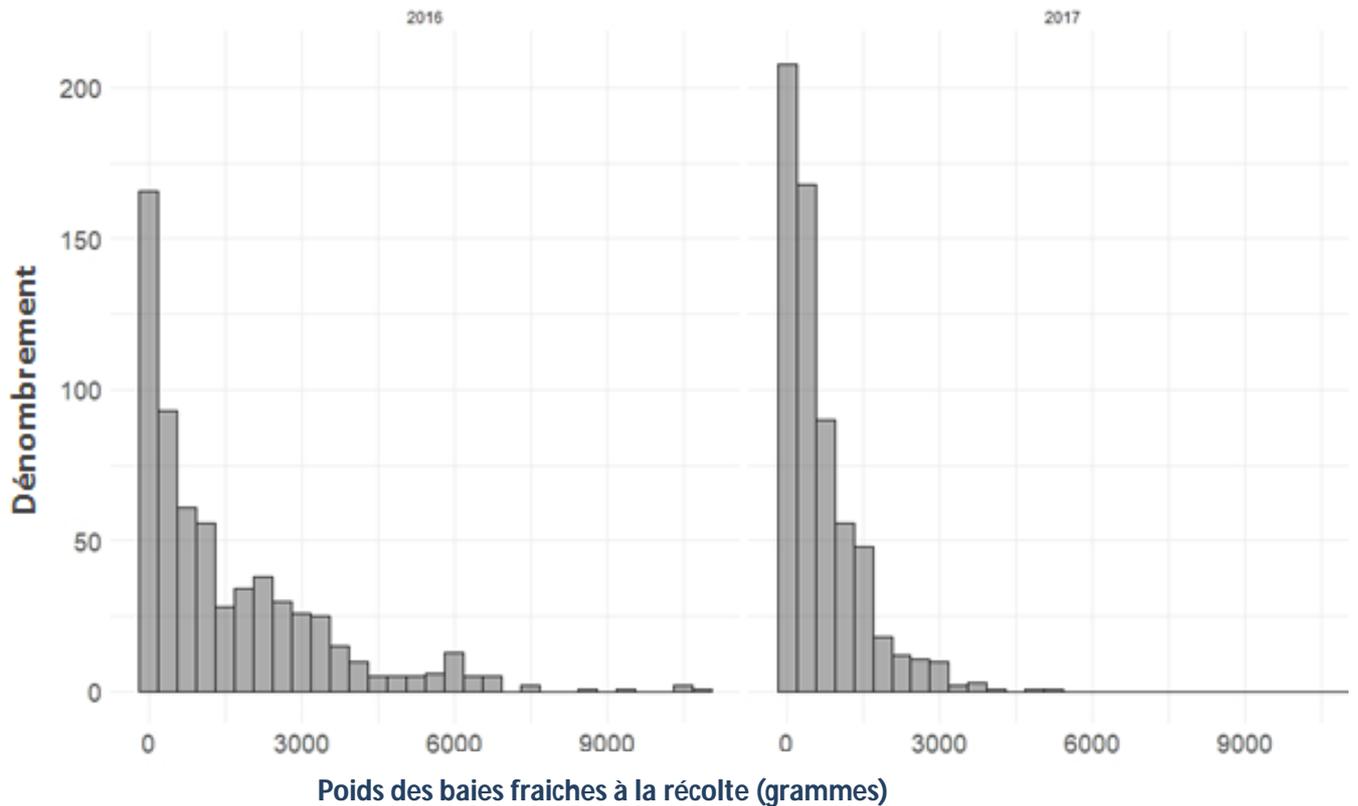


Fig. 41. Histogramme du poids frais des baies mûres récoltées par caféier pour chaque année.

Le modèle Poisson du poids frais de baies mûres par bloc explique 74 % de déviance. Deux prédictors, le nombre initial de baies et l'année ont été significatifs. Les deux autres prédictors testés, le traitement et le bloc n'ont pas été significatifs à $P \leq 0.05$. La majeure partie de la variabilité a été expliquée par le nombre initial de baies considéré comme une mesure du rendement potentiel du bloc.

III.1.4.5. Effet des paramètres climatiques sur l'épidémiologie de l'antracnose

Les analyses de corrélations croisées entre le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers traités avec l'azoxystrobine et les caféiers témoins ont été effectuées pour évaluer l'effet des paramètres climatiques sur l'action de l'azoxystrobine. Ce fongicide ayant présenté un effet inhibiteur hautement significatif sur l'antracnose des baies par rapport aux caféiers témoins (Fig. 34, 36).

Tableau XVII. Coefficient de corrélation optimum en fonction des semaines de décalage entre le taux des baies nouvellement infectées et les paramètres climatiques - Kouoptamo 2016 et 2017.

Modalités		Paramètres climatiques			
Années	Traitements	Nombre de jours de pluies	Quantité de pluies	Températures minimales	Températures maximales
2016	Azoxystrobine	0,50 (-4) **	0,50 (0) **	0,60 (-7) **	0,55 (0) **
		0,49 (-1) *			
		0,45 (0) *			
	Témoins	-0,53 (-6) **		0,46 (6)	
		-0,52 (-7) **	0,46 (0)	0,43 (5)	0,45 (5)
2017	Azoxystrobine	-0,66 (-7) **	0,50 (0) **	0,60 (-7) **	0,55 (-7) **
	Témoins	-0,52 (-7) **	0,46 (0)	0,46 (-6)	
		-0,53 (-6) **	0,43 (2)	0,43 (-5)	0,45 (-5)

**Coefficient de corrélation significatif ; (...) semaine de décalage.

En 2016, les analyses ont révélé qu'il existe des corrélations positives significatives entre le taux de nouvelles baies infectées des caféiers traités avec l'Azoxystrobine et les paramètres climatiques (le nombre de jours de pluies ; la quantité de pluies, la température minimale et maximale) (Tableau XVII). Les taux de corrélations les plus élevés ont été observés entre le taux de maladie et :

- le nombre de jours de pluies enregistrés à la 4^{ème} semaine avant les observations, soit 50 % (Fig. 42 A) ;
- la quantité de pluies enregistrée au cours de la semaine d'observations, soit 50 % (Fig.42 B) ;
- les températures minimales enregistrées à la 7^{ème} semaine avant les observations, soit 60 % (Fig. 42 C) ;
- les températures maximales enregistrées au cours de la semaine d'observations, soit 55 % (Fig. 42 D).

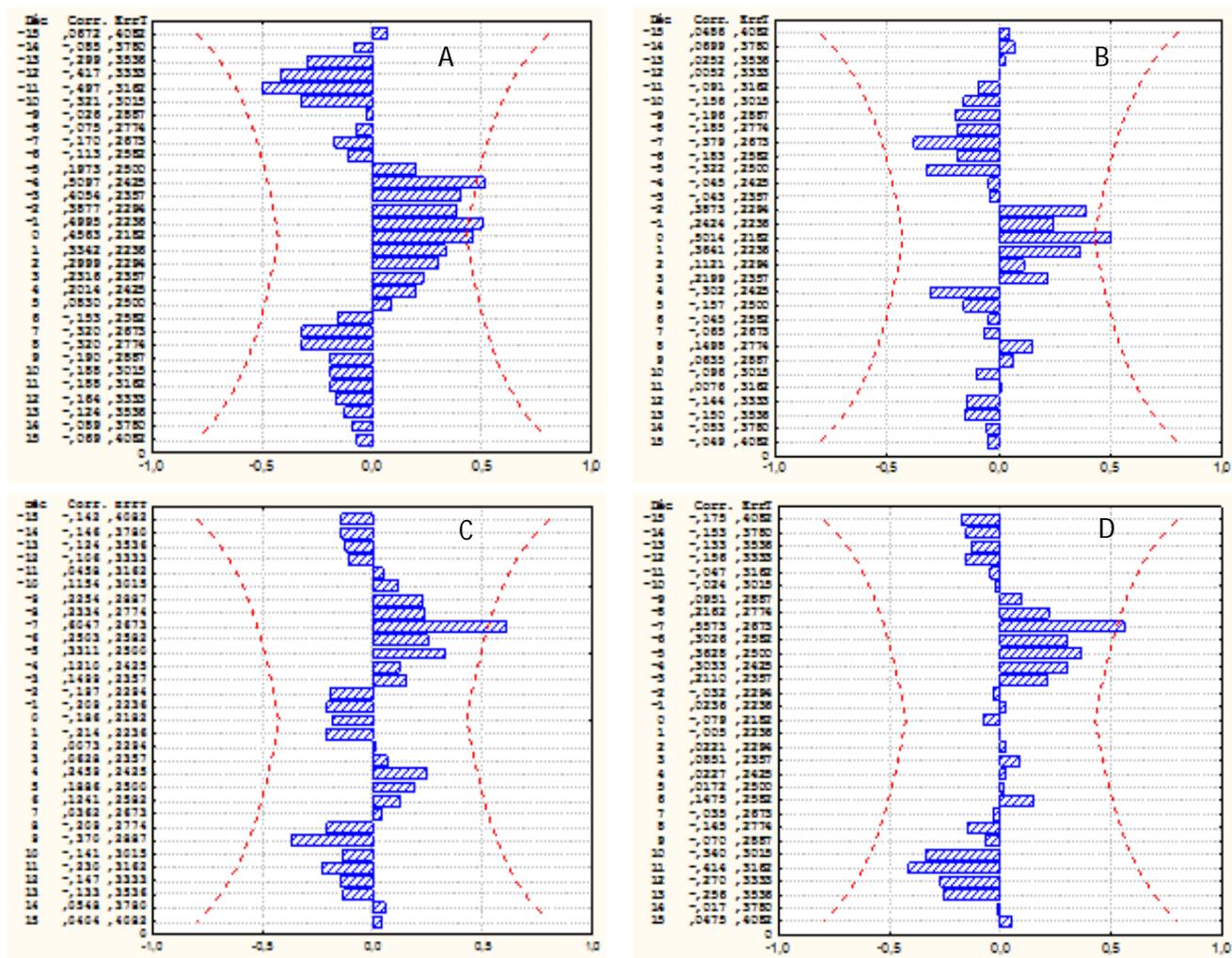


Fig. 42. Corrélogramme du nombre de jours de pluies (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers traités avec l’Azoxystrobine - Kouoptamo 2016. Déc (décalages entre les semaines d’observations), Corr (coefficients de corrélations), Errt (erreurs types).

En 2016, les analyses ont révélé qu’il existe des corrélations positives significatives entre le taux de nouvelles baies infectées des caféiers témoins et les paramètres climatiques (nombre de jours de pluies et la quantité de pluies) (Tableau XVII). Le taux de corrélations le plus élevé a été observé entre le taux de maladie et :

- le nombre de jours de pluies enregistrés à la 6^{ème} semaine avant les observations, soit 53 % (Fig.43 A) ;
- la quantité de pluies enregistrée au cours de la semaine d’observations, soit 46 % (Fig.43 B).

Aucune corrélation significative n’a été mise en évidence entre le taux de nouvelles baies infectées des caféiers témoins (non traités) et les autres paramètres climatiques (les températures minimales et maximales des semaines avant les observations) (Fig. 43. A, C, D).

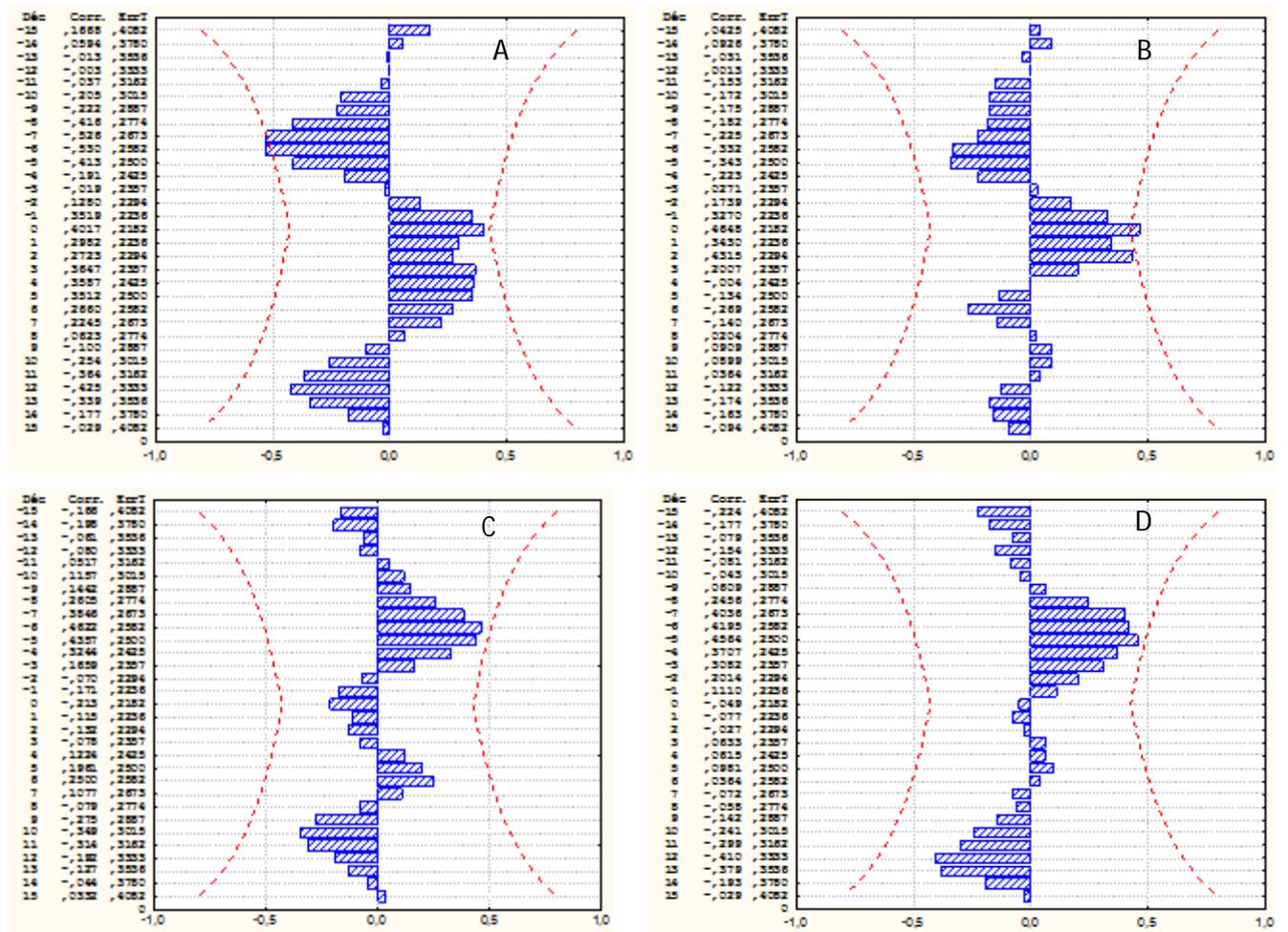


Fig. 43. Corrélogramme du nombre de jours de pluie (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers témoins (non traités) - Kouoptamo 2016. Déc (décalages entre les semaines d'observations), Corr (coefficients de corrélations), Errt (erreurs types).

En 2017, les analyses ont révélé qu'il existe des corrélations :

- positives significatives entre le taux de nouvelles baies infectées des caféiers traités avec l'Azoxystrobine et les paramètres climatiques (la quantité de pluies, les températures minimales et maximales) (Tableau XVII). Les taux de corrélations les plus élevés ont été observés entre le taux de maladie et :
 - la quantité de pluies enregistrée au cours de la semaine d'observations, soit 50 % (Fig.44 B) ;
 - les températures minimales enregistrées à la 7^{ème} semaine avant les observations, soit 60 % (Fig.44 C) ;
 - les températures maximales enregistrées au cours de la 7^{ème} semaine avant les observations, soit 55 % (Fig.44 D).

- négatives et significatives entre le taux de nouvelles baies infectées des caféiers traités avec l’Azoxystrobine et le nombre de jours de pluies (Tableau XVII). Les taux de corrélations les plus élevés ont été observés entre le taux de maladie et le nombre de jours de pluies de la 7^{ème} semaine avant les observations, soit 66 % (Fig.44 D).

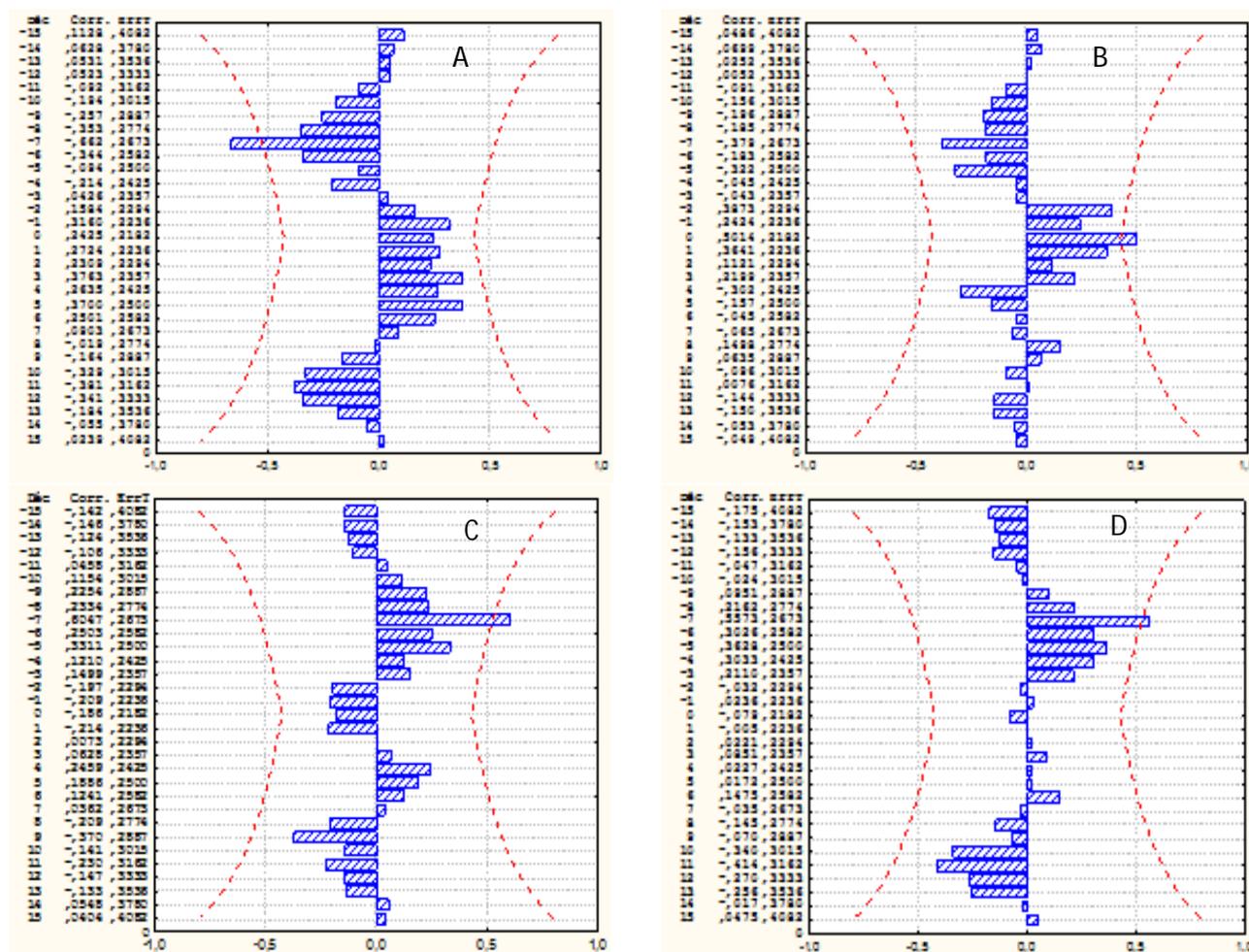


Fig. 44. Corrélogramme du nombre de jours de pluie (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers traités avec l’Azoxystrobine- Kouoptamo 2017. Déc (décalages entre les semaines d’observations), Corr (coefficients de corrélations), Errt (erreurs types).

En 2017, les analyses ont également révélé qu’il existe des corrélations :

- négatives significatives entre le taux de nouvelles baies infectées des caféiers témoins et le nombre de jours de pluies (Tableau XVII). Les taux de corrélations les plus élevés ont été observés entre le taux de maladie et le nombre de jours de pluies enregistrés à la 7^{ème} semaine avant les observations, soit 53 % (Fig.45 A).
- positives et significatives entre le taux de nouvelles baies infectées des caféiers témoins et la quantité de pluies (Tableau XVII). Les taux de corrélations les plus élevés ont été observés

entre le taux de maladie et la quantité de pluies enregistrée au cours de la semaine d'observations, soit 46 % (Fig.45 B) ;

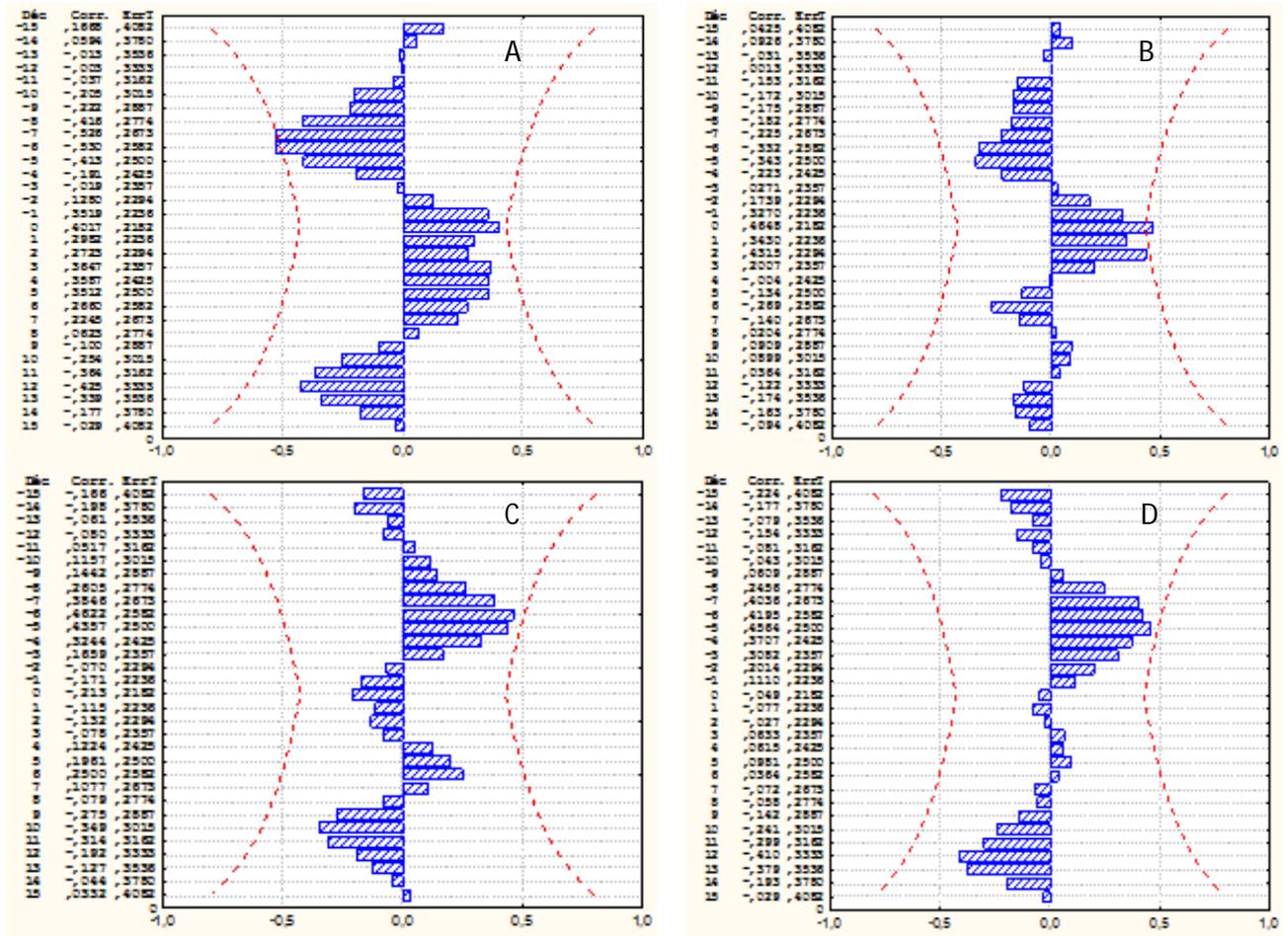


Fig. 45. Corrélogramme du nombre de jours de pluie (A), de la quantité de pluies (B), des températures minimales (C) et maximales (D), avec le taux de nouvelles baies infectées sur les caféiers témoins (non traités) - Kouoptamo 2017. Déc (décalages entre les semaines d'observations), Corr (coefficients de corrélations), Errt (erreurs types).

III.1.4.6. Variabilité du taux de nouvelles baies infectées des caféiers traités à l'Azoxystrobine (6) au cours de leur développement

Des pics de nouvelles baies infectées ont été obtenus à la 13^{ème}, 16^{ème}, 18^{ème} et 22^{ème} SAF en 2016. Chaque pic d'infection étant précédé par un épisode pluvieux (Fig. 42 A). Quels que soient l'année et le traitement, un nombre de jours de pluie en semaine supérieur ou égale à cinq a prédisposé les baies à un taux élevé d'infection (Fig. 42 A et B). Par rapport au témoin non traité où le plus grand pic de nouvelles baies infectées a été atteint à la 22^{ème} SAF (avec 3,7 % de nouvelles baies enregistrées), le plus grand pic de nouvelles baies malades sur les caféiers traités avec l'Azoxystrobine (6) a été atteint à la 19^{ème} SAF avec 0,8 % de nouvelles baies infectées enregistrées. Les moyennes de températures minimale et maximale correspondantes au stade de grande sensibilité

des baies à la maladie sur les caféiers témoins (8) et sur les caféiers traités avec l'azoxystrobine (6) sont respectivement 17,96 °C et 24,47 °C ; 18,04 °C et 25,24 °C (Fig. 44 A). En 2017, la maladie est apparue très précocement sur le témoin (8) à la 10^{ème} SAF comparée aux caféiers traités avec l'Azoxystrobine (6) où elle est apparue tardivement à la 12^{ème} semaine après la floraison. Le pic de l'antracnose été atteint à la 14^{ème} SAF quel que soit le traitement avec 0,5 % et 3,32 % de nouvelles baies malades enregistrées respectivement pour les traitements 6 et 8. Les moyennes de températures minimale et maximale étant de 17,21 °C et 25,84 °C (Fig. 42 B).

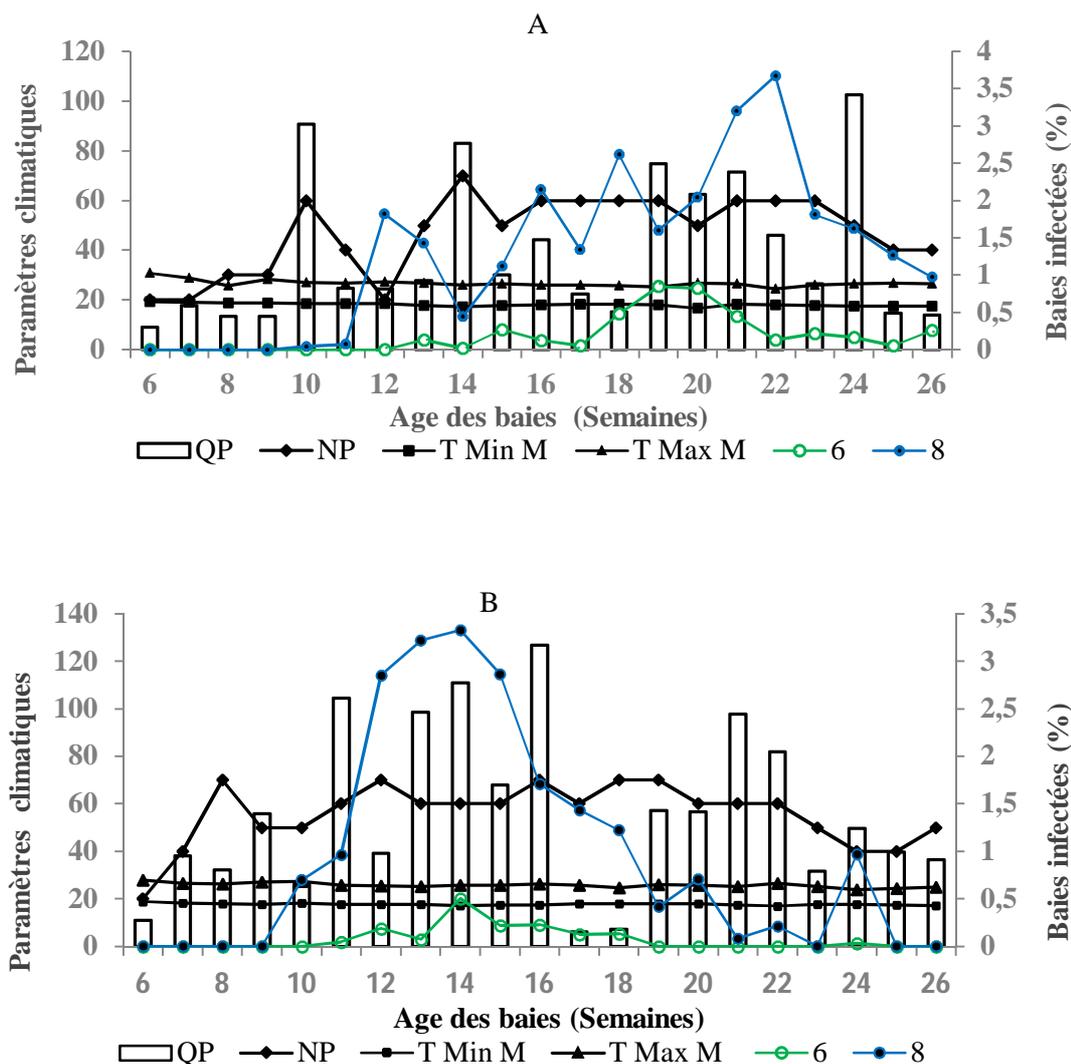


Fig. 46. Pourcentage instantané de nouvelles baies infectées en fonction des maximums et minimums hebdomadaires de température, des quantités de pluie, du nombre de jours de pluie et l'âge des baies. A (année 2016), B (année 2017). Paramètres climatiques : (QP) quantité de pluie (mm) ; (NP) Nombre de jour de pluie ($\times 10$) ; (TMin Moy). Température minimale moyenne (°C) ; (TMax Moy) Température maximale moyenne (°C) ; (T6). Traitement avec l'Azoxystrobine ; (T8) Témoin non traité.

III.2. Discussion

III.2.1. Effet de l'altitude et de l'ombrage du caféier sur l'anthracnose des baies

Le suivi épidémiologique de l'anthracnose des baies a été effectué sur les caféiers Java et Caturra cultivés à 1100 m et 1800 m d'altitude sous différents modes d'éclairage en 2016 et 2017.

A Foubot (1100 m d'altitude), bien que la variété Caturra ait montré une susceptibilité aigüe à l'anthracnose des baies comparée à la variété Java en 2016, aucune différence significative de la susceptibilité à la maladie n'a été observée entre les deux variétés en 2017. La différence de susceptibilité observée entre les deux années serait due aux importantes fluctuations climatiques d'une année à l'autre, observées pendant nos deux années d'observations. Cette variation de l'infection des baies entre ces deux années serait aussi liée au modèle annuel de la productivité des caféiers (Bote and Jan, 2016). En effet l'abondance relative des baies sur les branches favorise la contamination baies à baies (Avelino et *al.*, 2004 ; Vaast et *al.*, 2005 ; Costa et *al.*, 2006). Cependant, la distribution des assimilats dans les différents organes de la plante seraient impliquées dans ce développement différencié de la maladie entre les deux variétés (DaMatta et *al.*, 2007 ; Anand et *al.*, 2014 ; Garedew et *al.*, 2017).

L'analyse des baies a montré une forte irrégularité de la dynamique de l'infection entre la variété Java et la variété Caturra sous différents modes d'éclairage. La variété Java n'a exprimé la maladie qu'après la 24^{ème} SAF jusqu'à la 26^{ème} SAF tandis que la variété Caturra a exprimé la maladie entre la 13^{ème} et la 26^{ème} SAF. Le taux d'infection étant deux fois plus élevé sur les baies des caféiers exposés au soleil chez les deux variétés. En effet, ces stades de fortes susceptibilités des baies à la maladie se caractérisent par une forte réceptivité des tissus hôtes et par des conditions climatiques favorables au développement de la maladie (Mouen Bedimo et *al.*, 2010). La comparaison de l'effet du type d'éclairage montre que l'ombrage atténue l'impact de l'anthracnose des baies de façon significative. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Mouen Bedimo et *al.* (2008) montrant l'effet négatif de l'ombrage sur la distribution de l'anthracnose des baies. En effet l'ombrage crée des conditions microclimatiques qui aident à retarder le murissement des fruits entraînant un décalage de la période de susceptibilité des baies à l'anthracnose des baies vers la période de faible pression parasitaire (Mouen Bedimo et *al.*, 2012a).

L'analyse de la susceptibilité des baies à l'anthracnose a montré que la variété Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude) a un taux élevé d'infection comparé à celui de la variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude). A 1800 m d'altitude, l'anthracnose s'est exprimée entre la 11^{ème} et la 21^{ème} SAF. Le taux d'infection étant quatre fois plus élevé sur les baies des caféiers exposés en plein soleil par rapport au caféier sous ombrage. Ce résultat est similaire à celui obtenu par Garedew et *al.* (2017) montrant l'impact positif de l'altitude sur l'anthracnose des baies. En effet l'altitude crée des

conditions climatiques favorables au développement de l'antracnose des baies du fait de la pluviométrie élevée, l'humidité de l'air proche de la saturation et la température relativement basse (Mouen Bedimo et *al.*, 2012b ; Garedeu et *al.*, 2017). Il a été rapporté que les zones de haute pression parasitaire se situent à plus de 1500 m d'altitude comparée à celles de basse pression parasitaire situées entre 1100 et 1200 m d'altitude (Mouen Bedimo et *al.*, 2012b). Toutefois, les résultats de la présente étude ont montré que l'antracnose des baies qui était très dommageable dans les zones de hautes altitudes, devient également un fléau dans les zones d'arabiculture situées à des altitudes moins élevées (1100 m) à cause des conditions climatiques changeantes.

Par ailleurs, la période de grande susceptibilité des baies à la maladie est différente de celle obtenue par Mouen Bedimo et *al.* (2008) qui se situe entre la 8^{ème} et la 16^{ème} SAF. Il est reconnu que la susceptibilité des baies à l'antracnose est élevée durant la phase d'expansion des fruits (entre la 8^{ème} et la 17^{ème} SAF) et le stade de croissance de l'endosperme (entre la 18^{ème} et la 25^{ème} SAF) (Garedeu et *al.*, 2017). Au stade de durcissement de l'endosperme (26^{ème} et 32^{ème} SAF), les baies retrouvent leur résistance. Des variations dans ce schéma sont observées avec la variété Java cultivée à 1100 m d'altitude. La maladie s'est exprimée seulement entre la 24^{ème} et la 27^{ème} SAF et sur des caféiers exposés en plein soleil. De même, la variété Caturra a présenté les symptômes de la maladie entre la 13^{ème} SAF et 27^{ème} SAF. Les perturbations du rythme saisonnier (saisons pluvieuses entrecoupées par des périodes sèches) peuvent expliquer cette discordance dans le schéma de l'épidémiologie de l'antracnose des baies (Denhan and Waller, 1981 ; Estrada et *al.*, 1993).

III.2.2. Effet de l'altitude et de l'ombrage sur l'accumulation des acides aminés des baies

Chez les plantes, les acides aminés représentent la principale forme de transport de l'azote organique (Rainbied et *al.*, 1984 ; Hernández-Sebastià, 2005). Ils sont distribués par le xylème et le phloème à tous les organes où ils peuvent être métabolisés immédiatement ou utilisés pour la synthèse des protéines de réserve dans les tissus. Bien que les acides aminés aient montré des fortes teneurs dans les baies comparées à celles des autres acides aminés identifiés, il existe à 1100 m d'altitude une différence significative entre la variété Java et la variété Caturra.

Les teneurs élevées en acides aminés (l'aspartate, le glutamate et l'asparagine) ont été obtenues des baies de la variété Caturra prélevées sous ombrage artificiel avec l'asparagine comme acide aminé dominant. Ce résultat est en accord avec celui obtenu chez *Arabidopsis thaliana* où les mêmes acides aminés ont été identifiés (Lam et *al.*, 1995). Leurs fortes accumulations dans les baies s'expliquent par le fait qu'ils représentent 60 % des acides aminés totaux chez les plantes supérieures (Lam et *al.*, 1995). Cependant, la forte accumulation de ces acides aminés chez la variété Caturra sensible serait une réponse de la plante aux signaux environnementaux et internes (la disponibilité en azote et en sucre) contre les agressions internes et externes (Gaufichon et *al.*, 2010).

Par ailleurs, La diminution du stress induit par le soleil sur les caféiers ombragés aurait favorisé l'accumulation des acides aminés acides. En effet, l'ombrage permet de modifier le microclimat de la caféière en agissant sur les températures de celle-ci (Meven, 2015). En condition de basse température l'ouverture des stomates provoque l'augmentation de l'activité photosynthétique et le ratio feuilles/fruits sur les branches (Rapidel, 2015) permettant à la plante de maintenir sa transpiration et sa croissance à des niveaux optimaux (souza et *al.*, 2012). Ce qui expliquerait la forte accumulation des acides aminés acides dans les baies des caféiers sous ombrage. De plus le stade de développement et les facteurs environnementaux auxquels la plante est soumise ont une influence sur le métabolisme de cette dernière (Zufferey et *al.*, 2012). Par ailleurs l'ombrage favorise la formation des nouvelles branches et feuilles sur les caféiers et l'asparagine est un nutriment indispensable à la croissance des tiges et feuilles néoformées (Le Moigne et *al.*, 2018). La forte teneur en asparagine à l'ombre serait due à l'initiation du débourrement dans les caféiers ombragés. La teneur élevée de l'asparagine dans les baies des deux variétés peut être associée au fait que l'asparagine représente jusqu'à 86 % de l'azote transporté dans le xylème et le phloème des plantes supérieures (Lea and Miflin, 1980).

L'analyse des acides aminés hydrophobes et des autres a montré des fortes accumulations en tyrosine et GABA dans les baies de la variété Java (tolérante) exposée au soleil et sous ombrage. La synthèse du GABA dans la plante est le résultat de l'activité du glutamate décarboxylase (Mesnard et *al.*, 2000). Cette enzyme est rapidement accumulée chez les plantes sous différentes conditions de stress biotiques et abiotiques (Bown and Shelp, 1997 ; Mesnard et *al.*, 2000). Ainsi la forte teneur en tyrosine et GABA soutiendrait donc leur implication dans les mécanismes de défense des caféiers Arabica en condition de stress. En effet, certains acides aminés (serine, proline, leucine, tyrosine et la phénylalanine) agissent comme des molécules de signalisation et ont une action sur la force de résistance de la plante face aux agents pathogènes et aux stress. Ces acides aminés sont également à l'origine des acides phénoliques, des flavonoïdes, des glycosinolates, des alcaloïdes, des subérines et des lignines qui jouent un rôle essentiel dans la constitution des parois et des fibres ainsi que les mécanismes de défense des plantes (Hannah et *al.*, 2010 ; Timm et *al.*, 2012 ; Häusler et *al.*, 2014 ; Ros et *al.*, 2014).

A 1800 m d'altitude, le glutamate a présenté une forte teneur dans les baies prélevées sous ombrage artificiel. L'ombrage favoriserait l'accumulation des acides aminés acides par rapport aux acides aminés hydrophobes. L'effet de l'ombrage sur la composition biochimique des fruits de caféier est controversé. Geromel et *al.* (2008) ont montré que les baies des caféiers cultivés à l'ombre présentaient une réduction des teneurs en lipides et en saccharose par rapport à celles des baies des caféiers exposés en plein soleil. Les mêmes auteurs ont indiqué que les teneurs en acide

chlorogénique, protéines, tanin, trigonelline et caféine ne différaient pas significativement entre les régimes d'éclairage. En général, la haute altitude et l'ombrage provoquent une diminution de la température ambiante. Cela réduit le stress induit par la chaleur sur les plantes, augmente le ratio feuilles – fruits, le taux net de la photosynthèse, et prolonge la période de maturation des baies (Da Matta and Ramalho, 2006 ; Vaast et *al.*, 2006). Dans cette situation, il y a plus d'apports de glucides aux baies en développement pour leur remplissage. À cet égard, on s'attend à une augmentation des teneurs en glutamate et en acides aminés des baies cultivées en altitude et à l'ombre, telle qu'observée dans la présente étude.

Parmi les acides aminés hydrophobes identifiés, la valine, la leucine, l'isoleucine, l'alanine et la phénylalanine ont montré des teneurs élevées dans les baies de la variété Java cultivée à 1800 m d'altitude. Les baies prélevées des caféiers exposés en plein soleil ont présenté une forte teneur en phénylalanine. La mise en place de mécanismes de défense au stress abiotiques causés par le soleil sur les caféiers aurait emprunté la voie de phénylalanine ammonia - lyase. Cette enzyme catalyse la conversion de la phénylalanine en acide cinnamique utilisé comme substrat dans la biosynthèse des produits phytochimiques nécessaires pour la défense de la plante en condition de stress abiotique (Han-Walter and Birgit, 2011 ; Francini et *al.*, 2019).

L'analyse en composante principale a montré que parmi les acides aminés identifiés, la lysine, la tyrosine et le tryptophane ont été fortement accumulés dans les baies à la 8^{ème} SAF, qui correspond au début de la phase d'expansion des fruits, période où l'expression de l'anthracnose des baies est peu marquée (Yilma et *al.*, 2007 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2007a, 2010). Au cours de ces scénarii, il est probable que les acides aminés accumulés servent de substrat pour la voie de synthèse des phénylpropanoïdes, des lignines et des flavonoïdes nécessaires au renforcement de la paroi de l'endocarpe et de l'exocarpe des baies. En plus la lysine par conversion en L-pipecolate qui est un immunosuppresseur obtenu à partir de la β -désamination de la L-lysine induirait l'immunité chez les caféiers (Navarova et *al.*, 2012 ; Hildebrant et *al.*, 2015). Il a été rapporté que l'acide pipécolique qui est un acide aminé non protéique régule la résistance systémique acquise de la plante et l'immunité basale contre les agents pathogènes (Fu and Dong, 2013).

III.2.3. Effet de l'altitude et de l'ombrage sur l'accumulation des métabolites secondaires des baies

Les analyses chromatographiques ont permis d'identifier l'acide chlorogénique, l'épicatéchine et la caféine dans les baies des caféiers cultivés à 1800 m et 1100 m d'altitude comme principaux métabolites secondaires. Les métabolites secondaires sont des molécules dont la nature et la teneur varient en fonction des facteurs biotiques, les facteurs environnementaux ou temporels

(Mohammodi, 2006 ; Piquemal, 2008). Ils interviennent dans les processus végétaux les plus divers (Lepoivre, 2003 ; Mohammodi, 2006 ; Piquemal, 2008).

A 1100 m d'altitude, les teneurs élevées en acide chlorogénique et en épicatechine ont été obtenues dans les baies de la variété Caturra principalement des caféiers exposés en plein soleil tandis que les faibles teneurs ont été obtenues dans les baies de la variété Java des caféiers sous ombrage artificiel. Les teneurs élevées en acides chlorogénique dans les baies de la variété Caturra seraient dues à la présence d'une infection ou d'une formation défensive contre un agent pathogène. Il a été rapporté que les composés phénoliques sont préférentiellement localisés dans les tissus infectés, à leur proximité immédiate, voire dans les formations défensives (Clériver and El Modafar, 1994 ; Lepoivre, 2003).

Le profil des métabolites secondaires des baies du caféier a été étudié sous conditions d'ombre et d'altitude différentes au cours des premiers stades de développement. La variété Java cultivée à Foubot (1100 m d'altitude) et à Santa (1800 m d'altitude) ont montré une différence significative de leurs teneurs en polyphénols. Les baies des caféiers cultivés à 1800 m d'altitude et exposées en plein soleil ont présenté des fortes teneurs en acide chlorogénique et en épicatechine. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Worku et *al.* (2018) qui ont montré que des changements dans le ratio biosynthèse/dégradation des métabolites du café (c'est-à-dire caféine, acide chlorogénique) peuvent être influencés par l'altitude. Par ailleurs les régions situées à 1800 m d'altitude sont des zones de fortes pressions parasitaires (Garedew et *al.*, 2017). En effet, la forte accumulation des métabolites secondaires dans les baies prélevées à 1800 m d'altitude serait due à la présence des agressions externes biotiques (champignons) (Boizot et Charpentier, 2006). De plus, il a été montré que la température moyenne de l'air durant le développement des cerises contrôle la biosynthèse-biodégradation dans les baies (Joët et *al.*, 2009, 2010). La teneur élevée en acide chlorogénique observée à 1800 m d'altitude en plein soleil serait une forme de résistance de la plante contre les stress abiotiques induit par la chaleur sur les baies. Il a été rapporté que les plantes développent des mécanismes de défense contre l'exposition directe au rayonnement UV-B tels que l'augmentation des concentrations en composés phénoliques (Gerhardt et *al.*, 2008). Chez *Arabidopsis thaliana*, la production d'isoprène et de terpénoïdes est observée (Zhang and Björn, 2009). Aucune différence significative n'a été observée sur la teneur en caféine des baies entre les variétés, les niveaux d'altitude et les différents modes d'éclaircissement des caféiers. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Geromel et *al.* (2008) montrant que la teneur en caféine ne différait pas significativement entre les régimes de lumière.

Le profil des métabolites secondaires au cours du développement des baies a montré des teneurs élevées en acide chlorogénique, en caféine et en épicatechine au début du stade d'expansion

des fruits (à partir de la 8^{ème} SAF). L'accumulation de ces composés correspond à la période de faible susceptibilité des baies à l'antracnose. Cependant, aucune différence significative quant à la teneur de ces composés n'a été observée dans les baies à la période d'intense activité de l'antracnose (12^{ème} et 16^{ème} SAF). La préexistence d'acide chlorogénique dans les baies conférerait à cette dernière une immunité vis-à-vis des attaques cryptogamiques (Uritani, 1961 ; Brzozowska et *al.*, 1978). La teneur en acide chlorogénique au début de la phase d'expansion des fruits de la variété Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude) était trois fois plus élevée que celle obtenue des baies de son homologue cultivé à Foubot (1100 m d'altitude). La variété Caturra cultivée à foubot (1100 m d'altitude) est plus riche en acide chlorogénique que la variété Java cultivée dans le même site. Ce métabolite est prédominant dans les baies des caféiers sensibles et dans les baies des caféiers cultivés à 1800 m d'altitudes, zone de haute pression parasitaire. Il a été rapporté que certains acides phénols inhibent la croissance de *Botrytis cinera* chez le raisin (Nyerges et *al.*, 1975 ; Carole Lambert, 2011). Les composés phénoliques (l'acide chlorogénique et l'épicatéchine) accumulés pendant la phase d'expansion des fruits (8^{ème} et 17^{ème} SAF) contribueraient également au renforcement de la paroi de l'endocarpe et de l'exocarpe des baies (Lepoivre, 2003).

III.2.4. Variation de la teneur en sucres solubles au cours de l'infection des baies *in vitro*

Le suivi épidémiologique de l'antracnose des baies *in vitro* a montré que le taux d'infection des baies de la variété Caturra est élevé par rapport à celui des baies de la variété Java. La variété Caturra est connue plus sensible à l'antracnose que la variété Java (Bouharmont, 1992).

La comparaison des moyennes indique une différence significative entre le taux d'infection des baies de la 22^{ème} et celui de la 25^{ème} SAF en 2016. Ce résultat peut s'expliquer par le niveau de maturation des baies au moment de l'inoculation. Les baies matures sont moins sensibles à *C. kahawae* que les baies immatures (Mouen Bedimo et *al.*, 2008 ; Garedew et *al.*, 2017). De plus, les baies sont plus sensibles à l'antracnose pendant la phase de croissance de l'endosperme qui se situe entre la 18^{ème} et la 25^{ème} SAF. La résistance physiologique étant généralement acquise entre la 26^{ème} et la 32^{ème} SAF qui correspond au stade de durcissement de l'endosperme (Garedew et *al.*, 2017).

Le taux d'infection n'a pas été affecté par l'exposition des baies au soleil ou à l'ombre. Ce résultat est différent de celui observé sur le terrain où la propagation de la maladie est réduite sur les arbres placés à l'ombre par rapport à ceux exposés en plein soleil. Dans ce cas, l'ombrage pourrait agir comme une barrière physique contre l'antracnose des baies (Phiri et *al.*, 1999 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2012a).

L'évaluation de la dynamique d'infection *in vitro* a montré une évolution ascendante du taux d'infection des baies après la période d'incubation en 2016 et 2018. Cela montre que la sensibilité des baies à l'antracnose serait associée à son état physiologique.

L'étude de la composition en sucres solubles des baies immatures après infection nous a permis d'identifier le glucose comme le seul sucre accumulé dans les baies 10 jours après l'inoculation (Kacko et *al.*, 2020). Dans les conditions de stress *in vitro*, il y'aurait eu hydrolyse de l'amidon avec libération du glucose. L'accumulation de sucres solubles tels que le saccharose, le glucose et le fructose dans les feuilles d'*Arabidopsis thaliana* dans des conditions de stress a été rapportée (Hummel et *al.*, 2010 ; Muller et *al.*, 2011). Les glucides agiraient en association avec des composés chimiques de défense des plantes tels que les polyphénols, les phytoalexines, la phytoanticipine et la lignine en réponse au stress (Djocgoue et *al.*, 2011).

La teneur en glucose des baies de café exposées au plein soleil a été très élevée par rapport à celle des caféiers sous ombrage, principalement pour les baies de la variété Java au 10^{ème} jour après l'inoculation. Des études antérieures ont montré que le taux d'infection *in vitro* n'est pas affecté par l'exposition des baies au soleil ou à l'ombrage (Mouen Bedimo et *al.*, 2008). La réponse aux conditions de stress biotiques *in situ* par la variété Java serait maintenue dans des conditions de stress *in vitro*. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été observée entre la teneur en glucose des baies inoculées infectées et les baies témoins (non inoculées). Andrew et *al.* (2005) ont montré que l'infection *in vitro* des feuilles de *Brassica rapa* et d'*Arabidopsis* n'influence pas l'accumulation des sucres. Le glucose semble être impliqué dans l'induction des mécanismes de défense des baies de caféier Arabica contre *C. kahawae* (Kacko et *al.*, 2020). Il existe une relation possible entre la teneur en glucides spécifiques tels que le saccharose, le glucose, le galactose et la résistance de l'hôte (Evers et *al.*, 2003 ; Omokolo et Boudjeko, 2005 ; Djocgoue et *al.*, 2011). Herbers et *al.* (1996) ont rapporté que les hexoses induisent l'expression de nombreux gènes qui déterminent la production des peroxydases et autres protéines de résistance (PR) liées à la pathogénèse. De plus les sucres solubles sont des substances de base ayant la capacité de stimuler l'immunité et la défense des plantes en condition de stress (Bolouri et Van Den Ende, 2013 ; Trouvelot et *al.*, 2014 ; Morkunas et *al.*, 2014). Ainsi la forte teneur en glucose observée dans les baies de la variété Java peut s'expliquer par sa forte tolérance au *C. kahawae*.

III.2.5. Effet des fongicides et de la position des baies par rapport au niveau de branches de caféier sur l'antracnose des baies en milieu réel

Les variations du nombre initial des baies infectées et les chutes sont observées entre les catégories de branches (branches portant des baies infectées et des branches portant les baies saines sur les arbres attaqués) mais aussi entre les niveaux de branches sur l'arbre. La sensibilité des baies à l'infection est influencée par de nombreux facteurs tels que les traitements phytosanitaires, la position des baies sur l'arbre, les stades de développement des baies et le microenvironnement dans la parcelle (Bieysse et *al.*, 2002 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2008 ; Garedew et *al.*, 2017 ; Mouen Bedimo

et *al.*, 2012a, b). Ces facteurs affectent significativement la distribution de la maladie à 1100 et à 1800 m d'altitude (Bieysse et *al.*, 2002 ; Garedew et *al.*, 2017).

Les modèles d'analyse séparée des données ont montré l'existence d'une interaction entre bloc et année sur la proportion de branches portant des baies infectées. La proportion des branches portant des baies infectées et des baies infectées qui y sont observées a montré une grande variabilité d'un bloc à un autre et d'une année à une autre. La variabilité observée entre les blocs serait due aux irrégularités dans les courbes de niveau (relief) dans la parcelle expérimentale (le niveau d'altitude d'un point à un autre dans la parcelle). Il a été rapporté que la température diminuait d'environ 6,5 °C tous les 100 m d'altitude (Anonyme, 2019). Ce résultat pourrait également s'expliquer par la variabilité de l'intensité de la lumière dans la caféière entre les blocs qui serait en relation avec l'architecture des arbres d'ombrage qui s'y trouvaient. Plusieurs travaux ont aussi montré l'effet significatif de l'altitude et des paramètres climatiques sur l'antracnose des baies (Bieysse et *al.*, 2002 ; Garedew et *al.*, 2017). La différence observée sur la proportion d'infection des baies entre les années serait liée à la variabilité des paramètres climatiques observée au cours des deux saisons de notre expérimentation où une faible proportion de branches portant des baies infectées est observée en 2017 comparée à l'année précédente.

Les travaux effectués en milieu paysan dans les conditions naturelles ont montré que l'Azoxytrobine 250 SC a un effet significatif sur l'antracnose des baies. Une faible proportion de branches portant les baies infectées (MME, 16 %) et des baies infectées sur les branches portant les baies infectées (MME, 7 %) a été observée sur les caféiers traités avec l'Azoxytrobine comparée au témoin qui a montré la proportion la plus élevée des branches portant les baies infectées (MME, 53 %) et des baies infectées sur ces branches (MME, 21 %). L'Azoxytrobine aurait un effet inhibiteur hautement significatif sur le développement de *C. kahawae*. L'effet anti- mycélien et anti-sporulant de l'Azoxytrobine sur divers pathogènes du riz tels que *Heminthosporium oryzae* et *Pyricularia oryzae* a été rapporté par Bahous et *al.* (2005). L'effet inhibiteur de l'Azoxytrobine est également dû à ses propriétés systémiques et translaminaires qui facilitent la pénétration de la molécule active à l'intérieur des tissus de la plante hôte stoppant ainsi le développement du champignon et inhibant par conséquent la progression de l'antracnose (Bartlett et *al.*, 2002). L'Azoxytrobine inhibe la synthèse de l'ATP dans la chaîne respiratoire du champignon provoquant une diminution de la production d'énergie et conduit à une réduction de la formation des tubes germinatifs des champignons (Wong et Wilcox, 2001 ; Bahous et *al.*, 2005). De plus, les fongicides de la famille des strobilurines tel que l'Azoxytrobine sont des fongicides à action préventive parce qu'ils agissent sur les champignons lors des premiers stades de développement fongique (germination des spores et élongation du tube germinatif). Les fongicides de la famille des triazoles tels que le Propiconazole et le Diféconazole par

contre n'agissent sur la croissance des champignons qu'après infection (Mueller et *al.*, 2005 ; Pfender, 2006).

Les analyses ont montré dans tous les traitements que les baies des branches supérieures sont plus susceptibles d'être infectées que les branches moyennes et inférieures. Ce résultat s'expliquerait par l'énergie cinétique des gouttes de pluie qui diminue de la canopée vers les branches médianes et inférieures limitant ainsi la dispersion des conidies et la distribution de la maladie au niveau de ces branches (Lovell et *al.*, 2002 ; Mouen Bedimo et *al.*, 2012a). De plus, la barrière constituée par les branches de la canopée réduit la propagation de l'antracnose au niveau des branches médianes et basses (Mouen Bedimo et *al.*, 2007a).

Les branches inférieures ont montré une grande susceptibilité d'être attaquées par rapport aux branches moyennes et inférieures (MME, 19 % contre 16 et 14 %). En effet, l'émergence des agents pathogènes à faible dispersion comme *C. kahawae* est due à un inoculum primaire conservé sur les branches dans la parcelle, soit dans les tissus d'organes apparemment sains, soit dans les tissus d'organes morts comme les feuilles et les branches ou les fruits momifiés (Bella Manga, 1999 ; Bieysse et *al.*, 2002 ; Mouen Bedimo, 2006). La grande susceptibilité des baies portées par les branches inférieures à l'antracnose serait liée à l'architecture de la plante. Dans les stratégies de contrôle de l'antracnose des baies, les fruits situés au niveau de la canopée sont prédisposés à être plus susceptibles à la maladie que celles situées sur les branches inférieures (Mouen Bedimo et *al.*, 2012a). Les branches de la canopée constituent une sorte de barrière physique réduisant la dispersion et la distribution des conidies au niveau des branches du niveau inférieur. Cependant, la susceptibilité des baies des branches inférieures à la maladie, observées dans notre travail serait due à l'effet des fortes pluies qui conduisent à la lixiviation des conidies de la canopée vers les branches inférieures provoquant une augmentation de l'infection des baies au niveau de ces branches (Agostini et *al.*, 1993 ; Evenhuis et *al.*, 1997). La progression de la maladie au sein d'une branche et entre les branches s'expliquerait ainsi par un effet combiné au sein d'un microenvironnement particulier de la parcelle ; une autocontamination des baies et une dispersion latérale des conidies provenant d'infections préexistantes telles qu'observé par Mouen Bedimo et *al.* (2007a).

Les analyses des chutes des baies ont montré l'existence d'une interaction entre bloc et année, ce qui signifie que la proportion de chute des fruits varie d'une année à l'autre. L'interaction entre le bloc et l'année a été aussi observées sur la proportion de branches portant des baies infectées et la proportion de baies infectées sur ces branches. Donc il existerait un lien étroit entre la maladie et les chutes des baies. Cependant, les conditions d'humidité sont propices au développement de nombreux autres ravageurs et maladies des plantes qui peuvent coexister dans une caféière augmentant le taux de chute (López Bravo et *al.*, 2012), tels que : coffee berry borer, American leaf sport disease et

Coffee leaf rust causés respectivement par *Hypothenemus hampei* et *Mycena citricolor*, *Hemileia vastatrix* (Schoch et al., 2001 ; Avelino et al., 2007 ; Bosselman et al., 2009).

La proportion de chute des baies est inversement proportionnelle au nombre initial de baies sur la branche. Il faut noter que les chutes sont accentuées par l'antracnose des baies. En effet, l'abondance de baies sur les branches les prédisposent à un taux élevé d'infection (Garedew et al., 2017). Cependant, la chute des baies serait plutôt sous l'influence des conditions microclimatiques du caféier (Mouen Bedimo et al., 2012a).

Les baies des branches médianes de l'arbre sont plus susceptibles de chuter que celles des branches inférieures. Le risque élevé de chutes de baies des branches médianes serait dû à la conservation de l'humidité dans les glomérules. Cependant, le faible risque de chute de baies des branches supérieures de l'arbre serait dû à l'effet barrière des arbres d'ombrage (Mouen Bedimo et al., 2012a). Il est à noter que cette expérimentation a été menée sous un ombrage homogène d'arbres constitués de *Leucaena glauca*. L'ombrage provenant des arbres d'ombrage et les branches du niveau supérieur des caféiers augmenteraient le niveau d'ombrage dans la caféière. Ce qui serait plus élevé au niveau des branches médianes avec un taux d'humidité relativement élevé. Par conséquent, cela aurait prolongé l'épidémie et prédisposé ainsi les baies à un taux élevé d'infection et de chute (Motisi et al., 2019). Ces auteurs ont montré que l'ombrage pouvait avoir des effets contrastés sur la dynamique de l'antracnose des baies dans les caféières. Ils ont rapporté que l'ombrage peut réduire l'apparition de symptômes sur les baies le long de la branche et peut également prolonger la durée de l'épidémie. Par ailleurs, les branches portant des baies saines d'arbres apparemment sains ont présenté une plus faible proportion de chute comparée aux branches saines des arbres malades. Ce résultat indique que l'infection des baies à l'antracnose dépend des conditions micro environnementales et non de l'état sanitaire des caféiers parce que les infections latentes peuvent être présentes sur les baies des branches des arbres apparemment sains.

La proportion de chute des baies non due à l'antracnose a été moins élevée avec les caféiers ayant reçus un traitement par rapport au témoin. Ce qui indique que l'antracnose accentue les chutes des baies. De plus, les proportions de chute des baies ont été significativement élevées comparées aux pertes des baies dues à l'antracnose sur les caféiers traités et les témoins. Cette évolution oscillatoire de chute des baies serait en rapport avec les variations annuelles des facteurs climatiques qui influent sur le développement de *C. kahawae* et sur la physiologie du caféier. La proportion élevée de chute des baies pourrait également indiquer la présence dans la parcelle expérimentale d'autres bioagresseurs (Lopez Bravo et al., 2012) qui auraient contribué à l'augmentation de la proportion de chutes des baies malgré le faible taux d'antracnose observé sur des caféiers traités avec l'Azoxytrobine.

La biomasse fraîche de baies mûres récoltées a fortement varié d'une année à l'autre. La biomasse fraîche de baies dans tous les traitements en 2016 était au moins deux fois supérieure à celle enregistrée en 2017. Cela suggère que l'effet de l'interaction entre le traitement et l'année est un facteur important. La différence de rendement observée entre les deux années peut s'expliquer par le cycle de production du café et / ou par les conditions climatiques. En 2017, la saison des pluies a été interrompue par des périodes intermittentes sèches. Bote and Jan (2016) ont montré que le déséquilibre entre la charge en fruits et la croissance des branches jouent un rôle important dans l'apparition de modèle bisannuel de production chez le *C. arabica* qui serait une conséquence de la concurrence pour la disponibilité du carbone et de l'azote.

En 2016, les analyses de corrélations croisées ont permis d'obtenir des corrélations positives et significatives entre les moyennes de températures (minimale et maximale), la quantité et le nombre de jours de pluies et le taux de nouvelles baies infectées de la semaine qui précède la date d'observation avec les caféiers ayant reçu l'Azoxystrobine. En 2017, les mêmes corrélations ont été observées avec les caféiers ayant reçu l'Azoxystrobine. L'action de l'azoxystrobine serait modulée par les conditions climatiques de la caféière. Elle augmenterait aux températures élevées et confirme les faibles taux d'infections obtenu à 1200 mètres d'altitude sur les caféiers traités avec l'azoxystrobine.

En 2016, les corrélations entre le taux de nouvelles infections sur des caféiers témoins et la quantité de pluies étaient positives et significatives. Les mêmes corrélations ont été observées avec les caféiers traités avec l'Azoxystrobine de la semaine qui précède la date d'observation. Ceci laisse supposer qu'en 2016, la quantité de pluies constituait un facteur limitant pour l'infection des baies en (Mouen Bédimo et al., 2012a). Ce qui montre le pouvoir de dispersion des pluies sur les conidies de *C. kahawae* (Mouen Bédimo et al., 2012b).

En 2017, le nombre de jours pluvieux de la semaine qui précède la date d'observation s'est révélé négativement et significativement corrélé aux taux de baies nouvellement infectées sur les caféiers traités avec l'Azoxystrobine. Toutefois, les corrélations obtenues étaient différentes chaque année en fonction des traitements (Azoxystrobine et témoin). Ce résultat amène à supposer que les événements pluvieux antérieurs à l'apparition des symptômes favorisent la contamination des baies par *C. kahawae* (Mouen Bédimo et al., 2012b) si la quantité de pluie est suffisante pour déclencher la germination des conidies.

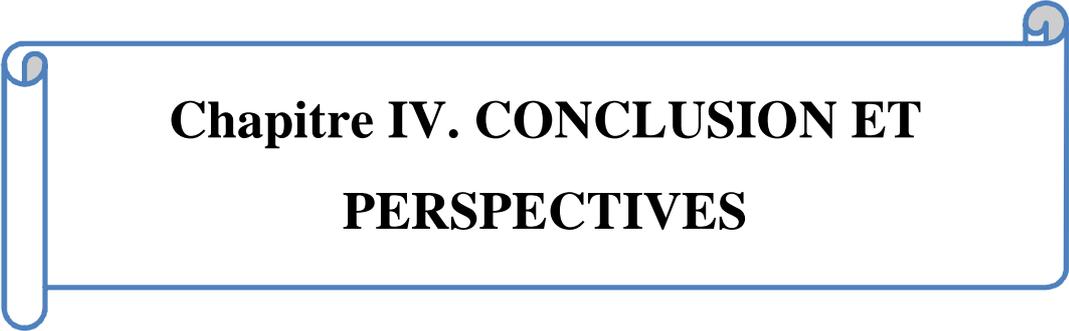
Des corrélations significatives ont été observées entre le nombre de jours de pluie et le taux d'infection des baies en 2016. En 2016 et 2017, des corrélations significatives et positives ont été observées entre la quantité de pluie et le taux d'infection de la semaine qui précède la date d'observation. Ce résultat montre que les paramètres pluviométriques pris en compte dans nos

analyses peuvent expliquer la complexité du rôle de la pluie sur le développement de l'antracnose. Ces résultats sont en adéquation avec ceux obtenus par Mouen Bédimo et *al.* (2010) qui ont rapporté que les premières pluies qui initient la floraison et accompagnent les fruits dans leur développement contribueraient également au déclenchement de l'infection des jeunes baies par *C. Kahawae*.

Les relations mises en évidence dans la présente étude entre la pluie et la sévérité de l'antracnose sont un indicateur de multiples rôles que pourraient jouer différents paramètres pluviométriques pendant le cycle épidémiologique de l'antracnose. Les diverses corrélations mises en évidence par nos analyses montrent que les températures (minimales et maximales), le nombre de jours de pluies et la quantité de pluie ont une grande incidence sur le niveau de baies nouvellement infectées. Toutefois, la relation entre le niveau de l'antracnose et chacun de ces paramètres peut changer suivant les années et le microenvironnement du caféier.

A la période de grande sensibilité des baies à l'antracnose, les températures minimales de 18 °C et maximale d'environ 27 °C ont été observées. La température minimale moyenne est plus faible que celle indiquée par Nicholson (1999) et Mouen Bedimo et *al.* (2012b). Par contre la température maximale moyenne est plus élevée. Ils ont rapporté que la susceptibilité des baies à l'antracnose est très élevée sous des conditions de température variant entre 19 °C et 21 °C pour des températures moyennes. Ces observations expliqueraient les faibles pourcentages de nouvelles baies infectées obtenus dans ce site. L'élévation de la température moyenne maximale optimale s'expliquerait par des modifications climatiques saisonnières connues ces dernières années (présence des périodes sèches rudes et plus longues). Cette fluctuation de la température moyenne maximale aurait un impact négatif sur l'incidence de l'antracnose des baies.

La dynamique de nouvelles baies malades des caféiers traités avec l'Azoxystrobine et les témoins a montré dans le processus infectieux de *C. kahawae* que chaque pic d'infection était précédé d'un épisode pluvieux pendant les deux années d'observation (2016 et 2017). Le premier pic d'infection était précédé d'un nombre de jours de pluie supérieur ou égale à cinq (5). Ce résultat confirme que la pluviométrie serait le paramètre climatique essentiel impliqué dans le déclenchement et la distribution de l'antracnose des baies à travers la hauteur et le nombre de jour de pluie (Mouen Bedimo et *al.*, 2010).



**Chapitre IV. CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**

IV.1. Conclusion

L'objectif général de ce travail était d'évaluer l'effet des différentes situations culturales des caféiers et des stades phénologiques des baies sur la dynamique de l'antracnose et les événements biochimiques associés au développement des baies.

Au terme de ce travail, les données recueillies sur l'évaluation de l'influence des facteurs environnementaux et des stades phénologiques des baies sur l'antracnose nous renseignent que la variété, le type d'éclaircissement, l'altitude, le nombre initial de baies sur la branche et leur stade de développement ont un effet significatif sur l'infection des baies. Une différence de la pression de l'agent pathogène est observée entre les deux zones d'étude (Foumbot et Santa). Sur les baies des variétés Caturra sensible et Java cultivée à Santa (1800 m d'altitude), la maladie s'étend entre la 11^{ème} et la 27^{ème} SAF et le nombre élevé de nouvelles baies malades est obtenu entre la 12^{ème} et la 21^{ème} SAF. L'ombrage réduit significativement le niveau de l'antracnose des baies.

A travers les analyses chromatographiques liquides, il ressort que la variété, le type d'éclaircissement, l'altitude et l'âge des baies influencent significativement l'accumulation des acides aminés dans les baies. Les teneurs élevées en acides aminés acides (aspartate, asparagine et arginine) sont obtenues des baies prélevées sur la variété Caturra cultivée à 1100 m d'altitude et sous ombrage. L'ombrage est favorable à l'accumulation des acides aminés acides dans les baies immature du caféier Arabica. L'analyse des acides aminés hydrophobes a mis en évidence une différence significative entre les baies des caféiers cultivés à différentes altitudes. Les baies prélevées à 1800 m d'altitude ont présenté des teneurs élevées en acides aminés hydrophobes (la valine, la leucine, l'isoleucine et la phénylalanine). Quel que soit le type d'éclaircissement du caféier, les baies prélevées à 1100 m d'altitude sur la variété Java tolérante a présenté les fortes teneurs en tyrosine. La période de diminution de la teneur en lysine, tyrosine et tryptophane dans les baies entre la 8^{ème} - 12^{ème} SAF correspond à la période d'augmentation du nombre de nouvelles baies malades. Les teneurs en leucine et GABA sont significativement élevées dans les baies de la variété Java pendant toute la période d'étude (8^{ème} - 16^{ème} SAF). La phénylalanine est fortement accumulée dans les baies de la variété Java haute altitude et plein soleil. La tyrosine, le GABA, la phénylalanine, la lysine, la valine, la leucine et l'isoleucine peuvent être considérés comme marqueurs de résistance des baies en condition de stress biotique et abiotique.

Les polyphénols (acide chlorogénique) et les flavonoïdes (épicatéchine), les alcaloïdes (caféine) sont les principaux métabolites secondaires identifiés dans les baies immatures des caféiers Arabica. L'altitude, le type d'ombrage et l'âge des baies ont un effet significatif sur l'accumulation de ces derniers dans les baies. De façon plus précise la haute altitude principalement en condition de lumière est favorable à l'accumulation des métabolites secondaires (acide chlorogénique et épicatéchine) dans les baies, excepté la caféine. Les teneurs en métabolites secondaires sont très

élevées aux premiers stades de développement des baies (8^{ème} SAF). Les composés secondaires néoformés tels que l'acide chlorogénique, l'épicatéchine peuvent également servir comme indicateurs majeurs de la résistance des baies du caféier en condition de stress.

Les données recueillies lors de l'analyse de l'effet des différentes situations culturales du caféier *in situ* sur la teneur des sucres solubles des baies immatures *in vitro* renseignent que le degré de maturation des baies pendant l'inoculation a une influence sur la susceptibilité des baies à l'antracnose. Le glucose est le sucre soluble identifié *in vitro* dans les baies vertes. Les baies du café Java (tolérant) ont montré une teneur en glucose 2,6 fois supérieure à celle obtenue des baies de la variété Caturra (sensible). La teneur en glucose des baies de la variété Java exposée au soleil est 1,5 fois plus élevée que celle des baies sous ombrage. Les teneurs élevées en glucose ont également été obtenues des baies infectées de la variété Java. Le glucose semble être impliqué dans l'induction des mécanismes de défense des baies de café Arabica contre *Colletotrichum kahawae*. L'inoculation artificielle sur les baies détachées est une approche potentielle qui peut contribuer à une meilleure compréhension de l'épidémiologie de l'antracnose des baies du caféier Arabica.

L'étude du management de la caféière Arabica contre l'antracnose des baies nous renseigne que parmi les divers fongicides testés contre cette maladie (Propiconazole, Diféconazole, Azoxystrobine et Chlorotalonil/Carbendazime), l'Azoxystrobine a un effet inhibiteur hautement significatif sur *C. kahawae*. C'est le traitement qui a permis d'obtenir significativement moins de branches portant des baies infectées (EMM 14 %) et de fruits infectés sur ces dernières (EMM 7 %). Les taux d'infections des baies ne dépendent pas de l'état sanitaire des arbres mais de la position des baies par niveau de branches et de l'ombrage dans la caféière. Un degré élevé d'ombrage réduit l'apparition de l'infection mais prolonge l'épidémiologie de la maladie, ce qui prédispose les branches et les glomérules de baies à une forte proportion d'infection et de chute. L'essentiel des différences de rendement est lié au potentiel initial en nombre, en année et est indirectement lié aux traitements fongicides appliqués sur les caféiers.

Dans le contexte des exploitations caféières au sein desquelles notre expérimentation en milieu paysan a été conduite, l'amélioration de la culture du caféier ne devrait pas se limiter à l'utilisation d'une variété tolérante face aux conditions environnementales changeantes. Elle devrait s'adosser sur une lutte intégrée combinant l'utilisation des arbres d'ombrage (*Leucaena glauca*) à un niveau approprié (50 %); l'application d'un fongicide tel que l'Azoxystrobine (systémique et translaminaire) en cinq (5) passages à 21 jours d'intervalles à partir de la 8^{ème} SAF et certaines techniques agricoles prophylactiques (la récolte sanitaire et la taille d'entretien) permettant de réduire les quantités d'inoculum primaires et secondaires. Cette méthode de lutte, bien qu'appropriée pour un contrôle durable de l'antracnose des baies, devrait être modulée en fonction des différents types éventuels de systèmes de productions à base de caféiers.

IV 2. Perspectives

Pour comprendre d'avantage les bases biochimiques et moléculaires de l'interaction *C. kahawae* et *C. arabica* et identifier les marqueurs de résistance, il serait judicieux :

- de mener une étude sur le profil des acides aminés et des métabolites secondaires sur les baies du caféier Arabica infectées *in vitro* et sur les baies saines pour mieux apprécier leur sensibilité vis-à-vis de *C. kahawae*. L'analyse RP-HPLC couplée au spectrophotomètre de masse permettra d'identifier avec plus de précision toutes les molécules d'intérêt ;
- tester les micros doses de certains acides aminés (tyrosine, phénylalanine, lysine, GABA), du glucose et l'acide chlorogénique sur les baies inoculées pour évaluer leur effet sur le développement de l'antracnose.
- d'évaluer le profil protéique des baies saines et des baies infectées pour comprendre les mécanismes moléculaires associés à l'interaction *C. arabica* et *C. kahawae*, les voies métaboliques impliquées, la nature des mécanismes de défense mis en place par la plante vis - à vis de *C. kahawae* et l'impact de l'expression différenciée des protéines dans la plante à différentes phases de développement des baies sur l'antracnose.

BIBLIOGRAPHIE

- Agostini J.P., Gottwald T.R. & Timmer L.W., 1993. Temporal and spatial dynamics of postbloom fruit drop of citrus in Florida. *Phytopathology*, 83 (5): 485 – 490.
- Anand C.G., Kumar P.D. & Souza G.F., 2014. Premature fruit drop & coffee production in India: a review. *In Journal of Plant Physiology*, 19 (3): 230 – 237.
- Anaya A.L., cruz-ortega R. & Waller G.R., 2006. Metabolism and ecology of purine alkaloids. *Frontiers in Bioscience*, 11: 2354 – 2370.
- Andrew J.L., Thomas M., Graham A.I. & Milner J.J., 2005. Carbohydrate partitioning and sugar signalling in cauliflower mosaic virus-infected Turnip and Arabidopsis. *Physiological & molecular plant pathology*, 67: 83 – 91.
- Anonyme, 2001. Fiche produit: le café. Technorest.org. 1 p
- Anonyme, 2007. Statistique, International Coffee Organization. <http://dev.ico.org/prices/ml.htm>
- Anonyme, 2015. Office National du Cacao et du Café, National Cacao and Coffee BOARD of Cameroun « Histoire du café au Cameroun, consulté le 11 septembre 2015 ».
- Anonyme, 2016. Comité française du café. La décaféination (en ligne), <http://www.comitéfrançaisducafe.fr/index.php?option=com.content&view=article&id=14&Itemid=53>, consulté le 9 février 2016.
- Anonyme, 2017a. Organisation International du Café. Profil sur le café du Cameroun. Yamoussoukro, 25 – 29 Septembre 2017, 42p. www.ico.org/documents/cy2016-17/
- Anonyme, 2017b. Production en volume de café dans une sélection de pays dans les pays dans le monde 2013 – 2017. Dernière mise à jour le 2 juillet 2018. <https://fr.statista.com/statistiques/571498/production-mondiale-de-cafe-principaux-pays/>
- Anonyme, 2017c. Organisation International du Café. La valeur ajoutée dans la filière africaine du café. Moussoukro (Côte d’Ivoire), 14p.
- Anonyme, 2018. Organisation International du Café. Le rapport sur le marché du café, 7p. (www.ico.org).
- Anonyme, 2019. Les formes du relief de la terre – Géographie 6^{ème} modifier le 11/09/2019. <https://www.assistancescolaire.com/eleve/6e/geographie/reviser-une-notion/les-formes-du-relief-de-la-terre-6ger01>
- Anthony F., Clifford M.N. & Noirot M., 1993. Biochemical diversity in the genus *Coffea* L. chlorogenic acids, caffeine & mozambioside contents. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 40: 61 – 70

- Anthony F., Combes M.C., Astorga C., Bertrand B., Graziosi G. & Lashermes P., 2002. The origin of cultivated *Coffea arabica* L. varieties revealed by AFLP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 894 – 900.
- Anthony F., Diniz L.E.C., Combes M.-C. & Shermes P., 2010. Adaptative radiation in *Coffea* Subgenus *Coffea* L. (Rubiaceae) in Africa and Madagascar. *Plant Systematics and Evolution*, 285 (1-2): 51 – 64.
- Arnault I., Bardin M., Ondet S., Furet A., Chovelon M., Kasprick A.- C., Marchand P., Clerc H., Davy M., Roy G., Romet L., Auger, Mançois A. & Derrigj S., 2015. Utilisation des micro – doses de sucres en protection des plantes. *Innovations agronomiques*, 46: 1 – 10.
- Avelino J., Cabut S., Barboza B., Barquera M., Alfaro R., Esquivel C., Durand J. F. & Cilas C., 2007. Topography and crop management are key factors for the development of American leaf epidemic on coffee in Costa Rica. *Phytopathology*, 97: 1532 – 1542.
- Avelino J., Willocquet L., & Savary S., 2004. Effect of crop management patterns on coffee rust epidemics. *Plant pathology*, 53: 541 – 447.
- Bahous M., Ouazzani Touhami A., Badoc A. & Douira Allal, 2005. Effet de l'azoxystrobine le pyriculariose, l'helminthosporiose, et la curvulariose du riz. *Bulletin. Société. De Pharmacie de Bordeaux*, 144, 27 – 46.
- Bailey J.A., O'Connell R.J., Pring R.J. & Nash C., 1992. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: *Colletotrichum: Biology, Pathology, and Control*. Bailey J.A. & Jeger M.J. (eds). *CAB International, Wallingford, U.K* : 88 – 120.
- Bart F., 2007. Café des montagnes, café des plaines. *Études rurales*, 180 (2) : 35 – 48.
- Bartlett D.W., Clough J.M., Godwin J.R., Hall A.A., Hamer M. & Parr – Dobrzanski B., 2002. The strobilurin fungicides. *Pesticide Management Sciences*, 58 (7): 649 – 662.
- Baxter A.P., Van der Westhuizen G.C.A. & Eicker A., 1983. Morphology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum*. *South African Journal of Botany*, 2 (4) : 259 – 289.
- Bella M., 1994. Variabilité des caractéristiques morphoculturelles et du pouvoir pathogène d'une population de *Colletotrichum coffeanum* (Noack), agent des anthracoses sur caféier Arabica. Mémoire de Diplôme d'Agronomie Approfondie, ENSAT Toulouse, France, 40 p.
- Bella Manga, 1999. Etude de la diversité de *Colletotrichum kahawae*, responsable de l'anthracose des baies et caractérisation de la résistance du caféier Arabica à cet agent. Thèse de doctorat, Université de Montpellier 2, 149 p.
- Bénac R., 1968. Paris : IRAT. Etude des besoins en éléments majeurs du Caféier Arabica en pays Bamoun. Colloque sur la Fertilité des Sols Tropicaux, Tananarive 1967/11/19-25, 992 –1006.

- Benhammou N., 2011. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud – Ouest algérien. Thèse de l'Université d'Aboubakr Belaïd-Telemcen, 161p.
- Benjamin de Lapparent, 2013. Rapport de stage: Dynamique des conditions écologiques de la culture du café dans la région centrale du Kenya 29 p.
- Berry D., Nankam C., Mouen Bedimo J.A. & Aubin V., 1992. L'antracnose des baies du caféier (CBD, Coffee Berry Disease) au Cameroun : Epidémiologie et lutte chimique. Actes du 14^e Colloque ASIC. San Francisco (USA), 499 – 509.
- Bert F., 1994. « Ethiopie : un café d'origine », *In* Tulet J-C et *al.* (eds), Paysanneries du café des hautes terres tropicales. Paris, Karthala : 53 – 67. 1997, « Paysans caféiculteurs et gestion de l'environnement montagnard au Kenya. L'exemple de la région de Machakos », in Singaravelou ed, Pratique de gestion de l'environnement dans les pays tropicaux. *Talence, DYMSET – CRET. Espaces Tropicaux*, 15 : 79 – 90.
- Bertrand B., Montagnon C., Georget F., Charmetant P. & Etienne H., 2012. Création et diffusion de variétés de caféiers Arabica : quelles innovations variétales ? *Cahiers Agricultures*, 21 : 77 – 88.
- Bieysse D., Bella M., Mouen Bedimo J.A., Ndeumeni J.P., Roussel V., Fabre J.V. & Berry D., 2002. L'antracnose des baies, une menace potentielle pour la culture mondiale de l'arabica. Plantation-Recherche-Développement. *Recherche et Caféiculture*. Cirad-CP, Montpellier, France, 144 - 152.
- Boisson C., 1984. L'antracnose du caféier : ORSTOM. (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre – Mer), 292p.
- Boizot N. & Charpentier J.P., 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des techniques de l'INRA*, 79 – 82.
- Bolouri Moghaddam M.R. & Van den Ende W., 2013. Sweet immunity in the plant circadian regulatory network. *Journal of Experimental Botany*, 64 (6) : 1439 – 1449.
- Bonnin A. L., 2016. Autour du café. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie, 215 p.
- Bosselmann A.S., Dons K., Oberthur T., Olsen C.S., Raebild A. & Usma H., 2009. The severity of outbreaks in Kenya colony. *Transactions of the British Mycological Society*, 45: 289 – 300.
- Bote A.D. & Jan V., 2016. Branch growth dynamics, photosynthesis, yield and bean size distribution in response to fruit load manipulation in coffee trees. *Trees*, 30 : 1275 – 1285.
- Botineau M., 2010. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. *Lavoisier*, 1335p
- Bouharmont P., 1992. Sélection de la variété Java et son utilisation pour la régénération de la caféière Arabica au Cameroun. *In: Café Cacao Thé*, 36 (4). 247 – 262.

- Bown A.W., & Shelp B.J., 1997. The metabolism and functions of aminobutyric acid. *Plant Physiology*, 115: 1 – 5.
- Brødback H.B. & Damkier P., 2007. «The treatment of hyperemesis gravidarum with chlorobutanol – caffeine rectal suppositorie in Denmark: practice and evidence». *Ugeskr. Laeg*, 169 (22) : 2122 – 2123.
- Bruneton J., 1993. Pharmacognosie : *Phytochimie Plantes Médicinales*, 581 – 634.
- Brzozowska J. & Hanower P., 1978. Sur les composés phénoliques des végétaux et leur rapport avec un déficit hydrique chez des cotonniers. *Annales de l'Université d'Abijan, Série C (Sciences)*, tome XII, 1976, 87 p.
- Calatayud P.– A., Desneux N. & Gall P., 2013. Caractéristiques chimiques des plantes. *Interaction Insectes – Plantes*, 752 p.
- Cannell M.G.R., 1987. Physiology of the coffee crop. *In: Clifford M.N., Willson K.C. (eds). Coffee Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage. CROOM HELM London. New York. Sydney*, 108 – 133.
- Cannon P.F., Damm U., Johnston P.R. & Weir B.S., 2012 – *Colletotrichum* – current status and future directions. *Studies in Mycology*, 73 : 181–213.
- Carole L., 2011. Etude du rôle des stilbènes dans les défenses de la vigne contre les maladies du bois. Thèse Université de Bordeaux Segaloen, 180 p
- Charrier A. & Berthaud J., 1987. Botanical classification of coffee. *In: Coffee Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage. In: Clifford M.N. & Willson K.C. (Eds). CROOM HELM, London, New York*, 12 – 47.
- Charrier A. & Eskes A.B., 1997. Les caféiers. *In : l'Amélioration des Plantes Tropicales (Charrier A., Jacquot M., Hamon S., Nicolas D. (Eds). CIRAD and ORSTOM*, 171–196.
- Charrier A. & Eskes A.B., 2004. Botany and genetics of coffee. *In: Wintgens J.N. (Eds). Coffee Growing, Processing, Sustainable Production*, 25 – 55.
- Charrier A., 1978. Étude de la structure et de la variabilité génétique des caféiers. *Bulletin de l'IFCC*, 14 : 1-100.
- Chen Z., Nunes M.A., Silva M.C. & Rodrigues J.Jr., 2004. Appressorium turgor pressure of *Colletotrichum kahawae* might have a role in coffee cuticle penetration. *Mycologia*, 96 (6): 1199 – 1208.
- Cheng B., Furtado A., Smyth H.E., & Henry R.J., 2016. Influence of genotype and environment on coffee quality. *Trends in Food Science and Technology*, 57: 20 – 30.
- Chevalier A., 1947. Les caféiers du globe. III : Systématique des caféiers et faux caféiers. Maladies et insectes nuisibles. *Encyclopédie Biologique*, P. Lechevalier, Paris, 356 p.

- Clerivet A. & El Modafar C., 1994. Vascular modification in *Platanus acerifolia* seedlings inoculated with *Caratacystis fimbriata* F sp *platani*. *European journal for Pathology*, 24: 1 – 10.
- Clifford M.N. & Kazi T., 1987. The influence of coffee bean maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline. *Food Chemistry*, 26: 59 – 69.
- Coates L.M., Muirhead I.F., Irwin J.A.G. & Gowanlock D.H., 1993. Initial infection processes by *Colletotrichum gloeosporioides* on avocado fruit. *Mycology Research*, 97 (11): 1363 – 1370.
- Coelho A., 2014. Rôle des cytochromes P450 dans la perception sensorielle et le métabolisme de la caféine chez *Drosophila melanogaster*. In : effet de la caféine chez les mammifères. Centre des sciences du goût et de l'alimentation UMR 6265 CNRS – 1324 INRA – Université de Bourgogne, 440 (2): 1027 – 1043.
- Commelin R., 2001. La filière café: des obstacles au développement persistents. Rapport d'étude présenté au MINEFI/DREE, Yaoundé, Cameroun, 47 p.
- Costa M.J.N., Zimolim L. & Rodrigues F.A., 2006. Effet of levels of coffee berry removals on the incidence of rust and on the level of nutrients, carbohydrates and redactor suga. *Fitopatologica Brasileira*, 31: 564 – 571.
- Coste R., 1955. Les caféiers et les cafés dans le monde. Tome 1 : Les caféiers. Edition Larose, Paris (Ve), 381 p.
- Cox M.L. & Irwin J.A.G., 1988. Conidium and appressorium variation in Australian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* group and closely related species. *Australlian Systematic Botany*, 1: 139 – 149.
- Cros J., Combes M., Trouslot P., Anthony F., Hamon S., Charrier A. & Lashermes P., 1998. Phylogenetic analysis of chloroplast DNA variation in *Coffea* L. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9(1): 109 – 117.
- DaMatta F.M. & Ramalho J.D.C., 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1): 55 – 81.
- Damm U., Aroncelli R., Cai L., Kubo Y., O'Connell R., Weir B. S., Yoshino K. & Cannon P. F., 2010. *Colletotrichum*: species, ecology and interactions. IMA Fungus: *The Global Mycological Journal*, 1: 161–165.
- Damm U., Woudenberg J.H.C., Cannon P.F. & Crous P.W., 2009. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. *Fungal Diversity*, 39: 45 – 87.
- Davis A.P., Chester M., Maurin O. & Fay M.F., 2007. Searching for the relatives of *Coffea* (Rubiaceae, Ixoroideae): the circumscription and phylogeny of *Coffeae* based on plastid sequence data and morphology. *American Journal of Botany*, 94(3): 313 – 329.

- Davis A.P., Govaerts R., Bridson D.M. & Stoffelen P., 2006. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 152: 465 – 512.
- Davis A.P., Woldemariam G.T., Baena S. & Moat J., 2012. The Impact of Climate Change on Indigenous Arabica Coffee (*Coffea arabica*): Predicting Future Trends and Identifying Priorities. *Plos One*, 7 (11) : 479 – 81.
- Debry G., 1993. Le café et la santé. Paris: John Libbey Eurotext, 560 p.
- Denham T.G. & Waller J.M., 1981. Some epidemiological aspects of post-bloom fruit drop disease (*Colletotrichum gloeosporioides*). In citrus. *Annal of Applied Biology*, 98: 65 – 77.
- Derridj S., Arnault I., Birch N., Elad Y., Lombarkia N., Couzi P., Pierre P. & Auger J., 2011. Les sucres solubles une opportunité pour l’agriculture durable ? *Phytoma - La Défense des Végétaux*, 640 : 10 – 14.
- Dixon R.A. & Paiva N.L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism, *The Plant Cell*, 7 (7): 1085 – 1097.
- Djocgoue P.F., Mbouobda D.H., Boudjeko T., Effa P.O. & Omokolo D.N., 2011. Amino acids carbohydrates and heritability of resistance in the *Theobroma cacao* / *Phytophthora megakarya* interaction. *Phytopathology mediterranee*, 50: 370 – 383.
- Doehlemann G., Molitor F., Hahn M., 2005. Molecular and functional characterization of fructose specific transporter from the gray mod fungus *Botrytis cinerea*. *Fungal genetics and biology*, 42 (7): 601– 610.
- Duke M.M., 1928. The genera *Vermicularia* Fr. and *Colletotrichum* Cda. *Transactions of the British Mycological Society*, 13: 156 – 184.
- Dunn H.L., 1961. High-Level Wellness: A Collection of Twenty-Nine Short Talks on Different Aspects of the Theme “High-Level Wellness for Man and Society”. Arlington, VA: Beatty.
- Eastburn D.M., McElrone A.J., & Bilgin D.D., 2011. Influence of atmospheric and climatic change on plant–pathogen interactions. *Plant Pathology*, 60 : 54 – 69.
- Elkolli M., 2017. Structure et activités des substances : Principe et applications. Master II en Ecologie microbienne. 70 p.
- Emmet R.W. & Parbery D.G., 1975. Appressoria. *Annual Review of Phytopathology*, 13: 147 – 167.
- Estrada A.B., Dodd J.C., & Jeffries P., 1993. Effects of environment on the *in-vitro* growth and development of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from the Philippines. *Acta Horticulturae*, 341: 360 – 370.
- Evenhuis A., Verdam B., & Zadocks, J. C., 1997. Splash dispersal of conidia of *Mycocentrospora acerina* in the field. *Plant Pathology*, 46: 459-469

- Evers D., Dommes J. & Hausman J.F., 2003. Carbohydrates and resistance to *Phytophthora infestans* in potato plants. *Acta Physiologiae Plantarum. In Introduction à la Génétique Quantitative*. Falconer D.S. (ed.), 1974. Masson, Paris, France, 25 : 171–178.
- Fagard M., Launay A., Clement G., Courtial J., Dellagi A., Krappe A., Soulié M.C. & Masclaux-Daubresse C., 2014. Nitrogen metabolism meets phytopathology. *Journal of Experimental Botany*, 65: 5643 – 5656.
- Farah A. & Donangelo C.M., 2006. Phenolic compounds in coffee. *Journal of Plant Physiology*, 18 (1): 23 – 36.
- Francini A., Giro A. & Ferrante A., 2019. Biochemical and molecular regulation of phenylpropanoids pathway under abiotic stresses. *Plant Signaling Molecules*, pp 183 – 192.
- Fu Z., Q. and Dong X., 2013. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Annual Review of Plant Biology*, 64: 839 – 863.
- Gadisa G., 2016. A review on the status of Coffea Berry Disease (*Colletotrichum kahawae*). In Ethiopia Journal of Biology. *Agriculture and Healthcare*, 19 (6): 2224 – 3208.
- Galili G., Avin- Wihebbert T., Angelovici R. & Fernie A.R., 2014. The role of photosynthesis and aminoacid metabolism in the energy status during seed development. *Frontiers in Plant Science*, 5: 447.
- Garedew G., Fikre L. & Pinard F., 2017. Assesement of berry drop due to coffee disease & non – CBD factors in Arabica coffee under farmers’ fields of South western Ethiopia. *Crop Protection*, 98 : 276 - 282.
- Gascon A., 2006. Sur les hautes terres comme au ciel. Identités et territoires en Ethiopie. Paris, publication de la Sorbonne, 335p.
- Gaufichon L., Reisdorf-Cren M., Rothstein S.J., Chardon F., Suzuki A., 2010. Biological functions of asparagine synthetase in plants. *Plant Science*, 179: 141-153.
- Gerhardt K.E., Lampi M.A. & Greenberg B.M., 2008. The Effects of Far-red Light on Plant Growth and Flavonoid Accumulation in *Brassica napus* in the Presence of Ultraviolet B Radiation. *Photochemistry Photobiology*. 84, 1445–1454.
- Geromel C., Ferreira L.P., Davrieux F., Guyot B., Ribeyre F. & Scholz M.S., 2008. Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46, (5 – 6): 569 – 579.
- Gichuru E.K., 1997. Resistance mechanism in Arabica coffee to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae* Sp Nov) a review. *Kenya coffee (Kenia)*, 62 (727): 2441 – 2444.

- Gielink A.J. & Vermeulen H., 1983. The ability of American and African *Colletotrichum* isolates to cause coffee berry disease symptoms and the association of some isolates with *Glomerella cingulata*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 89: 188–190.
- Goos R.D. & Tschirch M., 1962. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporioides musarum*. *Mycologia*, 54: 353 – 366.
- Gupta J.P. & Chatrath M.S., 1979. Physiology of resistance to anthracnose in guava. *Indian Phytopathology*, 32: 64 – 67.
- Halkier B.A. & Gershenon J., 2006. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*. 57: 303 – 333.
- Halpin C., 2004. Incorporating Advances in plant. *Advances in Botanical Research*, 41, 63-106.
- Hamon P., Siljak-Yakovlev S., Srisuwan S., Robin O., Poncet V., Hamon S. & De Kochko A., 2009. Physical mapping of rDNA and heterochromatin in chromosomes of 16 *Coffea* species: A revised view of species differentiation. *Chromosome Research*, 17: 291–304.
- Hannah M.A., Galdana C., Steinhauser D., Balbo I., Fernie A.R. & Willmitzer L., 2010. Combined transcript and metabolite profiling of *Arabidopsis* grown under widely variant growth conditions facilitates the identification of novel metabolite – mediated regulation of gene expression. *Plant Physiology*. 152: 2120 – 2129.
- Hans-Walter H. & Birgit P., 2011. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. *Plant Biochemistry*, 4, 434-449.
- Hastie T. & Tibshirani R., 1990. Generalized Additive Models. Chapman and Hall/ CRC Monographs on Statistics and Applied Probability. Taylor & Francis, 10p.
- Häusler R.E., Ludwig F. & Krueger S., 2014. Amino acids a life between metabolism and signaling. *Plant Science*, 229: 225 – 227.
- Havsteen B.H., 2002. The Biochemistry and Medical Significance of the Flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*. 96, 67-202.
- Herbers K. & Sonnewald U., 1996. Manipulating metabolic partitioning in transgenic plants. *Trends Biotechnology*, 14: 198-205.
- Hernandez – sebastia C., Marsolais F., Saravitz C., Israel D., Dewey R.E. & Huber S.C., 2005. Free amino acid profiles suggest a possible role for asparagine in the control of the storage product accumulation in developing seeds of low and high protein soybean lines. *Journal of Experimental Botany*, 56: 417.
- Herrmann K.M., 1995. The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. *Plant Cell*, 7: 907 – 919.

- Heuzé V. & Tran G., 2015. *Leucaena (Leucaena leucocephala)* Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. [http://www. Feedipedia.org/node/282](http://www.Feedipedia.org/node/282) last updated on sept.9, 2015. 10 – 16.
- Hildebrandt T.M., Nunes Nesi A., Araújo W.L. & Braun, H-P., 2015. Amino acid catabolism in plants. *Molecular Plant*, 8: 1963 – 1979.
- Hillocks R.J., Phiri N.A. & Overfield D., 1999. Coffee pest and disease management options for smallholders in Malawi. *Crop Protection*, 18: 199–206.
- Hummel I., Pantin F., Sulpice R., Piques M., Rolland G., Dauzat M., Christophe A., Pervent M., Bouteille M., Stitt M., Gibon Y. & Muller B., 2010. Arabidopsis plants acclimate to water deficit at low cost through changes of carbon usage: an integrated perspective using growth, metabolite, enzyme, and gene expression analysis. *Plant Physiology*, 154: 357 – 372.
- Jeffries P., Dodd J.C. & Plumbey R.A., 1990. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruit crops. *Plant Pathology*, 39 : 343 – 366.
- Joët T., Laffargue A., Descroix F., Doubeau S., Bertrand B., De Kochko A. & Dussert S., 2010. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green arabica coffee beans. *Food Chemistry*, 118(3): 693–701.
- Joët T., Laffargue A., Salmona J., Doubeau S., Descroix F., Bertrand B., 2009. Metabolic pathways in tropical dicotyledonous albuminous seeds: *Coffea arabica* as a case study. *New Phytologist*, 182(1): 146 – 162.
- Kacko A., Mouen Bedimo J.A., Cilas C., Niemenak N., 2020. *In vitro* assessment of the role of carbohydrates on the coffee's resistance against coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawae*. *International Journal of Biosciences*, 3(16): 464 - 473.
<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/16.3.464-473>
- Keller M., Viret O. & Cole F.M., 2002. *Botrytis cinerea* infection in grape flowers: defense reaction, latency, and disease expression. *Phytopathology*, 93(3): 316 –322.
- Kim Y.S. & Sano H., 2008. Pathogen resistance in transgenic tobacco plants producing caffeine. *Phytochemistry*, 69 : 882 – 888.
- Kim Y.S., Uefuji H., Ogita S., SANO H., 2006. Transgenic tobacco plants producing caffeine: a potential new strategy for insect pest control. *Transgenic Research*, 15: 667 – 672.
- Kirchhoff R.A., 1989. U.S. Patent No 4: 826 – 997. Washington, DC: U. S. Patent and Trademark office.
- Koch K., 2004. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: 235–246.

- Labouisse J.P. & Adolphe C., 2012. Conserver et gérer les ressources génétiques du caféier Arabica (*Coffea Arabica* L.) : un défi pour l'Éthiopie. *Cahiers Agricultures*, 21 : 98-105.
- Lalonde S., Tegeder M., Throne-Holst M., Frommer W.B. & Patrick J.W., 2003. Phloem loading and unloading of sugars and amino acids. *Plant, Cell and Environment*, 26: 37 – 56.
- Lam L. & Suen C.Y., 1995. Optimal combination of pattern classifiers. *Pattern Recognition Letters*, 16 (9): 945 – 954.
- Lashermes P., Combes M., Trouslot P. & Charrier A., 1997. Phylogenetic relationships of coffee tree species (*Coffea* L.) as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Theoretical and Applied Genetics*, 94: 947 – 955.
- Lashermes P., Combes M.C., Robert J., Trouslot P., D'Hont A. & Anthony F., 1999. Molecular characterisation and origin of the *Coffea arabica* L. genome. *Molecular and General Genetics*, 261: 259 – 66.
- Le Moigne M.-A., Guérin V., Furet P.-M., Billard V., Lebrec A., Spíchal L., Roman H., Citerne S., Morvan-Bertrand A., Limami A., Vian A. & Lothier J., 2018. Asparagine and sugars are both required to sustain secondary axis elongation after bud outgrowth in *Rosa hybrida*. *Journal of Plant physiology*, 222: 17-27.
- Le S., Josse J. & Husson F., 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1-18. 10.18637/jss.v025.i01.
- Lea P.J. & Miflin B.J., 1980. Transport and metabolism of asparagin and other nitrogen compounds within the plant In, Stumpf P.K., Conn E.E. Eds, *The biochemistry of plants*, Academic Press, New York. 5, 569-607.
- Lenth R., 2019. emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.3.3. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans> Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Lepoivre P., 2003. Phytopathologie. Bases Moléculaires et Biologiques des Pathosystèmes et Fondements des Stratégies de Lutte. De Boeck et Lancier (eds). Bruxelles, 1er éditions. 426 p.
- Lopez J. C., 2018. L'influence de la lumière sur la croissance. *Horticulture et agriculture*. (En ligne) <https://www.premiertech.com/global/fr/product/horticulture - agriculture/>.
- López-Bravo D.F., Virginio E.M. & Avelino J., 2012. Shade is conducive to coffee rust as compared to full exposure under standardized fruit load conditions. *Crop protection*, 38, 21-29.
- Louarn J., 1993. La fertilité des hybrides interspécifiques et les relations génomiques entre caféiers diploïdes d'origine africaine (Genre *Coffea* L. sous-genre *Coffea*). Thèse en Science Biologique de l'Université de Paris – Sud, 200 p.

- Loureiro A., Nicole M.R., Várzea V., Moncadac P., Bertrand B. & Silva M.C., 2012. Coffee resistance to *Colletotrichum kahawae* is associated with lignification, accumulation of phenols and cell death at infection sites. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, 77: 23 – 32.
- Lovell D.J., Parker S.R., Van Peteghem P., Webb D.A. & Welham S.J., 2002. Quantification of raindrop kinetic energy for improved prediction of splash-dispersed pathogens. *Phytopathology*, 92: 497 – 503.
- Macheix J.J., Fleuriet A. & Billot J., 1990. Fruit phenolics. CRC press, Floride, USA, 378p.
- Masaba D. & Waller J.M., 1992. Coffe Berry Disease: The current statut. *In: Colletotrichum: Biology, Pathology & Control*. Baley J.A. & Jeger M.J. (Eds). CAB international Walling ford UK, pp. 237–249.
- Mc Donald J., 1926. A preliminary account of a disease of green coffee berries in Kenya colony. *Transaction of the British Mycological Society*, 11: 145–154.
- Meiffren M., 1961. Contribution aux recherches sur la tracheomycose du caféier en Côte d’ivoire. *Café, Cacao, Thé*, no 1, janvier-mars 1961, pp. 28 – 37.
- Mesnard F., Azaroual N., Marty D., Fliniaux M.-A., Robins R.J., Vermeersch G. & Monti J-P., 2000. Use of ¹⁵N reverse gradient two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy to follow metabolic activity in *Nicotiana plumbaginifolia* cell suspension cultures. *Planta*, 210: 446 – 453.
- Meven C., 2015. Effet de l’ombrage sur le microclimat, la fertilité du sol et la production du caféier au Costa Rica. Mémoire de fin d’étude d’ingénieur de l’institut supérieur des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage. 30 p.
- Moe L.A., 2013. Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes, *American Plant Physiology*, 57: 687 – 692.
- Mohammedi Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentiels et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemecen. Thèse de Magistère de l’université de Tlemcen, 106p.
- Morize J., 1992. Manuel pratique de vulgarisation agricole. Front Cover Maisonneuse et Larose, 2: 339p.
- Morkunas I. & Ratajczak L., 2014. The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal pathogens. *Acta Physiologia Plantarum*, 36: 1607–1619.
- Motisi N., Ribeyre F. & Poggi S., 2019. Coffee tree architecture and its interactions with microclimates drive the dynamics of coffee berry disease in coffee trees. *Science. Research*, 9 (2544), 12p.

- Mouen Bedimo J.A., 2006. Dynamique spatio-temporelle de l'antracnose des baies du Caféier arabica due à *Colletotrichum kahawae* au Cameroun : analyse des principaux facteurs déterminants de la maladie. Thèse de Doctorat de l'école Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, 150 p.
- Mouen Bedimo J.A., Bieysse D., Cilas C. & Nottéghem J.L., 2007a. Spatio - temporal dynamics of Arabica coffee berry disease due to *Colletotrichum kahawae* on a plot scale. *Plant Disease*, 91: 1229–1236.
- Mouen Bedimo J.A., Bieysse D., Njiayouom I., Deumeni J.P., Cilas C. & Nottéghem J.L., 2007b. Effect of cultural practices on the development of arabica coffee berry disease, caused by *Colletotrichum kahawae*. *European Journal of Plant Pathology*, 119: 391-400.
- Mouen Bedimo J.A., Bieysse D., Nyassé S., Nottéghem J.L. & Cilas C., 2010. Role of rainfall in the development of coffee berry disease in *Coffea arabica* caused by *Colletotrichum kahawae* in Cameroun. *Plant Pathology*, 59: 324 – 329.
- Mouen Bedimo J.A., Cilas C., Nottéghem J.L. & Bieysse D., 2012b. Effect of temperature and rainfall variation on the development of coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawae*. *Crop Protection*, 31 : 125 – 131.
- Mouen Bedimo J.A., Dufous B.P., Cilas C. & Avelino J., 2012a. Effet des arbres d'ombrage sur les bioagresseurs de *Coffea Arabica*. *Cahiers Agricultures*, 21 : 89 – 97.
- Mouen Bedimo J.A., Njiayouom I., Bieysse D., Ndoumbè Nkeng M., Cilas C. & Nottéghem J.L., 2008. Effect of shade on Arabica Coffee Berry Disease Development: Toward an agroforestry system to reduce disease impact. *Phytopatology*, 98: 1320 – 1325.
- Mueller D.S., Jeffers S.N. & Buck, J.W., 2005. Toxicity of fungicides to urediniospores of six rust fungi that occur on ornamental crops. *Plant Disease*. 859: 255-261.
- Mukohata Y., Nakahayashi S. & Higashida M., 1978. Quercelin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation: *FEBS Letters*, 85 (2): 215 – 218.
- Muller B., Pantin F., Genard M., Turc O., Freixes S., Piques M. & Gibon Y., 2011. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal Experimental Botany*, 62 : 1715 – 1729.
- Muller R.A., 1980. Contribution à la connaissance de la phytomycocénose constituée par *Coffea arabica* L., *Colletotrichum coffeanum* Noack (sensu Hindorf), *Hemileia vastatrix* B. et Br., *Hemileia coffeicola* Maublanc et Roger. Paris, France, Institut français du café et du cacao, Bulletin n°15, 174p.

- Muller R.A., Berry D., Avelino J. & Bieysse D., 2004. Coffee diseases. In: Wintgens J.N. (Ed). Coffee: growing, processing, sustainable production: A guidebook for growers, processors, traders, and researchers. Weinheim (Allemagne). 493 – 545.
- Muruganandam V., Venkatachalam S. & Suryanarayanan R.S., 1991. Potassium enhances thigmotropically stimulated appressorium formation in *Colletotrichum capsici*. *Cryptogamic Mycology*, 12 (2) : 155-159.
- Muschler R.G., 2004. Shade management and its effect on coffee growth and quality. In: Coffee Growing, Processing, Sustainable Production. Wintgens J.N. (Ed). A guide book for growers, processors, Traders and Researchers, pp. 391 – 418.
- Navarova H., Bemsdorff F., Doring A.C. & Zeier J., 2012. Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity. *Plant Cell*, 24: 5123 – 5141.
- Nehlig A., 2012. Effets physiologiques du café et santé humaine : une revue. *Cahiers Agricultures*, 21(2):197 – 207.
- Nicholson R.L., 1992. *Colletotrichum graminicola* and the anthracnose diseases of maize and sorghum. In *Colletotrichum: Biology, Pathology, and Control*. Bailey J.A. & Jeger M.J. (Eds). CAB International, Wallingford, U.K., pp. 186 – 202.
- Niemenak N., Katja S.-S., Rohsius S., Omokolo Doumo D. & Reinhard L., 2008. Regeneration of *Theobroma cacao* L. in temporary immersion bioreactor and analyses of free amino acids in different tissues. *Plant Cell Reports*, 27 (4): 667 – 676.
- Nilson R.H., Kristiansson E., Ryberg M., Hallenberg N. & Larsson K.-H., 2008. Intraspecific ITS variability in the kingdom fungi as expressed in the internal sequence databases and its implications for molecular species identification. *Evolutionary Bioinformatics*, 4: 193–201.
- Noirot M., Poncet V., Barre P., Hamon P., Hamon S. & De Kochko A., 2003. Genome size variations in diploid African *Coffea* species. *Annals of Botany*, 92(5): 709 – 14.
- Nutman F.J. & Roberts F.M., 1960. Investigations on a disease of *Coffea Arabica* caused by a form of *Colletotrichum* Noack. I Some factors affecting infection by the pathogen. *Transaction of the British Mycological Society*, 43 (3): 489 – 505.
- Nyerges P., Szabo E. & Donko E., 1975. The role of anthocyan & phenol compounds in the resistance of grapes against *Botrytis* infection. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 10: 21 – 32.
- Nyoro J.K. & Sprey L.H., 1986. Introducing Ruiru 11 to estates and smallholders. *Kenya Coffee*, 51:7 – 28.

- Omokolo N.D. & Boudjeko T., 2005. Comparative analyses of alteration in carbohydrates, amino acids, phenols and lignin in roots of three cultivars of *Xanthosoma sagittifolium* (macabo) infected by *Pythium myriotylum*. *South African Journal of Botany*, 71: 432 – 440.
- Onzima J.R., Coulibaly N. & Montagnon C., 2002. Le développement du réseau africain de recherche sur le café pour le développement d'une production de café durable et de qualité. *Plantations, Recherche, Développement*, pp. 82 – 84.
- Pezet R., Viret O., Perret C. & Tabacchi R., 2003. Latency of *Botrytis cinerea* Pers. Fr. and biochemical studies during growth and ripening of two grape berry cultivars, respectively susceptible and resistant to grey mould. *Journal of Phytopathology*, 151(4): 208 – 214.
- Pfender W.F., 2006. Interaction of fungicide physical modes of action and plant phenology in control of stem rust of perennial ryegrass grown for seed, *Plant Disease*. 90: 1225 – 1232.
- Phiri N.A., Hillocks R.J. & Jeffries P., 2001. Incidence and Severity of Coffee Disease in Smallholder Plantations in Northern Malawi. *Crop Protection*, 20: 325 – 332.
- Piquemal G., 2008. Les flavonoïdes (en ligne):
http://www.detoursante.com/index.php?option=com_content&view=article&id=166:les-flavonoïdes&catid=41:phyto-aromatherapie&Itemid=215.
- Pratelli R. & Pilot G., 2014. Regulation of amino acid metabolic enzymes and transporters in plants. *Journal of Experimental Botany*, 65: 5535 – 5556.
- Prusky D. & Keen, N.T. 1993. Involvement of preformed antifungal compounds in the resistance of subtropical fruits to fungal decay. *Plant Disease*, 77 (2) : 1141–10.
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- R Core Team, 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rainbird R.M., Thorne J.H. & Hardy R.W.F., 1984. Role of amides, amino acids, and ureides in the nutrition of developing soybean seeds. *Plant Physiology*, 74: 329 – 334.
- Rapidel B., Allinne C., Cerdan C., Meylan L., Filho E.V. & Avelino J., 2015. Efectos ecologicos y productivos del asocio de arboles de sombra con café en sistemas agroforestales. *Sistemas Agroforestales. Funciones Productivas, Socioeconomicas y Ambientales / Montagnini F.; Somarriba E., Murgueitio E., Fassola H., Eibl B. (eds.). CATIE, Colombia*, pp. 5 – 20.
- Rayner R., 1952. Coffee berry disease. A survey of investigations carried out up to 1950. *The East African Agricultural Journal*, 17 (3): 130 – 158.

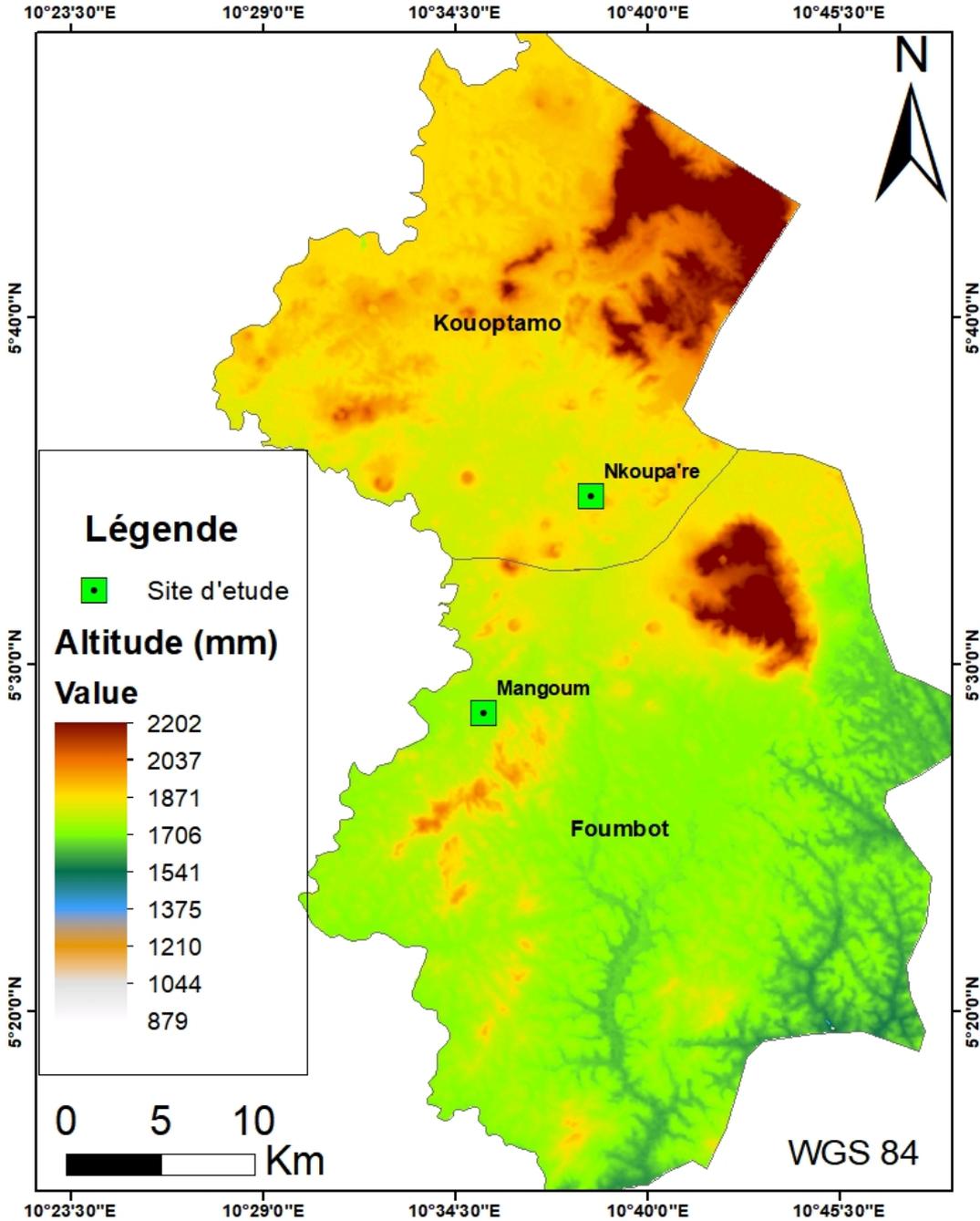
- Regazzoni N., Mouen Bedimo J.A., Bar-Hen A., Berry D. & Cilas C., 1997. Mise au point de protocoles de traitements contre l'antracnose des baies (CBD) du caféier Arabica au Cameroun. ASIC, 17^e colloque, Nairobi, 1997, pp. 708 – 713.
- Rhosius C., Matissek R. & Lieberei R., 2006. Free amino acids amount in raw cocoa from different origins. *European Food Research Technology*, 222: 432 – 438.
- Roger L., 1953. Phytopathologie Des Pays Chauds. Paul Lechevalier (Eds). Encyclopédie mycologique, Paris VI^e Tome II, 225p.
- Ros R., Muoz – Bertomeu J. & Krueger S., 2014. Serine in plants: biosynthesis, metabolism and function. *Trends Plant Science*, 19: 564 – 569.
- Rosa M., Prado C., Podazza G., Hilal M. & Interdonato R., 2009. Soluble sugars Metabolism, sensing and abiotic stress. *Plant signaling and behavior*, 4 (5): 388 – 393.
- Rösler J., Krekel, F., Amrhein N. & Schmid J., 1997. Maize phenylalanine ammonia-lyase has tyrosine ammonia-lyase activity. *Plant Physiology*. 113, 175-179.
- Samper M., 1999. Trayectoria y variabilidad de las caficulturas centroamericanas. *In: Desafios de la caficultura centroamericana* Bertrand B. & Rapidel B. (Eds). San José (Costa Rica). IICA Publishers, 142 p.
- Scarlburt A, Johnson I.T., Saltmarsh M., 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1): 215–217.
- Schoonhoven L.M., Van Loon J.J.A. & Dicke P., 2005. *Insect. Plant Biology*. 2nd Edition, Oxford University Press, oxford, 421p.
- Schroch G., Goepfert S., Morant M., Hehn A., Meyer D., Ulmann P. & Werck – Reichhart, D., 2001. CYP98A3 from *Arabidopsis thaliana* is a 3' – hydroxylase of phenolic esters, a missing link in the phenylpropanoid pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 276: 36566 – 36574.
- Sharma G, Pinnaka A.K. & Shenoy B.D., 2013. ITS-based diversity of *Colletotrichum* from India. *Current Research in Environment and Applied Mycology*, 3: 194–220.
- Sharma G. & Shenoy B.D., 2016. *Colletotrichum* systematics: Past, present and prospects. *Mycosphere*, 7(8) : 1093 – 1102.
- Sibelet N. & Nguyen Ba.S., 2012. Stratgies des agriculteurs ougandais confrontés au trac chéomycose de caféiers (ciffe wilt disease). *Cahiers Agricultures*, 21 (4) : 258 – 268.
- Silva M.C., Várzea V., Guerra-Guimarães L., Azinheira H.G., Fernandez D., Petitot A.–S., Bertrand B., Lashermes P. & Nicole M., 2006. Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee berry disease. *Brazilian Journal of Plant Phydology*, 18: 119 – 147.
- Simmonds J.H., 1965. A study of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. *Queensland Journal of Agriculture and Animal Science*, 22: 437 – 459.

- Singleton V.L. & Esau P., 1969. Phenolic substances in grapes and wine and their significance. *Advances in Food research*, 371p.
- Souza H.N., Goede R.G.M., Brussaard L., Cardoso I.M., Duarte E.M.G., Fernandes R.B.A., Gomes L.C. & Pulleman M.M., 2012. Protective shade, tree diversity and soil properties in coffee agroforestry systems in the Atlantic Rainforest biome. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 146: 179–196
- Stewart G.R. & Lahrer F., 1980. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In: The Biochemistry of Plants. Stumpf P.K. & Conn E.F. (Eds). *New York, Academic Press*, 4: 609 – 635.
- Stoll L., 2010. Biochemische Indikatoren für Keimung, und Fermentation in Samen Von Kakao (*Theobroma cacao* L.)." Ph.D Dissertation, Universität Hamburg, Germany".
- Sutton B.C., 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: *Colletotrichum Biology, Pathology & Control*. Bailey J.A. & Jeger M.J. (Eds). CAB International, Wallingford, England, pp. 1 – 26.
- Tihominova K., Dalecka & Mezule L., 2006. Application of conventional HPLC – RI technique for sugar analysis in hydrolysed hay. *Agronomy Research*, 14 (5): 1713 – 1719.
- Timm S., Florian A., Arrivault S., Stitt M., Fernie A.R. & Bauwe H., 2012. Glycine decarboxylase controls photosynthesis and plant growth. *FEBS Letter*, 586: 3692 – 3697.
- Tode H.J., 1790. *Fungi Mecklenbergensis Selecti*, 1 : 1 – 47.
- Tomassone R., Lesquoy E. & Millier, C. 1983. La régression: nouveaux regards sur une ancienne méthode statistique. Inra et Masson, Paris. 177 pp.
- Torregrosa C., Cluzet S., Fournier J., Thierry H., Gamas P., Prospéri J.M., Ésquerré- Tugayé M.-T., Dumas B. & Jacquet C., 2004. Cytological, genetic and molecular analysis to characterize compatible and incompatible interactions between *Medicago truncatula* and *Colletotrichum trifolii*. *Molecular plant - Microbe Interaction*, 8 : 909 – 920.
- Trouvelot S., Héloir M.C., Poinssot B., Gauthier A., Paris F., Guillier C., Combier M., Trdá L., Daire X. & Adrian M., 2014. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Frontiers in Plant Science*, 4: 1 – 14.
- Tsimogiannins D.I. & Oreopoulou V., 2006. The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7: 140 – 146.
- Uefuji H., Tatsumi Y., Morimoto M., Kaothien – Nakayana P., Ogata S. & Sano H., 2005. Caffeine production in tobacco plants by simultaneous expression of three coffee N – methyltransferase and its potential as a pest repellent. *Plant Molecular Biology*, 59: 221 – 227.

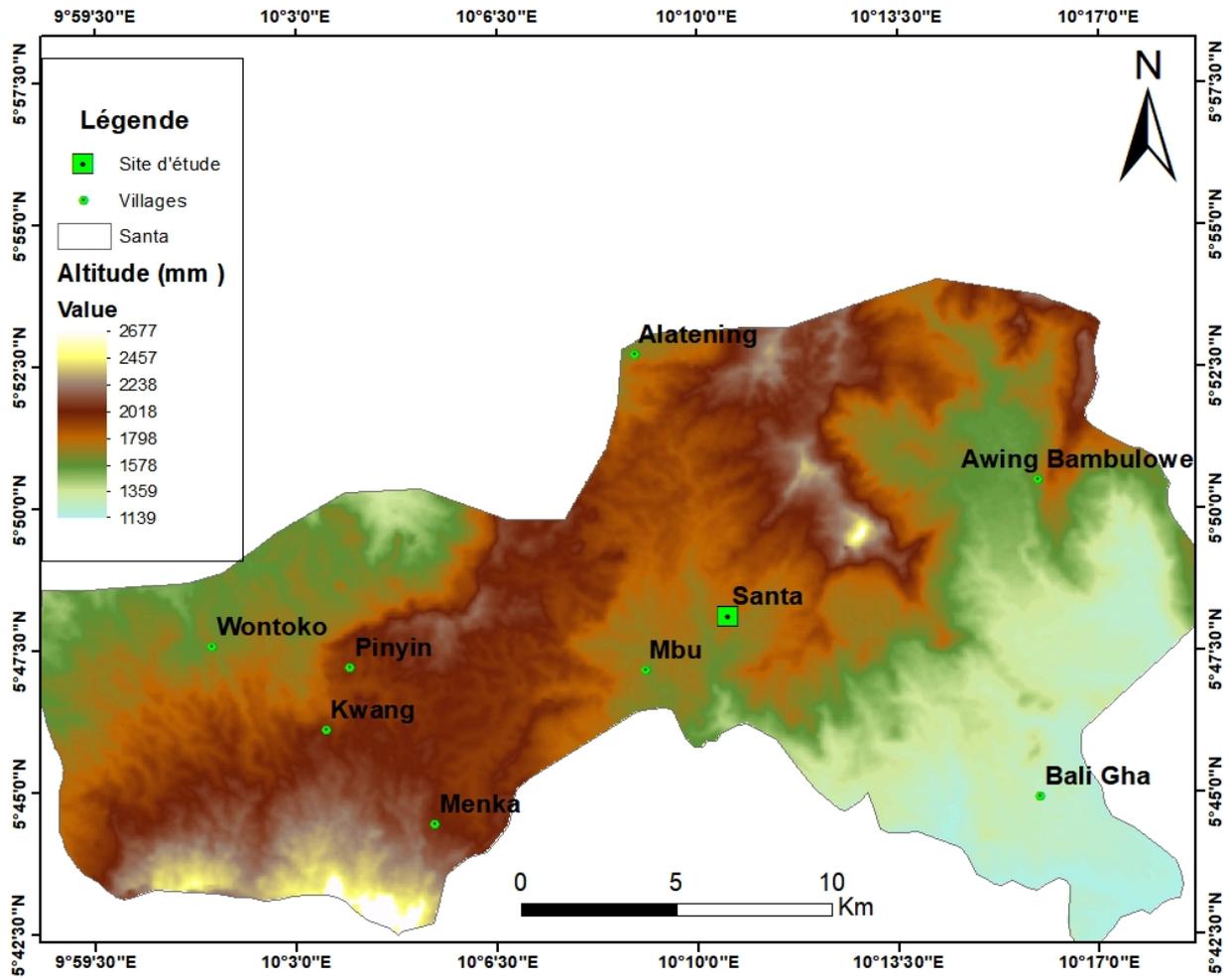
- Uritani, 1961. The role of plant phenolics in disease resistance and immunity. Symposium on Biochemistry of plant phenolic substances. Colorado State University, pp. 98 – 118.
- Vaast P., Angrand J., Frank N., Dauzat J. & Gerard M., 2005. Fruit load and branch ring- barking affect carbon allocation and photosynthesis of leaf and fruit of *Coffea Arabica* in the field. *Tree Physiology*, 25: 753 – 760.
- Vaast P., Bertrand B., Perriot J.-J., Guyot B. & Genard M., 2006. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(2): 197 – 204.
- Vahideh H., Hossein A., Seyed M.A. & Hamidreza Z., 2004. Effect of amino acid application on induced resistance against Citrus canker disease in lime plants. *Plant Protection research*, 54: 144 – 149.
- Van Der Graaff N.A., 1992. Coffee Berry Disease. In: Plant Diseases of International Importance. Mukhopadhyay A.N., Kuman J., Singh U.S., Chaube H.S (Eds). USA, 6: 202 – 230.
- Van der Vossen H.A.M. & Walyaro D.J., 1980. Breeding for resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica* L., 2. Inheritance of the resistance. *Euphytica*, 29: 777–791.
- Villain L., Baujard P., Anzueto F., Hernandez A. & Sarah J.L., 2002. Protection intégrée des caféières d'Amérique centrale contre les nématodes. *Plantations, Recherche, Développement*, pp. 118 –127.
- Waller J.M., Bigger M. & Hillocks R.J., 2007. Coffee Pests. *Diseases and Their Management*. CABI. 434p.
- Waller J.M., Bridge P.D., Black R. & Hakiza G., 1993. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* Sp. nov. *Mycological Research*. 97 (8): 989 – 994
- Wardlaw I.F., 1990. Tansley Review No. 27. The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist*, 116: 341 – 381.
- Watanabe M., Balazadeh S., Tohge T., Erban A., Giavalisco P., Kopka J., Muller – Roeber B., Fernie A.R. & Hoefgen R., 2013. Comprehensive dissection of spatiotemporal metabolism during developmental senescence in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 162: 1290 – 1310.
- Weaver L.M. & Herrmann K.M., 1997. Dynamics of the shikimate pathway in plants. *Trends in Plant Science*, 2: 346 -351.
- Weber H., Borisjuk L., & Wobus U., 1997. Sugar import and metabolism during seed development. *Trends Plant Science*, 2: 169 – 174.
- Weber H., Heim U., Golombek S., Borisjuk L. & Wobus U., 1998. Assimilate uptake and the regulation of seed development. *Seed Science. Research*, 8: 331–345.

- Whetten R.W., MacKay J.J. & Sederoff R.R., 1998. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology*, 49: 585-609.
- Wickham H., 2011. The Split-Apply-Combine Strategy for Data Analysis. *Journal of Statistical Software*, 40(1), 1-29. URL <http://www.jstatsoft.org/v40/i01/>.
- Wickham H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.
- Wolkow P.M., Sisler H.D. & Vigil E.L., 1983. Effect of inhibitors of melanin biosynthesis on structure and function of appressoria of *Colletotrichum lindemuthianum*. *Physiological Plant Pathology*, 22 : 55-71.
- Wong F.P. & Wilcox W.F., 2001. Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb, & metalaxyl against *Plasmopara viticola* (grapevine downy mildew). *Plant Diseases*, 85(6): 649 – 656.
- Worku M., De Meulenaer B., Duchateau L. & Boeckx P., 2018. Effect of altitude on biochemical composition and quality of green Arabica coffee beans can be affected by shade & postharvest processing method. *Food Research International*, 105: 278 – 285
- Wrigley G., 1988. Coffee consumption. In: *Coffee*. Longman Publishers Ltd. Singapore. 490 – 529
- Yilma A., Edjamo Y. & Shimber T., 1997. Studies on Arabica coffee fruit phenology and Bean size at Melco. In: crop management research for sustainable production: status and potentials. woldeyus S. (Ed). Proceedings of the Second Annual Conference of the Agronomy and Crop Physiology Society of Ethiopia. Addis Abeba, Ethiopia, pp. 43 – 45.
- Young D.H. & Kaus H., 1984. Adhesion of *Colletotrichum lindemuthianum* spores to *Phaseolus vulgaris* Hypocotyls and to polystyrene. *Applied and Environmental Microbiology*, 47 (4) : 616 – 619.
- Zhang W.J. & Björn L.O., 2009. The effect of ultraviolet radiation on the accumulation of medicinal compounds in plants. *Fitoterapia*, 80: 207–218.
- Zufferey V., Murisier F., Vivian P., Belcher S., Lorenzini F., Spring J-L. & Viret O., 2012. Reserves en glucides de la vigne (cv. Chasselas) : Influence du rapport feuille – fruit. *Revue Suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 44 (4) : 216 – 224.
- Zuru A., Assefa F., Adugna G. & Hindorf H., 2009. Occurrence of fungal diseases of *Coffa arabica* L. In: Montane rainforests of Ethiopia J.A.B.F. *Qual*, 82: 148 – 151.

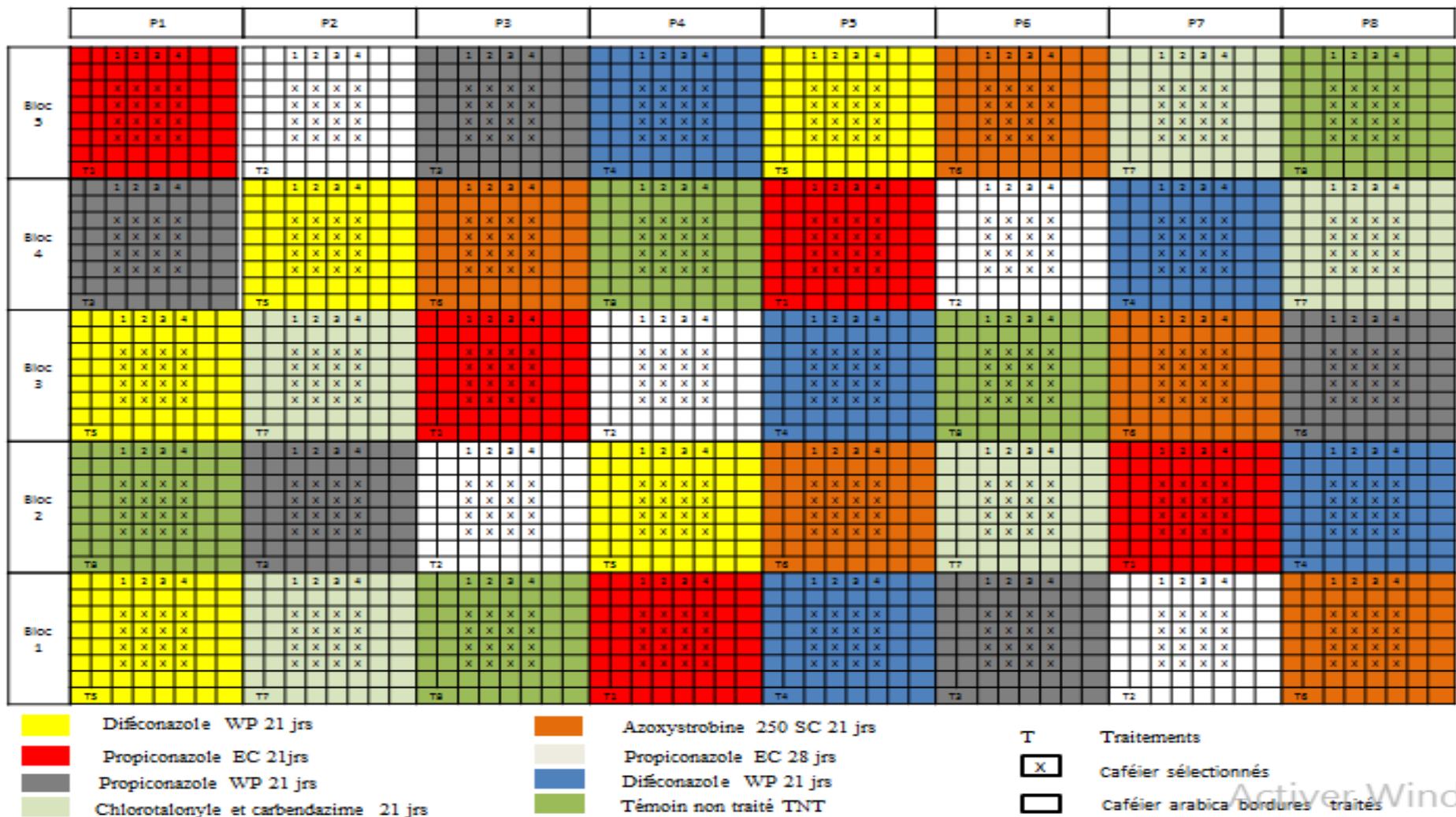
ANNEXES



Annexe 1: Carte d'altitude de Kouoptamo et de Foubot



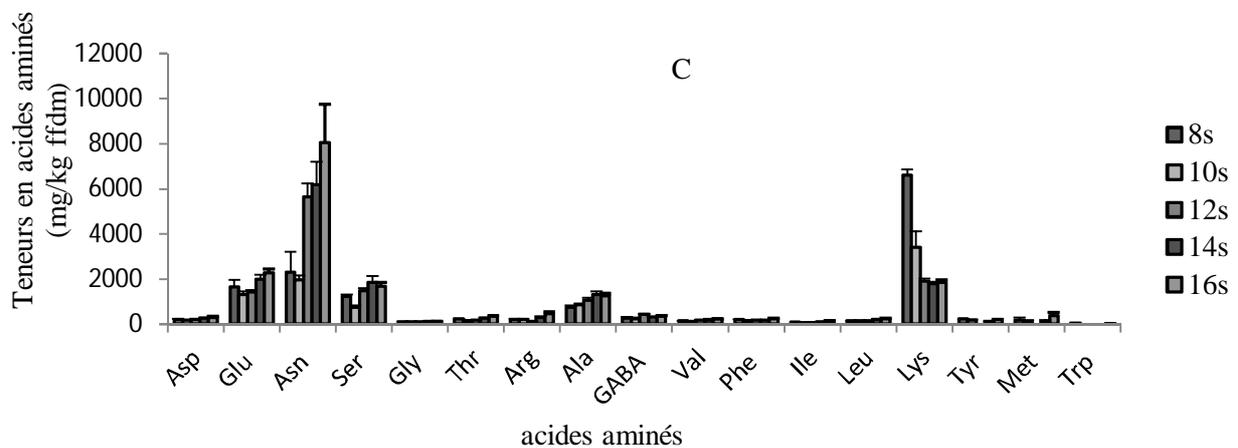
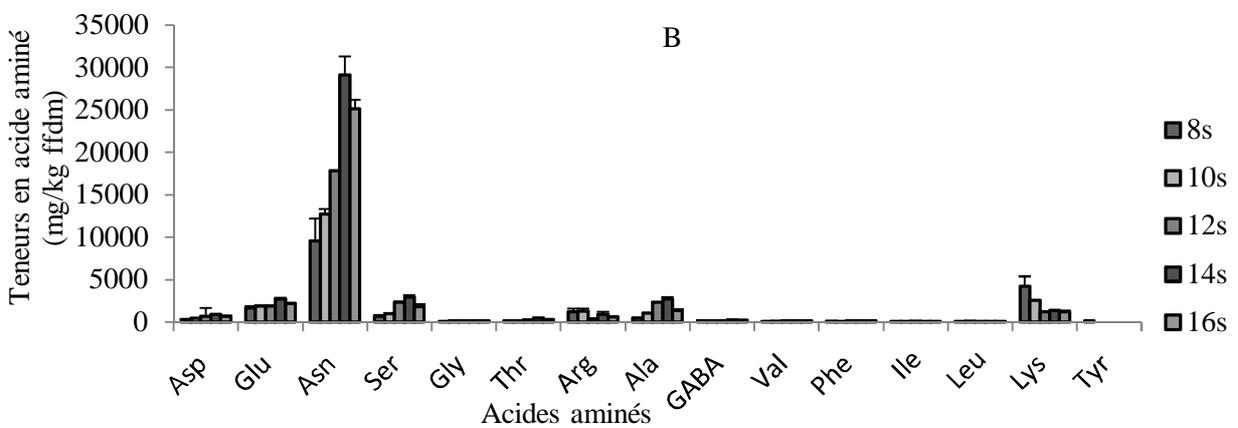
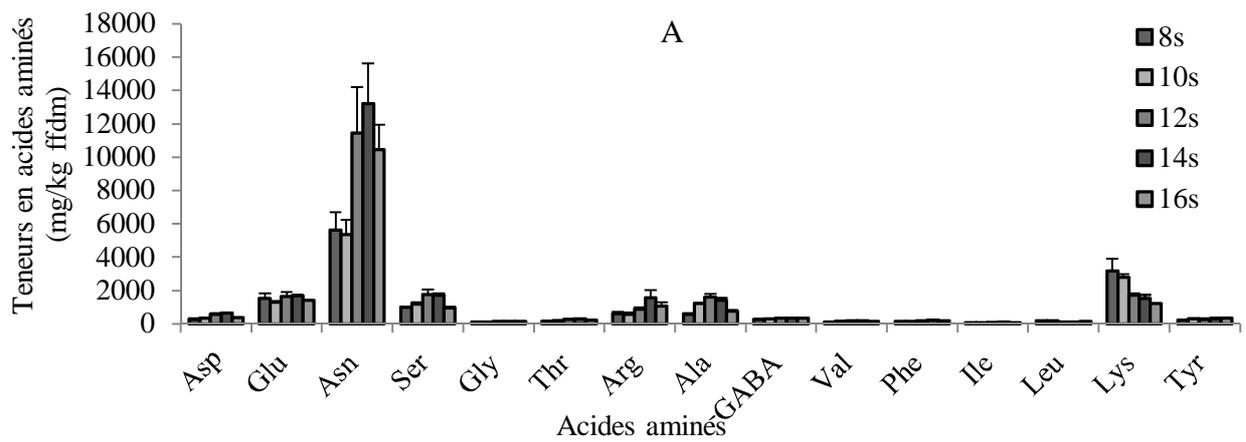
Annexe 2 : Carte d'altitude de Santa



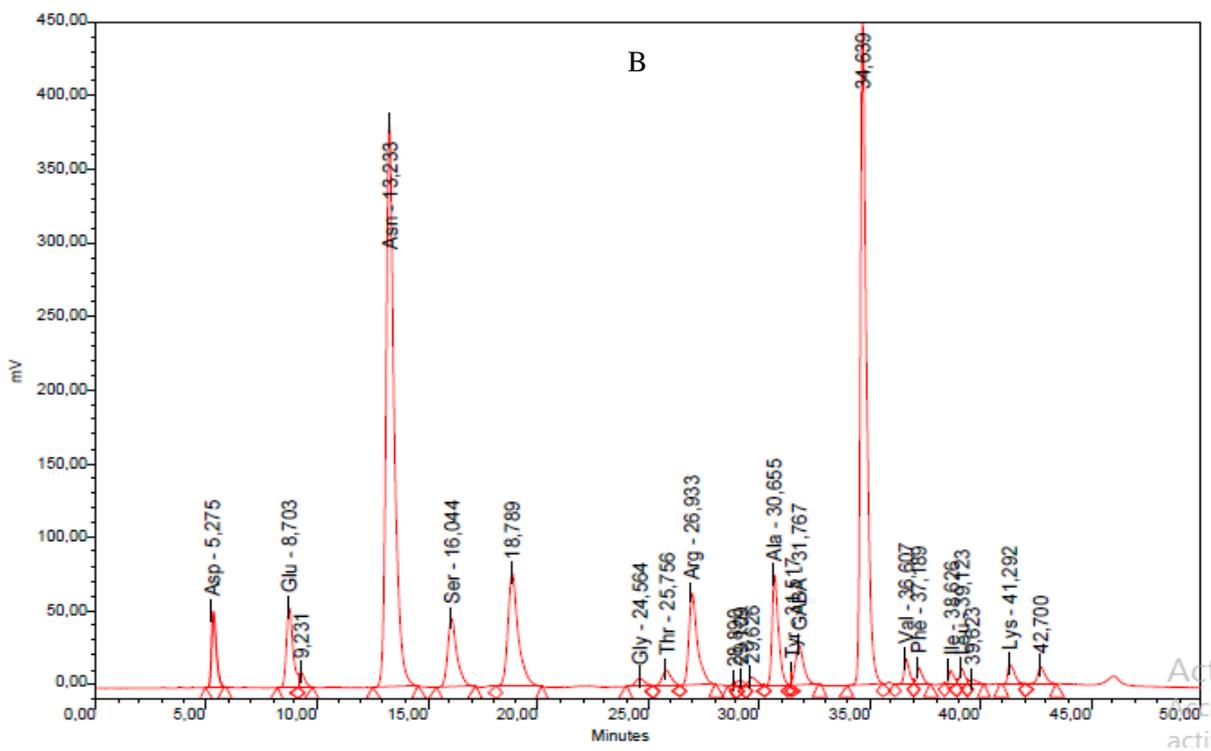
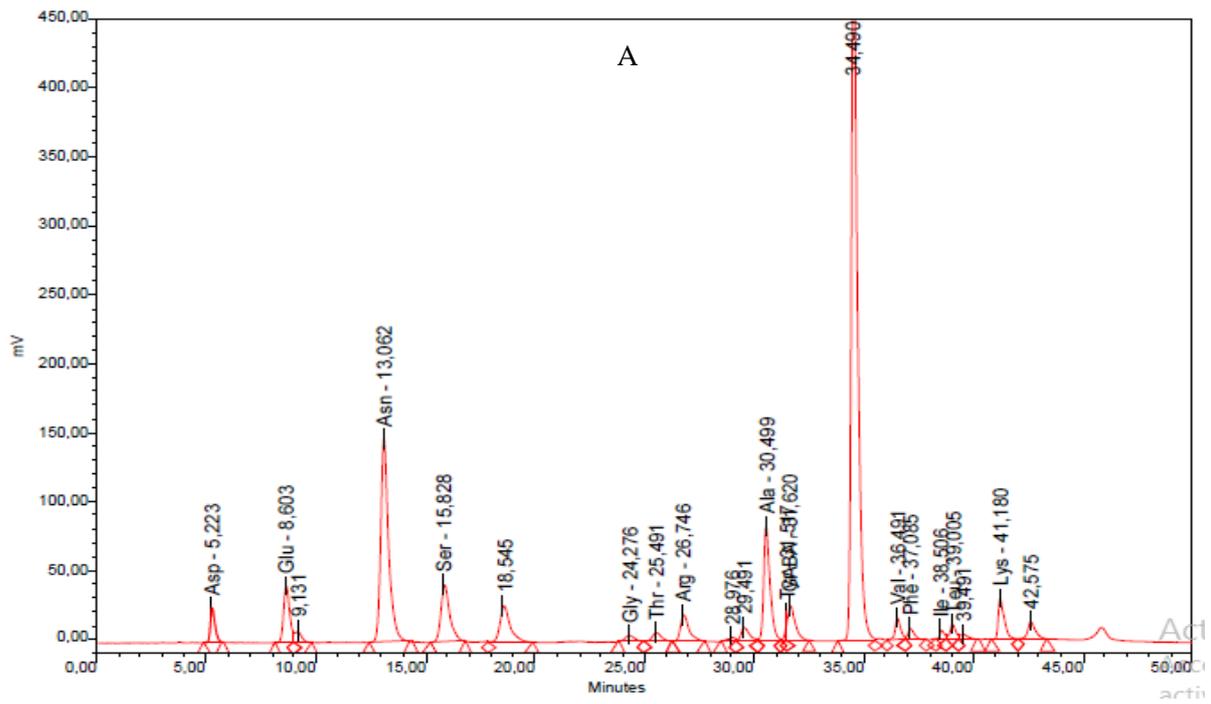
Annexes 3: Dispositif en Blocs complets randomisés de Kouoptama: X (pieds de caféier), T (Traitements), P (parcelles élémentaires).

Temps (min)	Volume (mL/min ⁻¹)	Composition de la solution d'éluion	
		A (%)	B (%)
0	1.2	90	10
8	1.2	90	10
38	1.1	77	23
50	1	60	40
70	1	10	90
73	1	10	90
78	1.2	90	10
93	1.2	90	10

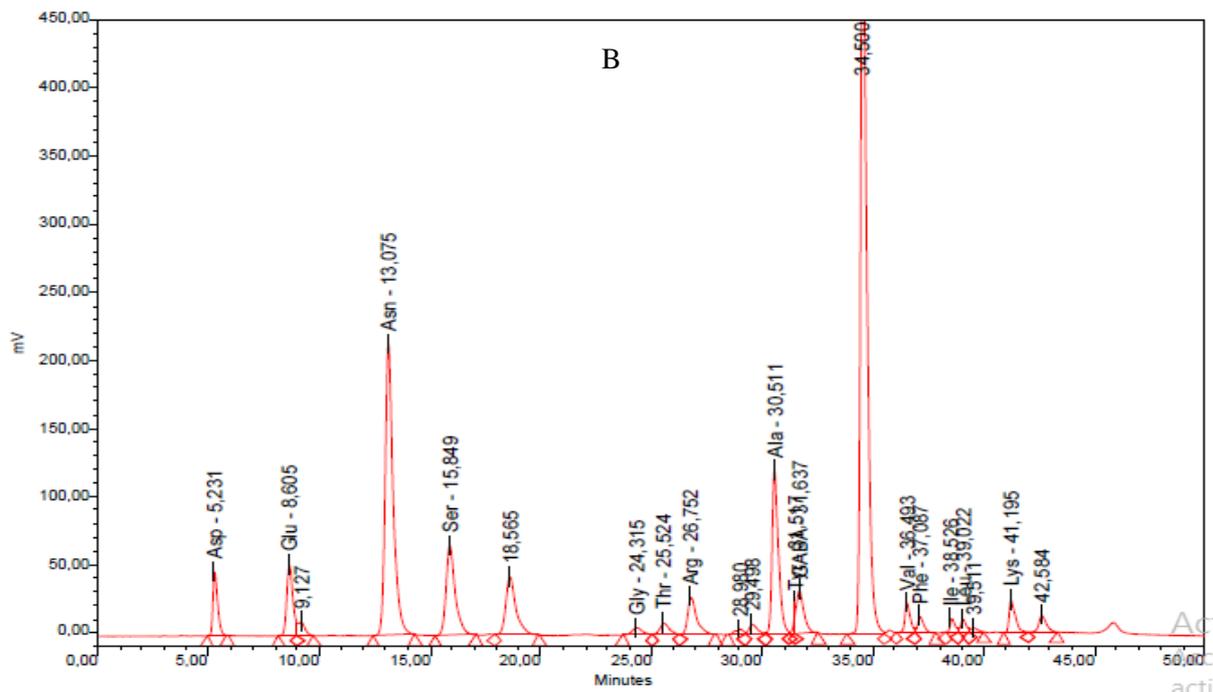
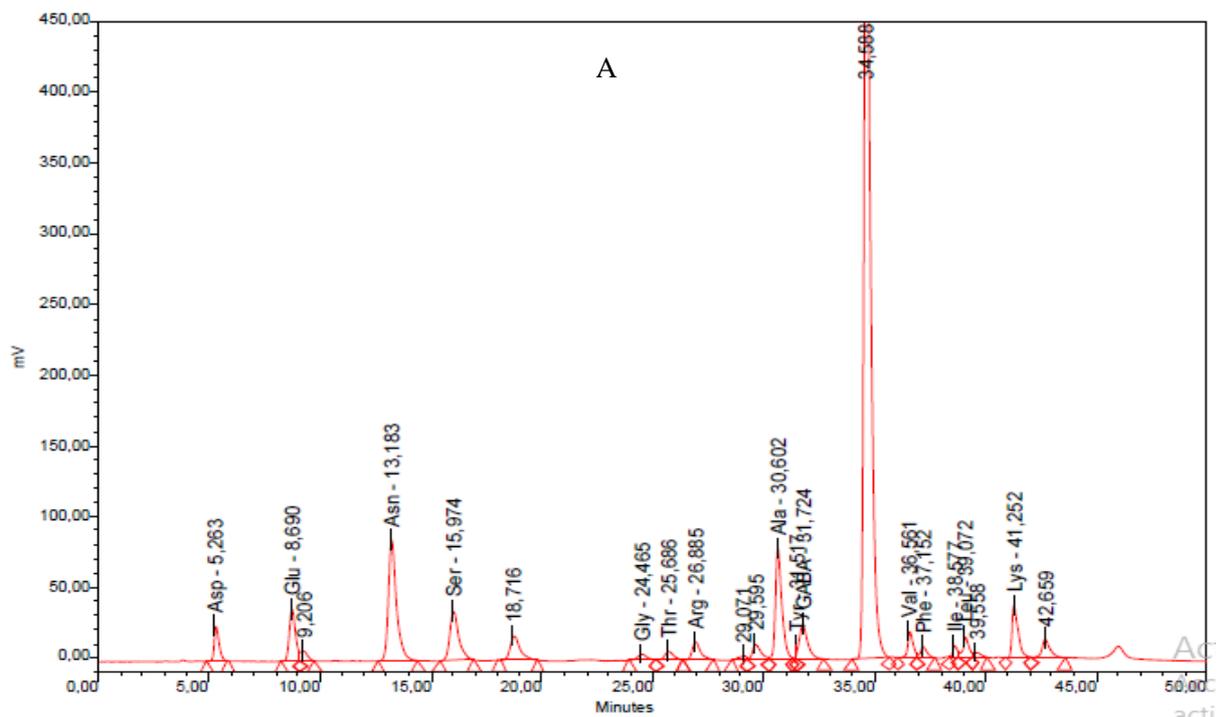
Annexes 4 : RP-HPLC gradients utilisés pour la séparation des polyphénols.



Annexes 5 : Concentrations des acides aminés libres en fonction de la variété et de l'âge des baies (8^{ième}, 10^{ième}, 12^{ième}, 14^{ième} et 16^{ième} SAF) : (A, B, et C) variété Java et Caturra cultivée à Foubot, et Java cultivée à Santa respectivement.



Annexes 6 : Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des acides aminés des baies de la variété Caturra sous ombrage (Asp, Glu, Asn, Ser, His, Gly, Thr, Arg, Ala, GABA, Trp, Val, Phe, Ile, Leu, Lys) : (A) 8^{ème} SAF et (B) 14^{ème} SAF.



Annexes 7 : Chromatogrammes RP-HPLC des extraits des acides aminés des baies de la variété Caturra plein soleil (Asp, Glu, Asn, Ser, His, Gly, Thr, Arg, Ala, GABA, Trp, Val, Phe, Ile, Leu, Lys) : (A) 8^{ème} SAF ; (B) 14^{ème} SAF.

Annexes 8 : Les milieux de culture

1. Milieu PDA :

Un litre d'eau distillée est mis en ébullition (100 °C) sur un agitateur magnétique chauffant ;
39 g de PDA sont ajoutés dans la becher et est homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique à 100 tr/min. Le milieu est ensuite stérilisé à l'autoclave à 124 °C pendant 20 min, après refroidissement à 45 – 50 °C, le milieu est réparti dans des boites de Pétri stériles de 90 mm de diamètre à raison de 20 ml/boite sous une haute à flux laminaire.

2. Eau gélosée (composition)

1 litre d'eau distillée stérile ;

30 g de gélose

2 g de PDA (facultatif) ;

Homogénéisation à l'aide d'une plaque chauffante ;

Stérilisation dans l'octoclave, refroidissement et répartition dans les boites de Pétri.

Annexes 7: Etapes d'isolement de *C. kahawae*:

1- Encemencement des baies infectées sur milieu PDA ;

- germination de spores au bout de 3 jours ;
- répiquage des explants de sports germés sur milieu PDA (une dizaine de jours)

2- grattage à l'aide d'une pipette pasteur des micelliums et étalement sur milieu gélosé (3 dilutions sont possibles.

3- Culture monoconidie :

- observation des étalements sur gélose à l'aide d'une loupe binoculaire, repérage des conidies isolés et prélèvement à l'aide d'une aiguille à encemencement ;
- encemencement sur milieu PDA (10 jours environ) ;
- grattage à l'aide d'une pipette pasteur des micelliums monoconidies et dilution avec de l'eau distillée stérile, filtration à l'aide d'une compresse pour obtenir un liquide homogène ;
- calibrage à l'aide de la cellule d'un Hématimètre de Mallassez à 10^6 conidies /ml.

4- Inoculation artificielle :

- les baies sont au préalable classées dans les boites de Pétri sur papier buvard imbibé d'eau distillée stérile ;
- Inoculation à l'aide d'une micropipette (10µl de solvant) ;
- Les baies inoculées sont déposées dans un phytotron sur une photopériode de 12 heures à la lumière et 12 heures à l'obscurité à 21°C.

Publication issue de la thèse

- 1- Kacko A., Mouen bedimo J.A., Cilas C. & Niemenak N., 2020. *In vitro* assessment of role of carbohydrates on the coffee's resistance against coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawae*. *International Journal of Biosciences*, 16 (3): 464-473.
<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/16.3.464-473>



In vitro assessment of the role of carbohydrates on the coffee's resistance against coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawae*

Kacko Agripine^{1*}, Mouen Bedimo Joseph Aubert², Cilas Christian³, Niemenak Nicolas¹

¹Department of Biological Science, Higher Teacher Training College, University of Yaounde I, PO Box 47, Yaounde, Cameroon

²Agronomic Institute for Research and Development (IRAD), PO Box 2123 Yaounde, Cameroon

³Center for International Cooperation in Agronomic Research for Development (CIRAD), UPR Bioagresseurs, F-34398 Montpellier, France

Key words: *Coffea arabica*, *Colletotrichum kahawae*, Shade, Soluble sugars Tolerance.

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/16.3.464-473>

Article published on March 29, 2020

Abstract

The coffee berry disease (CBD) of *Coffea arabica* caused by *Colletotrichum kahawae* is responsible for 80 % loss of coffee production in Cameroun. In order to assess the possible implication of carbohydrates in the defence of *Coffea arabica* against *Colletotrichum kahawae*, comparative analyses (qualitative and quantitative) of soluble sugars contents was done after inoculation on berries. The berries of two cultivars java and caturra were recorded at 22nd and 25th weeks after flowering (WAF) from the field. The influence of culture conditions of coffee trees *in situ* (full sunlight and under shade), the age of the berries at the time of inoculation were discussed. Additionally, the composition and the content of soluble sugars were analysed. The result showed that the infection rate was significantly high on the berries collected at the 22nd (WAF) compared to those collected at the 25th WAF. Qualitative analyse showed only the presence of glucose. The highest glucose content was obtained from the berries of java variety exposed on full sunlight while the lowest content being observed from the berries of caturra variety under shade (2.96 ± 0.42 mg/g against 0.75 ± 0.03 mg/g respectively). No significant different in sugar content was observed between infected and no infected berries inside the two varieties of coffee. However, the java variety showed a high accumulation of glucose compared to caturra variety. These results support a positive implication of sugar in the interaction between coffee berries and *Colletotrichum kahawae* since a high accumulation of sugar was observed in java variety the resistant cultivar.

*Corresponding Author: Kacko Agripine ✉ kacko.agripine@yahoo.fr

Introduction

Arabica coffee constitutes a livelihood for part of the rural households where the holdings are enhanced by an essentially family labor (ICO, 2007). Estimated production was 25314.96 tonnes in 2018 (OIC, 2018). This production has not increased over several decades in Cameroun due to high disease and pest incidence. Coffee berry disease (CBD) caused by *Colletotrichum kahawae* is one of the major constraints to coffee production (Waller *et al.*, 1993). The symptom is a dark necrotic spots on berries, sometimes with orange-colored acervules. The attacked berries subsequently darken and present a characteristic appearance of an empty bag (Bieysse *et al.*, 2002). Estimated Losses caused by CBD reached up to 80 % of production in Cameroon (Regazzoni *et al.*, 1997; Mouen Bedimo *et al.*, 2012). Previous works showed that the disease severity was higher on coffee trees exposed to full sunlight than those located under the shade (Mouen Bedimo *et al.*, 2007, 2008). Several studies have already been carried out in order to assess the tolerance of varieties to this disease (Bouharmont, 1992; Bella Manga, 1999; Mouen Bedimo *et al.*, 2008). These studies have shown that the susceptibility of berries to CBD is affected by altitude, temperature and humidity (Nicholson, 1992; Mouen Bedimo *et al.*, 2008, 2012; Gadisa *et al.*, 2016). The mastery of the epidemiology of CBD remains a major problem due to changing climatic conditions. The inoculation of detached berries under artificial condition offers the advantage of a direct assessment of *Coffea arabica* and *Colletotrichum kahawae* interaction at the fruit level making possible the characterisation of the resistant component operating under field condition (Pinard *et al.*, 2012). Several studies have shown the implication of sugars as substances that boost plant immunity and plant defenses (Bolouri and Vanden, 2012, 2013; Trouvelot *et al.*, 2014). In addition, during the interaction between *Theobroma cocoa* leaves and *Phytophthora megakarya*, qualitative analyses of sugars revealed the disappearance of sucrose and the persistence of glucose (Djougoue *et al.*, 2011). Selecting Arabica Coffee trees that display lower susceptibility to CBD is therefore become a priority objective for many

producing countries. This selection can be achieved using biochemical markers such as phenols, carbohydrates and amino acids (Djougoue *et al.*, 2011). Ayres *et al.* (1996) reported that disease development is likely to induce substantial changes in the carbohydrate and amino acid contents of host plants, and metabolic alterations that may favour or inhibit fungal development. Herbers *et al.* (1996) reported that hexoses (sucrose) induce the expression of many genes, including plant resistance genes that determine the production of peroxidase and other pathogenesis-related (PR) proteins. The objective of this study was to identify the soluble sugars produced by immature *Coffea arabica* berries infected *in vitro* by *Colletotrichum kahawae*. In particular, this paper investigates the appearance of disease and the effect of *Colletotrichum kahawae* on the accumulation of soluble sugars in two varieties (java and caturra) of Arabica coffee subjected to different lighting modes.

Material and methods

Plant materials

The plant material consisted of immature berries of Arabica coffee trees of the java (tolerant) and caturra (sensitive) varieties. Twelve coffee were been selected in the varietal collection of coffee at the Institute of Agricultural Research for Development (IRAD), Foubot station in West - Cameroon. Three coffee trees of each variety were individually placed in artificial shade using a black shade cloth with regular mesh (Tildnnel EC 50 %, Tilden Industries U.K.). Another three coffee trees of each variety were allowed to full sunlight. The berries were collected at random from these coffee trees at the 22nd and 25th WAF. Two series of artificial inoculation were carried out in 2016 and 2018.

Pathogen and inoculation techniques

The inoculation was made according to the protocol described by Mouen Bedimo *et al.* (2008). The isolate of *Colletotrichum kahawae* was obtained from infected berries of caturra coffee trees from the varietal collection at the Institute of Agricultural Research for Development (IRAD) Foubot station-Cameroun. It was purified using a monoconid culture in a Petri dish

produced on Potato - Dextrose - Agar (PDA) medium. This isolate was characterized by slow radial growth and a dark gray woolly aerial mycelium. Its pathogenicity was previously tested on detached berries of the caturra variety before its use for artificial inoculation. The inoculum consisted of a filtrate of the suspension of conidia obtained by scraping pure cultures of this isolate soaked in sterile distilled water. It was calibrated using the cell of a hemacytometer (Malassez cell) at 10^6 conidia per ml before inoculation. The berries taken from each coffee tree were distributed in five Petri dishes containing blotting paper soaked in sterile distilled water, at a rate of 25 berries per Petri dishes. 10 μ l drop of the inoculum was placed on each of berry using a micropipette. This experiment was carried out at the IRAD phytopathology laboratory in Nkolbisson-Cameroon. The berries were then incubated in a phytotron set at a temperature of 21 °C and a photoperiod of 12 hours in the light and 12 hours in the dark. The influence of shade and the age of berry on the incidence of disease were also evaluated. Qualitative and quantitative analysis of soluble sugar content were made on infected and no infected berries of 22nd WAF.

The observations of the appearance of the disease were carried out over 10 days, starting 24 hours after inoculation. Daily observations consisted in counting the total number of infected berries in each Petri dish.

In vitro evaluation of the incidence of disease

The infection rate of berries (Txinf) per Petri dish was calculated according to the following formulas: $Txinf = Bmal * 100/N$. Where Bmal represents the total number of diseased berries counted in the Petri dishes on the 10th day of observation. N is the total number of berries inoculated (N = 25).

Analysis of sugars by RI-HPLC

Only the berries of 22nd WAF were used for the analysis of soluble sugars. Analysis of soluble sugars was done following the method described by Tilomirova *et al.* (2016) using refractive index high performance liquid chromatography. Two times 1 g of

dried coffee beans were ground in a stainless steel ball homogenizer with 3 balls (MN200, Retsch, Haan, Germany) at a frequency of 1/25 s for 10 min and excess of hexane. The powder was filtered with a paper filter and cold extracted with 25 mL petroleum ether. After vacuum drying, 100 mg of the defatted powder were used for extraction with 1 mL ultrapure water (type I, ELGA purelab, High Wycombe, UK). The suspension was homogenized on vortex for 20 s and incubated on a Thermomixer comfort (Eppendorf, Hamburg, Germany) for 1 h at 1300 rpm and 80 °C. After centrifugation for 10 min at 16060 g (Biofuge pico, Heraeus, Hanau, Germany), 500 μ L of the supernatant were collected and 300 mg of PVPP as well as 1.5 mL of ultrapure water were added. The suspension was subjected to an ultrasonic waterbath (Elmasonic S30H, Elma, Singen, Germany) for 10 min and centrifuged for 30 min at 4010 g. The supernatant was filtered through 0.2 μ m syringe membrane filter (PES Perfect Flow, Wicom, Heppenheim, Germany) and subjected to HPLC analysis.

Sugars were separated via ligand exchange chromatography on a Rezex RCM-Monosaccharide Ca²⁺-column with 8 % cross-linking (Phenomenex, Torrance, USA). The separation of 10 μ L sample was established at 85 °C using a flowrate of 0.6 mL/min of ultrapure water. For quantification, a set of five standards from 0.02 – 0.1 mg/mL was applied. The HPLC system used consisted of a degaser ERC 3512 (Erma, Tokyo), an autosampler AS-2000A, an intelligent pump L-6200, a column oven L-7350D, and a refraction index detector L-7490 (all Merck Hitachi, Darmstadt, Germany). The software D-7000 HPLC - System - Management HSM version 4. 1, was used to record the data.

Statistical analyses

The analysis of variance (ANOVA) was carried out with the General Linear Model (GLM) procedure of Statistica software version 7.1 to determine the effects of the different factors on disease. The analysis of variance of the rate of diseased berries and of the glucose content *in vitro* was performed following the

f-test. The comparison of the means of diseased berries between the factors studied was carried out with the Newman - Keuls student test at 5 % threshold. The LSD of Fisher test was used to compare the glucose content between the factors studied at 5 %.

Results

Disease development on berries inoculated artificially in the laboratory

Analysis of variance showed that the type of inoculum

and the coffee variety had a significant effect at $P \leq 0.05$ on the infection rate of berries. The age of the berries during artificial inoculation and the year of experimentation did not show a significant effect on the infection of the berries (Table 1).

A low infection rate was obtained in 2016 with control coffee trees (0.5 %). However, the infection rate was significantly high on the berries from the caturra coffee tree compared to those from the java coffee trees in 2016 and 2018.

Table 1. *In vitro* analysis of variance of pathogen infection rate.

Sources of variability	DF	F test	Pr > F
Isolates	1	171.36	0.0000 **
Variety	1	5.8938	0.02421 **
Age of berries	1	1.4162	0.244776
Shading type	1	1.6519	0.210031
Years of observation	1	0.99	0.326693

**Factors having a significant effect on the infection of berries in vitro at $P \leq 0.05$.

In 2016, a significant difference was noted between the berries collected at the 22nd week and 25th week after flowering. The infection rate was significantly high on the berries at the 22nd week after flowering. In 2018, there was no significant difference between the two series of inoculation. The berries in artificial shade showed a level of disease statistically equivalent to those of berries of coffee trees exposed to the full sunlight in 2016 and 2018 (Table 2).

Five days after incubation the dark necrotic spots as a symptoms (the active form) of CBD was observed on the berries of caturra variety while in java, the symptoms was observed at six days after incubation.

This result confirms the susceptibility to CBD of caturra variety compared to java variety. Inactive lesions (scab form) of disease were not observed. Even if, the results showed the *in vitro* ascending increase of the infection rate at 2016 and 2018, following the time no significant difference was observed at 10th of observation between the two years at $P = 0,326695$ for the percentage of infected berries (Table 1).

Analysis of sugar content after inoculation

HPLC analysis of soluble sugars showed that, glucose was the main sugar produced by the berries 10 days after inoculation. The variety and types of shade showed a significant effect on the glucose content (Table 3). However, No significant difference was observed inside both varieties between infected berries by *Colletotrichum kahawae* and berries treated with distilled water at $P = 0.1822$ (Table 3).

The comparison of the means showed a significant difference of the glucose content between the berries sampled under artificial shade and those of the berries sampled under full sunlight in java variety. However, no significant difference was noted between the caturra berries exposed in full sunlight and those under artificial shade.

The highest glucose contents was observed on berries from java variety exposed to full sunlight, while the lowest content being observed on berries from caturra variety under artificial shade (2.96 ± 0.42 mg/g fat free material (ffdm) and 0.75 ± 0.03 mg/g ffdm respectively) (Fig.1).

Table 2. Means of infection level (%) as a function of biotic (isolates, varieties) and abiotic (inoculation, types of shade) factors.

Sources of variability		Average percentages of sick berries <i>In vitro</i>	
		Years	
		2016	2018
Type of inoculum	<i>Colletotrichum Kahawae</i>	63.50 ± 8.72 ^a	74.50 ± 9.50 ^a
	Distilled water	0.50 ± 0.5 ^b	0.00 ± 00 ^b
Varieties	java	29.00 ± 12.34 ^b	27.50 ± 11.79 ^b
	caturra	35.50 ± 13.08 ^a	47.00 ± 17.90 ^a
Age of berries	22 nd WAF	38.50 ± 14.57 ^a	37.00 ± 16.15 ^a
	25 th WAF	25.50 ± 10.08 ^b	37.50 ± 15.02 ^a
Shading type	Under shade	35.50 ± 14.11 ^a	40.50 ± 16.34 ^a
	Full sunlight	28.50 ± 11.12 ^a	34.00 ± 14.71 ^a

The values with the same letters for each factor are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to the test of Students Newman-Keul.

No significant difference in sugar content was observed inside both varieties between berries inoculated with sterile distilled water and the inoculated infected berries. Nevertheless, the highest glucose content was obtained in infected berries of both varieties (2.56 ± 0.44 mg/g ffdm and 1 ± 0.77 mg/g ffdm for java and caturra respectively) (Fig.2).

Discussion

Disease incidence

Artificial inoculation of detached berries with *Colletotrichum kahawae*, showed that the type of inoculum and the variety have a significant effect on the infection rate of berries. Infection rate was not affected by the exposition of berries to full sunlight or shade. In fact, it has been shown that the intrinsic sensitivity of berries *in vitro* is observed at the scale of the coffee tree regardless of its position relative to shade (Mouen Bedimo *et al.*, 2008). This result is different to what observed in the field where the spread of disease is reduced in tree placed under shade condition compared to those growing under full sunlight. In this case, shade may act as physical barrier against CBD (Phiri *et al.*, 1999).

There was an ascending trend of the disease infection rate of berries after the incubation period in 2016 and 2018. This shows that the susceptibility of berries to CBD may be observed at the scale of a berry and with respect to its physiological state. Similar results were obtained by Mouen Bedimo (2006) who reported that the sensitivity of Jamaican coffee berries (sensitive

variety) to CBD varies according to an ascending gradient regardless of their age. In the present study, the comparison of means showed a significant difference between the infection rate of berries of the 22nd and 25th week after flowering.

This was contrary to 2018 where no significant difference was observed between the infection rates for the two series of inoculation. This result may be explained by the level of ripening of the berries at the time of inoculation. In fact, mature berries are less susceptible to *Colletotrichum kahawae* compared to immature berries (Mouen Bedimo *et al.*, 2008; Garedrew *et al.*, 2017). In general, berries are more susceptibility to CBD during the growth phase of endosperm which is between the 18th and 25th WAF.

The physiological resistance is usually acquired between the 26th and 32nd WAF which correspond to the stage of hardening of endosperm (Garedrew *et al.*, 2017). The infection rate of the berries of the caturra was high compared to that of the berries of the java. Previous *in situ* analysis highlighted the high susceptibility of the caturra coffee berries compared to those from java coffee as demonstrated by Bouharmont (1992).

In this study, berries inoculated with distilled water showed less infection rate. This result contrasts with that obtained by Pinard *et al.* (2012) who did not observe any sign of disease on berries inoculated with distilled water.

Table 3. Analysis of variance of glucose content in berries of Arabica coffee.

Sources of variability	DF	F Test	Pr > F
Variety	1	29.8358	0.000***
Shading type	1	8.9651	0.011187***
Treatments	1	2.0044	0.1822
Error		0.27320	

*** Parameters having a significant effect.

The low infection rate observed on our berries inoculated with distilled water may be explained by a latent infection which is quite common in other fruit and suspected in coffee berry (Prusky and Pumbley, 1992).

The symptoms observed during this work were those of the active form of the disease (dark black necrotic spots). This result could be explained by the optimal humidity level in the Petri dishes favorable to the

development of *Colletotrichum kahawae* in which, the berries were placed during the experiment. In fact, Relative humidity close to saturation and optimum temperatures of 20 to 22 °C are favor the germination and appressorium formation. The infection hyphae arising from those appressoria observed as black spot while the scam form is usually observed in unfavorable condition (Massaba and Waller, 1992; Mouen Bedimo *et al.*, 2008).

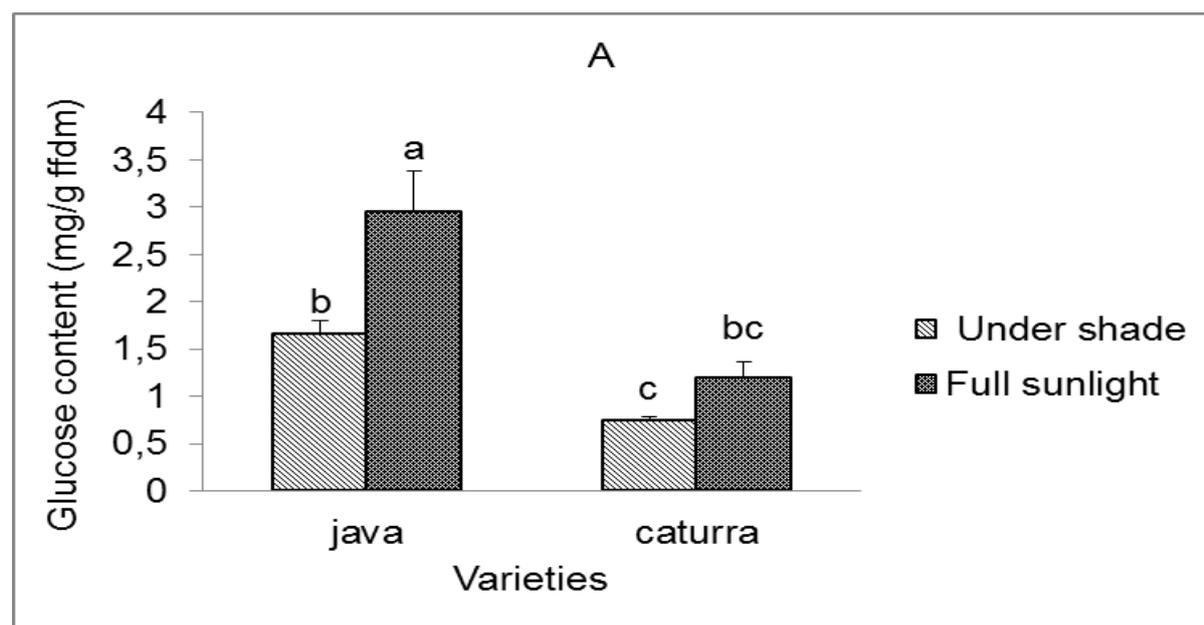


Fig. 1. Comparison of the glucose content in the immature berries of Arabica coffee with respect to the type of lighting and the variety.

The values with the same letters for each factor are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to LSD test of Fisher.

Sugar content

The study of the soluble sugar composition of the immature berries after infection allowed us to identify the glucose as a single type of sugar produced by berries 10 day after inoculation. Under *in vitro* stress conditions (optimal humidity) and infection, the

starch presents in berries is hydrolyzed and give simple sugar such as glucose. Similarly, the accumulation of soluble sugars in tobacco leaves after infection was reported by Shalitin *et al.* (2002). The accumulation of soluble sugars such sucrose, glucose and fructose in *Arabidopsis thaliana* leaves under

stress conditions was also reported by (Hummel *et al.*, 2010; Muller *et al.*, 2011). In fact, carbohydrates have been reported to act in association with plant defense chemical compound such as polyphenols, phytoalexin, phytoanticipin and lignin in response to stress (Djocgoue *et al.*, 2011). The glucose content in the infected inoculated berries and in those of the control coffee trees was not significantly different. This result is similar to those obtained by Andrew *et*

al. (2005) where *in vitro* infection of the leaves of Turnip (*Brassica rapa* subsp. *rapa*) and *Arabidopsis* did not affect their sugar content. Nevertheless, it has been reported that there is a possible relationship between the content of specific carbohydrates such as sucrose, glucose and galactose and the resistance of the host (Evers *et al.*, 2003; Omokolo and Budjeko, 2005; Djocgoue *et al.*, 2011).

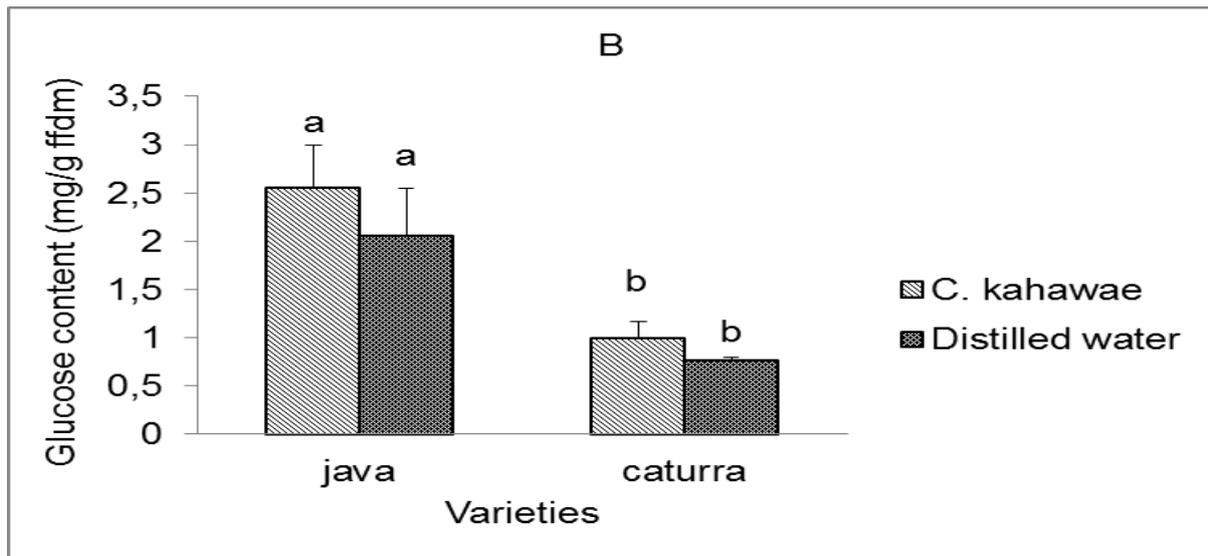


Fig. 2. Comparison of the glucose content in the immature berries of Arabica coffee with respect to the treatments and the variety.

The values with the same letters for each factor are not significantly different at $P \leq 0.05$ according to the LSD test of Fisher.

The variety and type of shade showed a significant effect on the glucose content in berries inoculated *in vitro*. The glucose content of coffee berries exposed to the full sunlight was very high compared to those under shade, mainly for the berries of java coffee on the 10th day after inoculation. Previous studies showed that *in vitro* infection rate was not affected by the exposition of berries to full sunlight or shade (Mouen Bedimo *et al.*, 2008). The response to environmental stress conditions *in situ* by the java variety may be preserved under stress conditions *in vitro*, which could explain the high glucose content observed *in vitro* in the java berries variety. The results also showed that the highest glucose contents were obtained from infected inoculated berries of both varieties. The glucose seems to be implicated in the induction of the defense mechanisms of Arabica

coffee berries against *Colletotrichum kahawae*. Herbers *et al.* (1996) reported that hexoses induce the expression of many genes, including plant resistance genes that determine the production of peroxidase and other pathogenesis-related (PR) proteins. Other authors have reported that soluble sugars are basic substances capable of stimulating plant immunity and defense (Bolouri and Van Den Ende, 2013; Trouvelot *et al.*, 2014; Morkunas *et al.*, 2014).

The high glucose content observed in berries of java variety may be explained by the high tolerance to *Colletotrichum kahawae*. However, it has been reported that the stage of development and the environmental factors to which the plant is subject can influence organ metabolism (Zufferey *et al.*, 2012).

Conclusion

This study reported that the degree of maturation of the berries during inoculation has an influence on their susceptibility to coffee berry disease (CBD) *in vitro*. Glucose is the soluble sugar identified in immature berries *in vitro*. The berries of the java (tolerant) coffee gave the glucose content 2.6 times higher than that obtained from the berries of caturra (sensitive) coffee. The highest glucose contents were also obtained from infected inoculated berries of both varieties (java and caturra). The glucose seem to be implicated in the induction of the defense mechanisms of Arabica coffee berries against *Colletotrichum kahawae*. Artificial inoculation on detached berries is a potential approach that can contribute to a better understanding of the epidemiology of coffee berry disease.

Acknowledgements

This work was made possible thanks to financial and technical support from the institute of Agricultural Research for Development (IRAD), Center for International Cooperation in Agronomic Research for Development CIRAD and FODECC/MINRESI (Coffee and Cocoa Sector Fund of the Ministry of Scientific Research and Innovation). The authors are very grateful to Alexander von Humboldt foundation for equipment donation in support to the laboratory of Plant Physiology at the Higher Teacher Training College, University of Yaounde I (N. Niemenak, grant Ref 3.4 – 1115305 – CMR – GF). We also thank Mr. Souga Amougou Romial and other members of the phytopathology laboratory of IRAD Nkolbisson (Cameroon) for their technical contribution towards the realization of this study.

References

- Andrew JL, Thomas M, Graham AI, Milner JJ.** 2005. Carbohydrate partitioning and sugar signalling in cauliflower mosaic virus-infected turnip and *Arabidopsis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **67**, 83 -91.
<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2005.09.007>
- Ayres PP, Press MC, Spencer PTN.** 1996. Effects of pathogens and parasitic plants on source-sink relationships. In: *Photoassimilate Distribution in Plants and Crops*. (E. Zamski, A.A. Schaffer, ed.), Marcel Dekker, New York, NY, USA, 479–499.
- Bella Manga.** 1999. Etude de la diversité de *Colletotrichum kahawae*, responsable de l'antracnose des baies et caractérisation de la résistance du caféier Arabica à cet agent. Thèse de doctorat, Université de Montpellier 2, p 149.
- Bieysse D, Bella M, Mouen Bedimo JA, Ndeumeni JP, Roussel V, Fabre JV, Berry D.** 2002. L'antracnose des baies, une menace potentielle pour la culture mondiale de l'arabica. *Plantation-Recherche-Développement. Recherche et Caféiculture*. Cirad-CP, Montpellier, France, 144 - 152.
- Bolouri Moghaddam MR, Van den Ende W.** 2012. Sugars and plant innate immunity. *Journal of Experimental Botany* **63(11)**, 3989 - 3998.
<https://doi.org/10.1093/jxb/err313>
- Bolouri Moghaddam MR, Van den Ende W.** 2013. Sweet immunity in the plant circadian regulatory network. *Journal of Experimental Botany* **64(6)**, 1439 - 1449.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erto46>
- Bouharmont P.** 1992. Sélection de la variété java et son utilisation pour la régénération de la caféière arabica au Cameroun. In: *Café Cacao Thé* **36(4)**, 247 - 262.
<https://agritrop.cirad.fr/396701/>
- Djocgoue PF, Mbouobda DH, Boudjeko PO, Effa, Omokolo DN.** 2011. Amino acids carbohydrates and heritability of resistance in the *Theobroma cacao/ Phythophthora megakarya* interaction. *Phytopathology Mediterranee* **50**, 370 - 383.
- Evers D, Dommès J, Hausman JF.** 2003. Carbohydrates and resistance to *Phytophthora*

infestans in potato plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 25, 171-178 Falconer DS, ed. 1974. Introduction à la Génétique Quantitative. Masson, Paris, France.

<http://dx.doi.org/10.1007/s11738-003-0050-z>

Gadisa G. 2016. A review on the status of Coffea Berry Disease (*Colletotrichum kahawae*). In Ethiopia Journal of Biology. Agriculture and Healthcare **19** (6), 2224–3208.

Garedew G, Fikre L, Pinard F. 2017. Assesment of berry drop due to coffee disease and non - CBD factors in Arabica coffee under farmers' fields of South western Ethiopia. *Crop Protection* **98**, 276-282.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.04.012>

Herbers K, Sonnewald U. 1996. Manipulating metabolic partitioning in transgenic plants. *Trends Biotechnology* **14**, 198-205.

[https://doi.org/10.1016/0167-7799\(96\)10027-5](https://doi.org/10.1016/0167-7799(96)10027-5)

Hummel I, Pantin F, Sulpice R, Piques M, Rolland G, Dauzat M, Christophe A, Pervent M, Bouteille M, Stitt M, Gibon Y, Muller B. 2010. *Arabidopsis* plants acclimate to water deficit at low cost through changes of carbon usage: an integrated perspective using growth, metabolite, enzyme, and gene expression analysis. *Plant Physiology* **154**, 357 - 372.

<http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.157008>. Epub 2010 Jul 14

ICO. 2007. Statistique, International Coffee Organization.

<http://dev.ico.org/prices/ml.htm>

Massaba D, Waller JM. 1992. Coffe berry disease: The current statut. Pages 237-249 in: *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Baley JA, Jeger MJ. eds. CAB International, Wallingford, UK.

<http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.4247.3205>

Morkunas I, Ratajczak L. 2014. The role of sugar signaling in plant defense responses against fungal

pathogens. *Acta Physiologia Plantarum* **36**, 1607-1619.

<https://doi.org/10.1007/s11738-014-1559-z>

Mouen Bedimo JA, Bieysse D, Njiayouom I, Deumeni JP, Cilas C, Nottéghem JL. 2007. Effect of cultural practices on the development of arabica coffee berry disease, caused by *Colletotrichum kahawae*. *European Journal of Plant Pathology* **119**, 391- 400.

<https://doi.org/10.1007/s10658-007-9169-x>

Mouen Bedimo JA, Cilas C, Nottéghem JL, Bieysse D. 2012. Effect of temperature and rainfall variation on the development of coffee berry disease caused by *Colletotrichum kahawea*. *Crop Protection* **31**, 125 - 131.

Mouen Bedimo JA, Njiagouom I, Bieysse D, Ndoumbè Nkeng M, Cilas C, Nottéghem JL. 2008. Effect of shade on Arabica Coffee Berry Disease Development: Toward an agroforestry system to reduce disease impact. *Phytopatology* **98**, 1320-1325.

<https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-12-1320>

Mouen Bedimo JA. 2006. Thèse de Doctorat de l'école Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier: Dynamique spatio-temporelle de l'antracnose des baies du Caféier arabica due à *Colletotrichum kahawae* au Cameroun: analyse des principaux facteurs déterminants de la maladie. P 150.

Muller B, Pantin F, Genard M, Turc O, Freixes S, Piques M, Gibon Y. 2011. Water deficits uncouple growth from photosynthesis, increase C content, and modify the relationships between C and growth in sink organs. *Journal of Experimental Botany* **62**, 1715 - 1729.

<https://doi.org/10.1093/jxb/erq438>

Nicholson RL. 1992. *Colletotrichum graminicola* and the anthracnose diseases of maize and sorghum. In *Colletotrichum: Biology, Pathology, and Control*. Bailey JA, Jeger MJ. eds. CAB International,

Wallingford, U.K., p 186 – 202.

OIC. 2018. Organisation International du Café. Le rapport sur le marché du café, 7 p.

www.ico.org

Omokolo ND, Boudjeko T. 2005. Comparative analyses of alteration in carbohydrates, amino acids, phenols and lignin in roots of three cultivars of *Xanthosoma sagittifolium* (macabo) infected by *Pythium myriotylum*. *South African Journal of Botany* **71**, 432 -440.

Phiri NA, Hillocks RJ, Jeffries P. 2001. Incidence and Severity of Coffee Disease in Smallholder Plantations in Northern Malawi. *Crop Protection* **20**, 325 - 332.

[https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00161-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00161-7)

Pinard F, Omondi CO, Cilas C. 2012. Detached berries inoculation for characterization of coffee resistance to Coffee Berry disease. *Journal of Plant Pathology* **94(3)**, 517 -523.

Prusky D, Plumbley RA. 1992. Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In: Bailey JA, Jeger MJ. eds. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CABI International, Wallingford, UK, p 388.

Regazzoni N, Mouen Bedimo JA, Bar-Hen A, Berry D, Cilas C. 1997. Mise au point de protocoles de traitements contre l'antracnose des baies (CBD)

du caféier Arabica au Cameroun. ASIC, 17^e colloque, Nairobi, 708–713.

Shalitin DY, Wang A, Omid A, Gal-on, Wolf S. 2002. Cucumber mosaic virus movement protein affects sugar metabolism and transport in tobacco and melon plants. *Plant Cell and Environment* **25**, 989–997.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00888.x>

Tihominova K, Dalecka, Mezule L. 2016. Application of conventional HPLC – RI technique for sugar analysis in hydrolysed hay. *Agronomy Research* **14(5)**, 1713 - 1719.

Trouvelot S, Héloir MC, Poinssot B, Gauthier A, Paris F, Guillier C, Combier M, Trdá L, Daire X, Adrian M. 2014. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: roles and potential application as foliar sprays. *Front. Plant Science* **4**, 1-14.

<https://dx.doi.org/10.3389%2Ffpls.2014.00592>

Waller JM, Bridge PD, Black R, Hariza G. 1993. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* *Sp. nov.* *Mycological Research* **97(8)**, 989 – 994.

Zufferey V, Murisier F, Vivian P, Belcher S, Lorenzini F, Spring JL, Viret O. 2012. Reserves en glucides de la vigne (cv. Chasselas): Influence du rapport feuille – fruit. *Revue Suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture* **44(4)**, 216-224.