

La résistance à la pourriture des cabosses due à *Phytophthora* spp.

Recherche des composantes de la résistance

Cilas C.¹, Lanaud C.¹, Paulin D.¹, Nyassé S.²,
N'Goran J.A.³, Kébé B.I.³, Ducamp M.¹, Flament M.H.¹,
Risterucci A.M.¹, Pieretti I.¹, Sounigo O.⁴,
Thévenin J.M.⁴, Despréaux D.¹

¹ CIRAD, BP 5035, 34032, Montpellier Cedex 1, France

² IRAD N'Kolbisson, BP Yaoundé, Cameroun

³ CNRA, BP 1827, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

⁴ CIRAD, c/o CRU, University of the West Indies, Sainte-Augustine, Trinité-et-Tobago

La pourriture des cabosses due à différentes espèces de *Phytophthora* provoque d'importantes pertes de production chez l'espèce *Theobroma cacao* L. Ces pertes sont estimées à près de 30 % au niveau mondial (Lass, 1985). Les fèves issues de cabosses atteintes sont en effet détruites par la maladie ou impropres à la consommation.

Plusieurs espèces de ce pathogène ont été identifiées dans les différentes zones de production. L'espèce la plus répandue est *P. palmivora* ; cette espèce est présente dans pratiquement tous les pays producteurs. Au Cameroun, des études récentes ont mis en évidence la présence uniquement de *P. megakarya* (Nyassé, 1992), considérée comme l'espèce la plus agressive (Brasier et Griffin, 1979). *P. megakarya* est également présente au Nigeria, au Togo et au Ghana. Sur le continent américain, *P. capsici* a été détectée dans de nombreuses zones de production, et *P. citrophthora* est présente au Brésil.

De récents travaux sur la lutte chimique ont montré qu'une diminution de la charge

de travail est possible avec la mise en œuvre d'un protocole d'intervention à quatre applications de fongicides par an (Ndoumbé, 1995), mais cette technique de lutte n'est pas toujours économiquement rentable.

La sélection de cacaoyers présentant une moindre sensibilité à la pourriture brune des cabosses demeure donc un objectif prioritaire. Malgré de nombreux travaux (Thorold, 1953 ; Tarjot, 1969 ; Blaha et Lotodé, 1976), la recherche de cacaoyers présentant une résistance totale à cette maladie est restée vaine. De nombreux auteurs suggèrent que les différences de réaction à *Phytophthora* sp. relèvent d'une résistance partielle, probablement polygénique (Partiot, 1975 ; Blaha et Lotodé, 1977). Différentes méthodes d'évaluation du matériel végétal ont été éprouvées (Blaha, 1974). L'observation du comportement au champ en conditions naturelles d'infection, et les tests d'inoculation artificielle sur cabosses ou sur feuilles demeurent les principales méthodes retenues.

Résumé

La pourriture des cabosses du cacaoyer, due à des *Phytophthora*, sévit dans toutes les zones de production. Avec plus de 50 % de pertes de cabosses, l'Afrique centrale est la région la plus affectée par cette maladie. Le contrôle de cette maladie représente donc un enjeu majeur pour l'avenir de la cacao-culture mondiale et la sélection de matériel résistant constitue l'un des thèmes de recherche prioritaire pour de nombreux pays producteurs. Un projet international sur ce sujet, recevant un support financier de Caobisco, a débuté en juillet 1995. Ce projet, d'une durée de 5 ans, a pour objectifs : d'identifier les facteurs intervenants dans la résistance à cette maladie, de mettre au point et de valider des tests précoces de résistance, de détecter d'éventuels QTLs associés à la résistance et d'effectuer une première sélection de matériel résistant. Cet article présente les principaux résultats obtenus après 3 ans de fonctionnement.

Abstract

Cocoa pod rot, caused by *Phytophthora*, affects all the production zones. Central Africa, which suffers over 50% pod losses as a result of the disease, is the hardest hit region. Controlling the disease is thus a major challenge for the future of cocoa growing worldwide, and breeding resistant material is a priority research topic for many producing countries. An international research project on the subject, with financial support from Caobisco, began in July 1995. It is due to run for five years, with the following objectives: to identify the factors involved in resistance to the disease, to develop and validate early resistance tests, to detect any QTL linked with resistance and to carry out initial selection of resistant material. This article presents the main results obtained in the first three years.

Resumen

La pudrición de las mazorcas del cacao, provocada por *Phytophthora*, hace estragos en todas las zonas de producción. Con más de un 50 % de pérdidas de mazorcas, África central es la región más afectada por esta enfermedad. El control de este hongo representa por lo tanto un envite mayor para el futuro del cacao cultivo mundial y la selección de material resistente constituye uno de los temas de investigación prioritario para numerosos países productores. Un proyecto internacional sobre este tema, recibiendo un soporte financiero de Caobisco, empezó en julio de 1995. Este proyecto, de una duración de 5 años, tiene por objetivos: identificar los factores que intervienen en la resistencia a esta enfermedad, elaborar y validar pruebas precoces de resistencia, detectar posibles QTLs asociados con la resistencia y realizar una primera selección de material resistente. Este artículo presenta los principales resultados logrados al cabo de 3 años de desarrollo.

Afin de faire le point sur les possibilités d'amélioration génétique du cacaoyer pour la résistance à cette maladie, un projet international, recevant un support financier de Caobisco, a été mis en place. Cet article présente les résultats acquis lors des trois premières années de fonctionnement.

Fonctionnement du projet

Le projet international sur la résistance à la pourriture des cabosses, due aux différentes espèces de *Phytophthora*, a débuté le 1^{er} juillet 1995 pour une durée de 5 ans.

Plusieurs centres de recherche sont impliqués : le Cirad (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, France), le Cru (Cocoa Research Unit, Trinité-et-Tobago), le Cnra (Centre national de recherche agronomique – ex-Idefor –, Côte d'Ivoire) et l'Irad (Institut de recherches agronomiques pour le développement, Cameroun).

Les objectifs de ce projet sont :

- d'identifier les différents facteurs impliqués dans la résistance ;
- de mettre au point et de valider des tests de résistance ;
- de localiser des zones du génome impliquées dans le caractère de résistance par la recherche de QTLs (*quantitative trait loci*) ;
- d'entamer un processus d'amélioration génétique pour ce caractère.

Dans un premier temps, il était déjà nécessaire de faire un bilan des résultats obtenus dans plusieurs pays sur des plans de croisements installés en parcelles expérimentales. Il s'agissait, entre autres, d'évaluer les héritabilités du caractère de résistance mesuré par le taux de pourriture.

Dans un deuxième temps, il fallait mettre à l'épreuve différentes méthodes pour tester la sensibilité du matériel végétal et mesurer la corrélation entre ces tests et les résultats obtenus en champ.

Enfin, après la réalisation de cartes génétiques à haute densité établies à partir de plusieurs descendances, il était prévu d'identifier des zones du génome impliquées dans la variabilité du caractère mesuré par les différentes techniques.

Héritabilités de la résistance en champ

Les résultats proviennent de plans de croisements implantés dans trois pays :

- un diallèle complet 6 x 6 planté à la station de Barombi-Kang (Irad) au Cameroun en 1974 ;
- un diallèle triangulaire 12 x 12 planté à la station de Tové (IRCC) au Togo en 1987 ;
- un plan factoriel de croisements 16 ♀ x 4 ♂ (North Carolina 2 Design), implanté à la station de Bingerville (Idefor-DCC) en Côte d'Ivoire en 1978.

Les pertes dues à la pourriture brune sont estimées par rapport à la production potentielle (hors cabosses rongées) selon la formule donnant le taux de pourriture par arbre :

$$t_{\text{pour}} = \frac{\sum \text{cabosses pourries}}{\sum \text{cabosses pourries} + \sum \text{mûres} + \sum \text{saines au dernier comptage}}$$

Les analyses de variances de ces trois dispositifs indiquent que les AGC sont prépondérantes, ce qui signifie que le caractère de résistance se transmet essentiellement de façon additive.

Le classement des géniteurs suivant le taux de pourriture observé chez leurs descendances est réalisé ; il s'agit d'une comparaison multiple des AGC estimées par géniteur. Trois années de données étaient disponibles pour l'expérimentation du Cameroun, une pour celle du Togo et neuf pour celle de la Côte d'Ivoire (tableau 1).

La moindre sensibilité à la pourriture brune due au géniteur UPA 134 est confirmée au Cameroun (Despréaux *et al.*, 1989). Ce classement, obtenu sur les AGC, ne présente qu'une seule inversion par rapport à celui des valeurs propres des clones estimées dans un essai clonal situé dans la même station expérimentale (Berry et Cilas, 1994a). Globalement, les classements des géniteurs concordent entre ces trois pays malgré des espèces pathogènes différentes. Ainsi, la sélection menée en Côte d'Ivoire pour la résistance à *P. palmivora* sera utile en cas d'invasion de l'espèce *P. megakarya* dans ce pays.

Les corrélations génétiques et environnementales entre le taux de pourriture et la production potentielle, évaluée par le nombre total de cabosses produites par arbre, ont été calculées (Cilas *et al.*, 1996). Les corrélations génétiques sont négatives, ce qui signifie que les bons géniteurs pour la production le sont aussi pour le caractère de résistance à la pourriture brune. Il est possible que les familles très attaquées portent moins de cabosses en raison d'attaques pouvant intervenir sur de jeunes fruits ou des fleurs. En revanche, les corrélations environnementales sont systématiquement positives entre le taux de pourriture et la production potentielle. Cette corrélation est certainement due aux infections secon-

Tableau 1. Classement des différents géniteurs pour leur sensibilité à la pourriture brune des cabosses. Tests de Newman et Keuls (5 %). / Classification of the different parents according to their susceptibility to black pod. Newman and Keuls' test (5%).

	Cameroun (3 ans) Cameroon (3 years) <i>P. megakarya</i>		Togo (1 an) Togo (1 year) <i>P. megakarya</i>		Côte d'Ivoire (9 ans) Côte d'Ivoire (9 years) <i>P. palmivora</i>		
- sensible - susceptible ↓ + sensible + susceptible			IFC 5	a	Pa 150	a	
			SNK 64	ab	Sca 6	a	
			T86/45	ab	P 7	a	
			T85/799	ab	T85/799	b	
			T60/887	ab	T60/887	bc	
			Sca 6	ab	T79/416	bc	
			ICS 100	ab	T79/501	bc	
		UPA 134	a	UPA 134	abc	Pa 7	bcd
				ICS 40	abc	T63/967	bcde
		SNK 413	b	Na 32	abc	Na 32	bcde
		ICS 84	bc	UF 676	bc		
		IMC 67	bc	IMC 67	c	IMC 67	bcde
		ICS 95	bc			T63/971	bcde
		SNK 10	c			T79/467	bcde
					Na 79	cde	
					IMC 78	de	
					Pa 35	e	

Tableau 2. Héritabilités individuelles au sens strict (h^2) et au sens large (h_L^2) du taux de cabosses pourries. *Individual narrow sense (h^2) and broad sense heritability (h_L^2) of pod rot rates.*

Héritabilité <i>Heritability</i>	h^2	h_L^2
Cameroun (3 ans) <i>Cameroon (3 years)</i>	0,109	0,133
Togo (1 an) <i>Togo (1 year)</i>	0,061	0,061
Côte d'Ivoire (9 ans) <i>Côte d'Ivoire (9 years)</i>	0,681	0,681

daïres, de cabosse à cabosse, qui sont d'autant plus importantes que la densité des fruits sur les arbres est grande.

Les héritabilités au sens strict et au sens large ont été estimées pour le taux de pourriture (tableau 2).

Les héritabilités au sens large sont identiques aux héritabilités au sens strict pour le Togo et la Côte d'Ivoire et de même ordre de grandeur pour le Cameroun. Une héritabilité de type essentiellement additif semble donc régir la transmission de ce caractère, ce qui confirme des études antérieures (Tan et Tan, 1990 ; Berry et Cilas, 1994b). Les héritabilités sont d'autant plus importantes que le nombre d'années pris en compte est important. Les précisions des valeurs individuelles, et donc familiales, sont effectivement meilleures lorsque les observations portent sur un plus grand nombre d'années. A ce titre, les données concernant le dispositif de Côte d'Ivoire doivent être considérées comme les plus fiables alors que des observations complémentaires devraient être effectuées au Togo.

Les géniteurs Trinitario sont globalement les plus sensibles à la maladie. La durée importante des cycles de fructifications chez ce matériel contribue peut-être à ses mauvaises performances en champ (Berry et Cilas, 1994b). Les géniteurs Bas-Amazoniens de type Amelonado et certains Hauts-Amazoniens comme Sca 6, P 7, Pa 150 ou T 85/799 devraient participer à la création de variétés moins sensibles, notamment au Cameroun où ces géniteurs ne sont pas utilisés.

Tests sur feuilles et tests sur cabosses

Méthodes

Le test sur feuilles est une méthode d'inoculation artificielle des feuilles qui permet

d'évaluer la résistance des génotypes selon une échelle de notation de sensibilité allant de 0 à 5. Ce test a d'abord été mis au point sur des feuilles entières, puis il a été appliqué sur des disques de feuilles de 15 mm de diamètre en vue de diminuer les surfaces nécessaires à la comparaison des génotypes.

Les disques de feuille sont disposés dans des bacs et sont ensuite inoculés avec des gouttes de 10 μ l d'une suspension de zoospores de *Phytophthora* sp. Les observations sont réalisées après 3 jours, 5 jours et 7 jours d'incubation à 26°C, suivant l'échelle de notations suivante (Nyassé *et al.*, 1995 ; Nyassé, 1997) :

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

Ce test a été appliqué sur un échantillon de 10 arbres par famille du diallèle 6 x 6 du Cameroun et sur l'essai clonal dans lequel sont comparés les parents. Tous les arbres de quelques familles de ce diallèle ont également été testés par cette méthode dans la perspective de détecter des QTLs associés.

Le test sur cabosses consiste à mesurer le diamètre de la tache de pourriture sur fruit inoculé artificiellement avec une suspension calibrée en zoospores (Blaha, 1974 ; Iwaro *et al.*, 1998). Ces inoculations peuvent être réalisées sur des fruits attachés ou détachés des arbres, avec ou sans blessure de l'épiderme. Le même matériel végétal a été testé par cette méthode afin d'estimer les corrélations entre ces différentes méthodes d'évaluation.

Corrélations entre tests sur feuilles et tests sur cabosses

Les données concernant les tests sur feuilles et sur cabosses réalisés dans un essai comparatif de clones ont été analysées suivant une analyse de variance multivariée afin de déterminer les différentes corrélations. Les données, groupées par arbre, permettent de définir huit variables (Nyassé, 1997) :

- feu3* : note des symptômes sur feuilles 3 jours après l'inoculation ;
- feu5* : note des symptômes sur feuilles 5 jours après l'inoculation ;
- feu7* : note des symptômes sur feuilles 7 jours après l'inoculation ;
- acfeu* : accroissement des symptômes sur feuilles entre 3 et 7 jours ;
- cab3* : note des symptômes sur cabosses 3 jours après l'inoculation ;
- cab5* : note des symptômes sur cabosses 5 jours après l'inoculation ;
- cab7* : note des symptômes sur cabosses 7 jours après l'inoculation ;
- accab* : accroissement des symptômes sur cabosses entre 3 et 7 jours.

Les effets « clone » pour chacune de ces variables sont présentés dans le tableau 3.

Les corrélations phénotypiques entre les tests sur feuilles et les tests sur cabosses sont estimées (tableau 4). Ces corrélations sont calculées à partir des données par arbre.

A partir de l'analyse de variance multivariée, il est possible de calculer les corrélations génétiques et environnementales entre ces différentes variables (tableaux 5 et 6). Les corrélations génétiques correspondent aux corrélations entre moyennes par clone.

Tableau 3. Analyse de l'effet clone pour les tests sur feuilles et sur cabosses. *Analysis of the clone effect in leaf and pod tests.*

Variables <i>Variables</i>	<i>feu3</i> <i>leaf3</i>	<i>feu5</i> <i>leaf5</i>	<i>feu7</i> <i>leaf7</i>	<i>acfeu</i> <i>incleaf</i>	<i>cab3</i> <i>pod3</i>	<i>cab5</i> <i>pod5</i>	<i>cab7</i> <i>pod7</i>	<i>accab</i> <i>incpod</i>
F Clone	10,24	15,89	23,49	15,09	17,27	17,93	13,88	12,53
α (%)	0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Tableau 4. Corrélations phénotypiques entre les tests sur feuilles et les tests sur cabosses. *Phenotypic correlations between leaf and pod tests.*

Note des symptômes <i>Marks for symptoms</i>	<i>feu3</i> <i>leaf3</i>	<i>feu5</i> <i>leaf5</i>	<i>feu7</i> <i>leaf7</i>	<i>acfeu</i> <i>incleaf</i>
<i>cab3 / pod3</i>	0,237	0,260	0,322	0,340
<i>cab5 / pod5</i>	0,318	0,373	0,422	0,476
<i>cab7 / pod7</i>	0,288	0,368	0,440	0,509
<i>accab / incpod</i>	0,281	0,372	0,441	0,521

Seuil de signification à 5 % : 0,18. / *Significance threshold at 5%: 0.18.*

Tableau 5. Corrélations génétiques entre les tests sur feuilles et les tests sur cabosses. / *Genetic correlations between leaf and pod tests.*

Note des symptômes Marks for symptoms	<i>feu3</i> <i>leaf3</i>	<i>feu5</i> <i>leaf5</i>	<i>feu7</i> <i>leaf7</i>	<i>acfeu</i> <i>incleaf</i>
<i>cab3 / pod3</i>	0,640	0,571	0,568	0,500
<i>cab5 / pod5</i>	0,810	0,793	0,784	0,772
<i>cab7 / pod7</i>	0,848	0,856	0,841	0,852
<i>accab / incpod</i>	0,855	0,889	0,871	0,907

Seuil de signification à 5 % : 0,87. / *Significance threshold at 5%: 0.87.*

Tableau 6. Corrélations environnementales entre les tests sur feuilles et les tests sur cabosses. / *Environmental correlations between leaf and pod tests.*

Note des symptômes Marks for symptoms	<i>feu3</i> <i>leaf3</i>	<i>feu5</i> <i>leaf5</i>	<i>feu7</i> <i>leaf7</i>	<i>acfeu</i> <i>incleaf</i>
<i>cab3 / pod3</i>	-0,252	-0,225	-0,146	0,100
<i>cab5 / pod5</i>	-0,289	-0,295	-0,223	0,020
<i>cab7 / pod7</i>	-0,320	-0,306	-0,232	0,049
<i>accab / incpod</i>	-0,311	-0,302	-0,235	0,030

Seuil de signification à 5 % : 0,28. / *Significance threshold at 5%: 0.28.*

Tableau 7. Corrélations entre les tests de résistance et les taux de pourriture au champ (Trinité-et-Tobago). / *Correlations between resistance tests and field rot rates (Trinidad and Tobago).*

	Test sur feuilles <i>Leaf test</i>		Test sur cabosses <i>Pod test</i>		Observations au champ <i>Field observations</i>	
	AB <i>WW</i>	SB <i>WoW</i>	AB <i>WW</i>	SB <i>WoW</i>	% BPCT <i>% RPTP</i>	% BPCM <i>% RPRIP</i>
Test sur feuilles <i>Leaf test</i>						
AB / <i>WW</i>		0,469 **	0,410 **	0,862 **	0,496 **	0,471 **
SB / <i>WoW</i>			0,106 ns	0,438 **	0,373 *	0,415 *
Test sur cabosses <i>Pod test</i>						
AB / <i>WW</i>				0,543 **	0,536 **	0,586 **
SB / <i>WoW</i>					0,660 **	0,642 **

AB : avec blessure. / *WW: with wounding.*

SB : sans blessure. / *WoW: without wounding.*

% BPCT : pourcentage de cabosses pourries / cabosses totales. / *% RPTP: percentage of rotten pods/total pods.*

% BPCM : pourcentage de cabosses pourries / cabosses mûres. / *% RPRIP: percentage of rotten pods/ripe pods.*

* significatif au seuil de 5 %. / ** significant at the 5% threshold.*

** significatif au seuil de 1 %. / *** significant at the 1% threshold.*

ns : non significatif. / *ns: not significant.*

au niveau des essais clonaux ou des essais d'hybrides (Nyassé, 1997). En revanche, une corrélation génétique positive significative est souvent détectée entre les taux de pourriture et les tests sur cabosses et surtout les tests sur feuilles. Cela signifie que les moyennes par clone ou par hybride sont corrélées et qu'il est donc possible de sélectionner un clone ou un croisement sur la base des tests sur feuilles réalisés suivant un dispositif expérimental approprié. En effet, l'analyse du diallele du Cameroun réalisée sur les données du test sur feuilles donne le même classement des géniteurs que l'analyse du taux de pourriture en champ (Nyassé, 1997). Les classements des clones réalisés sur la base des tests de résistance et des taux de pourriture en champ sont également concordants.

En revanche, la sélection de génotypes à l'intérieur d'une descendance n'est pas encore fiable avec les tests sur feuilles et des expériences complémentaires doivent être effectuées avant d'envisager cette méthode pour la sélection précoce d'individus.

Les corrélations entre tests sur feuilles, tests sur cabosses et taux de pourriture en champ ont également été étudiées sur des clones à Trinité-et-Tobago (tableau 7).

Les tests de résistance sur feuilles ou sur cabosses sont corrélés significativement aux taux de pourriture observés dans les parcelles d'étude. Il s'agit de corrélations établies au niveau clonal, donc déterminées au niveau de la moyenne de plusieurs arbres pour chacun des clones.

Recherche de QTLs de résistance au *Phytophthora*

L'approche « cartographie du génome » est actuellement développée pour connaître les bases génétiques de la résistance au *Phytophthora* et apporter des éléments de réponse aux problèmes suivants :

- combien de gènes sont impliqués dans la résistance au *Phytophthora* ;
- quel est l'effet de chacun d'eux ;
- retrouve-t-on les mêmes gènes impliqués dans la résistance de différents géniteurs ;
- y a-t-il des gènes de résistance communs à *Phytophthora megakarya* et à *Phytophthora palmivora* ?

Cette approche permet aussi d'établir de façon précise les relations qui existent entre les différentes mesures de la résistance – taux de pourriture au champ ou tests d'inoculation artificielle sur feuilles et

Les corrélations environnementales sont estimées à partir des résidus des analyses de variance, c'est-à-dire à partir de l'écart entre la moyenne de chaque arbre et la moyenne du clone auquel il appartient.

On remarque que les corrélations génétiques, c'est-à-dire entre les moyennes par clone, sont systématiquement positives entre tests sur feuilles et tests sur cabosses. Ces corrélations ne sont toutefois pas toujours significatives, car calculées sur un nombre trop faible de clones (cinq clones).

En revanche, les corrélations environnementales sont négatives pour la plupart des variables considérées. Il existe donc des ef-

fets environnementaux sur l'expression des tests, et ces effets sont différents en fonction de l'organe testé. L'accroissement des symptômes sur feuilles est la seule variable non corrélée aux variables « cabosses » au niveau environnemental.

Corrélations entre les tests de résistance et les taux de pourriture en champ

En ce qui concerne les relations entre les tests de résistance et les taux de pourriture observés en champ, on constate qu'il n'existe aucune corrélation phénotypique (arbre par arbre) significative, que ce soit

sur cabosses – en localisant sur le génome les gènes, communs ou non, impliqués dans ces trois types de caractères de résistance.

Plusieurs descendance situées à Trinité-et-Tobago, au Cameroun, en Côte d'Ivoire et à Montpellier sont en cours d'étude pour effectuer ces analyses. Parmi elles, cinq descendance, déjà disponibles au Cameroun et en Côte d'Ivoire, et ayant produit pendant plusieurs années, ont été analysées. De plus, de nouvelles descendance ont été mises en place pour ces études à Trinité-et-Tobago et en Côte d'Ivoire.

Les premiers résultats de QTLs concernent le taux de pourriture au champ évalué chez plusieurs géniteurs : ICS 84, UPA 134, SNK 413, SNK 10, IMC 67 (pour *Phytophthora megakarya*) et UF 676, UPA 402, T 60/887 (pour *Phytophthora palmivora*). De 0 à 2 QTLs impliqués dans la résistance au champ ont été mis en évidence pour chaque géniteur. Les régions du génome concernées sont localisées sur les chromosomes 1 (UF 676, UPA 402), 9 (UF 676, UPA 402, ICS 84), A (T 60/887), B (IMC 67). Les groupes A et B ne sont pas identifiés, mais le groupe A serait situé sur le chromosome 8 ou 10. Chacun des QTLs identifié explique entre 7 et 18 % de la variation du caractère, sachant que les QTLs des deux parents de la descendance peuvent intervenir dans l'expression de la résistance de chaque individu. On peut donc observer des zones de QTLs communs entre plusieurs géniteurs, et des zones non communes, comme celle mise en évidence chez T 60/887 et qui est différente des zones identifiées chez UF 676, UPA 402 ou ICS 84.

Des tests sur feuilles ont été réalisés et analysés d'une part sur les descendance au champ, d'autre part sur une descendance en serre à Montpellier. Les premiers résultats obtenus sur les descendance au champ révèlent une mauvaise répétabilité du test sur feuilles, fortement dépendant des effets de l'environnement. Ainsi les QTLs mis en évidence sont, pour la plupart, instables d'une série de mesures à l'autre. Au sein d'une même descendance, les QTLs des tests sur feuilles ne coïncident généralement pas avec les QTLs des taux de pourriture au champ, excepté pour un QTL localisé sur le chromosome 9 de UPA 402 et commun à un QTL de taux de pourriture chez ce même géniteur.

Des tests sur feuilles réalisés avec deux souches de chacune des espèces de *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora palmivora* et *Phytophthora capsici* ont été réalisés sur une descendance en serre à Montpellier. Les premiers résultats obtenus



Fruits sur l'arbre avec attaque de pourriture brune.
Fruits on tree affected by black pod.

Emilie Cros

avec *P. megakarya* et *P. palmivora* permettent d'identifier chez le clone SCA 6, deux QTLs de résistance communs aux deux espèces et situés sur le chromosome 5, et un QTL plus spécifique à *P. palmivora*.

Les tests artificiels sur cabosses, réalisés au Cameroun comme en Côte d'Ivoire, permettent d'identifier un QTL de résistance situé sur le chromosome 2 de UPA 134, et deux QTLs situés sur les chromosomes 2 et 6 de T 60/887. Cependant, chez T 60/887, où a été identifié un QTL de résistance au champ, le QTL de résistance évalué par des tests sur cabosses n'est pas localisé au même endroit.

Ces premiers résultats indiquent donc que des gènes de résistance différents peuvent être trouvés dans différents géniteurs et que des zones du génome identiques pourraient être impliquées dans la résistance à *Phytophthora megakarya* et à *Phytophthora palmivora*. Si ces premiers résultats sont confirmés, ils signifient que l'accumulation de gènes de résistance différents est possible pour améliorer la résistance des géniteurs, et qu'il serait envisageable de sélectionner des géniteurs résistants aux deux espèces de *Phytophthora* en concentrant les recherches sur les QTLs communs. Si la localisation de ces QTLs est confirmée, une sélection assistée par marqueurs utilisant ceux qui encadrent ces QTLs pourrait être également envisagée pour accélérer et contrôler l'accumulation de gènes de résistance différents dans un même géniteur.

Conclusion

Le programme international de recherches sur la résistance à la pourriture des cabosses due à *Phytophthora* spp. a permis

d'obtenir un certain nombre de résultats encourageants.

L'étude génétique de la réaction à la pourriture due à *Phytophthora* spp. dans les parcelles du Cameroun et de Côte d'Ivoire confirme l'existence d'une transmission principalement additive du caractère de résistance à la pourriture brune en conditions naturelles d'infection, ce qui confirme les travaux antérieurs (Despréaux *et al.*, 1989 ; Tan et Tan, 1990 ; Berry et Cilas, 1994a).

Les classements des géniteurs concordent entre ces trois pays malgré des espèces pathogènes différentes. Ainsi, la sélection menée en Côte d'Ivoire pour la résistance à *P. palmivora* sera utile en cas de progression de l'espèce *P. megakarya* dans ce pays.

Les géniteurs Trinitario sont globalement les plus sensibles à la maladie. La durée importante des cycles de fructifications chez ce matériel contribue peut-être à ses mauvaises performances en champ. Les géniteurs Bas-Amazoniens de type Amelonado et certains Hauts-Amazoniens comme Sca 6, P 7, Pa 150 ou T 85/799 devraient participer à la création de variétés moins sensibles, notamment au Cameroun où ces géniteurs ne sont pas utilisés.

Les corrélations génétiques entre la production potentielle et le taux de cabosses pourries sont favorables (négatives). Il est donc possible de conduire une sélection conjointe pour ces deux caractères. Une sélection combinée « individus-famille » sur un index associant une forte production et une bonne résistance à la pourriture a été proposée pour le Cameroun et la Côte d'Ivoire afin de sélectionner, à l'intérieur des familles intéressantes, des individus susceptibles d'être utilisés comme clones

ou comme géniteurs pour de nouveaux croisements.

Les tests de résistance sur feuilles ou sur cabosses, réalisés suivant un dispositif expérimental approprié, permettent de sélectionner des clones ou des familles hybrides moins sensibles. En revanche, il n'est pas encore prouvé que ces techniques d'évaluation soient efficaces pour sélectionner des individus résistants à l'intérieur des familles hybrides. Dans ce cas, l'unicité des génotypes mis à l'épreuve ne permet pas de réaliser ces tests avec des dispositifs expérimentaux robustes. De la même façon, les taux de pourriture estimés individuellement sur des arbres en essai ne permettent pas de déterminer précisément le niveau de sensibilité de ces arbres. En effet, le taux de pourriture observé peut dépendre de l'environnement immédiat de l'arbre, de sa charge en cabosses, de la disposition des cabosses, etc.

Afin d'estimer la fiabilité du test sur feuilles, il est suggéré de l'appliquer en pépinière et de le valider en observant le comportement au champ du matériel ainsi testé à un stade précoce. En effet, il s'agit maintenant de valider ces techniques d'évaluation en vraie grandeur, dans des conditions réelles de sélection, et d'estimer les gains génétiques sur le taux de pourriture pour différents taux de sélection déterminés à partir du test sur feuilles. Les opérations de sélection précoce, réalisées à partir des tests sur feuilles, pourront alors être poursuivies.

Des QTLs de la résistance au *Phytophthora*, communs ou non, ont été détectés sur plusieurs géniteurs et permettent d'envisager une accumulation de gènes de résistance différents chez un même géniteur. Des QTLs communs de résistance aux deux espèces de *Phytophthora* ont également été observés, et vont dans le même sens que les observations précédentes sur le classement des clones, semblable dans différents pays où existent des espèces pathogènes différentes. Si ces résultats sont confirmés sur d'autres géniteurs, une sélection assistée par marqueurs, ciblée sur les QTLs communs, devrait donc permettre de sélectionner, de façon plus efficace, des clones résistants à *P. megakarya*, avant même l'arrivée potentielle de cette maladie. ■

Bibliographie / References

- BERRY D., CILAS C., 1994a. Etude du comportement d'une parcelle diallèle 6 x 6 vis-à-vis de la pourriture brune des cabosses du cacaoyer due à *Phytophthora* spp. au Cameroun. In : XIth International cocoa research conference, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, 18-24 juillet 1993. Lagos, Nigeria, Alliance des pays producteurs de cacao, p. 91-96.
- BERRY D., CILAS C., 1994b. Etude génétique de la réaction à la pourriture brune des cabosses chez des cacaoyers issus d'un plan de croisements diallèle. *Agronomie* 14 : 599-609.
- BLAHA G., 1974. Methods of testing for resistance. In : *Phytophthora* disease of cocoa, P.H. Gregory éd., Londres, Royaume-Uni, Longman, p. 259-268.
- BLAHA G., LOTODÉ R., 1976. Un caractère primordial de sélection du cacaoyer au Cameroun : la résistance à la pourriture brune des cabosses. *Café Cacao Thé* 20 : 97-116.
- BLAHA G., LOTODÉ R., 1977. Contribution à la connaissance des modalités de la transmission héréditaire de la résistance du cacaoyer à la pourriture des cabosses (*Phytophthora palmivora*) au Cameroun. *Café Cacao Thé* 21 : 179-196.
- BRASIER C.M., GRIFFIN M.J., 1979. Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cocoa. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 72 : 111-143.
- CILAS C., VERSCHAVE P., BERRY D., 1995. Recherche d'un index de sélection pour deux caractères (production et résistance à la pourriture brune des cabosses) chez le cacaoyer. In : Traitements statistiques des essais de sélection, actes du séminaire de biométrie et génétique quantitative, Montpellier, France, 12-14 septembre 1994. Montpellier, France, Cirad, p. 333-341.
- CILAS C., BERRY D., PAULIN D., N'GORAN J.A., DJIEKPOR E.K., 1996. La résistance à la pourriture brune des cabosses au Cameroun, en Côte d'Ivoire et au Togo. Bilan d'évaluation au champ. In : XIIth International cocoa research conference, Salvador, Bahia, Brésil, 17-23 novembre 1996. Lagos, Nigeria, Alliance des pays producteurs de cacao (sous presse).
- DESPRÉAUX D., CLÉMENT D., PARTIOT M., 1989. La pourriture brune des cabosses du cacaoyer au Cameroun : mise en évidence d'un caractère de résistance au champ. *Agronomie* 9 : 683-691.
- IWARO A.D., SREENIVASAN T.N., UMAHARAN P., 1998. Cacao resistance to *Phytophthora*: effect of pathogen species, inoculation depths and pod maturity. *Eur. J. Plant Pathol.*, 104 : 11-15.
- LANAUD C., RISTERUCCI A.M., N'GORAN J.A., CLÉMENT D., FLAMENT M.H., LAURENT V., FALQUE M., 1995. A genetic linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theor. Appl. Genet.* 91 : 987-993.
- LASS R.A., 1985. *Phytophthora* pod rot (often called « black pod »). In : Cocoa, G.A.R. Wood et R.A. Lass éd., Londres, Royaume-Uni, Longman, p. 267-282.
- NDOUMBÉ NKENG M., 1996. Traitement des données épidémiologiques sur la pourriture brune des cabosses du cacaoyer au Cameroun. Rapport de stage en biométrie, Cirad-cp, Montpellier, France, 14 p. (document interne).
- NYASSÉ S., 1992. Structure d'une population de *Phytophthora* sp. des cacaoyères camerounaises atteintes de pourriture brune. Mémoire, diplôme de recherche universitaire « Sciences agronomiques », Institut national polytechnique de Toulouse, Toulouse, France, 65 p.
- NYASSÉ S., 1997. Etude de la diversité de *Phytophthora megakarya* et caractérisation de la résistance du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) à ce pathogène. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, Toulouse, France, 145 p.
- NYASSÉ S., CILAS C., HÉRAIL C., BLAHA G., 1995. Leaf inoculation as an early screening test for cocoa (*Theobroma cacao* L.) resistance to *Phytophthora* black pod disease. *Crop Prot.* : 657-663.
- PARTIOT M., 1975. La résistance horizontale du cacaoyer au *Phytophthora* species. *Café Cacao Thé* 19 : 123-130.
- TAN G.Y., TAN W.K., 1990. Additive inheritance of resistance to pod rot caused by *Phytophthora palmivora* in cocoa. *Theor. Appl. Genet.* 80 : 258-264.
- TARJOT M., 1969. Etude de la résistance des cacaoyers à la pourriture brune des cabosses due à *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. en Côte d'Ivoire. 3^e partie : inoculations expérimentales sur le terrain. *Café Cacao Thé* 13 : 297-309.
- THOROLD C.A., 1953. The control of black pod disease of cocoa in the Western region of Nigeria. In : Report of the cocoa conference, Londres, Royaume-Uni, 15-17 septembre 1953. Londres, Royaume-Uni, The Cocoa, Chocolate and Confectionery Alliance, p. 108-115.

Resistance to pod rot caused by *Phytophthora* spp.

The search for resistance components

Cilas C.¹, Lanaud C.¹, Paulin D.¹, Nyassé S.², N'Goran J.A.³, Kébé B.I.³, Ducamp M.¹, Flament M.H.¹, Risterucci A.M.¹, Pieretti I.¹, Sounigo O.⁴, Thévenin J.M.⁴, Despréaux D.¹

¹ CIRAD, BP 5035, 34032, Montpellier Cedex 1, France

² IRAD N'Kolbisson, BP Yaoundé, Cameroon

³ CNRA, BP 1827, Abidjan 01, Côte d'Ivoire

⁴ CIRAD, c/o CRU, University of the West Indies, Saint Augustine, Trinidad and Tobago

Pod rot due to various *Phytophthora* species causes considerable production losses in *Theobroma cacao* L. Those losses can be estimated at 30% worldwide (Lass, 1985). The beans in affected pods are either destroyed by the disease or are unsuitable for consumption.

Several species of the pathogen have been identified in the different production zones. The most widespread is *P. palmivora*, which is found in almost all producing countries. Recent studies in Cameroon detected only *P. megakarya* (Nyassé, 1992), which is considered to be the most aggressive species (Brasier and Griffin, 1979). *P. megakarya* is also found in Nigeria, Togo and Ghana. In the Americas, *P. capsici* has been detected in numerous production zones, and *P. citrophthora* is also found in Brazil.

Recent work on chemical control showed that the work load involved could be reduced by introducing an intervention strategy including four fungicide applications per year (Ndoumbé, 1995), but this control technique is not always cost-effective.

Breeding cocoa trees that are less susceptible to black pod is thus still a priority objective. Despite substantial work (Thorold, 1953; Tarjot, 1969; Blaha and Lotodé, 1976), the search for totally resistant cocoa trees has so far drawn a blank. Many authors have suggested that the differences in reactions to *Phytophthora* sp. may be due to partial, probably polygenic, resistance (Partiot, 1975; Blaha and Lotodé, 1977). Different ways of evaluating planting material have been tested (Blaha, 1974), and observing field performance under natural infection conditions and artificial inoculation of pods or leaves are the most popular methods.

An international project, with financial support from Caobisco, has been set up to ascertain the prospects for genetic improvement of cocoa with a view to ensuring resistance to the disease. This article presents the results obtained in its first three years.

Project operations

The international project on resistance to pod rot caused by the different *Phytophthora* species

was launched on 1st July 1995, to run for five years.

Several research centres are involved: CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, France), the CRU (Cocoa Research Unit, Trinidad and Tobago), the CNRA (Centre national de recherche agronomique – IDEFOR –, Côte d'Ivoire) and IRAD (Institut de recherches agronomiques pour le développement, Cameroon).

The aims of the project are as follows:

- to identify the different factors involved in disease resistance;
- to develop and validate resistance tests;
- to identify the areas of the genome involved in the resistance character by searching for QTL (Quantitative Trait Loci);
- to begin genetic improvement for the character.

It was initially necessary to assess the results obtained previously in several countries using crossing plans in experimental plots. The aim, amongst other things, was to evaluate the heritability of the resistance character, reflected in the pod rot rate.

The second task was to try different ways of testing planting material susceptibility and to measure the correlations between those tests and the results obtained in the field.

Lastly, after drawing up high density genetic maps based on several progenies, the plan was to identify the areas of the genome involved in the variability of the resistance character as measured by the different techniques.

Field resistance heritability

The results quoted are from crossing plans set up in three countries:

- a 6 x 6 complete diallel planted at the Barombi-Kang (IRAD) station in Cameroon in 1974;
- a 12 x 12 triangular diallel planted at the Tové (IRCC) station in Togo in 1987;
- a 16♀ x 4♂ (North Carolina 2 Design) factorial crossing plan planted at the Bingerville station (IDEFOR-DCC) in Côte d'Ivoire in 1978.

Losses due to black pod were estimated in relation to production potential (excluding rodent-damaged pods), according to a formula that gives the rot rate per tree:

$$\text{rot rate} = \frac{\Sigma \text{ rotten pods}}{\Sigma \text{ rotten pods} + \Sigma \text{ ripe pods} + \Sigma \text{ healthy pods at last count}}$$

Analyses of variance for the three designs showed that GCA was predominant, which means that resistance character transmission is primarily additive.

The parents were classified according to the rot rate observed amongst their progenies; this was done by multiple comparison of the estimated GCA per parent. Three years' data were available for the Cameroon trial, one year's for the one in Togo and nine years' for the one in Côte d'Ivoire (table 1).

The lesser susceptibility to black pod due to parent UPA 134 was confirmed in Cameroon (Despréaux *et al.*, 1989). This classification, based on GCA, contained just one inversion in relation to the intrinsic clone values estimated in a clone trial at the same experimental station (Berry and Cilas, 1994a). Overall, the parent classifications for the three countries tallied, despite the different pathogen species found. As a result, the breeding work being done in Côte d'Ivoire for resistance to *P. palmivora* will be of use should *P. megakarya* ever invade the country.

The genetic and environmental correlations between the rot rate and production potential, evaluated as the total number of pods produced per tree, were calculated (Cilas *et al.*, 1996). The genetic correlations were negative, which means that parents that are good in terms of production are also good in terms of the black pod resistance character. It is possible that severely affected families have fewer pods as a result of attacks on young fruits or flowers. However, the environmental correlations between the rot rate and production potential were systematically positive. This correlation is almost certainly due to secondary infection, from pod to pod, which is more marked the higher the density of fruits on the trees.

Narrow sense and broad sense heritability was estimated for rot rate (table 2).

Broad sense and narrow sense heritability was identical for Togo and Côte d'Ivoire, and roughly the same for Cameroon. Transmission of the character would thus seem to be governed by primarily additive heritability, which confirms previous studies (Tan and Tan, 1990; Berry and Cilas, 1994b). The heritability was higher the greater the number of years taken into account. In effect, the accuracy of individual, and thus family, values was better if the observations covered a greater number of years. Consequently, the data concerning the Côte d'Ivoire trial should be considered the most reliable, while further observations are required in Togo.

Trinitario parents proved more susceptible to the disease in general. The fact that this material has long fruiting cycles may be one of the reasons for its poor field performance (Berry and Cilas, 1994b). Amelonado type Lower Amazon parents and some Upper Amazon types such as Sca 6, P 7, Pa 150 or T 85/799 could be used to create less susceptible varieties, particularly in Cameroon where those parents are not used.

Leaf and pod tests

Methods

The leaf test involves artificial inoculation of leaves in order to evaluate the resistance of genotypes according to a susceptibility scale of 0 to 5. The test was developed on whole leaves, but has since been applied to 15 mm wide leaf discs, so as to reduce the areas required for comparing genotypes.

The leaf discs are placed in trays and inoculated with 10- μ l drops of a suspension of *Phytophthora* sp. zoospores. Observations are made after three, five and seven days' inoculation at 26°C, according to the following scale (Nyassé *et al.*, 1995; Nyassé, 1997):

- no symptoms: 0
- penetration spots: 1
- network of spots: 2
- reticulated patch: 3
- marbled patch: 4
- solid patch (necrosis): 5.

The test was applied to a sample of ten trees per family from the 6 x 6 diallel in Cameroon, and to the clone trial comparing the parents. All the trees from some families in the diallel were also tested in this way, with a view to detecting any associated QTL.

The pod test consists in measuring the diameter of the rot patch on fruits inoculated artificially with a calibrated zoospore suspension (Blaha, 1974; Iwaro *et al.*, 1998). Inoculation can be done on fruits still on the trees or not, with or without wounding the epidermis. The same plant material was tested in this way, so as to estimate

the correlations between the different evaluation methods.

Correlations between leaf and pod tests

A multivariate analysis of variance was conducted of the data concerning the leaf and pod tests carried out in a clone comparative trial, to determine the different correlations. The data, grouped per tree, were used to define eight variables (Nyassé, 1997):

- leaf3*: mark for leaf symptoms three days after inoculation;
- leaf5*: mark for leaf symptoms five days after inoculation;
- leaf7*: mark for leaf symptoms seven days after inoculation;
- incleaf*: increase in leaf symptoms between three and seven days;
- pod3*: mark for pod symptoms three days after inoculation;
- pod5*: mark for pod symptoms five days after inoculation;
- pod7*: mark for pod symptoms seven days after inoculation;
- incpod*: increase in pod symptoms between three and seven days.

The "clone" effects for each of these variables are shown in table 3.

The phenotypic correlations between the leaf and pod tests were estimated (table 4), based on the data per tree.

From the multivariate analysis of variance, it was possible to calculate the genetic and environmental correlations between the different variables (tables 5 and 6). The genetic correlations correspond to the correlations between the means per clone.

The environmental correlations were estimated based on the analysis of variance residuals, i.e. on the difference between the mean for each tree and the mean for the relevant clone.

It is clear that the genetic correlations, i.e. between the means per clone, were systematically positive between leaf and pod tests. However, they were not always significant, as they were calculated on too few clones (five clones).

On the other hand, the environmental correlations were negative for most of the variables considered. There was therefore an environmental effect on test expression, and it differed depending on the organ tested. The increase in leaf symptoms was the only variable not correlated to the "pod" variables on an environmental level.

Correlations between resistance tests and field rot rates

In terms of the relations between resistance tests and field rot rates, there was no significant phenotypic correlation (tree by tree) for either

the clone trials or the hybrid trials (Nyassé, 1997). However, there was often a significant positive genetic correlation between rot rates and pod, and particularly leaf, tests. This indicates that the means per clone or per hybrid are correlated, and that a clone or cross can thus be selected based on leaf tests carried out in an appropriate experimental design. In fact, an analysis of the Cameroon diallel based on leaf test results produced the same parent classification as that of field rot rates (Nyassé, 1997). The clone classifications according to resistance tests and field rot rates also tallied.

However, selecting genotypes within a progeny based on leaf tests is not yet reliable, and further experiments need to be conducted before thinking about using this method for the early selection of individuals.

The correlations between leaf tests, pod tests and field rot rates were also studied on clones in Trinidad and Tobago (table 7).

Leaf or pod resistance test results were significantly correlated to the rot rates observed in the study plots. The correlations were determined at clone level, i.e. based on the mean of several trees for each of the clones.

The search for *Phytophthora* resistance QTL

The "genome mapping" approach is currently being used to determine the genetic bases of resistance to *Phytophthora* and provide some sort of answer to the following questions:

- how many genes are involved in *Phytophthora* resistance;
- what effect does each of them have;
- are the same genes found to be involved in the resistance of different parents;
- are there shared genes for resistance to *Phytophthora megakarya* and *Phytophthora palmivora*?

This approach also makes it possible to determine clearly the relations between the different resistance measurements –field rot rates or artificial inoculation of leaves and pods– by locating within the genome the genes, shared or otherwise, involved in the three types of resistance characters.

Several progenies in Trinidad and Tobago, Cameroon, Côte d'Ivoire and Montpellier are currently being studied with a view to these analyses. Of those progenies, five which are already available in Cameroon and Côte d'Ivoire and have produced pods for several years, have been analysed. Moreover, new progenies have been planted for study in Trinidad and Tobago and Côte d'Ivoire.

The first QTL results concern the field rot rate for several parents: ICS 84, UPA 134, SNK 413, SNK 10, IMC 67 (for *Phytophthora megakarya*)

and UF 676, UPA 402, T 60/887 (for *Phytophthora palmivora*). Between 0 and 2 QTL involved in field resistance have been detected for each parent. The genome regions concerned are located on chromosomes 1 (UF 676, UPA 402), 9 (UF 676, UPA 402, ICS 84), A (T 60/887) and B (IMC 67). Groups A and B have not been identified, but group A would seem to be located on chromosome 8 or 10. Each of the QTL identified explains between 7 and 18% of the variation in the character, given that the QTL of the two parents of a progeny may be involved in resistance expression by each individual. There are thus QTL zones shared by several parents, as well as non-shared zones, such as that seen in T 60/887, which is different from the zones identified in UF 676, UPA 402 or ICS 84.

Leaf tests were carried out and analysed for field progenies and for a progeny kept in a greenhouse in Montpellier. The initial results obtained for the field progenies showed that the leaf test is not very reproducible, as it was strongly dependent on environmental effects. The QTL detected were thus mostly unstable from one set of measurements to another. Within a given progeny, the QTL from leaf tests did not generally tally with those from field rot rates, except for a QTL located on chromosome 9 in UPA 402 which was the same as a rot rate QTL identified for that parent.

Leaf tests carried out with two strains of each species, *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora capsici*, were carried out on a progeny in a glasshouse in Montpellier. The initial results obtained with *P. megakarya* and *P. palmivora* identified two resistance QTL common to the two species, located on chromosome 5, and another that was more specific to *P. palmivora*.

Artificial pod inoculation tests in Cameroon and Côte d'Ivoire identified a resistance QTL located on chromosome 2 in UPA 134, and two QTL on chromosomes 2 and 6 in T 60/887. However, in T 60/887, in which a field resistance QTL was identified, the resistance QTL evaluated by pod tests was not in the same place.

These first results thus show that different resistance genes may be found in different parents, and that identical genome zones may be involved in resistance to *Phytophthora megakarya* and *Phytophthora palmivora*. Subject to confirmation, this would mean that accumulating different resistance genes would be a way of improving parent resistance, and that it should be possible to select parents resistant to these two *Phytophthora* species by concentrating research on shared QTL. If the location of these QTL is confirmed, marker-assisted selection using the ones around those QTL could also be a way of speeding up and controlling the accumulation of different resistance genes within a given parent.

Conclusion

The international research programme on resistance to pod rot caused by *Phytophthora* spp. has produced a number of encouraging results.

The genetic study of reactions to rot due to *Phytophthora* spp. in plots in Cameroon and Côte d'Ivoire showed that transmission of the black pod resistance character is primarily additive under natural infection conditions, which confirmed previous work (Despréaux *et al.*, 1989; Tan and Tan, 1990; Berry and Cilas, 1994a).

Parent classifications in all three study countries tallied, despite the different pathogen species found. Consequently, the breeding work under way in Côte d'Ivoire for resistance to *P. palmivora* will be of use should the *P. megakarya* species become more widespread in the country.

Trinitario parents are generally the most susceptible to the disease. Their long fruiting cycles may be one of the reasons for their poor field performance. Amelonado type Lower Amazon parents and some Upper Amazons such as Sca 6, P 7, Pa 150 or T 85/799 should be of use in creating less susceptible varieties, particularly in Cameroon, where those parents are not used.

The genetic correlations between production potential and the number of rotten pods are favourable (negative). Joint selection for those

two characters is thus possible. Combined "individual-family" selection based on an index combining high production and good rot resistance has been proposed in Cameroon and Côte d'Ivoire with a view to selecting, within worthwhile families, individuals that could be used as clones or as parents for new crosses.

Leaf or pod resistance tests applied according to an appropriate experimental design are one way of selecting less susceptible clones or hybrid families. However, it has not yet been proved that these evaluation techniques are effective in selecting resistant individuals within hybrid families. As a result, the unicity of the genotypes tested means that these tests cannot be carried out in large-scale experimental designs. Similarly, rot rates estimated on individual test trees do not provide an accurate picture of the susceptibility of those trees. In effect, the observed rot rate may depend on different parameters such as the tree's immediate environment, pod density and pod distribution on the tree.

To estimate the reliability of the leaf test, we suggest applying it in the nursery and validating it by observing the subsequent field performance of the material tested at an early stage. In fact, the aim is now to validate these evaluation techniques in the field, under actual selection conditions, and to estimate the genetic gains in terms of rot rates for different selection rates determined using the leaf test. Early selection operations based on leaf tests can then be continued.

Shared or non-shared *Phytophthora* resistance QTL have been detected in several parents, which means that it may be possible to combine different resistance genes within a single parent. Common QTL of resistance to both *Phytophthora* species have also been observed, and tally with previous observations on clone classifications, which are similar even in different countries with different pathogen species. If these results are confirmed on other parents, marker-assisted selection centred on shared QTL should enable more effective selection of clones resistant to *P. megakarya*, before the disease even arrives. ■