10 DEC. 1992
IRCC Montpellier
DOCUMENTATION

COMPTE RENDU DE MISSION

ATELIER DE TRAVAIL SUR LES RESSOURCES GÉNÉTIQUES DU CACAO

TRINIDAD

(13 au 18 septembre 1992)

VISITE AU VENEZUELA

(18 au 22 septembre 1992)

Albertus B. ESKES
Olivier SOUNIGO
Philippe LACHENAUD

Octobre 1992

SOMMAIRE

1. Introduction

2. Trinidad

    2.1. Objectif de l'atelier de travail

    2.2. La collection du CRU

    2.3. Coopération envisagée avec le CRU

    2.4. Déroulement du colloque

    2.5. Observations diverses

3. Venezuela (voir compte rendu Sounigo)

    3.1. Introduction

    3.2. Laboratoire de CIV de Maracay

    3.3. Station d'Ocumare

    3.4. Région de Chamas

    3.5. Conclusions

4. Annexes : Résumés et articles présentés par l'IRCC et le CIRAD à Trinidad

    a. Recent Cocoa Germplasm Conservation Initiatives of IRCC in French Guyana (Ph. Lachenaud)

    b. Current Cocoa Quarantine Facilities of CIRAD-IRCC (D. BIEYSSE and D. DESPREAUX).

    c. CIRAD-IRCC Involvement in Evaluation and Utilization of Cocoa Germplasm (A.B. Eskes *et al.*)

    d. Assessment of the genetic diversity of cocoa using biochemical and molecular markers at CIRAD (C. Lanaud *et al.*)

    e. Cocoa germplasm initiatives in Côte d'Ivoire (IDEFOR-DCC/IRCC) (J.A.K. N'GORAN)

    f. Mission Statement of the Cocoa Research Unit (CRU)

1. INTRODUCTION

L'objectif de la mission à Trinidad était la participation à l'atelier de travail, organisé par le Cocoa Research Unit, sur les ressources génétiques du cacaoyer. Ce compte rendu vise à donner seulement un aperçu de quelques informations utiles sur le colloque ; les actes détaillés sont attendus dans quelques temps. Les résumés des communications présentées par le CIRAD-IRCC et l'IDEFOR sont jointes en annexes.

Au Vénézuela, l'objectif était de visiter le Fonaiap, des champs expérimentaux, et discuter le projet de collaboration sur le cacao Porcelana.Le rapport vise à donner surtout un aperçu sur les collections et plantations des cacaoyers Criollo et Porcelana visitées.

2. TRINIDAD

2.1. Objectifs de l'Atelier de Travail

L'atelier, international intitulé "Conservation, Characterization and Utilization of Cocoa Genetic Ressources in the 21th Century" a été organisé par le Cocoa Research Unit (CRU) à Trinidad. Le CRU est responsable de la gestion d'une collection internationale d'environ 2 400 clones. L'objectif de l'atelier était de faire un état des lieux et discuter les perspectives de recherches sur les ressources génétiques du cacaoyer. Un objectif particulier était de discuter les attributions du CRU (voir annexe d) et de proposer des recommandations sur les collections, les bases de données, la quarantaine et l'utilisation de germplasm. Quatre groupes de travail ont été organisés autour de ces thèmes et les recommandations doivent faire partie des actes de la réunion.

2.2. La collection de CRU

La collection du CRU compte environ 2 400 introductions. Pendant les dernières années, l'ancienne collection a été transférée de plusieurs sites dispersés à un seul site, qui appartient au gouvernement de Trinidad et est loué pour un prix symbolique au CRU. Actuellement, environ 1 800 introductions (clones) ont été plantées comme boutures sur le nouveau site, et la plupart des autres y sont présentes en "parc à bois" comme greffes.

Les activités du CRU sont actuellement financées à 40 % par la CEE, à 40 % par le gouvernement de Trinidad et à 20 % par le BCCA (Alliance des Chocolatiers Anglais). Le financement de la CEE sera réduit à partir de 1993, et semble assurer seulement l'entretien minimum de la collection sur le nouveau site.

2.3. Coopération envisagée avec le CRU

Le CRU est favorable à une collaboration accrue avec le CIRAD dans les domaines de la génétique (caractérisation de la collection avec isoenzymes et RAPD), de phytopathologie (balai de sorcière) et de la physiologie végétale.

Des modalités de collaboration dans le domaine de génétique ont été discutées avec le Dr. Spence, directeur du CRU. L'affectation d'Olivier SOUNIGO est envisageable. Son programme de recherche doit être détaillé, mais serait d'abord la mise au point de la technique RAPD pour caractériser et évaluer la diversité génétique de la collection.

2.4. Déroulement du colloque

Cinq domaines ont été discutés pendant le colloque :

a) le bilan et l'avenir de l'I.C.G.T. (International Cacao Germplasm Collection à Trinidad) ;
b) les nouvelles techniques biochimiques (RFLP et RAPD) et de C.I.V. (topics 1 et 4) ;
c) les données et leur gestion : descripteurs et bases de données (topic 1 et 4) ;
d) la quarantaine (topic 3) ;
e) l'utilisation de ressources génétiques (topic 4).

Les topics 3 et 5 du programme ("cocoa quarantine" et "utilization of cocoa genetic ressources") ont semblé un peu en retrait (peu de présentation). Le groupe de travail n° 3 sur la quarantaine ne s'est pas beaucoup exprimé.

Point a

* Les discussions font apparaître le besoin de doubler la collection de Trinidad, (où ?) et les problèmes pour l'utilisation des nouvelles techniques (RAPD) au CRU ;

* Certaines options pratiques de la gestion de la collection me semblent discutables :
- la minimalisation des intrants (no input or low input ?),
- le refus de greffage : les clones les moins vigoureux, qui sont aussi les plus difficiles à multiplier par bouturage, seront les premiers à disparaître.
- la disposition sur le terrain (confuse) et le repérage des arbres (à améliorer).

Point b

Les techniques de RFLP et RAPD sont en plein développement. Elles bénéficient d'un phénomène de mode. Les RAPD ont donné des résultats intéressants sur la diversité génétique du cacaoyer (CIRAD, Montpellier) et, plus spécifiquement, sur certaines populations sauvages (SCRI, Ecosse). En micropropagation, les résultats de FIGUEIRA sont intéressants : l'utilisation de taux élevés de CO2 et l'embryogenèse somatique possible à partir de nucelle (tissu femelle) de cabosses immatures.

Point c

Beaucoup de discussions et d'avis sur les descripteurs, mais peu de certitudes, sinon :

- l'acceptation des résultats de ENGELS ;
- le consensus sur une standardisation des descripteurs et leur limitation (une vingtaine au plus).

Une liste définitive sera proposée et devra être discutée pendant le congrès de Yamoussoukro en 1993.

La base de données (I.C.G.D.) de Reading commence à être utilisée, et se pose le problème de son remplissage ; le besoin d'un réseau international apparaît (représentants régionaux et par institution). Le principe de l'échange pourrait être retenu : les institutions ou pays fournissant leurs données régulièrement recevraient régulièrement les disquettes de l'I.C.G.D. Le groupe de travail n° 2 n'a pu émettre que les voeux et un rendez-vous prévu à Yamoussoukro en 1993

Point d

Les besoins et conditions de quarantaine ont été discutés dans un groupe de travail. le problème majeur signalé est la difficulté d'identification de maladies virales, notamment le CSSV. La possibilité d'existence d'autres virus semblables (observations à Trinidad, en Afrique et Malaisie) a été évoquée. Dans l'attente de l'amélioration de cette méthode d'identification on maintient la recommandation de deux ans d'observations sur les plantes en quarantaine avant de les expédier.

Point e

La discussion a porté sur la valeur de certaines collections pour l'utilisation. Par exemple, M. Lockwood estime que la collection de Trinidad pourrait être composée d'un nombre limité de familles de demi-frères (collection de Pound) ; ceci montre l'intérêt pour le généticien de bien connaître les relations génétiques entre et à l'intérieur des populations. Des doutes ont été exprimés sur l'existence de Criollos purs, car ce germplasm a fréquemment hybridé avec des Forasteros. Des marqueurs "typiques" sont nécessaires pour distinguer les Criollos des Trinitarios.

Les généticiens semblaient d'accord pour admettre que les méthodes de sélection devraient dorénavant être dirigées vers l'amélioration de populations, ainsi que la sélection récurrente. Ceci est nécessaire afin d'avancer dans des domaines où la sélection traditionnelle d'hybrides ne donne pas satisfaction (notamment pour les caractères quantitatifs, comme les résistances).

L'interaction entre la vigueur de clones et leur densité de plantation a été évoquée, en prenant un exemple de clones TSH au Trinidad et des clones testés à Bal, Malaisie. Au Brésil, il semble que les hybrides vigoureux peuvent être plus productifs sur des sols pauvres que sur des sols riches. Ce dernier phénomène pourrait être expliqué par une trop grande vigueur, par rapport à la densité appliquée, des hybrides sur les sols riches. Ceci montre que la vigueur n'est pas toujours favorable et que le généticien devrait donc adapter la vigueur des variétés aux conditions d'environnement.

Des spéculations ont été avancées sur l'impact des biotechnologies et des marqueurs moléculaires sur l'amélioration génétique du cacaoyer. En général, les généticiens étaient sceptiques sur l'application de la CIV comme méthode commerciale de multiplication, car des méthodes horticoles sont en concurrence avec la CIV. La possibilité d'utilisation de marqueurs moléculaires pour la sélection de caractéristiques mono ou oligogéniques a été évoquée.

Une autre hypothèse discutée est le concept de l'hétérosis chez le cacaoyer pour les croisements entre groupes d'origines géographiques différentes. Des croisements entre Haut-Amazoniens peuvent donner une très bonne vigueur et une bonne productivité, mais ce groupe est génétiquement très variable.

Les opinions étaient variées ; certains considèrent que l'hétérosis pourrait être basé plutôt sur le degré d'homozygotie des parent que sur la distance génétique ; mais ceci n'est pas en concordance avec les résultats obtenus avec les haploïdes doublés en Côte d'Ivoire. La possible relation entre la valeur propre des clones et la valeur des descendances a été discutée ; il manque des données pour tirer des conclusions, les clones ont un comportement agronomique différent (croissance plagiotrope) de celui des semençaux et des interactions entre génotype et densités ont été montrées.

2.5. Observations diverses

- Résistance aux écureuils :

. L'observation de la probable résistance complète de IMC 6 vis-à-vis des écureuils démontrée à Trinidad ; les cabosses de ce clones ont une paroi très dure qui pourrait contenir une substance chimique répulsive pour les rongeurs.

- Résistance au Phytophthora :

. L'utilisation d'inoculations sur feuilles pour mesurer la résistance au *Phytophthora Palmivora* (thèse de Master) a donné des résultats satisfaisants, au moins pour les clones les plus résistants ; une condition importante est de ne pas utiliser des feuilles trop jeunes, les résultats ont été obtenus avec les feuilles au dessous des flushes. Une corrélation positive a été trouvée entre la fréquence d'infection, la densité de stomates et l'épaisseur de la cuticule (r = 0,4 à 0,5).

. Des observations au champ dans les Caraïbes semblent montrer des différences importantes de niveaux d'attaques de différents clones en plantations commerciales : les clones notés comme résistants sont Pa 150 et ICS1. La résistance de Pa 150 est en concordance avec le comportement des descendances de ce clone observé en Côte d'Ivoire.

- Qualité organoleptique :

. Les travaux menés par Clapperton (Mars), semblent montrer un effet génétique important sur la qualité organoleptique (différences entre clones heritables) ; deux groupes sont identifiés.

1. Arôme développé faible astringence, couleur foncée, liqueur visqueuse : Amelonado, KA5, Na 31, Na 33, Pa 7, Pa 137, Sca 6, Sca 12, SPA 9 et SPA 10.

2. Arôme faible, forte amertume et astringence, couleur pâle et liqueur peu visqueuse ? : Amaz 2/1, Bal 209, CC 10, CC 11, EET 399 (Silecia), Na 32, Na 34, Pa 13, Pa 35, Pa 138, Pa 136, Sca 9, UF 168, UIT 1 et UIT 2 (deux Trinitarios, presque Criollos).

Clapperton est intéressé pour collaborer avec l'IRCC, pour comparer les résultats de l'effet génétique sur la qualité (résultats de Côte d'Ivoire, 1990).

- Physiologie :

Une relation positive significative entre l'interception de la lumière par la couronne et la productivité a été démontrée par M. Hadley au Bal Plantations, dans des essais de descendances. Par contre, dans des essais clonaux à haute densité, l'inverse a été constaté. Aucune relation entre l'activité photosynthétique et la production n'a été observée.

- Architecture et porte greffes de vigueur faible :

Prof Tukey du Penn State University, EUA, a exposé l'effet favorable de porte greffes "nanifiants" sur la productivité du pommier. Ceci pourrait être intéressant pour le cacaoyer, dans l'optique d'intensifier la culture. L'idée de base est de réduire la vigueur des greffons, afin qu'ils distribuent mieux les ressources entre les parties génératives et végétatives.

3. VENEZUELA

3.1. Introduction

Cette mission, effectuée par M. DESPREAUX, ESKES, LACHENAUD et SOUNIGO dans le cadre du projet visant à réhabiliter la culture du cacaoyer de type "Porcelana", nous a permis de prendre contact avec les chercheurs du FONAIAP, surtout M. H. REYES, qui nous a accompagnés pendant la visite, qui s'est déroulée en trois étapes:

- visite du laboratoire de culture in vitro de MARACAY ;
- visite de la station d'OCOUMARE, située à 50 km au nord de MARACAY ;
- visite de la station de CHAMAS, de plantations de Porcelana et d'un magasin d'achat de cacao, dans la région de Santa-Barbara et El Vigia.

3.2. Laboratoire de culture in vitro de Maracay.

Un chercheur et un assistant y travaillent sur le cacaoyer dans les domaines suivants:

- embryogenèse somatique à partir de fèves immatures ;
- culture d'anthères.

• L'embryogenèse somatique permet l'obtention de plantules dont l'enracinement est encore mal maîtrisé.

• La mise en culture de plusieurs milliers d'anthères n'a permis pour l'instant que l'obtention de cals et d'un seul embryon somatique de petite taille et de niveau de ploïdie inconnu. Il est à noter que ce laboratoire est bien équipé pour la culture in vitro (plusieurs hottes à flux laminaire, plusieurs chambres de culture, deux grandes serres...).

Il existe un équipement d'électrophorèse très sommaire, qui doit être prochainement complété.

3.3. Station d'Ocoumare.

situation: à 6 km de la mer, à environ 50 km au nord de Maracay.

Environnement: la région d'Ocoumare était une région de cacaoculture spécialisée dans le cacao fin, mais le prix élevé de la terre, conjugué à la faible rentabilité du cacao, ont provoqué l'abandon des cacaoyères.

Climat: très faible pluviométrie: 600 à 700 mm/an, avec deux saisons sèches importantes, couvrant les périodes d'octobre à novembre puis de janvier à avril. Ce climat impose l'irrigation des cacaoyères.

Principales maladies: Phythophtora et Ceratocystis fimbriata

Sols: d'après REYES, les sols sont favorables à la cacaoculture.

Description de la station:
superficie plantée: 4 ha
superficie plantable: 10 ha supplémentaires.
personnel: 2 ingénieurs et 3 techniciens.
mode de plantation: - ombrage provisoire de bananiers.
- ombrage définitif d'érhytrine.
- irrigation.

maladies et parasites observés:
- dégâts de chenille (Carmenita theobromae), qui ronge le cortex et favorise les infections secondaires par Phythophtora.
- dégâts d'oiseaux (pics), ayant les mêmes conséquences que les dégâts de chenilles.
- dégâts d'acariens, provoquant la prolifération de rameaux dépourvus de feuilles.

matériel végétal introduit: différentes origines génétiques sont représentées:

Criollo: 298 clones, provenant de 3 origines géographiques différentes, considérés comme autocompatibles:

- 231 Criollo collectés dans d'autres régions du pays.
- 27 Criollo sélectionnés à OCOUMARE, les premières sélections ayant été réalisées il y a cinquante.

Ces Criollo auraient été introduits du Mexique et semblent peu variables. Parmi ces clones figure le meilleur de la station, OC61, qui se caractérise par:

* une bonne productivité (1500 kg c.m / ha / an)
* une bonne valeur en combinaison avec les Forastero
* des fèves bombées, de grosse taille et de couleur rose plus ou moins claire
* un certain niveau de résistance à Ceratocystis fimbriata
* des cabosses rouges, avec des sillons peu marqués, de forme Cundeamor, avec un léger col de bouteille et une rugosité moyenne.

Les descendances de OC61 et d'autres clones OC sont distribuées aux planteurs.
- 40 clones collectés dans la région de CHAMA, deux semaines avant notre visite, et composés de 30 Porcelana et 10 Criollo andins.

Des croisements ont été réalisés entre différents Criollo de la station et les hybrides, testés à la station de CAUCAGUA, se sont tous montrés décevants.

Hybrides: de type IMC67 * Criollo (OC61 et OC77)
IMC11 * Criollo (OC61 et OC77)
La sélection de ces hybrides était basée sur la recherche de résistance au Ceratocystis fimbriata.

Divers: clones issus des sélections de Trinidad (ICS1, ICS6 et ICS8) et Forastero(clones IMC...).

Le matériel végétal est planté sous différentes formes, suivant son origine génétique:
- boutures (cinq par clone), pour la plupart des clones
- greffes pour les clones plus récents, les porte-greffe étant des D.L de IMC11 et IMC67, ces deux clones étant sélectionnés pour leur résistance au Ceratocystis fimbriata.

3.4. Visite de la region de Chamas

a) Généralités sur la région.

pluviométrie: 1200 mm/an, bien répartis sur l'année.

végétation: région très sévèrement déforestée: il ne reste que 15 hectares de forêt dans la région de Santa Barbara et El Vigia.

cacaoculture: La cacaoculture est d'importance secondaire; elle souffre de la concurrence avec l'élevage et d'autres types de culture, plus rentables, comme la banane (80.000 bolivars de bénéfices/ha contre 60.000 pour le cacao dans de bonnes conditions de productivité). La production de cacao de la région se répartit comme suit:

- 900 tonnes de cacao type "hybride forastero" (états de Merida, Zulia et Tachira)
- 50 tonnes de cacao type "Porcelana" (état de Zulia)
- 10 tonnes de cacao type "Merida" (Criollo andin), au pied des Andes, dans l'état de Merida

Les cacaoyers de type "Porcelana" sont plantés sur 100 hectares, répartis sur environ 1000 plantations, ce type de cacaoyer étant souvent planté en mélange avec d'autres types de cacaoyers.

La visite s'est déroulée en quatre étapes:

- visite d'une plantation de Porcelana, au bord du Rio Escalante.
- visite d'une plantation de Porcelana, entre Santa Barbara et El Vigia.
- visite d'un magasin du Fundo del cacao, compagnie régionale d'achat de cacao.
- visite de la station de recherche de CHAMAS.

b) Visite des plantations de Porcelana.

Plantation au bord du Rio Escalante.

origine du matériel végétal: semences obtenues au bord du Rio Escalante, en amont de la plantation de Luis Ribera
densité de plantation: 625 arbres/hare (4m * 4m)
ombrage: Erythrines
âge: au moins 25 ans
productivité: 600 à 800 kg, lorsque la parcelle était encore en bon état.
observations:
- abattage d'une partie des cacaoyers juste avant notre arrivée
- parcelle partiellement dégradée (dégâts dus à un champignon: Botryodiplodia ?) (Planche 2 et photo A)
- assez bonne vigueur du Porcelana
- couronnement d'une grande partie des arbres (contrairement à se qui est rapporté sur les Criollo)
- homogénéité de la forme des cabosses: ronde à peu allongée, lisse, absence de sillons, apex pointu, absence de goulot à la base (planche 1, Photo A et B).
- couleur rouge ou vert clair ou blanchâtre des cabosses, les arbres à cabosses rouges étant majoritaires (environ 85%).
- corrélation entre la couleur des cabosses et celle des sépales: les cabosses rouges vont de pair avec des sépales bordés d'un liseré rose plus ou moins foncé, alors que les cabosses vertes sont associées à des sépales avec un liseré rose très pâle ou sans liseré.
- ligules jaune vif
- couleur fondamentale des cabosses: vert plus ou moins foncé à blanc.
- cortex tendre
- présence de pilosités à la surface inférieure des feuilles et sur les jeunes rameaux.
- fèves blanches ou très peu rosées, rondes et grandes, à peu près 20 fèves par cabosse.

traitement post-récolte: 4 jours de fermentation par le planteur

Plantation de Porcelana, entre Santa-Barbara et El Vigia (finca de Julian Chourio).

superficie: 6 hectares
âge: environ 20 ans

productivité: 800 kg/ha auparavant, le planteur nous ayant fait part d'une baisse de productivité au cours de ces dernières années.

observations:
- état phytosanitaire assez satisfaisant, si bien qu'aucun traitement phytosanitaire n'est appliqué.
- existence d'arbres très vigoureux et productifs
- une variabilité assez importante pour la forme des cabosses, surtout dans le cas des cabosses vertes: variation de forme, de rugosité, présence de sillons plus ou moins marqués (Planche 2, photo B).
- majorité d'arbres portant des cabosses vertes.
- Les cabosses vertes semblent plus attaquées que les rouges.

traitement post-récolte: - 4 jours de fermentation
- séchage sur nattes de bambou

c) Visite d'un magasin d'achat de cacao

Le "Fundo Del Cacao" est un organisme d'achat du cacao existant depuis dix ans, qui va bientôt disparaître.

Le prix d'achat du kilo de cacao marchand de qualité "Forastero" ou "hybride" est de 60 bolivars, alors que celui pour le cacao de qualité "Criollo Merida" ou "Porcelana" est de 65 bolivars.

Il nous a été expliqué que SOCAVEN (association PALMAVEN-SOCA2) a besoin de 70 tonnes de cacao Porcelana, alors que la production actuelle ne dépasse pas 50 tonnes. Cette société achète directement le cacao aux planteurs, qu'elle leur paie 100 bolivars le kilo.

d) Visite de la station de CHAMAS

Cette station est une réserve de cacaoyers Porcelana, sous la responsabilité de Corposulia (organisme régional de développement de l'état de Zulia). Les cacaoyers sont plantés sous forme de seedlings (6000 au total), issus de cabosses prélevés dans une dizaine de fermes de la région, toutes les fèves de chaque cabosse ayant été semées.
superficie: environ 6 hectares
densité de plantation: 1111 pieds/hare (3m * 3m)
ombrage: sapotiers
observations: - assez bon état phytosanitaire des arbres (application régulière de traitements)
- présence de zones très dégradées, apparemment à cause de dégâts d'acariens).
- existence d'arbres très productifs et vigoureux
- majorité des arbres avec des cabosses vertes ou blanchâtres.

3.5. CONCLUSIONS.

- Les cacaoyers Porcelana sont vigoureux, mais généralement sensibles aux maladies. Si aucune résistance n'est trouvée au sein des Porcelana, il faudra envisager des croisements avec d'autres Criollos (par exemple OC61, qui est relativement résistant au Ceratocystis fimbriata) ou avec des Forastero, en limitant la perte de qualité (back-cross).
- La variabilité observée permet d'envisager l'amélioration possible des Porcelana par croisements entre eux.
- Malgré l'existence d'un marché caractérisé par une sous-production de 20 tonnes, permettant l'achat du cacao Porcelana à un prix assez élevé (100 bolivars, soit à peu près 7FF le kilo), les plantations de cacaoyers disparaissent progressivement, au profit de l'élevage et d'autres types de plantations (banane); les prospections dans les fermes doivent être intensifiées pour sauvegarder au maximum la variabilité du cacaoyer Porcelana.

A

B

Planche 1 : Porcelana avec cabosses rouges (A) et vert-pâle (B)

A

B

Planche 2 :

A. Attaque de Botryodiplodia (?) dans une plantation de Porcelana

B. Forme de cabosses dans une plantation de Porcelana ; toutes les fèves sont blanches ou légèrement rosées.

A N N E X E S

A à E : RESUMES D'ARTICLES
PRESENTES PAR L'IRCC
ET L'IDEFOR A TRINIDAD

F : MISSION STATEMENT CRU

ANNEXE a

RECENT COCOA GERMPLASM CONSERVATION INIATIVES OF IRCC IN FRENCH GUYANA

Lachenaud Ph.*

The activities of IRCC in French Guyana deal with:

- The collection and study of wild types;
- The maintenance of a small international germplasm bank;
- The selection of local clones.

Populations of wild cocoa are known to occur in the south of French Guyana since 1729 and were supposed to be at the origin of cultivated cocoa in this country. Assuming that, a collection of the material still growing in old plantations has been made by IRCC until 1985. However, recent work by LANAUD (1987) has shown that, in fact, old cultivated types and wild cocoa are very distinct. So, the collection and study of wild cocoa was undertaken from 1987 onward.

Two collecting expeditions were undertaken in the upper basin of the Oyapock River, where 176 mother-trees were collected, as pods or budsticks, belonging to fifteen phenotypic populations. About 1800 genotypes were planted in the station of Combi, which is the reference collection for this material. An important part of the material collected by the first expedition has been dispatched to other institutions, after quarantine at Montpellier. Budwood issued from pods of 92 mother-trees have been sent to Cameroon, Costa Rica, Cote D' Ivoire, Great Britain, Phillipines, Togo and Trinidad.

The wild material is being phenotypically characterized, following IBPGR descriptors, for pods and beans. Preliminary results show:

- Rather big pods of original shape (Angoleta-Amelonado);
- Basal constriction not always present, but often very marked;
- Apex form obtuse;
- Fruit surface rough and paired ridges;
- Ripe colour yellow;
- Small beans with purple cotyledons.

ELectrophoretic description has not been started yet, except by LANAUD (1987), on a small scale, who has shown that a great originality occurs in this material, which seems to be nearer of Upper Amazonian Forastero than to Amelonado.
The second aim of IRCC in French Guyana is the establishment and maintenance of an international germplasm bank. Recently new introductions have been made from the quarantine station of Miami, Reading, and Montpellier. The collection of about one hundred clones, is intended to be the working collection for the researchers based in Montpellier or in French Guyana.

The third aspect is the selection of Lower Amazon clones among semi-wild and old cultivated material, in order to enlarge West African germplasm. Until now, about twenty promising clones have been selected on the basis of vigour and productivity criteria.

References.

LANAUD,C.1987

Nouvelles données sur la biologie du cacaoyer (*Theobroma cacao I.,)* Thése de doctorat d'Etat, Université de Paris-sud (106 p. annexes).

* CIRAD-IRCC, BP.701, 97 387 Kourou Cedex, French Guyana

CURRENT COCOA QUARANTINE FACILITIES OF CIRAD-IRCC

D. Bieysse* and D. Despreaux**

Montpellier, where CIRAD-IRCC is established, is a privileged geographical site for a quarantine station. The risk of the introduction of the new diseases into France is very low firstly because of the cold winter period during which any tropical pathogen would have little chance to survive, and because this country is not producing cocoa.

A quarantine greenhouse has been set up for the reception of germplasm, for its multiplication and for its sanitary control before its transfer to the demanding countries, especially those with which CIRAD-IRCC maintains cooperative research projects.

1. RECEPTION-MULTIPLICATION

Germplasm can be received as pods, seeds, budwoods or as rooted cuttings.

Pods or Seeds

Use of pods is the most effective method for germplasm transfer, specially so for collections of wild cocoa, as those which have been carried out by IRCC in French Guyana. The material can be kept for 3 to 5 weeks and the germination percentage is excellent. Nevertheless, using pods does not ensure true-to-type reproduction of the mother plant.

Budwood

This type of material is also used during collection operations from plants with no pods or for the diffusion of cloned material kept in a collection. Budding of cocoa is performed using budsticks of appropriate girth collected at maximum 4 to 5 days before grafting. A success rate of about 60-75% is normally observed, although this may vary considerably according to the quality of the budwood and the time of the year. In general, Amelonado seedlings of about 12 months old are used as stock.

Rooted cuttings

Three to 12 month old rooted cuttings take satisfactorily, with success rate over 50%. Unrooted cuttings do not take at all under our conditions.

2. HEALTH SURVEILLANCE

The health of germplasm is controlled on arrival. Suspect material is destroyed. Young grafted material and plantlets grown from seed are monitored in the greenhouse for any appearance of insects or fungal diseases. Chemical control is applied in case of rare appearance of insects. Monitoring for fungal and viral diseases and insects, is maintained throughout the growth of plantlets or grafted plants. Regular insecticide spraying or fumigation is performed. Possible viral symptoms - especially cacao swollen shoot virus - are observed through inspection of the symptoms in the aerial parts of the plants. Health monitoring continues for at least one year (3-4 flushes of growth) before any distribution of the material takes place.

3. DISTRIBUTION-TRANSFER

One-year-old plantlets which are given three or four leaf flushes and which have a stem girth of one cm are dispatched as budsticks. Attempts to obtain rooted cuttings under our greenhouse conditions have not been successful.

The cocoa plants are sprayed with insecticide three or four days before cutting the budwood. The sticks are again individually treated with fungicide just after cutting and then wrapped in newspaper sheets and packed in a closed plastic bag.

Thirty shipments were made from 1986 to 1992, involving 806 plants. The countries which received the germplasm, in decreasing order of volume are : Cote D'Ivoire, Togo, Cameroon. Guyana, Trinidad, United Kingdom (Reading Quarantine Facility), Costa Rica, Philippines and Vanuatu.

4. HEALTH PROBLEMS OBSERVED

In a few cases, budwood received from tropical countries has shown slight presence with scale insect eggs. After discovery, these insects have been efficiently destroyed by chemical treatment.

On several occasions, growth abnormalities have been observed which could be normally related to known mineral deficiencies. However, in a few cases growth abnormalities which are not related to known symptoms have been observed. This was the case with some plants of the Guyana wild cocoa collection. Physiological disorders characterised by apical bud malfunction were observed on some genetically unrelated seedlings with the following symptoms:

- absence of internode elongation,

- formation of elongated leaflets, often reduced to the main rib, and which shed when they are about 2 cm long,

- death of the apical bud and the internodes just below, sometimes abnormal outgrowth of several lateral buds occurs,

- rarely, some hypertrophics of the short internodes below the apex occur.

Grafting trials were performed on Amelonado to attempt to transmit these symptoms. None of the grafted plants developed the anomaly within one year of observation. In addition, most of the abnormal plants, after having been cut back, displayed no symptoms in the following years. The plant material which had been sent overseas from the Guyana collection has so far been reported healthy under field conditions.

The most probable explanation might be a physiological imbalance (boron deficiency, change of photoperiod, temperature,etc.).

5. CONCLUSION

The quarantine greenhouse of CIRAD-IRCC has collaborated to the transfer of cocoa clones between different continents, mainly Africa and America, with all the precautions required to minimize risk of infection in the importing country. The facility should be considered as a transit center to enhance the diffusion of germplasm rather than as a collection.

---

* CIRAD-IRCC, B.P. 5035, 34032 MONTPELLIER CEDEX, FRANCE
** CIRAD-IRCC, 26 RUE PONCELET, 75017 PARIS, FRANCE

ANNEXE c

CIRAD - IRCC

INVOLVEMENT IN EVALUATION AND UTILIZATION OF COCOA GERMPLASM

Eskes A.B.*, Paulin D.*, Cilas C.*, Clement D., Sounigo O.**, Lachenaud P.***, AND N' Goran J.A.K.****

This paper describes shortly the past and present efforts carried out by CIRAD - IRCC in cooperation with national institutes in some West African countries. Some results are described as well as the evaluation methods applied for important characteristics, and a database created to handle available information. Furthermore, the future needs for germplasm usage and breeding strategies, as envisaged actually by our institute, are described.

It is concluded that one of the main priorities in cocoa improvement should be the obtaining of efficient disease and pest resistant varieties, although the complexity of this task is realized. Therefore, increased regional and international cooperation is required in the areas of germplasm collection, maintenance, transfer, evaluation, and utilization. Most adequate breeding strategies appear to be recurrent selection methods applied to different populations, which should permit cumulative progress for several characteristics simultaneously while maintaining possibilities for hybrid performance of inter-group crosses.

***CIRAD-IRCC, BP.5035, 34 032 MONTPELLIER CEDEX, FRANCE**
****CIRAD-IRCC,BP.1827, Abidjan 01, COTE D'IVOIRE**
*****CIRAD-IRCC,BP.701,97 387 KOUROU, FRENCH GUYANA**
******CIRAD-IRCC,BP. 1827, ABIDJAN 01, COTE D'IVOIRE**

ANNEXE d

ASSESSMENT OF THE GENETIC DIVERSITY AND MAPPING OF COCOA GENOME USING BIOCHEMICAL AND MOLECULAR MARKERS AT CIRAD

C. Lanaud*, V.Laurent*, J.A.K. N'Goran*, A.M. Risterucci*, O. Sounigo**

An important aspect of the breeding program of IRCC/CIRAD is to build up a large germplasm collection by introductions or prospections of wild cocoa genotypes.

Since 1984, genetic markers have been developed to study the structure of the genetic diversity of cocoa species and to rapidly evaluate the extent of the variability of newly collected genotypes. In a first step, isozyme markers were used: six polymorphic enzymatic systems were applied and the genetic determinism of each one was studied; 9 loci representing 31 different alleles were determined. These isozyme markers were used for:

- Identification of genotypes in the germplasm,
- Study of the origin of spontaneous haploids,
- Control of hybrid seed production from biclonal seed gardens,
- Genetic diversity of a collection of 330 genotypes belonging to the different geographic groups of cocoa.

In the last three years, molecular markers have been developed at CIRAD to make available more powerful tools for genetic studies. Two major aspects of cocoa genetics are now being developed with these markers: the mapping of the genome and the assessment of the genetic diversity.

- The perspectives of the mapping project are to localize major genes involved in the characters of interest. Genomic and c-DNA libraries have been constructed and polymorphic c-DNA probes have been screened.

- Polymorphic RAPD markers have also been screened and a first map comprising RFLP, RAPD and isozyme markers is being constructed.

- The genetic diversity of two hundred clones representing geographic groups of the species is being evaluated using different types of molecular markers: nuclear rDNA, cytoplasmic probes and c-DNA probes; RAPD markers will also be used in a further study. It will therefore be possible to compare the interest of each kind of marker for the assessment of genetic diversity.

'Laboratoire AGETROP/BIOTROP, CIRAD, BP5035, 34032 Montpellier France
'IRCC, 01 BP 1827, Abidjan 01, Cote d'Ivoire

ANNEXE e

COCOA GERMPLASM CONSERVATION INITIATIVES IN COTE D'IVOIRE (IDEFOR - DCC/IRCC)

J.A.K. N'Goran*, (IDEFOR -DCC)

A cocoa germplasm collection of about 700 clones is held in Cote d'Ivoire at two locations. It contains clones of different origins, some being better represented than others.

Older Amelonado introductions constitute the major material found in old plantations. Some trees were selected from those farms in the collecting expeditions of 1947 and 1953. In trials, some Amelonados are good performers both as clones and also parents (IFC5). Some others are apparently less attacked by mirids (IFC2). However, Amelonados are homogeneous as has been shown by isozyme studies. So, introductions of other Lower Amazon clones have been made.

Trinitarios are made up of local selections of clones from other African countries, and also of American origins. African Trinitarios have characteristics close to those of Amelonados but with larger seeds. They were often used in the breeding program as male parents.

The first Upper Amazon Clones were introduced into Cote d'Ivoire from Ghana in 1954. Very variable genetically (isozymes) and vigorous, they have been used intensively in the first breeding program as female parents. Many genotypes have been introduced later on from Kew Garden and Miami.

New materials from Miami, Venezuela and Guyana have been recently introduced. They have been put in collection and in observation trials.

...../2

Morphological studies of the germplasm collection are underway and deal with fruit and seed characteristics, along with disease and pest tolerance evaluation. Nevertheless, most clones are yet to be tested. New perspectives in conservation strategies have now been opened with the advent of more powerful genetic evaluation tools such as RFLP's and RAPD's.

---

*Present address: LABORATOIRE AGETROP/BIOTROP, CIRAD,BP5035,34032 MONTPELLIER, FRANCE

ANNEXE f

COCOA RESEARCH UNIT

MISSION STATEMENT

1. To conserve on one site as a field genebank (to be known as ICG,T) all primary germplasm existing in Trinidad.

2. To enlarge existing collections of primary germplasm by:

   - The acquisition (through exchange if appropriate) of material previously collected in the Caribbean and in Latin America;

   - The conduct of expeditions to collect new material from the wild;

   - Maintenance of a cocoa quarantine facility in Barbados.

3. To characterize fully all the primary germplasm of ICG,T. This will include measurement of:

   - Heritable morphological characters (including leaf, flower, pod and bean characteristics);

   - Reproductive isozyme markers (using an appropriate number of enzyme systems);

   - Relevant economic information (shell percentage, fat content, fat quality and flavour characteristics) of dry beans;

   - Repeatable RAPD/PCR characteristics;

   - Levels of tolerance to *Phytophthora* and *Crinipellis* pathogens.

4. To catalogue all the data collected on the primary germplasm in ICG,T and incorporate it into the International Cocoa Germplasm Database (ICGD).

5. To encourage and arrange unrestricted international distribution through quarantine of primary germplasm from ICG,T on request. The material should be dispatched with as much information as possible on the above-mentioned characters. Further to develop and use tissue culture and/or micropropagation techniques for international distribution of germplasm under aseptic conditions.

...../2

6. To produce populations with enhanced levels of those genes which are of importance to plant breeders.

7. To develop and adapt appropriate scientific methodology to achieve the above mentioned objectives.

8. To train scientists from cocoa producing countries by offering a variety of research projects on cocoa to higher degree standard and to encourage the publication of the results of such work in the refereed scientific literature.

9. To offer facilities for visiting scientists to work on cocoa subjects of relevance to the world cocoa economy. Research may be on topics not covered by the `Mission Statement' but should ideally utilize the wide range of primary germplasm at CRU and thus increase the knowledge of this material.

10. To support and enhance the cocoa research effort of Government of the Republic of Trinidad and Tobago (GORTT), in particular to identify the form of a `model cocoa plant' capable of significantly higher yields in an appropriate `orchard' system and furthermore to develop a strategy for enhancing pollination to ensure the realisation of the full yield potential of the model plant.

11. To collaborate with institutions and universities world wide which have an interest in cocoa research.