

## 17th International Cocoa Research Conference (ICRC-COPAL)

"Improving the profitability of small and medium-sized farms : the principal key to a global sustainable cocoa economy, 2012/10/15-20, Yaoundé, Cameroun.

<http://www.copal-cpa.org/icrc.php>

### SELECTION D'HYBRIDES DE CACAOYERS TOLERANTS AU SWOLLEN SHOOT POUR LA REPLANTATION DES ZONES MALADES AU TOGO

Wegbe K.<sup>1</sup>, Koudjega T.<sup>1</sup>, Ametefe, K E<sup>1</sup>., Cilas C.<sup>2</sup> et Dufour B.<sup>2</sup>

- 1- ITRA/CRAF, BP 90 Kpalimé – TOGO, E-mail : [itracraf@yahoo.fr](mailto:itracraf@yahoo.fr) ; [wegbepascal@yahoo.fr](mailto:wegbepascal@yahoo.fr)
- 2- CIRAD, UPR Bioagresseurs de pérennes, Avenue Agropolis, TA A31/02, 34398 Montpellier Cedex 5, France ; [christiancilas@cirad.fr](mailto:christiancilas@cirad.fr)

#### RESUME

Au Togo, la baisse de la production de cacao consécutive à la dégradation de l'environnement et aux fortes pressions parasitaires a orienté les travaux d'amélioration du cacaoyer vers la sélection d'hybrides plus productifs et résistants aux maladies dont la principale est le swollen shoot. Afin de pouvoir lutter durablement contre cette redoutable maladie virale, un programme de sélection d'hybrides tolérants au Cocoa Swollen Shoot Virus (CSSV) a été initié. Pour ce faire plusieurs combinaisons ont été testées en réalisant des croisements des différents clones de la collection vivante. Les fèves des hybrides obtenus par pollinisation manuelle ont été infestées par la méthode dite de cochenille au laboratoire. Les lots des plants des hybrides infestés par des cochenilles vectrices de la maladie ont été observés en serre chaque mois et pendant six mois. Les hybrides présentant des taux d'infection inférieur ou égal à 12% ont été considérés comme tolérants à la virose. Ces hybrides ont été ensuite soumis au test ELISA pour s'assurer de leur innocuité. Les hybrides présentant une innocuité parfaite ont été plantés sous fort inoculum en milieu réel infecté et suivis pendant au moins 5 ans. A partir de ces différents tests, six hybrides se sont dégagés bon producteurs et tolérants au swollen shoot. Ce sont les hybrides suivants : **P7 x IMC67, IMC67 x P7, PA7x P7, PA7 x P30, P7 x T60/887, T60/887 x P7**. Les parents de ces hybrides sont utilisés pour créer 4 ha de champs semenciers et les semences de ces hybrides sont distribuées depuis 2005 pour la replantation et la densification des vieilles plantations des zones dévastées par le swollen shoot. Les travaux de sélection se poursuivent avec les mêmes méthodes en vue de disposer d'autres hybrides candidats tolérants à la maladie.

**Mots clés** : cacaoyer, swollen shoot, CSSV, Test ELISA, hybrides tolérants, Togo.

#### INTRODUCTION

Le cacao est le 3<sup>ème</sup> produit agricole exporté au Togo après le coton et le café. Introduit depuis la période coloniale, le cacaoyer est cultivé dans la partie Sud-Ouest du pays où les conditions pédoclimatiques lui sont propices. Plus de 12000 planteurs s'adonnent à cette culture, qui avec le caféier procurent des revenus substantiels aux producteurs.

Mais comme toute plante cultivée, le cacaoyer aussi est confronté à des problèmes phytosanitaires créés par des insectes nuisibles et des maladies. De toutes les maladies, le swollen shoot causé par le Cocoa Swollen Shoot Virus (CSSV) est de loin la plus dommageable. Le virus est transmis par des cochenilles de la famille des *pseudococcidae*.

Cette maladie virale signalée pour la première fois au Ghana par Posnette en 1922 et au Togo en 1949 par Meiffren constitue aujourd'hui une menace sérieuse à la production cacaoyère en Afrique de l'Ouest et du Centre où plus de 70% du tonnage mondial sont produits.

Longtemps localisée autour du mont Agou et dans la préfecture de Kloto (Partiot, 1978), cette maladie est à la base de l'arrachage de plus de 3 000 000 de cacaoyers dans la préfecture d'Agou entre 1967 et 1973. Elle n'a atteint véritablement le Litimé, la grande zone de production que dans les années 1990 où plus de 45 % des plantations sont actuellement attaquées.

La maladie se manifeste par des symptômes caractéristiques dont les principaux symptômes sont les gonflements sur tiges, les mosaïques sur feuilles âgées et des rougissements de nervures de jeunes feuilles (Dufour, 1988). Différentes formes de cette virose et leurs conséquences ont été décrites par Castel *et al.* (1980). Les travaux de Muller *et al.* (2003) ont permis de cloner et d'analyser quatre nouvelles séquences entières du virus. De très récentes études menées par Oro *et al.* (2012) et Oro (2012) ont montré que différents types de cette virose coexistent dans le Litimé et qu'un seul type est présent dans Kloto et Agou.

La lutte contre cette maladie débutée très tôt dans les années 1970 est une lutte intégrée dont la sélection de matériel végétal tolérant constitue la base (Tsatsu *et al.* 1997, Tsatsu et Békou 2003). Pour ce faire, plusieurs combinaisons ont été testées en réalisant des croisements entre différents clones de la collection vivante. Les fèves des hybrides obtenus par pollinisation manuelle des croisements ont été infestées au laboratoire par la méthode dite de cochenille (Legg, 1977 ; Dufour, 1988). Les hybrides présentant des taux de résistance acceptables ont été éprouvés sous fort inoculum en champ et suivis pendant au moins 5 ans. A partir de ces différents tests, six hybrides se sont dégagés bon producteurs et tolérants au swollen shoot.

La communication qui suit présente le processus de sélection des hybrides tolérants à la maladie du swollen shoot, donne les performances de ces hybrides en laboratoire et en champ.

## MATERIELS ET METHODES

### *Matériel végétal utilisé*

Les études ont été conduites en laboratoire et en champ et ont porté sur 5 clones de la collection vivante du CRA-F à Tové et six hybrides créés par croisements de ces 5 sélectionnés pour leur productivité et leur tolérance/résistance à la souche virale la plus virulente (Agou1) semblable à celle de New Juaben au Ghana. Les hybrides issus de ces croisements ont été comparés à trois témoins représentés par la variété locale **Amelonado**, introduite du Ghana (témoin sensible) un **mélange d'hybrides** distribué aux planteurs par l'ex Société nationale de Rénovation de la Cafèière et de la Cacaoyère (SRCC) et un hybride **T60/887xIMC67** considéré comme témoin résistant.

Tableau 1 : Parents et hybrides produits

	<b>P7</b>	<b>IMC67</b>	<b>Pa7</b>	<b>P30</b>	<b>T60/887</b>
P7		IMC67xP7	Pa7x P7		T60/887x Pa7
IMC67	P7x IMC67				
Pa7					
P30			Pa7x P30		
T60/887	P7x T60/887				

Les hybrides obtenus des croisements sont les suivants :

**P7xIMC67,**  
**IMC67xP7,**  
**P7xT60/887,**  
**T60/887xP7,**  
**Pa7xP7** et  
**Pa7xP30.**

Les cabosses des six hybrides ont été produites par pollinisation manuelle dans les collections de Tové à partir de cinq parents présentés dans le tableau 1. Les pollinisations ont eu lieu en mars et avril et les cabosses ont été récoltées entre octobre et novembre.

### *Elevage de vecteur de la maladie (cochenilles) au laboratoire*

Des espèces de cochenilles *Planococcus citri* et *Planococcoides njalensis* ont été utilisées dans cette étude. Ces deux espèces vectrices sont les plus représentées dans nos cacaoyères et sont plus efficaces

dans la transmission du virus (B. Dufour, 1988). Elles ont été élevées au laboratoire sur des plants de taro. L'élevage a été réalisé dans une salle dont la température est de 28°C et l'humidité relative comprise entre 50 et 70 %. Un entretien régulier a été réalisé tous les deux jours et consistait à arroser les plants, à changer ceux qui sont morts et à enlever les feuilles mortes.

### **Sélection d'hybrides tolérants en serre :**

#### ➤ *Acquisition du virus par les cochenilles*

Les individus de premier stade larvaire âgés d'un (1) à trois (3) jours des deux espèces de cochenilles mises en élevage ont été utilisés. Ces larves préalablement mises à jeun (au moins 24h) pour augmenter leur appétence au moment de la prise de nourriture, ont été placées dans des valves de fabrication artisanale. Ces valves contenant les larves ont été pincées à la face inférieure des feuilles virosées pendant trois (3) jours en champs. Durant cette période, les larves en suçant la sève contenant le virus, acquièrent le virus.

#### ➤ *Technique d'inoculation des fèves*

Des cabosses des différents hybrides issus de pollinisation manuelle ont été récoltées et ramenées au laboratoire. Elles ont été cassées, et les fèves recueillies ont été démucilaginées avec de la sciure de bois puis lavées à l'eau. Cent vingt (120) fèves ont été triées par hybride puis trempées dans l'eau pendant 24 heures pour enlever le tégument recouvrant l'albumen. Ces dernières ont été ensuite pré-germées pendant 24 heures.

Des lots de 120 fèves par hybride ont été constitués. L'inoculation de chaque lot a été réalisée par les larves de cochenille qui ont acquis le virus à raison de 6 à 7 par fève (Dufour, 1988). Les fèves pré germées inoculées ont été disposées dans des boîtes en plastic recouvertes de papier buvard pendant 24 heures en vue de diminuer l'humidité.

#### ➤ *Observation des symptômes en serre et identification des hybrides tolérants/résistants*

Après inoculation, les fèves ont été semées chacune dans un pot rempli de terreau traité préalablement au fongicide pour éviter la fonte de semis sous serre.

Si l'hybride testé est sensible, les premiers symptômes apparaissent sur feuilles après trois (3) à quatre (4) semaines. Il faudra attendre deux mois pour que les gonflements apparaissent sur tige. Les observations ont été réalisées sur une période de 6 mois. Au bout de ces 6 mois, les plantules ne présentant pas de symptômes sur feuilles ou des gonflements ont été déterrées en vue de déceler des gonflements sur racines. Après toutes ces observations, les taux d'infection ont été déterminés pour chaque hybride.

L'identification des hybrides « tolérants/résistants » a été faite en comptant pour chaque lot (hybride) le nombre de plants présentant les symptômes de la maladie (**X**). Le rapport (en %) entre ce nombre (**X**) et le nombre total de plantules mises en essai pour un hybride (**NT**) indique le degré de tolérance / résistance de l'hybride. Plus ce rapport est faible, plus le matériel est tolérant / résistant à la maladie. En général, on admet qu'un hybride est tolérant si  $X / NT$  est inférieur ou égal à 12%.

### **Evaluation des performances des hybrides en milieu réel :**

Pour éprouver la «**résistance**» des six (6) nouveaux hybrides sélectionnés et les mesures agronomiques et sanitaires mises au point dans les conditions réelles de plantation dans les zones d'Agou, de Kloto et de Litimé, un réseau de vingt (20) parcelles de 0,25 ha chacune a été installé.

Dans chaque parcelle chaque hybride a été planté en 6 lignes pures de 18 plants chacune suivant l'écartement 3m x 2,5m et les lignes des hybrides sont alternées. Ainsi chaque parcelle d'essais porte 108 répétitions par hybride (1 plant constituant 1 répétition)

L'évaluation a été réalisée sur les 20 parcelles. Tous les 6 mois, différents paramètres (symptôme de CSSV, attaques de Phytophthora, mirides, foreur de tronc...) ont été relevés. Au total 50 cabosses de chaque hybride ont été prélevées et des mesures (poids de la fève et de la cabosse, nombre de fèves par cabosse) sont réalisées sur chaque cabosse de l'hybride considéré.

Les résultats présentés dans ce document portent sur la dernière observation, 5 ans après l'installation des parcelles d'essais.

Ils portent sur :

- pourcentage d'infection en champ
- nombre moyen de cabosses par arbre
- nombre moyen de fève/cabosse
- poids de fève fraîche
- rendement en champ (kg/ha).

## RESULTATS

### *En serre :*

Tableau 2 : Taux d'infection en serre

Hybride	Groupe botanique	Pourcentage d'infection au Laboratoire
Pa7xP7	FHA × FHA	1,00 a
Pa7xP30	FHA × FHA	1,20 a
P7×IMC67	FHA × FHA	3,30 b
IMC67×P7	FHA × FHA	3,30 b
P7×T60/887	FHA × FHA	2,70 b
T60/887×P7	FHA × FHA	3,80 b
T60/887xIMC67 (témoin résistant)	HAXHA	10,36 c
IFC5xIFC5 (sensible)	Amelonado FBA	74 d

Les résultats ont montré que les nouveaux hybrides présentent moins d'infection que les témoins (F calc. = 12,836 ; avec  $p = 0,00$ ) et sont donc plus tolérants au CSSV que le témoin résistant. Ils sont répartis en deux groupes homogènes. Le premier groupe, ayant un taux d'infection inférieur à 2%, comprend les hybrides **Pa7xP7 (1,00%)** et **Pa7xP30 (1,20%)** et le deuxième groupe rassemble les hybrides dont les taux d'infection sont compris entre 2% et 4%. Il s'agit de **P7×T60/887 (2,70%)**, **P7×IMC67 (3,30%)**, **IMC67×P7 (3,30%)** et **T60/887×P7 (3,80%)** (tableau 2).

On remarque d'une façon générale que les nouveaux hybrides sélectionnés sont plus tolérants au CSSV que les anciens matériels végétaux utilisés par les producteurs dans les zones de production cacaoyère.

### *En milieu réel (zones attaquées par le swollen shoot)*

Les résultats présentés dans le tableau 3 montrent que les taux d'infection en champ des nouveaux hybrides sont compris entre 0 et 1% tandis que ceux du mélange des hybrides vulgarisés par la SRCC et d'Amelonado sont respectivement de 46 et de 50%. Il faut signaler que les taux d'attaque en champ n'est pas forcément liés à ceux obtenus sous serre (tableaux 2 et 3).

Les rendements en champ déclarés par les planteurs expérimentateurs ne sont pas exceptionnellement élevés pour les nouveaux hybrides mais sont de loin supérieurs si on les compare à ceux du mélange d'hybrides vulgarisés de 1972 à 2003 par la SRCC et de l'Amelonado.

Tableau 3 : Quelques performances agronomiques en champ des hybrides sélectionnés

Hybride	Groupe botanique	% d'infection en champ	Nb. moyen cabosse/arbre	Nb. moyen fève/cabosse	Poids fève fraîche	Rendement en champ (kg/ha)
---------	------------------	------------------------	-------------------------	------------------------	--------------------	----------------------------

Pa7xP7	FHA × FHA	0,00	69	49	2,13	1439
Pa7xP30	FHA × FHA	1,00	44	48	2,10	1206
P7×IMC67	FHA × FHA	0,00	70	38	2,70	1440
IMC67×P7	FHA × FHA	0,25	72	45	2,46	1207
P7×T60/887	FHA × FHA	0,00	54	40	2,43	1107
T60/887×P7	FHA × FHA	0,00	50	43	2,41	1370
Hybride SRCC	-	46	21	35	1,53	650
Amelonado*	FBA	50	20	30	1,15	150

## CONCLUSION

La sélection du cacaoyer en vue de lutter contre la maladie du Swollen Shoot est possible. Les parents des hybrides sélectionnés ont été mis en champs semenciers. Trois (3) hectares de champs semenciers ont été créés à Zozokondji et permettent aujourd'hui de produire 35 000 à 40 000 cabosses sélectionnées distribuées par an aux planteurs depuis 2006.

Les plants issus de ces hybrides sont mis en terre en mélange pour densifier ou pour créer de nouvelles plantations dans les zones attaquées par le swollen shoot. L'utilisation de ces hybrides est accompagnée d'une technologie qui rend plus efficace la lutte. En effet, la plantation des hybrides tolérants au swollen shoot doit être associée à des mesures agronomiques telles que l'arrachage des anciens cacaoyers malades, l'installation d'une barrière physique constituée d'arbres à usage multiple ou qui peuvent procurer au planteur un revenu additionnel et la lutte contre les cochenilles vectrices du CSSV. Une surveillance à une fréquence de 6 mois doit être réalisée pendant la phase d'installation et de croissance des cacaoyers afin de déceler très tôt des arbres malades et procéder à leur arrachage.

La sélection continue en champ sur les hybrides qui ont une tolérance acceptable en serre. C'est ainsi qu'au cours des travaux plus récents dans le Littoral, un réseau de sélection participative a été installé en vue d'éprouver en milieu réel des hybrides ressortis de l'exploitation des diallèles de Tové et de Badou Tomégbé. Le dernier choix des planteurs a porté sur deux autres hybrides pour leur productivité, leur tolérance aux Phytophthora et au Swollen Shoot. Il s'agit des hybrides : C75 x C75 et T12/5 x C25. Ces deux hybrides viennent élargir la gamme de matériel végétal tolérant/ résistant au swollen shoot.

De nouvelles études sont en cours en vue de disposer davantage de matériel végétal regroupant plusieurs caractéristiques (productivité, vigueur, résistance à la sécheresse et tolérance/résistance au swollen shoot et à la pourriture des cabosses due aux Phytophthora).

Certes, la méthode utilisée pour screener les hybrides permet à la fin de retenir des hybrides tolérants à la maladie mais elle est très longue. Le swollen shoot étant devenu un mal de toute la sous-région Ouest africaine où plus de 70% du tonnage mondial est produit, les travaux doivent se pencher sur une méthode nouvelle permettant de sélectionner dans un temps record du matériel végétal tolérant/résistant.

Pour la durabilité de la cacaoculture de la sous-région, les travaux de sélection, dans un contexte général de changement climatique et de recrudescence des maladies et insectes nuisibles, doivent en plus de la tolérance à la maladie du swollen shoot, prendre en compte la résistance du matériel végétal à la sécheresse et la tolérance aux attaques de mirides et à la pourriture des cabosses due aux Phytophthora.

## REFERENCES

**CASTEL C., AMEFIA Y. K., DJIEKPOR E.K., SEGBOR A. et PARTIOT M. 1980.** Le swollen shoot du cacaoyer au Togo : les formes de viroses et leurs conséquences économiques. Café-Cacao-Thé (Paris), vol. 26, n°2, avril-juin 1980, p. 131-46.

**CILAS C., DUFOUR B et DJIEKPOR E.K. 1988.** Etude de la résistance au swollen shoot du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) dans un diallèle quasi-complet 8 x 8. Café-Cacao-thé (Paris), vol.32,n°2, avril-juin, 1988, p. 105-110.

**DUFOUR B. 1988.** Utilisation d'une méthode de transmission pour la caractérisation des formes togolaises de virus du swollen shoot du cacaoyer : Premiers résultats. Café-Cacao-Thé (Paris), vol. 32, n° 3, juil.-sept., 1988, p. 219-228.

**LEGG J. T. and LOOCKWOOD G. 1977.** Evaluation and use of a screening method to aid selection of cocoa (*Theobroma cacao*) with field resistance to cocoa swollen shoot virus in Ghana. *Annals of Applied Biology* (Londres), vol. 86, p. 241-248.

**MULLER E., SACKKEY S. et MISSISSO A. 2003.** Variabilité du virus du swollen shoot (CSSV) : clonage et analyse de quatre nouvelles séquences entières. 14<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Accra (Ghana), 13-18 oct. 2003.

**ORO F., BONNOT F., NGO-BIENG M-A., DELAITRE E., DUFOUR B., AMETEFÉ K., MISSISSO E, WEGBE K. and CILAS C. 2012.** Spatial pattern analysis of Cacao Swollen Shoot Virus in experimental plots in Togo *Plant Pathology* (*in press*).

**ORO F. 2012.** Analyse des dynamiques spatiales et épidémiologie moléculaire de la maladie du swollen shoot du cacaoyer au Togo. Thèse de Doctorat en Sciences de l'Université de Montpellier Sup Agro. 255p.

**PARTIOT M. 1983.** La maladie du swollen shoot du cacaoyer (*Theobroma cacao*, sterculiacées) : Etude de la nature et de l'évolution d'un couple hôte-parasite dans un écosystème tropical. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Paris-Sud (Orsay), 181 p.

**PARTIOT M., AMEFIA Y. K., DJIEKPOR E. K. et BAKAR K. A. 1978.** Le swollen shoot du cacaoyer au Togo : Inventaire préliminaire et première estimation des pertes causées par la maladie. *Café-Cacao-Thé* (Paris), vol. 24, n° 2, avril-juin, 1980, p. 131-146.

**PARTIOT M., DJIEKPOR E. K., AMEFIA Y. K. et SEGBOR A. 1980.** The swollen shoot disease of Cacao in Togo. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, vol .15 (1-4), p. 280-290.

**TSATSU D. K. et BEKOU K. 2003.** La maladie du swollen shoot du cacaoyer au Togo : évolution et stratégies de lutte. 14<sup>ème</sup> Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère, Accra (Ghana), 13 - 18 Octobre.

**TSATSU K. D., DJIEKPOR E.K. et BEKOU K. 1997.** Lutte contre le swollen shoot du cacaoyer au Togo : sélection de matériel résistant et replantation des zones virosées. Actes du premier séminaire international sur les insectes et les maladies du cacaoyer, Accra (Ghana), 6 - 10 Novembre.