THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Biologie Des Interactions (BDI)

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau
Portée par l'Université de Montpellier

Unité Mixte de recherche Biologie et Génétique des Interactions Plantes-Parasites (BGPI)

Origine et modes de dispersion des épidémies dues à *Phytophthora megakarya* dans les systèmes de cacaoculture innovants au Cameroun

Présentée par Mireille Minette DJEUMEKOP NDOUNGUE
Le 13 Janvier 2020

Sous la direction de Claire NEEMA

Devant le jury composé de

Mme Monica HÖFTE, Professeur, Université de Gand	Rapportrice
M. Pascal FREY, Directeur de Recherche INRA, Nancy	Rapporteur
M. Ivan SACHE, Professeur, AgroParisTech	Examinateur
Mme Catherine ABADIE, Chercheur CIRAD	Examinatrice
M. Martijn ten HOOPEN, Chercheur CIRAD	Examinateur
Mme Claire NEEMA, Professeur, Montpellier SupAgro	Directrice de thèse

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER cirad IRAD Montpellier SupAgro

THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO

En Biologie des interactions

École doctorale GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau
Portée par l'Université de Montpellier

Unité de recherche Biologie et Génétique des Interactions Plantes-Parasites (BGPI)

Origine et modes de dispersion des épidémies dues à *Phytophthora megakarya* dans les systèmes de cacaoculture innovants au Cameroun

Présentée par Mireille Minette DJEUMEKOP NDOUNGUE
Le 13 Janvier 2020

Sous la direction de Claire NEEMA

Devant le jury composé de

Mme Monica HÖFTE, Professeur, Université de Gand	Rapportrice
M. Pascal FREY, Directeur de recherche, INRA Nancy	Rapporteur
M. Ivan SACHE, Professeur, AgroParisTech	Examinateur
Mme Catherine ABADIE, Chercheur, CIRAD	Examinatrice
M. Martijn ten HOOPEN, Chercheur, CIRAD	Examinateur
Mme Claire NEEMA, Professeur, Montpellier SupAgro	Directrice de thèse

A

BABODO Michel Guy Patrick, NKE MESSI Agrippine, Richnelle, Angel, Yohan et Mael

Remerciements

Ce travail est le fruit d'importantes mobilisations humaines, matérielles et financières. Voici le moment de témoigner ma reconnaissance à tous ceux qui m'ont accompagnée pendant cette aventure.

Je tiens à remercier d'abord Claire NEEMA et Martijn ten HOOPEN pour avoir cru en moi dans la réalisation de ce projet et d'avoir accepté d'encadrer cette thèse. J'ai eu l'opportunité d'apprendre à vos côtés, vos critiques, votre franchise et votre rigueur scientifique m'ont permis de porter ce projet à son terme. Merci pour votre assistance inconditionnelle et surtout vos encouragements qui ont été d'une aide précieuse dans l'aboutissement de ce travail

À Monica HÖFTE et Pascal FREY pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse, également aux membres du jury de cette thèse pour leur disponibilité.

Je remercie également les membres de mon comité de suivi de thèse : Pascale PERRIN, Lilian GOUT et Ivan SACHE, Didier THARREAU pour m'avoir accompagné dans cette thèse

Ce travail a été réalisé avec l'appui du Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) à travers le programme Doctorant Du Sud (DDS) impliquant l'Institut de Recherche Agricole pour le Développement (IRAD) et l'Institut de Recherche et de Développement (IRD). Je profite de l'occasion pour remercier tous ceux qui m'ont aidé dans les procédures administratives notamment Élise MONTET, Beatrice ROGIER, Geneviève BOURRELY, Colette ESSONO, MOUEN BEDIMO Joseph, les différents Représentant du CIRAD en Afrique Centrale, Michel ONGOLO. Je ne saurais oublier le Dispositif en partenariat DP Agroforesterie Cameroun et le CORAF à travers le projet « Trade-off cacao» qui ont également accompagné ce projet à travers des appuis financiers.

Je remercie de tout cœur Laurence BLONDIN pour toute son attention et ses petits secrets de manips, et les sorties de découverte. Claude HERAIL et Michel DUCAMP pour leurs contributions précieuses au laboratoire dans l'accomplissement de ce travail. Merci également à Christian CILAS, Marie-Ange NGO BIENG et François BONNOT pour votre disponibilité et votre assistance dans les analyses statistiques. Merci à Christian VERNIERE pour la prise en main des logiciels GenAlEx et Phyloviz et son aide dans l'interprétation des résultats. Dans la même foulée, j'aimerais remercier, Fabienne RIBEYRE et Christian NEMBOT pour l'initiation à l'utilisation de R, un outil incontournable dans la réalisation de ce travail.

Je remercie Cica URBINO, Audrey et Emmanuelle MÜLLER pour tous les moments que nous avons passés ensemble, vous avez fait de mes séjours à Montpellier une partie de plaisir sans oublier vos conseils.

À tous le personnel de BGPI qui m'a toujours offert une ambiance chaleureuse et sympathique. Je remercie notamment : Joelle, Véronique, Sandrine, Florence, Henry, Cathia, Dominique, Romain…Sans oublier les thésards pour la convivialité et le partage d'expérience. Je fais un clin d'œil à Edwige, Diariatou, Maelle, Faustine, Pascal, Thomas et Mathias.

Je souhaite remercier les producteurs et observateurs : Émile OHONO, feu Robert KANIGOULE, André BELEBELE et Germain BILONGO qui ont accepté de nous accompagner et ont joué leur partition dans la réalisation de ce projet. Toute l'équipe de collecte de données : père Zacks, Essomo (chef terre), Pascaline, Justin pour l'ambiance que vous aviez

apportée pour que le travail de terrain soit agréable. À tous les collègues du laboratoire de phytopathologie du Centre de l'IRAD de Nkolbisson : Romuald, Feumba, M. Thadée, Ghislaine, Oumarou, Dorothée merci pour votre assistance et encouragements.

Ma reconnaissance va aussi à l'endroit des chercheurs du Cirad et de l'IRAD au Cameroun, j'ai eu le privilège de bénéficier de leurs conseils et encouragements, il s'agit de : Leila BEILHE, Olivier SOUNIGO, Syndhia MATHE, Virginie MFEGUE, Eunice NDO, Salomon NYASSE, BELLA MANGA, Bruno EFOMBAGN, Didier BEGOUDE et Eddy NGONKEU.

À la famille de « Partage & Culture » de la paroisse Sainte Bernadette de Montpellier pour les beaux moments que j'ai eu la chance de connaitre avec vous. Je pense notamment à Julie, Essowé, Joa, Havivy, Charleine, Armide, Benjamin, Stephanie, Melvyn….

À toi Sandrine PETCHAYO ma confidente, ma coéquipière de thèse, avec toi j'ai partagé toutes les étapes de cette aventure, le terrain, le labo…les beaux moments comme les mauvais, je te remercie pour ta fidélité et ta compagnie.

Je remercie grandement ma famille et ma belle-famille pour tout l'amour et le soutien moral qu'elles m'ont apporté durant ces années.

Toute ma reconnaissance à Patrick Michel Guy BABODO pour son amour, son assistance et tous les efforts consentis pour m'accompagner dans cette épreuve avec ma belle-mère Agrippine NKE MESSI. À mes enfants pour mes absences incessantes et toutes les personnes dont j'avais la charge : Rychnelle, Angel, Yohan, Mael, Lionel, Gervais, Rostand, Ariane et Prisca.

Pour tous ceux que je n'ai pas pu nommer ici et qui ont certainement contribué à la réalisation de ce travail, je leur réitère ma profonde gratitude.

Merci à Dieu Tout Puissant pour m'avoir donné la force d'aller jusqu'au bout de ce projet.

Table des matières

Remerciements ... 1

Table des matières ... 3

Liste des tableaux ... 5

Liste des figures ... 5

INTRODUCTION ... 6

CHAPITRE 1: L'HOTE, L'AGENT PATHOGENE ET LA MALADIE ... 15

I. LE CACAOYER ... 15

I.1 Importance socio-économique ... 15

I.2. Historique, classification, écologie et biologie ... 16

I.3. Systèmes de culture ... 21

I.4. Ennemis du cacaoyer ... 22

II. LA MALADIE : LA POURRITURE BRUNE DES FRUITS DU CACAOYER ... 27

II.1. Historique, importance économique ... 27

II.2. Étiologie et symptomatologie ... 28

II.3. Méthodes de lutte ... 30

III. L'AGENT PATHOGENE : les *Phytophthora* du cacaoyer ... 32

III.1. Taxonomie et classification ... 32

III.2. Biologie et reproduction ... 33

III.3. Hôtes alternatifs ... 34

III.4. Techniques d'isolement et d'identification ... 35

III.5. Variabilité génétique et structure des populations pathogènes ... 35

III.6. Mécanismes de dispersion ... 37

IV. ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA POURRITURE BRUNE DUE À *PHYTOPHTHORA MEGAKARYA* ... 39

CHAPITRE II: DYNAMIQUE SPATIO-TEMPORELLE DES INFECTIONS PRIMAIRES DUE A *PHYTOPHTHORA MEGAKARYA* DANS LES JEUNES PARCELLES CACAOYERES ... 41

INTRODUCTION ... 42

MATÉRIEL ET MÉTHODES ... 42

ARTICLE 1 ... 45

CHAPITRE III: DIVERSITE GENETIQUE DE *PHYTOPHTHORA MEGAKARYA* EN RELATION AVEC L'EPIDEMIE DE LA POURRITURE BRUNE DANS LES JEUNES PARCELLES CACAOYERES 89

INTRODUCTION 90

MATÉRIEL ET MÉTHODES 90

ARTICLE 2 (*en préparation*) 93

CHAPITRE IV: CARACTÉRISATION DES PARCELLES SOUS SYSTEMES DE CULTURES INNOVANTS VIS-A-VIS DE LEUR ETAT SANITAIRE 119

INTRODUCTION 120

MATÉRIEL ET MÉTHODES 120

RÉSULTATS 121

DISCUSSION 128

CHAPITRE V: DISCUSSION GÉNÉRALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES 131

V.1 DISCUSSION GÉNÉRALE 132

V.2 CONCLUSION ET PERSPECTIVES 143

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 145

ANNEXES 161

Liste des tableaux

Tableau 1 : Production (en milliers de tonnes) des grands producteurs de cacao par continent 16
Tableau 2 : Principales maladies du cacaoyer, zone de prévalence, estimation de pertes et les moyens de lutte..... 26
Tableau 3 : Classification des Phytophthora du cacaoyer en fonction de leur phylogénie, et les caractéristiques de reproduction..... 33
Tableau 4 : Profil du producteur 122
Tableau 5 : Caractéristiques des parcelles cacaoyères prospectées 123
Tableau 6 : Réalisation des principales opérations culturales dans les différentes parcelles. 124
Tableau 7 : Nombre moyen de passage, période de réalisation des principales opérations culturales 126
Tableau 8 : Fréquence d'observation des maladies et ravageurs du cacaoyer dans les parcelles prospectées 127
Tableau 9 : Fréquence d'observation des maladies des cultures associées dans les parcelles prospectées 127

Liste des figures

Figure 1 : Exemples d'une agro-forêt à base de cacaoyer (a) et une association cacaoyer-palmier (b) dans le Centre-Cameroun 21
Figure 2 : Dégâts des mirides sur les cabosses (a) et ceux des foreurs sur une tige de cacaoyer (b*)* 23
Figure 3 : Carte de distribution de *Phytophthora megakarya* dans le monde..... 28
Figure 1.4 Cycle de la pourriture brune du cacaoyer due à *Phytophthora* sp. (Akrofi, 2015). 30
Figure 5 : Cycle de reproduction de Phytophthora sp. (Surujdeo-Maharaj et al. 2016) 34
Figure 6 : Symptômes de pourriture brune sur des cabosses proches du sol dans une parcelle au Cameroun (Ndoungué)..... 40
Figure 7: Présentation des sites d'étude dans la région du Centre-Cameroun 43
Figure 8: Étapes du piégeage : cabosse perforée (a), les trous remplis de terre d'un échantillon de sol (b) et recouverts d'un coton imbibé d'eau distillée (c), (d):infection réussie, (e): pas d'infection 44
Figure 9: Pourcentage de détection des cabosses inoculées à différentes concentrations (zoospores/ml)..... 91
Figure 10 : Pourcentage des différentes relations entre état sanitaire de la parcelle et celui de son environnement proche..... 128

INTRODUCTION

L'agriculture familiale, selon l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), désigne « l'ensemble des activités agricoles reposant sur la famille, en relation avec de nombreux aspects du développement rural, elle permet d'organiser la production agricole, forestière, halieutique, pastorale ou aquacole qui, sous la gestion d'une famille, repose principalement sur la main-d'œuvre familiale, aussi bien les hommes que les femmes » (FAO, 2014). Jadis destinée à l'autoconsommation, l'agriculture familiale a connu de profondes mutations et s'oriente de plus en plus vers un modèle entrepreneurial tout en gardant son appartenance familiale. Elle permet d'assurer la nutrition des communautés en fournissant 80 % de l'alimentation mondiale. En effet l'agriculture familiale constitue un levier efficace de lutte contre la pauvreté et la sous-nutrition et contribue au développement économique des territoires en favorisant la création de circuits de commercialisation locaux ainsi qu'au maintien de services publics. Elle participe largement à la valorisation et à la protection des ressources naturelles et des paysages. La FAO estime qu'il y aurait 570 millions d'exploitations agricoles dans le monde, dont plus de 500 millions appartiennent au modèle familial (FAO, 2014).

L'agriculture familiale est par ailleurs menacée par de grands investisseurs agricoles qui confisquent de vastes superficies fertiles ainsi que des ressources, notamment en eau, au détriment des producteurs locaux contribuant ainsi à la paupérisation des populations rurales (Laplante, 2014). Elle doit donc être préservée et c'est l'une des raisons pour laquelle l'Assemblée générale des Nations Unies a proclamé l'année 2014 « Année internationale de l'agriculture familiale » avec pour objectif de « remettre l'agriculture familiale au centre des politiques agricoles, environnementales et sociales dans les programmes d'action nationaux, en identifiant les lacunes à combler et les opportunités offertes afin de favoriser la transition vers un développement plus équitable et plus équilibré » (FAO, 2014).

L'agriculture familiale est le principal modèle de production agricole en Afrique subsaharienne et demeure un instrument fondamental du développement durable et de la réduction de la pauvreté dans cette région à vocation agricole (Banque mondiale, 2008 ; Gafsi, 2007). Jusqu'au 20e siècle, les systèmes de production bien que peu variés et orientés principalement vers l'autoconsommation suffisaient à assurer la fonction de nutrition des populations. Les revenus étaient issus de la commercialisation des produits de cueillette (par exemple : caoutchouc naturel, noix de kola). Pendant le 20e siècle, les filières agricoles d'exportation vont voir le jour et seront dès l'indépendance des pays de l'Afrique subsaharienne

le principal moteur de l'élévation du niveau de vie, en assurant le développement des revenus monétaires en milieu rural (Jamin *et al*., 2007). En effet, malgré l'urbanisation de la population africaine (17% en 1960 ; 34% en 1990 et 41% en 2018 et 59% prévu en 2050), et le développement des secteurs non agricoles dans certains pays (commerce, tourisme, exploitation minière), l'agriculture continue à employer 67% de la force de travail et représente 20% du PIB de cet ensemble régional (Dixon *et al*., 2001 ; United Nations, 2018).

L'agriculture familiale produit de la richesse en apportant non seulement des revenus aux producteurs et aux commerçants mais aussi des entrées fiscales et des devises aux États (Laplante, 2014). Au Cameroun par exemple, les produits agricoles d'exportation constituent une des sources essentielles de l'investissement public et privé tandis que les vivriers assurent l'alimentation des producteurs eux-mêmes et celle des populations urbaines. Les exportations du secteur rural représentent environ 55 % des recettes d'exportation du pays contre 30 % issus des hydrocarbures (INS, 2008). Les principaux produits agricoles exportés sont le cacao, le coton, le café, la banane, le caoutchouc et l'huile de palme. Selon les statistiques de l'Institut National de Statistiques de Cameroun, en 2007 le PIB agricole était de 1,71 milliards de F CFA soit plus de 20 % du PIB national (INS, 2008).

L'Afrique s'impose aujourd'hui dans la production du cacao dont elle a fourni entre 2016 et 2017 plus de 70 % de la production mondiale (4739 Mt) (ICCO, 2019). Cette production est assurée grâce aux pays de l'Afrique de l'Ouest et du Centre dont la Côte d'Ivoire est le premier producteur mondiale (2020 Mt), le Ghana, deuxième (969 Mt), le Cameroun cinquième (246 Mt) et le Nigéria sixième (245 Mt) (ICCO, 2019). Le cacao occupe une place de choix dans l'économie de ces pays. En effet, le cacao a contribué en 2015 à environ 15 % du PIB, 37 % des exportations (IMF, 2015) et 20 % (2,6 milliards de dollars US) du total des exportations de la Côte d'Ivoire (IMF, 2016b). Le cacao demeure aussi une source majeure de recette fiscale pour le gouvernement Ghanéen, il représentait 10 % du PIB en 2018. Au Cameroun le cacao est la deuxième source en devises du pays, en 2015, il représentait 19 % des exportations derrière les hydrocarbures (44 %) et a rapporté 454 milliards de francs CFA de revenus (MINEPAT, 2016).

La culture du cacao est essentiellement pratiquée dans les exploitations familiales. Dans le monde, environ 5 à 6 millions d'exploitations assurent la production du cacao mais seules les petites exploitations familiales fournissent à eux seuls plus de 90 % de la production (ICCO, 2010). En Afrique, plus de 2 millions d'exploitations familiales produisent le cacao sur des surfaces de 1,5 à 5 ha (Franzen et Borgerhoff, 2007). La production du cacao constitue une importante source de revenu aux exploitations qui en dépendent directement et aux personnes

qui interviennent dans la chaine de valeur. En effet, la culture procure directement et/ou indirectement des revenus à environ 40 à 50 millions de personnes (ICCO, 2010). Au regard de son caractère pérenne, la culture du cacao est un moyen d'appropriation des terres et peut par conséquent permettre aux exploitations familiales d'acquérir des droits fonciers (Fountain et Hütz-Adams, 2015 ; Jagoret, 2011).

Malgré la contribution de la culture du cacao à la croissance économique via les apports de devises, la pauvreté est endémique dans les zones de production cacaoyère de l'Afrique de l'Ouest et du Centre. Les cacaoculteurs reçoivent seulement 6,6% du profit de la chaine de valeur du cacao et la plupart des producteurs vivent en dessous du seuil de pauvreté donc ont un revenu quotidien inférieur à 1,25 USD/jour. Plusieurs raisons expliquent cette pauvreté notamment : la volatilité des prix du cacao sur le marché international, l'absence d'organisations représentant les producteurs et leur faible pouvoir sur le marché, l'absence d'infrastructures de base (les écoles, les soins de santé et l'eau potable) dans les communautés productrices de cacao, les systèmes de production peu performant, et enfin l'accès aux marchés et aux informations y afférentes (Fountain et Hütz-Adams, 2015).

Pour faire face à cette situation inconfortable, les cacaoculteurs ont utilisé les moyens d'adaptation en fonction des conjonctures locales. La diversification des systèmes de production et l'intensification des facteurs de production disponibles sont les principales stratégies qu'ont utilisées les producteurs pour maintenir la culture du cacao (Tano, 2012 ; Temple et *al*., 2007). La diversification a permis d'élargir la gamme des produits issus des plantations cacaoyères pour créer d'autres sources de revenus et assurer l'approvisionnement alimentaire (Gockowski et Dury, 1999 ; Gockowski *et al.*, 2006). En absence de capital, la terre et le travail (main d'œuvre familiale) ont été valorisés pour continuer la production (Temple *et al*., 2007).

Toutefois ces mesures d'adaptations n'ont pas suffi à améliorer les conditions de vie des producteurs ainsi que les systèmes de production du cacao. Selon Hebbar (2007), la culture du cacao s'apparente à « une agriculture du 18e siècle qui fournit de la matière première à une industrie de 21e siècle ». Le vieillissement des vergers cacaoyers et des planteurs (à cause du désintéressement des jeunes vis-à-vis de la cacaoculture), le manque d'encadrement technique l'utilisation de matériel végétal peu performant, des outils et méthodes archaïques, la petitesse des unités de production, l'inaccessibilité des points de production et d'importantes pertes dues aux maladies et les ravageurs sont autant d'éléments caractéristiques de la cacaoculture africaine (Duguma *et al*., 2001 ; Hebbar, 2007 ; Nkamleu *et al*., 2010). En effet, l'augmentation de la production du cacao en Afrique a été très souvent obtenue via la création de nouvelles

plantations et non pas par l'amélioration du rendement (Gockowski *et al*. 2004). Dans un contexte de globalisation, de libéralisation des marchés et de défis environnementaux, l'Afrique de l'ouest et du Centre est désormais obligée de développer des stratégies et politiques à mettre en œuvre pour accroitre la production et par ricochet les besoins en revenus des producteurs pour une cacaoculture durable. De nombreux travaux ont montré le grand potentiel de diversification comme une des opportunités d'amélioration de la productivité et de résilience environnementale via des systèmes de cultures plurispécifiques à base de cacao (Duguma *et al.,* 2001 ; Gockowski et Sonwa, 2008 ; Jagoret *et al*., 2012). Mais les performances de ces systèmes nécessitent du matériel végétal sélectionné aussi bien pour le cacao que pour les espèces associées ainsi que le renforcement du savoir-faire des producteurs via la mise en œuvre des techniques de production plus efficaces (Duguma *et al.,* 2001 ; Nkamleu *et al.*, 2010).

À la fin de la décennie 1980, les pays producteurs de cacao de l'Afrique occidentale et centrale ont vécu une importante crise économique qui a été à l'origine de profondes perturbations au sein de l'environnement de production agricole (Mbondji, 2010 ; Tano, 2012). Au Cameroun, la dévaluation du Franc CFA qui s'en était découlée a eu pour corollaire la libéralisation du commerce agricole, l'abandon des politiques de soutien et de stabilisation des prix de la filière cacao. Les reformes d'ajustement structurel consécutives à la crise économique ont entraîné la suppression des subventions aux engrais et aux pesticides, et des interventions gouvernementales dans le secteur cacao. La hausse du prix des intrants de cacao a été aggravée par la dévaluation du franc CFA, qui a doublé les prix des pesticides importés, considérés comme essentiels pour la lutte contre les parasites du cacao (Mbondji, 2010 ; Tano, 2012). La relance de la filière cacao par l'état camerounais au début des années 2000 dans un processus d'autonomisation des producteurs exige une amélioration des systèmes de production pour une cacaoculture durable (MINEPAT, 2016 ; Nkamleu *et al*., 2010).

En revanche, l'intensification des systèmes de cultures peut conduire à une augmentation des contraintes phytosanitaires exigeant ainsi une forte demande d'intrants comparativement aux systèmes extensifs (Temple *et al.*, 2007). Les maladies et ravageurs du cacaoyer sont responsables de 30% de pertes annuelles de la production mondiale (Lass., 2004). Deux maladies endémiques s'imposent comme réelles menaces de la cacaoculture en Afrique de l'Ouest et du Centre : le Cacao Swollen Shoot Virus Disease (CSSVD) et la pourriture brune des fruits du cacaoyer due à *Phytophthora megakarya* (Akrofi, 2015). Par ailleurs, la pourriture brune des fruits du cacaoyer est la contrainte phytosanitaire majeure au Cameroun. Elle a été identifiée pour la première fois dans les années 1900 et son agent causal sera connu et nommé

Phytophthora palmivora plus tard sous la classification de Butler en 1919 (Waterhouse, 1970). Depuis lors, jusque vers les années 1970, *P. palmivora* a été considéré comme l'unique agent responsable de la pourriture brune des fruits du cacaoyer dans le monde (Brasier et Griffin, 1979). Des différences morphologiques ainsi que de caractéristiques épidémiques observées au sein des populations collectées dans les zones de production du cacao ont conduit à l'identification d'autres espèces responsables de la pourriture brune (Cilas et Despréaux, 2004). Au moins onze espèces de *Phytophthora* sont connues comme agents pathogènes du cacaoyer (Surujdeo-Maharaj *et al*., 2016). Toutefois seules quatre espèces sont d'une importance économique : *P. palmivora*, l'espèce la plus répandue, présente dans tous les bassins de production du cacao (Gregory, 1974 ; Griffin, 1977 ; Zentmyer *et al.*, 1977 ; Babacauch, 1980) ; *P. megakarya* l'espèce la plus agressive et exclusivement présente en Afrique centrale et de l'ouest (Djiekpor *et al.,* 1981 ; Nyasse *et al.,* 1999 ; Akrofi, 2015, Ali *et al.,* 2016); *P. capsici* / *P. tropicalis* rencontrée dans plusieurs régions tropicales et sub-tropicales (Lawrence *et al.*, 1982 ; Zentmyer *et al.*, 1977) et *P. citrophthora* présente en Asie et en Amérique latine (Kellam et Zentmyer, 1981).

Au regard du centre de diversité du cacaoyer (bassin amazonien) et du caractère endémique de *P. megakarya* en Afrique, l'hypothèse d'un saut d'hôte est la plus probable (Mfegue, 2012). Malgré les isolements de *P. megakarya* sur des espèces asymptomatiques associées aux cacaoyers (Opoku *et al.,* 2002 ; Holmes *et al.,* 2003 ; Akrofi *et al*., 2015), la question sur la connaissance des hôtes d'origine/ alternatives de *P. megakarya* demeure d'actualité. L'émergence de *P. megakarya* sur cacaoyer a eu pour corollaire une augmentation des pertes dues à la pourriture brune des fruits du cacaoyer (Opoku, 2000), en effet, au Cameroun, ces pertes peuvent atteindre 80 % en absence de mesures de contrôle (Ndoumbè-Nkeng, 2002). Il semble que *P. megakarya* aurait complètement remplacé *P. palmivora* dans les bassins de production au Cameroun (Nyassé *et al.,* 1999), et ce processus de remplacement est en cours au Ghana et en Côte d'Ivoire (les deux premiers grands producteurs mondiaux du cacao) (Dakwa, 1987 ; Koné, 1999). Des études sur les populations de *P. megakarya* ont montré une forte diversité génétique au Cameroun et suggèrent que ce pays serait son centre de diversité (Nyassé *et al.,* 1999, Mfegue, 2012).

L'avènement de nouveaux outils moléculaires a permis d'améliorer les connaissances biologiques existentes du genre *Phytophthora* et particulièrement celles des espèces responsables de la pourriture brune. Par conséquent, la mise en œuvre des stratégies de lutte durable exigent la prise en compte de nouvelles informations acquises. En effet, les études épidémiologiques qui ont servi de base pour l'élaboration des méthodes de lutte ont concerné

une seule espèce : *P. palmivora* (Brasier et Griffin, 1979 ; Monteith et Butler 1979; Griffin *et al.,* 1981 ; Gregory *et al.,* 1984). Il reste difficile de définir les caractéristiques épidémiologiques exactes de chaque espèce. En outre, plusieurs symptômes permettent de reconnaitre la pourriture brune des fruits du cacaoyer notamment, les feuilles et cabosses nécrosées, le chancre et l'infection des coussinets floraux (Drenth et Guest, 2013 ; McMahon et Purwantara, 2004). Ces symptômes ont été décrits pour la plupart dans les régions où les infections sont principalement dues à *P. palmivora*. Par contre, au Cameroun où la pourriture brune est essentiellement due à *P. megakarya*, les cabosses semblent être le seul organe cible de la maladie. La description du processus infectieux au niveau des cabosses a montré que *P. megakarya* possède l'avantage d'être biotrophe grâce à sa capicité de penetrer directement les tissus de l'hôte via des appressoria tandis que *P. palmivora* est nécrotrophe et sa capaciter à infecter dépend de l'ouverture des stomates (Ali *et al*., 2016).

Des travaux ont montré que le sol est un important réservoir de *P. megakarya* où l'inoculum peut survivre pendant au moins 18 mois durant les périodes défavorables (saisons sèches) (Ward et Griffin, 1981). Mais outre le sol, les coussinets floraux, les cabosses momifiées, l'écorce, les arbres d'ombrage et d'autres cultures courantes dans les plantations cacaoyères ont été présentés comme des sources possibles d'inoculum de *P. megakarya* (Akrofi, 2015; Akrofi *et al*., 2015; Holmes *et al*., 2003; Opoku *et al*., 2002). Des études complémentaires restent néanmoins à faire pour établir ces différentes sources comme réservoirs de *P. megakarya*. Les études épidémiologiques portées sur les dynamiques de la pourriture brune due à *P. megakarya* ont montré que *P. megakarya* se disperse principalement pendant la saison des pluies, du sol vers les cabosses via les éclaboussures (Gregory, 1974 ; Mfegue, 2012 ; Ndoumbe-Nkeng *et al*., 2017 ; Ten Hoopen *et al*., 2010). Ce mode de dispersion présente une portée limitée donc permettrait au pathogène de se déplacer sur des distances relativement courtes (6 à 9 m) (Mfegue, 2012 ; Ndoumbe-Nkeng *et al*., 2017 ; Ten Hoopen *et al*., 2010). Les éclaboussures de pluie provenant de cabosses infectées occasionnent 71 % des infections dues à *P. megakarya*, tandis que 5 % des infections résultent du contact avec le sol, 3 % causés par les insectes et 14 % par des facteurs inconnus (Brasier and Griffin, 1979). Les autres moyens de dispersion sont très peu documentés notamment ceux ayant une plus grande portée. Les invertébrés tels que les fourmis, les termites, les escargots peuvent assurer le mouvement de l'inoculum (EI-Hamalawi and Menge, 1996 ; Konam et Guest 2004 ;). Evans (1973) a montré que les tentes de fourmis construites autour des pédoncules de cabosses contiennent souvent des débris de cabosses infectées et peuvent conduire à des infections due à *P. palmivora*. Des résultats similaires ont été trouvés chez *P. megakarya* (Ngwohgi, 2015). Il est également

possible comme chez certaines espèces de *Phytophthora* sp. que la dispersion de *P. megakarya* se fasse via les eaux de surface, les animaux, et les activités humaines (Husson *et al.,* 2006 ; Themann *et al.,* 2002 ; Tjosvold *et al.,* 2002). Sachant que l'insuffisance des connaissances sur les mécanismes de dispersion d'un agent pathogène ainsi que sur la propagation de la maladie entravent la mise en œuvre des méthodes de lutte efficaces (Ristaino et Gumpertz, 2000), beaucoup reste à faire pour mettre en place des stratégies de lutte durable contre la pourriture brune due à *P. megakarya.*

Une initiative de développement de systèmes de cultures plurispécifiques dits « *innovants* » a été prise au sein de l'équipe mixte de recherche CIRAD/IRAD. Le projet avait pour objectif d'accompagner des producteurs de cacao dans un processus de construction d'innovations techniques en cacaoculture (matériel végétal fourni par la recherche et conseils techniques) (Bourgoing et Todem, 2010a ; Bourgoing et Todem, 2010b ; Bourgoing et Todem, 2013). Le projet a été implémenté en milieu paysan à partir de 2006 chez les producteurs désirant régénérer leurs vieux vergers cacao ou convertir des jachères ou des espaces précédemment destinés à d'autres cultures en cacaoyères.

La mise en place de cacaoyères sous des systèmes de cultures plurispécifiques sur des parcelles initialement dépourvues d'inoculum endogène a donné l'opportunité de faire un suivi épidémiologique du démarrage de la pourriture brune due à *P. megakarya* afin d'identifier les scénarii possibles de dispersion de l'inoculum qui aboutiront probablement à la mise en œuvre des mesures préventives.

Ce travail de thèse a pour objectif de contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes de dispersion de *P. megakarya* ainsi que des facteurs qui déterminent l'installation et la propagation de l'épidémie au sein des parcelles.

Il s'agira plus spécifiquement de :

- Décrire la dynamique spatio-temporelle de la pourriture brune au sein des parcelles ;
- Étudier la diversité génétique de *P. megakarya* en lien avec la propagation de la maladie au sein des parcelles et ;
- Rechercher les facteurs qui gouvernent l'installation de la maladie au sein des parcelles

Cette étude a été menée en milieu paysan, un cadre diversifié avec de nombreux facteurs à prendre en considération.

Pour mener à bien ce travail, trois approches ont été utilisées :

- ✓ Une approche inductive qui a permis à partir des observations directes de formuler des hypothèses sur les facteurs qui influencent la distribution spatio-temporelle des infections primaires de *P. megakarya* dans les parcelles expérimentales
- ✓ Une approche moléculaire permettant d'observer l'évolution dans le temps de la diversité de *P. megakarya* en relation avec la dynamique épidémique observée
- ✓ Une enquête descriptive réalisée sur un échantillon de parcelles du réseau systèmes de culture « *innovants* », avec pour but de rechercher les facteurs associés à la présence de la maladie ;

L'ensemble de ce document porte sur 5 chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est une revue de la littérature sur le cacaoyer, les *Phytophthora* du cacaoyer et pourriture brune et son épidémiologie ;
- ✓ Le deuxième chapitre décrit la dynamique spatiotemporelle des infections primaires dues à *P. megakarya* dans les parcelles
- ✓ Le troisième chapitre décrit la diversité de *P. megakarya* en relation avec la dynamique épidémique observée
- ✓ Le quatrième chapitre porte sur l'identification des facteurs associés à la présence de la maladie ;
- ✓ Le cinquième porte sur la discussion générale, la conclusion et les perspectives.

SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE 1: L'HOTE, L'AGENT PATHOGENE ET LA MALADIE

I. LE CACAOYER

I.1 Importance socio-économique

Le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.), est une plante pérenne originaire des forêts tropicales de l'Amérique australe et centrale. Il est cultivé dans les régions situées entre 20° de latitude de part et d'autre de l'équateur (Mossu, 1990). La culture du cacaoyer est principalement destinée à la production des fèves de cacao connues comme matières premières des industries du chocolat, cosmétique et pharmaceutiques. La production mondiale du cacao marchand est en constante évolution, les dernières statistiques (ICCO, 2017) estiment cette dernière à plus 4,7 millions de tonnes dont l'Afrique fournit environ 76 %, l'Asie 16 % et l'Amérique 8 %. Cette production (plus de 90 %) est essentiellement assurée par de petits producteurs (5 à 6 millions) dont leurs exploitations sont comprises entre 1,5 et 5 ha (Franzen et Borgerhoff, 2007). La culture du cacao constitue une importante source de revenus pour les ménages ruraux, c'est ainsi que 40 à 50 millions de personnes tirent de manière directe ou indirecte l'essentiel de leur revenu de la culture du cacao (ICCO, 2010).

La culture du cacao a augmenté en Afrique vers la fin du XIXe siècle, où elle occupe actuellement une place de choix dans l'économie des pays producteurs. En effet, le cacao a contribué en 2015 à environ 15 % du PIB et 37 % des exportations de la Côte d'Ivoire correspondant à 20 % (2,6 milliards de dollars US) du total des exportations du pays (Bymolt *et al.,* 2018). Le cacao demeure une source majeure de recette fiscale pour le gouvernement Ghanéen, il représentait 10 % PIB en 2018 (IMF, 2016b ; Bymolt *et al.,* 2018). Au Cameroun, le cacao est la deuxième source en devises du pays, en 2015, il représentait 19 % des exportations derrière les hydrocarbures (44 %) et a rapporté 454 milliards de francs CFA de revenus (IMF, 2015). Les grands producteurs du cacao en Afrique sont: la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Nigéria et le Cameroun (Tableau 1).

En Afrique, plus de 2 millions d'exploitations familiales pratiquent la culture du cacao. En effet, on estime environ 800 000 à 1,3 million exploitations en Côte d'ivoire, 800 000 au Ghana, 600 000 au Cameroun et 300 000 au Nigéria (Fountain et Hütz-Adams, 2015). Pour ces exploitations, la culture du cacao représente une importante source de revenu et une forme d'appropriation foncière (Bymolt *et al.,* 2018).

Tableau 1 : Production (en milliers de tonnes) des grands producteurs de cacao par continent

Régions/Pays	2015/2016	Pourcentage	Estimations 2016/2017	Pourcentage	Prévisions 2017/2018	Pourcentage
Afrique	**2923**	**73%**	**3625**	**76%**	**3490**	**76%**
Cameroun	211		246		240	
Côte d'Ivoire	1581		2020		2000	
Ghana	778		970		880	
Nigeria	200		245		240	
Autres	153		145		130	
Amérique	**677**	**17%**	**739**	**16%**	**748**	**16%**
Brésil	141		174		170	
Équateur	232		270		260	
Autres	305		295		318	
Asie & Océanie	**397**	**10%**	**379**	**8%**	**349**	**8%**
Indonésie	320		290		260	
Papouasie Nouvelle Guinée	36		40		40	
Autres	41		49		49	
Total	**3997**	**100%**	**4744**	**100%**	**4587**	**100%**

Source: ICCO Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XLIV, No. 2, Cocoa year 2017/18

I.2. Historique, classification, écologie et biologie

I.2.1. Historique

Le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) est de la famille des Malvaceae, est originaire du centre et de l'ouest de l'Amazonie, où il se présente sous forme d'arbre de sous-bois forestier jusqu'à environ 900 mètres sur les flancs des Andes (Cuatrecasas, 1964). Le centre de diversité est la partie Nord-Ouest de l'Amérique du Sud probablement au Pérou (Zarrillo *et al*., 2018). En effet, le centre de la domestication du cacaoyer le plus ancien serait dans cette partie supérieure amazonienne (Zarrillo *et al*., 2018) bien que le Mexique et l'Amérique centrale sont également connus comme centre de domestication (Cornejo *et al*., 2018).

La culture du cacaoyer se pratiquait bien avant l'arrivée des Européens dans l'Amazonie d'où elle s'est répandue en Amérique centrale et y est pratiquée depuis au moins 5 000 ans (Cheesman, 1944 ; Zarrillo *et al*., 2018). Les Aztèques et les Mayas se servaient du cacao pour préparer une boisson contenant en plus du maïs et du piment. La préparation de la boisson a subi des amendements qui au fil du temps ont conduit au chocolat actuel (Cuatrecasas, 1964).

Avec l'arrivée des Espagnols, le cacao a rapidement trouvé un marché en Europe, où il a été consommé pour la première fois par les riches et les puissants; plus tard, il est devenu populaire auprès des masses. Le cacao a été amené de la péninsule du Yucatan, à Trinidad et

au Venezuela en 1525, puis en 1670, aux Philippines. Puis, le cacao a été importé comme plante ornementale par le colonel José Ferreira Gomes du Brésil à la colonie portugaise de Principe en 1822 et en 1830. Cette introduction en Afrique est sans doute le transfert le plus important du matériel génétique de cacao compte tenu de son impact. De ces îles, la culture du cacao va s'étendre dans le reste de l'Afrique, d'abord de Fernando Po en 1855, elle arrive au Cameroun en 1860, puis au Nigeria en 1874 et au Ghana en 1879, du Ghana, le cacaoyer s'est propagé en Afrique de l'Ouest d'où provient environ 70 % de la production mondiale du cacao (Zhang et Motilal, 2016).

I.2.2. Classification

Le cacaoyer a été décrit pour la première fois par Hernandez en 1630 (Cuatrecasas, 1964) et c'est plus tard en 1737 que, le botaniste suédois Karl von Linné lui donna le nom scientifique *Theobroma cacao L*. Le genre *Theobroma* auquel appartient le cacaoyer regroupe plusieurs autres espèces parmi lesquelles *T. bicolor*, *T. gandiflorum*… *Theobroma cacao* L. demeure néanmoins l'espèce la plus populaire et largement cultivée dans le monde. Le cacaoyer appartient au règne Végétal, à l'embranchement des Spermaphytes, à la tribu des Byttnériées, à l'ordre des Malvales et à la famille des Malvaceae anciennement classée dans la famille des Sterculiaceae (Motamayor *et al.,* 2002).

Cuatrecasas (1964) a classé les cacaoyers cultivés sur la base des caractères morphologiques et géographiques en trois grands groupes : les Criollo, les Forastero et les Trinitario. Le Criollo a des cabosses vertes et parfois partiellement ou totalement rouges, les fèves sont toujours pleines et sont de couleur blanche à blanchâtre; il est originaire d'Amérique centrale et du Mexique. La population de Criollo, a par ailleurs subi une domestication il y a environ 3 600 ans qui a fortement influencé la sélection des gènes impliqués dans le métabolisme ainsi que des gènes de résistance aux maladies (Cornejo *et al*., 2018).

Le Forastero, largement répandu, représente 80 à 90 % de la production mondiale, il a des cabosses vertes à l'état jeune et jaunes à maturité, les fèves ont une couleur violet foncée et sont plus ou moins plates; il vient d'Amazonie. Le Trinitario représente les hybrides des deux groupes précédents (Mbondji, 2010).

Récemment une nouvelle classification des cacaoyers cultivés a été faite sur la base des critères morpho-géographiques. Dix groupes ont été classés sur la base de leurs origines géographiques ou du nom du cultivar traditionnel; il s'agit de : Amelonado, Contamana, Criollo, Curaray, Guiana, Iquitos, Marañon, Nacional, Nanay, et Purús (Motamayor *et al*, 2008).

I.2.3. Écologie

À l'état naturel, le cacaoyer occupe les strates inférieures des forêts humides amazoniennes. Il se cultive principalement dans les zones intertropicales humides comprises entre le 18° de latitude Nord et le 15° de latitude Sud, à des altitudes allant du niveau de la mer jusqu'à 1250 m (Mossu, 1992 ; Braudeau, 1969).

La gamme de température idéale pour le cacaoyer oscille entre 21 et 25 °C avec des minima de 18 °C et des maxima de 32 °C (Wood et Lass, 1985). La production cacaoyère est limitée dans les régions où le minimum moyen en mois le plus froid est en dessous de 13 °C et le rendement est alors réduit. Entre 4°C et 8°C, l'arbre perd ses feuilles et meurt; tandis qu'au-dessus de 32 °C le développement végétatif devient intense et la production diminue (Mossu, 1992 ; Bidzanga *et al.*, 2009). Par contre, certains producteurs via des systèmes de cultures plurispécifiques ont pu faire d'une zone de production marginale (zone de transition forêt-savane du Centre-Cameroun) où les températures annuelles moyennes sont comprises entre 20 et 30 °C, un véritable bassin de production du cacao (Jagoret *et al*., 2012).

Une pluviométrie de 1500 à 2000 mm par an est généralement considérée comme favorable (Wood et Lass, 1985). Le cacaoyer supporte les courtes périodes de sécheresse. Cependant, la durée de la sécheresse ne doit pas excéder trois mois (Mossu, 1990). L'humidité de l'air doit être élevée avec de légères variations, l'optimum se trouve à 85 %. En effet, au-delà de ce seuil et avec des moyennes de précipitations supérieures à 2500 mm, les maladies fongiques trouveraient des conditions idéales pour leur développement.

Le cacaoyer est cultivé sur une gamme variée de type de sols et ceux avec une fertilité moyennement élevée sont préférables; en général, il se développe bien sur les sols profonds, perméables, riches en éléments minéraux et en matière organique. Le cacaoyer préfère les sols à pH proche de la neutralité (pH compris entre 5 et 8), avec un optimum se situant entre 6 et 7,5 (Wood et Lass, 1985). C'est une plante ombrophile mais requiert un minimum d'énergie solaire pour l'assimilation. Pour un développement idéal des jeunes cacaoyers, il faut un éclairage de l'ordre de 50 % de la luminosité totale. Quant à l'altitude, c'est une plante de plaine (entre 300 et 700 m) mais elle peut se développer jusqu'à 1000 m dans certaines conditions (Wood et Lass, 1985).

I.2.4. Biologie

L'espèce *Theobroma cacao L*. est l'une des espèces d'intérêt économique du genre *Theobroma*. Globalement, elle se distingue des autres membres du genre par les caractéristiques suivantes : feuilles glabres ou pubères en dessous, elles sont fermement coriaces et

régulièrement conservées, avec une surface foliaire portant 10-14 nervures secondaires de chaque côté, les fruits sont glabres, ovales à oblongs, plus ou moins pentagonaux ou décagonaux, avec un péricarpe relativement épais ; les étamines ont 2-anthérifères; staminodes sont rouges, linéaires-subulés, érigés en bouton (Cuatrecasas, 1964).

Le cacaoyer est un arbuste de grande taille, il peut atteindre 20 m de hauteur à l'état sauvage. Son système radiculaire est composé d'un pivot qui croit verticalement dans le sol tandis que les racines latérales ont une croissance plagiotrope (Braudeau, 1969 ; Partiot, 1976). En outre, les jeunes racines ainsi que la zone des poils absorbants sont impliquées dans les associations mycorhiziennes (Bidzanga *et al*., 2009).

La tige du cacaoyer est orthotrope et sa croissance est assurée par un bourgeon terminal dont l'arrêt d'activité vers le 18ième mois donne naissance à des méristèmes qui initieront des branches à environ 1,5 à 2 m du sol et des ramifications secondaires plagiotropes. Le développement des ramifications latérales est assuré par des poussées foliaires (flushes) successives, séparées par des périodes de repos de 8 à 10 semaines. Les feuilles du cacaoyer sont alternes dimorphes, entières, simples, lancéolées, pétiolées, longues (environ 40 cm), rigides et de couleur verte foncée à maturité. La période d'activité photosynthétique optimale de la feuille peut aller jusqu'à 5 mois après le flush, ensuite décroît jusqu'à sa chute à un an d'âge (Mossu, 1990).

La floraison du cacaoyer est abondante, les fleurs sont hermaphrodites, elles apparaissent sur le tronc (cauliflorie) et sur les branches principales (ramiflorie) au niveau des massifs renflés connus sous le nom de « coussinets floraux ». Les fleurs sont bisexuées et pentamères; caractérisées par des sépales valvulaires, des pétales étranglés, contorsionnés en bouton. Elles possèdent cinq étamines opposées aux pétales et cinq staminoïdes alternés réunis autour d'un court tube basal, un ovaire supérieur à 5 cellules; possédant plusieurs ovules (Cuatrecasas, 1964). Le cacaoyer est une plante diploïde avec 2n = 20 chromosomes et essentiellement allogame dont la pollinisation est principalement assurée par les insectes. Parmi les fleurs pollinisées seules 5 % reçoivent un nombre de grains de pollen nécessaire et suffisant pour féconder 30 à 60 ovules présents dans l'ovaire (Mossu, 1990).

La fécondation réussie d'une fleur conduit au développement d'un fruit appelé « cabosse » qui arrive à maturité après 5 à 7 mois. La cabosse est reliée à la plante par un pédoncule ligneux de 2 cm de long environ, sa forme et ses dimensions varient selon la variété de cacaoyer. Le fruit du cacaoyer est une baie indéhiscente et volumineuse, il peut contenir en moyenne 15 à 50 graines ou fèves de cacao enveloppées d'une pulpe mucilagineuse

épaisse sucrée et acidulée, serrées les unes contre les autres en cinq rangées groupées autour du placenta central. Les cotylédons pliés, ondulés de couleur violacée à constituent la mine d'or recherchée dans la culture du cacaoyer.

Le taux de remplissage des cabosses est très variable et fonction du taux de fécondation de l'ovule et des caractéristiques génétiques de la plante. En effet, le flétrissement des jeunes fruits appelé « wilt » affecte 20 à 90 % des chérelles. Il a été noté qu'après la pollinisation à environ 50 jours, un pic d'incidence est atteint puis diminue pour remonter vers les 70 jours et cesser finalement après 95 à 100 jours (McKelvie, 1956). Il semble que cette pathologie est liée à la taille et l'âge du fruit du cacaoyer car les périodes d'incidence maximale coïncident très souvent avec la période de croissance maximale des cabosses (Ten Hoopen *et al*., 2012). Ce phénomène est attribué à des mécanismes de régulation physiologique de la plante dus à la compétition en ressources glucidiques (Daymond et Hadley, 2008).

Encadré : Origine du mot « chérelle » (Cobigo *et al.,* 2018)

Le terme « Chérelle » désigne, en français, le jeune fruit du cacaoyer. Les anglophones utilisent le terme « Cherelle », en étant persuadés que cela provient du français. L'Académie française n'avait pas connaissance de l'étymologie du terme, il viendrait de l'espagnol du Venezuela, «Chirel», qui désigne un type de poivron (*Capsicum sp.*). Le terme « Chirel » n'existe pas dans le dictionnaire de l'Académie Royale Espagnole où figurent pourtant de très nombreux « Américanismes »). Les hispanophones utilisent « mazorquita » (= « petite cabosse »).
En cherchant « ají chirel » dans internet, on peut trouver de nombreuses images montrant bien la forme du poivron, qui est identique à celle d'une chérelle (par exemple : *www.revistadominical.com.ve/noticias/salud-y-belleza/si-comes-aji-picante-te-gustan-los-riesgos.aspx*).
Mais quelques chercheurs vénézuéliens utilisaient systématiquement «chireles» pour « chérelles». On peut donc supposer que les premiers français ont découvert le cacaoyer au Venezuela, très proche des Antilles et de la Guyane, et ont adopté le terme en le francisant (et en le « féminisant »).

I.3. Systèmes de culture

Les systèmes de culture du cacaoyer sont très variés allant de culture mono-spécifique avec ou sans ombrage ligneux à agroforêts complexes (Figure 1a). La cacaoculture camerounaise est principalement pratiquée dans des systèmes agroforestiers complexes contrairement à ce qui est observé dans certains pays producteurs tels que la Côte d'Ivoire où les systèmes de culture mono-spécifiques sont les plus utilisés (Jagoret *et al.,* 2008). Les agroforêts sont caractérisées par une grande biodiversité avec parfois plus de dix espèces associées au cacaoyer (considéré comme culture principale). En contrepartie ce niveau de diversité impose une densité de cacaoyer relativement faible (600 pieds ha^{-1}) comparativement aux systèmes mono-spécifiques (1500 à 2000 pieds ha^{-1}) (Mossu, 1990 ; 1992 ; Gockowski *et al.,* 2004). En effet, en relation avec la faible densité dans les agroforêts, les rendements en cacao marchand oscillent autour de 400 kg/ha. Bien que ces rendements soient relativement faibles, ils restent stables et peuvent s'étaler sur une période de 30 à 40 ans (Jagoret *et al.,* 2008 ; 2012). En outre aux regards des services écosystémiques et la productivité obtenus dans les agroforêts à base de cacaoyers, les producteurs pourront bénéficier des effets compensatoires (Gockowski *et al.,* 2004).

Par ailleurs, dans un contexte de demande en cacao marchand de plus en plus élevée, les systèmes agroforestiers complexes ne sauraient être le seul modèle de production du cacao. D'autres modèles de production ont été proposés tout en conservant un système de culture plurispécifique permettant aux producteurs de diversifier leur source de revenu (Figure 1.1b). Ces nouveaux systèmes dits « *innovants* » proposent une densité en cacaoyer plus élevée (700 à 1000 pieds/ha) comparativement aux agro-forêts pour des rendements potentiels en cacao marchand attendu à 1000 $kg.ha^{-1}$ (Bourgoing et Todem, 2010a ; 2010b).



Figure 1 : Exemples d'une agro-forêt à base de cacaoyer (a) et une association cacaoyer-palmier (b) dans le Centre-Cameroun

I.4. Ennemis du cacaoyer

I.4.1. Ravageurs

Les insectes qui occasionnent des dégâts d'une importance économique sont de la famille des Miridae autrefois appelée Capsidae (Ndoumbè-Nkeng, 2002). Les plus courants appartiennent aux genres *Sahlbergella*, *Distantiella*, *Helopeltis*, et *Monalonion* où on distingue respectivement les espèces *Sahlbergella singularis* Haglund, *Distantiella theobroma* Distant et *Helopeltis antonii*. Les espèces *D. theobroma* et *S. singularis* sont reconnues comme celles ayant un impact économique majeur sur la production du cacao (Babin, 2009). Les dégâts de ces insectes se traduisent par des piqûres sur des rameaux et les cabosses (Figure 2a). Les piqûres infligées aux rameaux et aux cabosses provoquent les nécroses tissulaires et les pertes de feuillage qui dessèche à cause de l'arrêt de l'approvisionnement en sève (Babin, 2009). Elles sont associées à l'apparition des gourmands, une baisse de productivité et favorise souvent l'entrée des champignons opportunistes (Beilhe *et al.,* 2017). Le moyen de lutte le plus utilisé contre les mirides est la lutte chimique bien que la découverte d'ennemis naturels (*Oecophylla longinoda Camponotus* spp, *Gnamptogenys* spp, *Crematogaster* spp, et *Wasmannia auropunctata*,…) permet d'envisager des possibilités de lutte biologique (Delabie *et al*., 2007 ; Mbondji, 2010). Bien que les mirides soient considérées comme les principaux ravageurs du cacaoyer, des travaux ont étudié les phénomènes d'invasion de certains insectes dont : *Achaea catocaloides* Guenee (Erebidae) en Côte Ivoire (N'Guessan *et al*., 2017) et *Carmenta foraseminis* Eichlin (Sessiidae) en Colombie, Venezuela, Pérou et récemment Brésil (Benassi *et al*., 2013 ; Castenada *et al*., 2015). Certains ravageurs tels que les foreurs de tige (Figure 2b) ainsi que des cabosses du cacaoyer *Conopomorpha cramerella*, *Eulophonotus myrmeleon* et *Bathycoelia thalassina* sont passés d'impact mineur à majeur sur la production du cacao (Awudzi, 2017).



Figure 2 : Dégâts des mirides sur les cabosses (a) et ceux des foreurs sur une tige de cacaoyer (b)

I.4.2. Maladies

La pourriture brune des fruits du cacaoyer, la moniliose, le balai de sorcière, le swollen shoot et le vascular streak dieback (trachéomycose) sont les cinq principales maladies du cacaoyer (Tableau 2) responsables des pertes annuelles estimées à 30 % de la production mondiale (Ploetz, 2016). La pourriture brune fera l'objet d'une section plus détaillée présentée ci-dessous.

I.4.2.1. Moniliose

La moniliose est due à *Moniliophthora roreri*, elle sévit en Amérique du Nord Centrale et Sud ainsi que dans certains pays du caraibes (Phillips-Mora *et al*., 2007 ; Ten Hoopen and Phillips-Mora, 2017) où elle représente l'une des maladies fongiques les plus graves du cacaoyer. Elle n'affecte que les tissus méristématiques, elle déforme les cabosses en croissance active sur l'arbre et est responsable de l'apparition des taches brunes et noires sur les cabosses. Elle a provoqué des dégâts importants en Équateur qui ont conduit à la chute drastique de la production, et finalement à l'abandon des plantations par les paysans (Bailey *et al*., 2018). *Moniliophthora roreri* est une espèce envahissante, elle est arrivée au Honduras en 1998; en Guatemala, au Belize et au Mexique entre 2004 et 2005; à Salvador en 2009; en Bolivie en 2012 et très récemment, dans les Caraïbes insulaires, et en Jamaïque en 2016 (Bailey *et al*., 2018 ; Johnson *et al*., 2017 ; Ten Hoopen et Phillips-Mora, 2017). La lutte se fait essentiellement via l'utilisation de fongicides, parfois en combinaison avec les agents de lutte biologique du genre *Trichoderma* (Hidalgo *et al*., 2003 ; Krauss *et al*., 2010).

I.4.2.2. Balai de sorcière du cacaoyer

Cette maladie est due à *Moniliophthora perniciosa,* autrefois appelée *Crinipellis perniciosa*. Elle sévit en Amérique du sud et aux Caraibes. Originaire de la haute Amazonie, elle fut détectée pour la première fois au Surinam. Puis, elle s'est propagée dans le reste de l'Amérique du sud et en partie dans les Caraïbes où elle a ruiné l'industrie cacaoyère plus précisément à Bahia, au Brésil (Pereira *et al*., 1996). Elle entraîne une poussée hypertrophique des bourgeons qui provoque la prolifération exacerbée des rameaux et des coussinets floraux en détruisant les graines dans les jeunes fruits (Nguyem Ban, 1996). Elle conduit à d'énormes pertes conduisant très souvent à l'abandon des plantations car elle présente un très haut risque de contamination (Evans *et al*. 2013). La lutte prophylactique contre cette maladie consiste au maintien de l'ombrage, à la taille sanitaire et à l'incinération des tissus malades. Les applications de fongicides de contact (à base de cuivre) ou systémiques (triazoles) permettent de contrôler la maladie mais sont plus efficaces lorsqu'elles sont associées à la récolte sanitaire. Des travaux sont également effectués sur l'utilisation des agents de lutte biologique tel que *Trichoderma stromaticum* pour contrôler le balai de sorcière (Samuels et Hebbar, 2005).

I.4.2.3. « Swollen shoot cacao disease »

Le Swollen shoot (rameau gonflé) du cacaoyer est une maladie virale décrite pour la première fois par Steven en 1936 et son caractère viral a été mis en évidence par Posnette (Partiot *et al*., 1978). Cette maladie est causée par un virus appelé Cocoa Swollen Shoot Virus (CSSV) et les principaux vecteurs sont les cochenilles de la famille des Pseudococcidae dans laquelle *Pseudococcus njalensis* est l'espèce la plus importante au Ghana et au Togo (Muller, 2016). La maladie se caractérise par des gonflements plus ou moins prononcés de certains rameaux et tiges, l'apparition des symptômes de mosaïques (les plus constants) sur les feuilles. L'arbre atteint de Swollen Shoot reste à l'état moribond improductif parfois et peut mourir après deux ou trois ans. Cette maladie virale est l'une des plus importantes qui affecte la production cacaoyère en Afrique de l'Ouest notamment au Togo, Ghana, et Côte d'Ivoire (Oro *et al*. 2012. Elle est déjà présente au Nigeria, mais n'est pas encore été signalée au Sao Tomé et Principes, Fernando Pô et au Cameroun. Les moyens de lutte sont réduits à l'éradication des arbres infectés et à la lutte contre les cochenilles.

I.4.2.4. « Vascular Streak Dieback » (VSD) ou trachéomycose

C'est une maladie causée par *Ceratobasidium theobromae* (*syn Oncobasidium theobromae*) (Keane, 1974). Elle est présente en Asie du Sud-Est avec des pertes de l'ordre de

20 à 30 % en Papouasie Nouvelle Guinée (Wood et Lass, 1985). Elle se manifeste par un dessèchement progressif des branches de l'extrémité des rameaux vers la tige puis de la mort de l'arbre. L'agent pathogène se disperse principalement par le vent, sur des distances relativement courtes. Les infections de jeunes feuilles des plantules de cacao ainsi que d'arbres matures, se font via la colonisation du xylème qui entraine après environ 3 mois à l'apparition des symptômes caractéristiques de chlorose des feuilles, de chute des feuilles et de dépérissement des branches ou la mortalité des jeunes plants. Récemment, de nouveaux symptômes associés au même pathogène caractérisés par la présence de nécroses marginales et terminales de la feuille et d'une période latente plus longue avant l'abscission des feuilles, ont été observés en Papouasie Nouvelle Guinée Malaisie, Vietnam, Sulawesi, Bali, et Java (Purwantara *et al*., 2009). Les mesures de lutte en pépinière sont préventives au regard de la vulnérabilité des plants à ce stade de développement. Il consiste à produire les plantules sous abri permettant un isolement d'une distance minimales de 150 m des cacaoyers adultes (McMahon et Purwantara, 2016). La mise en quarantaine des plantules pendant une durée d'au moins six mois avant propagation est recommandée. En plantation, l'utilisation de variétés résistantes et la taille régulière des branches infectées permettent de réduire l'incidence de la maladie. La lutte chimique consiste en l'utilisation de fongicides à base de triazoles, mais ils sont inaccessibles pour les petits producteurs au regard des coûts relativement élevés (McMahon et Purwantara, 2016).

Tableau 2 : Principales maladies du cacaoyer, zone de prévalence, estimation de pertes et les moyens de lutte

Maladie	Agent responsable	Zone de prévalence	Pertes	Dégâts	Moyens de lutte
Pourriture brune des cabosses	*Phytophthora megakarya*	Afrique	80%	Pertes de rendement	Lutte chimique Méthodes culturales (récolte sanitaire, régulation de l'ombrage et désherbage) Matériel partiellement résistant
	Phytophthora palmivora	Afrique Amérique latine Asie du Sud-est	30%		
	Phytophthora capsici	Amérique latine Asie du Sud-est	10%		
	Phytophthora citrophthora	Brésil, Inde et Mexique			
« Swollen shoot »	Cacao Swollen Shoot Virus	Afrique de l'Ouest (Togo, Ghana, Nigeria, Côte d'Ivoire)	25 à 50%	Mort des arbres	Arrachage des plants infectés
Balai de sorcière	*Moniliophthora perniciosa*	Amérique latine Caraibes Surinam	-	Arbres improductifs	Élimination des tissus infectés Lutte bio
Moniliose	*Moniliophthora roreri*	Amérique latine (sauf Brésil) Caraibes	40 à 90%	Perte de rendements	Récolte sanitaire Lutte chimique
Vascular streak dieback	*Ceratobasidium theobromae*	Asie du Sud-est	70%	Mort des arbres	Quarantaine

II. LA MALADIE : LA POURRITURE BRUNE DES FRUITS DU CACAOYER

II.1. Historique, importance économique

La pourriture brune des fruits du cacaoyer a été identifiée depuis les années 1900 et son agent pathogène isolé pour la première fois en 1909 par Von Faber et décrit par Maublanc sous le nom de *Phytophthora faberi* Maubl. (Waterhouse, 1970). Ensuite, ce dernier a fait l'objet d'une nouvelle classification par Butler en 1924 sous le nom de *Phytophthora palmivora* longtemps considéré comme l'unique responsable de la pourriture brune des fruits du cacaoyer dans le monde (Cilas et Despréaux, 2004). Les études sur la diversité des isolats de *P. palmivora* conduiront plus tard à l'identification des autres agents responsables de la pourriture brune tous du genre *Phytophthora*. Au moins onze espèces du genre *Phytophthora* sont connues comme potentiels agents de la pourriture brune des fruits du cacaoyer dans le monde. Il s'agit de : *P. palmivora*, l'espèce la plus répandue, elle existe dans presque tous les bassins de production du cacao (Gregory, 1974 ; Griffin, 1977 ; Zentmyer *et al.*, 1977 ; Babacauch, 1980) ; *P. megakarya* l'espèce la plus agressive et exclusivement présente en Afrique centrale et de l'ouest (Djiekpor *et al.,* 1981 ; Nyasse *et al.,* 1999 ; Akrofi, 2015); *P. capsici* / *P. tropicalis* rencontrée dans plusieurs régions tropicales et sub-tropicales (Lawrence *et al.*, 1982 ; Zentmyer *et al.*, 1987 ; Aragaki et Uchida, 2001) ; *P. citrophthora,* présente en Asie et en Amérique latine (Kellam et Zentmyer, 1981); *P. hevae* infecte principalement l'hévéa mais a été isolé sur cabosse en Malaisie (Lozano et Romero, 1984); *P. katsurae* retrouvée sur le cacaoyer en Côte d'ivoire (Liyanage et Wheeler, 1989); *P. meadii* (Sreenivasan 1975), *P. botryosa* (Chee et Wastie, 1970), *P. parasitica*, *P. megasperma* au Venezuela (Vos *et al.,* 2003). La délimitation des espèces *P. capsici* et *P. tropicalis* est encore ambiguë, nous allons dans la suite du document simplifier en évoquant uniquement *P. capsici*.

De toutes ces espèces seules quatre ont un impact économique important sur la production mondiale du cacao notamment : *P. palmivora*, *P. megakarya*, *P. capsici* et *P. citrophthora* (Guest, 2007). À l'échelle mondiale, *P. palmivora* est responsable des pertes de production allant autour de 20 % et de plus 10% de mortalité des cacaoyers (Flood *et al.,* 2004). En outre, au regard de sa présence dans toutes les zones de production, on estime qu'elle seule est responsable des pertes plus importantes que les dégâts causés par les autres espèces. Les espèces *P. capsici* et *P. citrophthora* ont été identifiées comme principales responsables des dommages dûs à la pourriture brune du cacaoyer, dans les pays de l'Amérique centrale et du sud (Erwin et Ribeiro, 1996 ; Guest, 2007). Longtemps confondu à *P. palmivora*, *P. megakarya* a été décrit par Brasier et Griffin (1979) et c'est actuellement l'espèce la plus agressive sur

cacaoyer en Afrique (Akrofi, 2015 ; Ali *et al*., 2016 ; Ndoumbè-Nkeng, 2004). *Phytophthora. megakarya* semble avoir complètement remplacé *P. palmivora* dans les bassins de production au Cameroun, et au Nigéria (Nyassé *et al.,* 1999). Actuellement, elle poursuit son invasion au Ghana et en Côte d'ivoire (Akrofi, 2015 ; Ali *et al*., 2016 ; Dakwa, 1987 ; Koné, 1999 ; Mfegue, 2012). En plus des pays ci-dessus, on la trouve au Gabon, en Guinée Equatoriale, à Fernando Po, à Sao Tomé et au Togo (Figure 3) (Mfegue, 2012 ; Nyassé *et al.,* 1999). L'étude du processus infectieux a permis de montrer que *P. palmivora* pénètre les tissus via les stomates et a un taux de croissance plus rapide qui conduit à la formation accélérée des nécroses dans les tissus de cacao blessés. Alors que *P. megakarya* produit des appressoria qui lui donne l'avantage de pénétrer directement dans les tissus de cacao non blessés entraînant non seulement la formation de nécroses mais aussi une sporulation précoce (Ali *et al*., 2016). Cet avantage aurait permis à *P. megakarya*, de remplacer *P. palmivora* au Cameroun et au Nigéria et son caractère endémique en Afrique Centrale et de l'ouest risque d'entraîner des perturbations importantes dans l'industrie du chocolat.

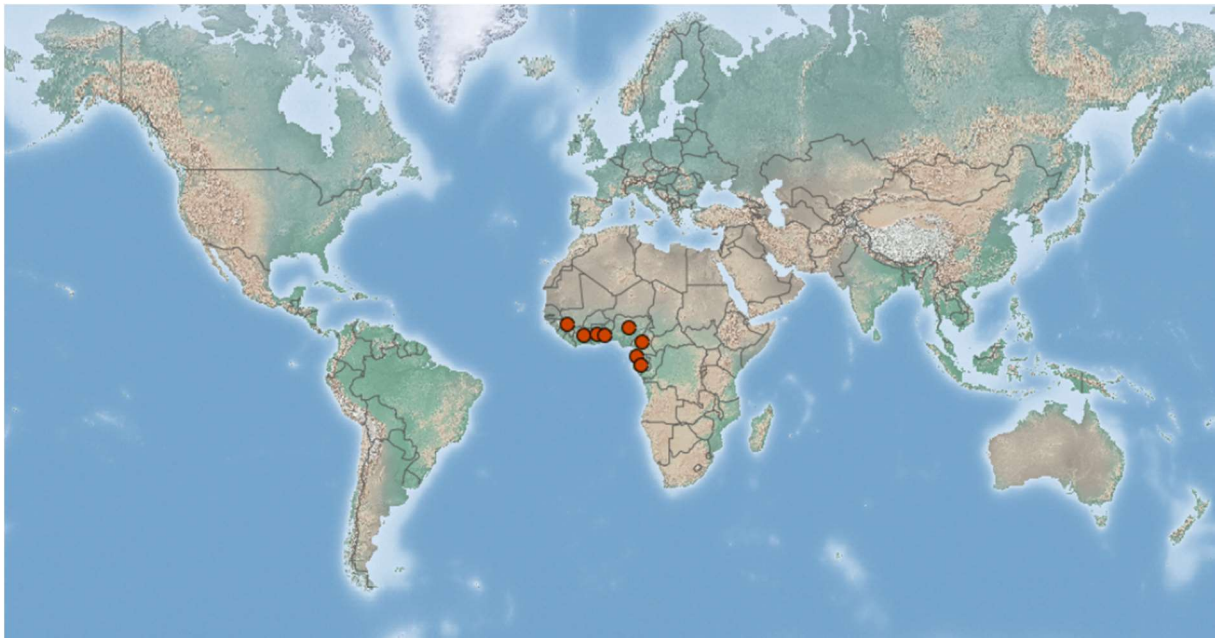

Figure 3 : Carte de distribution de *Phytophthora megakarya* dans le monde

https://www.cabi.org/ISC/datasheet/40979

II.2. Étiologie et symptomatologie

Toutes les propagules de *Phytophthora* sp. notamment : mycélium, sporanges, zoospores, chlamydospores et oospores, sont capables d'initier l'infection chez le cacaoyer. Les zoospores représentent les structures infectieuses les plus importantes tandis que les oospores et chlamydospores sont considérés comme des structures de survie pendant les conditions de

vie défavorables (Drenth et Sendall, 2001). Les infections peuvent produire plusieurs symptômes observables sur différents organes du cacaoyer. Il s'agit notamment de la pourriture des cabosses, le chancre des tiges et rameaux et l'infection des coussinets floraux.

L'infection des cabosses est caractérisée par l'apparition sur le cortex du fruit d'une tâche d'abord translucide ensuite brunâtre qui se recouvre enfin d'un revêtement blanc crème représentant la phase de fructification (sporulation) du pathogène (Figure 1.4) (Akrofi, 2015). Lorsque l'humidité ambiante est élevée, le développement des sporanges peut aboutir à l'infection de la cabosse en 48 heures. Une seule cabosse infectée peut produire plus de 4 millions de sporanges contenant 40 à 50 millions de zoospores, suffisant pour assurer la propagation de la maladie (Medeiros, 1967 ; Akrofi, 2015). Les nécroses résultantes des infections sont généralement observables sur les parties apicales, proximales et latérales des cabosses. Il semble que l'eau très souvent présente autour du pédoncule et sur la partie apicale de la cabosse favorise l'infection au niveau de ces parties.

Le chancre se développe principalement sur les tiges et les rameaux, et résulterait probablement de la propagation du mycélium de la cabosse vers la tige à travers les coussinets floraux. Il est très souvent caractérisé par le développement nécrotique de couleur brune de l'écorce autour du tronc, les tissus affectés libèrent un liquide aqueux à gommeux et de couleur allant du gris au brun terne (McMahon et Purwantara, 2004). Les blessures présentes sur les tiges peuvent également favoriser la présence du chancre (Konam et Guest, 2004).

Bien que peu étudiées, les infections des coussinets floraux seraient étroitement liées au chancre et à l'apparition des nécroses sur la partie proximale des cabosses (Wharton, 1957 ; Maddison et Griffin, 1981). Les structures infectieuses peuvent survivre dans la tige et les coussinets floraux plus de 4 mois en période sèche, ce qui constituerait un réservoir d'inoculum permettant d'initier l'épidémie dès le retour des pluies (Vernon 1971 ; Wharton, 1974 ; Brasier *et al*., 1981).

En revanche, les études ayant fait état des symptômes de chancre et d'infections des coussinets floraux ont eu lieu dans les régions où *P. palmivora* était prédominant (Drenth et Guest, 2013 ; McMahon et Purwantara, 2004). Tandis que certaines (Vernon 1971 ; Wharton, 1974) s'étaient réalisées avant la découverte de *P. megakarya*. Par conséquent, l'implication de *P. megakarya* dans les symptômes de chancre et d'infections de coussinets floraux est peu documentée. En effet, une relation de cause à effet entre la présence de chancre et celle de *P. megakarya* n'a pas encore été prouvée. Appiah *et al*., (2004) ont pu établir le lien entre la présence du chancre et celle de *P. megakarya*, sachant que dans les aires échantillonnées, *P. palmivora* responsable du chancre cohabite avec *P. megakarya*, il n'est pas exclu que *P.*

megakarya puisse survivre dans les chancres. De plus, les travaux d'Ali *et al*. (2016) ont montré ques sur 39 souches isolées à partir des cabosses infectées au Ghana comme *P. megakarya* 38 appartenaient plutôt à l'espèce *P. palmivora* ce qui suggère la difficuté à distinguer les deux espèces exclusivement à partir des critères morphologiques.

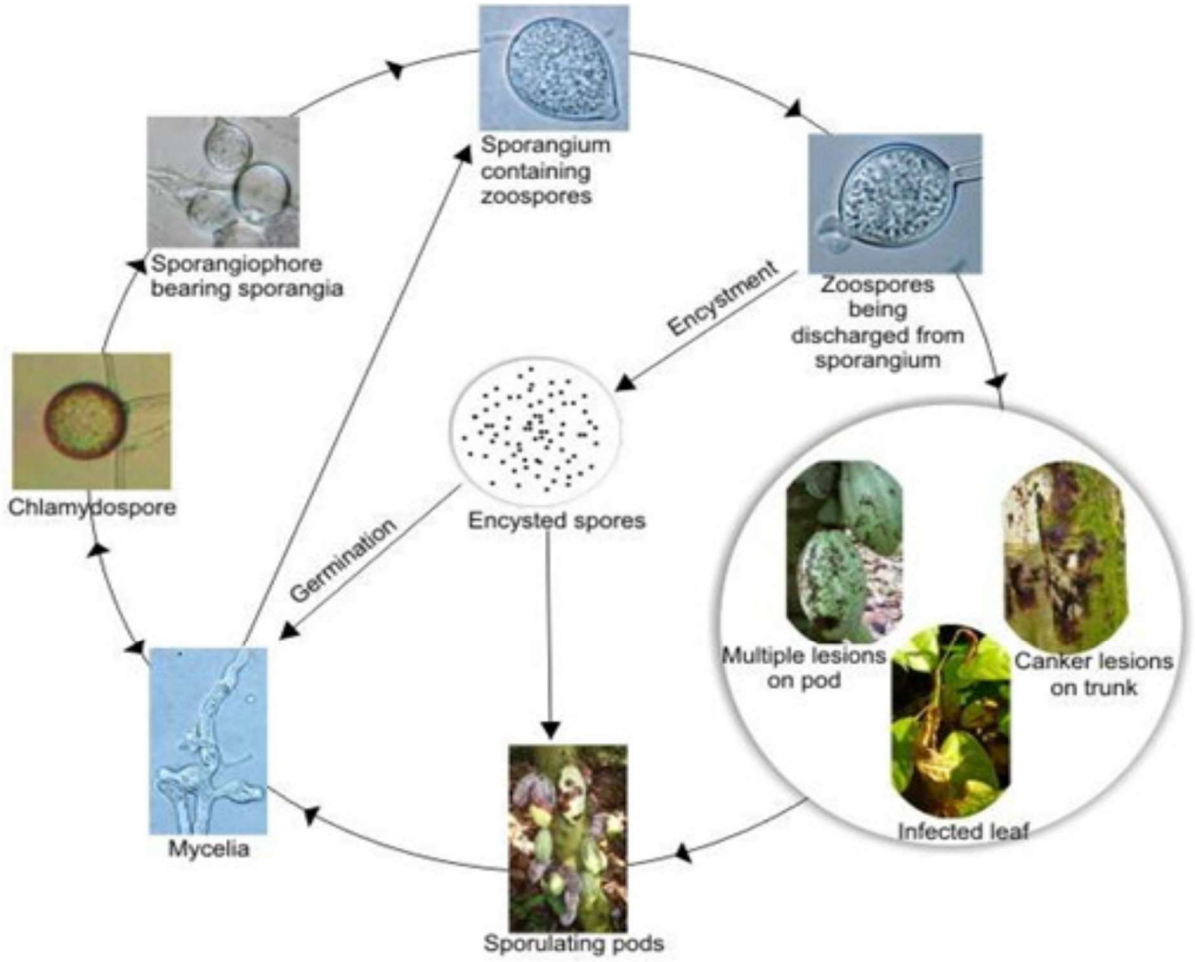

Figure 1.4 Cycle de la pourriture brune du cacaoyer due à *Phytophthora* sp. (Akrofi, 2015)

II.3. Méthodes de lutte

II.3.1. Lutte culturale

Le désherbage, la taille et la récolte sanitaire sont les opérations qui contribuent à réduire la dissémination de l'inoculum dans la plantation. La récolte hebdomadaire des cabosses momifiées en début de campagne et celles pourries pendant la saison pluvieuse ; la régulation d'ombrage par la taille des gourmands permettent de limiter les pertes dues à la pourriture brune jusqu'à 11-30 % selon les années (Ndoumbè-Nkeng *et al*., 2004). Les travaux de Nembot *et al*., (2018) ont montré que la récolte phytosanitaire (enlèvement des cabosses infectées et momifiées) serait plus efficace sans source extérieure d'inoculum suggérant ainsi l'importance

d'identifier les réservoirs d'inoculum. La présence de la litière ou de la paille contribue à réduire l'impact des éclaboussures qui sont les principaux moyens de transport de l'inoculum du sol vers les cabosses. C'est ainsi que les travaux de Konam et Guest (2002) ont révélé que la litière constitue pour le pathogène une barrière physique et favorise également l'activité des micro-organismes antagonistes. Toutefois, les résultats obtenus sur un essai conduit au Cameroun n'ont pas montré une influence significative de la présence ou de l'absence de la litière sur l'incidence de la pourriture brune due à *P. megakarya* (Ndoungué *et al*., 2018)

II.3.2. Lutte génétique

La sélection de cacaoyers présentant une moindre sensibilité à la pourriture brune reste une priorité vue l'importance des pertes occasionnées par cette maladie d'une part et des contraintes liées à l'utilisation des pesticides d'autre part. Il n'existe pas des cacaoyers totalement résistants, toutefois à travers des inoculations artificielles, les travaux de recherche ont pu repérer quelques clones moins sensibles parmi lesquels : SNK16, SNK413, UPA 134, SCA12, SCA6, IM47, T79/501, T79/467 (Mbondji, 2010). La plupart des arbres sont sensibles tandis que d'autres échappent à la pourriture parce que leur cycle de fructification se situe en dehors de la période favorable au développement de la maladie (Mpika *et al*., 2009). Pour les agents pathogènes qui n'ont pas évolués avec le cacaoyer, le centre de diversité pourrait être une source de résistance pour ces derniers. En effet, des espèces sauvages de la Guyane Française ont montré une résistance vis à vis de *P. megakarya* (Paulin *et al.,* 2008). Le caractère pérenne du cacaoyer rend l'évaluation de la résistance via le suivi des générations particulièrement coûteuse et chronophage (Irizarry et Rivera 1998) et demande des décennies pour obtenir les nouveaux clones commercialement disponibles. Toutefois, les travaux d'Efombagn *et al.* (2011) ont montré que l'évaluation de la résistance du cacaoyer via l'inoculation des feuilles et des cabosses détachées pourrait accélérer la vitesse du processus de sélection. L'utilisation des outils moléculaires via l'identification des loci de caractères quantitatifs (QTL) de résistance, les marqueurs microsatellites, et la génomique a fait l'objet de nombreux travaux (Brown *et al*., 2007; Lanaud *et al.*, 2009 : Argout *et al.*, 2011) qui ont permis d'explorer d'avantage la diversité génétique du cacaoyer dans l'optique de développer des variétés résistantes.

II.3.3. Lutte chimique

Elle est la méthode couramment utilisée et s'est montrée relativement efficace dans le contrôle de la maladie (Deberdt *et al*., 2008). Les fongicides généralement utilisés par les

producteurs sont soit des fongicides de contact à base d'oxyde de cuivre, soit des fongicides systémiques à base de métalaxyl. Par ailleurs l'accessibilité et le coût des fongicides constituent une contrainte de production ; de plus, l'application des fongicides est un travail contraignant et pénible pour le producteur ; les risques de pollution, de perte de la biodiversité et de développement de la résistance chez l'agent pathogène ne sont pas à négliger (Fontem *et al*., 2005 ; Norgrove, 2007 ; Sonwa *et al*., 2008). Au regard des coûts liés à l'utilisation des pesticides, la cacaoculture peut être une activité lucrative pour les producteurs si le prix d'achat du cacao au niveau des producteurs est revu à la hausse (Gockowski *et al*., 2010)

II.3.4. Lutte biologique

L'utilisation de micro-organismes comme agent de lutte biologie est également explorée dans le but d'améliorer les stratégies de lutte contre la pourriture brune des fruits du cacaoyer. Depuis quelques années, nombreuses espèces du genre *Trichoderma* ont fait l'objet des travaux de recherche dans de plusieurs pays notamment: au Brésil, au Cameroun, en Côte d'Ivoire et au Costa Rica (Hildago *et al*., 2003 ; Tondje *et al*., 2007 ; Mpika *et al*., 2009 ; Ten Hoopen & Krauss, 2016). Les recherches au Cameroun se résument à l'évaluation de l'activité antagoniste en milieu contrôlé et naturel (Tondje *et al*., 2007 ; Deberdt *et al*., 2008 ; Ndoungué *et al*., 2018); et à la préparation des formulations des souches de *Trichoderma* utilisées (Mbarga *et al*., 2014).

III. L'AGENT PATHOGENE : les *Phytophthora* du cacaoyer

III.1. Taxonomie et classification

Autrefois classés parmi les champignons, les *Phytophthora* sont connus aujourd'hui comme des organismes apparentés aux algues brunes et diatomées (Tyler *et al*., 2006). Bien que semblables aux champignons par de traits morphologiques de type mycellien, les *Phytophthora* diffèrent de ces derniers par de mécanismes génétiques et de reproduction (Erwin et Ribeiro, 1996). Par exemple, leur paroi cellulaire contient de la cellulose au lieu de la chitine comme chez les champignons. Les *Phytophthora* appartiennent ainsi au groupe des Stramenopiles, et à la famille des Peronosporaceae (Blair *et al*, 2008 ; Tyler *et al*., 2006). Ils sont principalement diploïdes au cours de leur cycle de vie (Figure 5), produisant une phase transitoire haploïde avant la fécondation (Dick, 1992). Plusieurs classifications ont été utilisées pour délimiter les espèces au sein du genre *Phytophthora* notamment celle basée sur les caractéristiques morphologiques des structures reproductrices (Stamps *et al*., 1990; Waterhouse, 1970) et celle basée sur l'ancêtre commun (Blair *et al*, 2008). Une étude phylogénétique a permis de distinguer les espèces de *Phytophthora* en dix clades (Blair *et al*,

2008 ; Kroon *et al.,* 2012). Les espèces *P. megakarya* et *P. palmivora* sont classées dans le clade 4 qui regroupe principalement les espèces à sporanges papillés et pathogènes des racines, tandis que *P. capsici* et *P. citrophthora* sont dans le clade 2 où sont majoritairement présentes les espèces à sporanges papillés et semi-papillés (Kroon *et al.,* 2012). La combinaison de ces deux classifications permet d'avoir des caractéristiques plus détaillées de certaines espèces (Tableau 3) (Drenth et Sendall, 2001; Martin *et al.,* 2012).

Tableau 3 : Classification des *Phytophthora* du cacaoyer en fonction de leur phylogénie, et les caractéristiques de reproduction

	P. megakarya	*P. palmivora*	*P. capsici*	*P. citrophthora*
Clade	4	4	2b	2a
Groupe WH*	II	II	II	II
Mode de reproduction	Hétérothallique	Hétérothallique	Hétérothallique	ambigu
Sporanges	Papillés et amphigines	Papillés et amphigines	Papillés et amphigines	Papillés et amphigines
Hôte	*T. cacao*	multiple	multiple	multiple
Température optimale	25°C	27-30°C	28°C	24-28°C

* WH = classification faite par Waterhouse (1963)

III.2. Biologie et reproduction

Les *Phytophthora* sont diploïdes à l'état végétatif et présentent deux modes de reproduction : asexuée et sexuée. La majorité des espèces sont homothalliques (58%) tandis que 38% sont potentiellement bisexuées ou hétérothalliques et 4% sexuellement stériles (Cooke *et al.*, 2000 ; Blair *et al*, 2008). Le mode de reproduction sexuée chez les espèces hétérothalliques exigent la rencontre de deux types sexuels A1 et A2 pour la formation d'une oospore alors que les homothalliques sont capables de s'autoféconder (Figure 1.5). Toutes les espèces pathogènes du cacaoyer sont hétérothalliques à l'exception de *P. citrophthora* dont la situation est encore ambiguë (Kroon *et al.,* 2012). Chez *P. megakarya*, la prédominance du type

sexuel A1 sur le type A2 et la production abondante *in vivo* des sporanges comme structures de reproduction indiquent qu'il se reproduit généralement par voie clonale (Mfegue, 2012). Cependant, les deux types de croisement ont été signalés au Cameroun, en Guinée équatoriale, au Ghana et au Nigeria (Appiah *et al*., 2003; Nyassé *et al*., 1999). Bien que des croisements interspécifiques sont possibles au sein du genre *Phytophthora*, les oospores obtenus en laboratoire par croisement des types sexuels issus de *P. megakarya* et de *P. palmivora* sont stériles et peu viables. Par conséquent, la coexistence de *P. megakarya* et de *P. palmivora* dans certaines régions ne pourrait donner lieu à une nouvelle espèce.

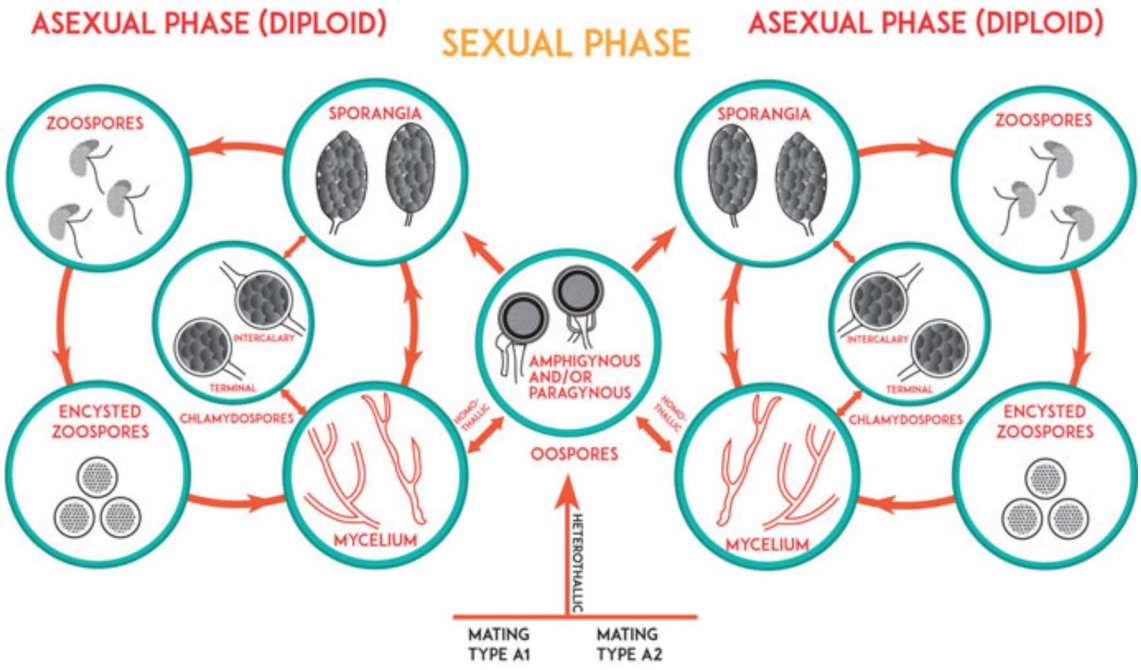

Figure 5 : Cycle de reproduction de Phytophthora sp. (Surujdeo-Maharaj et al. 2016)

III.3. Hôtes alternatifs

L'espèce *P. palmivora* est reconnue comme un agent pathogène possédant une gamme d'hôtes assez large. En dehors du cacaoyer, elle peut causer des maladies à bien plus de 200 espèces de plantes (Erwin et Ribeiro, 1996). Cette capacité d'infection lui aurait permis de se disséminer dans toutes les régions de production du cacao. *Phytophthora capsici* cause également des maladies sur les cucurbitacées, solanacées et, plus récemment sur certains haricots (Lamour *et al.,* 2012) tandis que *P. citrophthora* a été recensé sur les *Citrus* spp et l'hévéa (Kellam et Zentmyer 1986). Le cacaoyer est la seule espèce où *P. megakarya* cause des dégâts d'importance économique. Toutefois, *P. megakarya* a été isolé sur certaines espèces de plantes généralement associées au cacaoyer donc présentes dans les plantations. Il s'agit de

Cola nitida (Nyassé *et al.,* 1999), *Irvingia* sp. (Holmes *et al*., 2003), *Dracaena mannii*, *Funtumia elastica*, *Ricinodendron heudelotii* et *Sterculia tragacantha* (Opoku *et al*., 2002) et récemment sur *Ananas comosus*, *Athyrium nipponicum*, *Carica papaya*, *Colocasia esculenta*, *Elaeis guineensis*, *Mangifera indica*, *Musa spp*., *Persea americana* et *Xanthosoma sagittifolium* (Akrofi *et al*., 2015). Des études complémentaires restent néanmoins à faire pour élucider leur rôle dans le déroulement de l'épidémie due à *P. megakarya.*

III.4. Techniques d'isolement et d'identification

Plusieurs méthodes d'isolement des *Phytophthora* à partir des échantillons du sol, d'eau et les tissus infectés existent (Drenth et Sendall, 2001; Tjosvold *et al.,* 2002 ; Husson *et al.,* 2006 ; Martin *et al.,* 2012). L'isolement peut se faire soit de manière directe via la mise en culture sur milieux sélectifs, soit de manière indirecte par l'utilisation de pièges biologiques (organes de plantes susceptibles d'être infectés par l'espèce cible). Pour les *Phytophthora* du cacaoyer, les cabosses ainsi que les organes des hôtes alternatifs sont généralement utilisés comme appât.

Bien que *P. palmivora* et *P. megakarya* soient semblables pour des caractères morphologiques, génétiques et comportementaux (Cooke *et al*., 2000; Kroon *et al*., 2004), certaines caractéristiques ont permis de différencier ces deux espèces responsables de la pourriture brune des fruits du cacaoyer :

- l'espèce *P. megakarya* possède des sporanges papillés avec une forme légèrement sphérique, les pédicelles de taille comprise entre 10 et 30 µm ne sont pas occlus, ses chromosomes sont plus grandes (large type « L ») et sont au nombre de 5 ou 6 ;
- l'espèce *P. palmivora* possède des sporanges de forme sphérique à ovale avec des pédicelles courts (2 à 5 µm) et occlus, ses chromosomes sont petits (Small type « S ») et le nombre compris entre 9 et 12 (Akrofi, 2015 ; Brasier et Griffin, 1979 ; Sansome *et al*., 1975 ; Sansome *et al*., 1979 ; Stamps, 1985).

L'avènement récent des outils moléculaires en complément à la description morphologique, a permis non seulement de révéler l'existence de nouvelles espèces au sein du genre *Phytophthora* (Kroon *et al*., 2012), mais aussi de décrire la variabilité inter et intra spécifique

III.5. Variabilité génétique et structure des populations pathogènes

Les premiers travaux de différentiation des morphotypes (Ashby, 1929 ; Turner, 1961) recensés au sein de l'espèce *P. palmivora* (seule responsable de la pourriture brune à cette

période) ont servi de base à l'étude de la variabilité inter et intra spécifique des *Phytophthora* du cacaoyer (Cilas et Despréaux, 2004). Sur la base des critères morphologiques précis, les souches de *P. palmivora* isolées sur cacaoyer avait été différenciées en quatre groupes nommés MF1, MF2, MF3 et MF4 qui ont finalement conduit à l'obtention de trois espèces donc le groupe MF1 comme *P. palmivora* et MF2 son variant atypique (Griffin 1977), MF3 comme une nouvelle espèce *P. megakarya* (Brasier et Griffin, 1979) et MF 4 rattaché à *P. capsici*. À la suite de ces travaux, les schémas protéiques et enzymatiques (Kaosiri et Zentmyer 1980) ont été parmi les premiers marqueurs biochimiques utilisés pour séparer *P. megakarya* des d'autres espèces de *Phytophthora* du cacao, puis les techniques d'analyse de l'ADN via la PCR, avec les marqueurs RFLP, ITS, SSR et l'analyse du génome vont suivre (Cooke *et al*., 2000; Kroon *et al*., 2004; Martin et Tooley, 2004; Panbieres *et al*., 1989, Mfegue *et al*., 2012 ; Ali *et al*., 2017). Ces outils ont permis non seulement de différencier les espèces mais aussi d'étudier la structure de leurs populations, afin d'apprendre d'avantage sur leur évolution, leur mode de reproduction ainsi que les interactions avec leur (s) hôte (s).

Le caractère hôte non spécifique de *P. palmivora* a permis d'étudier les populations dont les individus provenaient de plusieurs régions de la planète et souvent de plusieurs hôtes. Nombreux travaux (Appiah *et al.* 2004 ; Förster *et al*. 1990 ; Oudemans et Coffey 1991) ont montré que les populations de *P. palmivora* étaient relativement homogènes avec une faible hétérozygotie bien qu'une faible différentiation génétique ait été observée entre les pays et parfois entre les régions d'un même pays. Par contre les populations de *P. capcici* ont montré une plus grande diversité génétique probablement grâce à leur fort taux de recombinaison sexuelle (Lamour et Hausbeck 2001). Comme *P. palmivora*, *P. capcici* est un agent pathogène de plusieurs plantes mais les études de populations ont révélé une différentiation selon les zones géographiques et selon les hôtes (Bowers *et al*. 2007), en effet, une forte variabilité a été observée au sein des souches isolées sur cacao. Quant à *P. megakarya*, l'utilisation des isozymes et des marqueurs d'amplification aléatoire (RAPD) ont permis au niveau de son aire géographique de différencier deux groupes génétiques dont un en Afrique de l'Ouest et l'autre en Afrique Centrale (Nyassé *et al*., 1999) et un groupe intermédiaire a été récemment révélé via les microsatellites (Mfegue, 2012). Malgré le niveau élevé de déséquilibre de liaison observé suggérant un mode de reproduction clonale, une plus grande diversité a été observée dans les populations du Cameroun, ce qui suggère que ce pays pourrait probablement être le centre de diversité de cette espèce de *Phytophthora* (Mfegue, 2012). Des travaux similaires ont été effectués chez d'autres espèces de *Phytophthora* notamment *P.infestans*, *P. alni* et *P. ramorum* (Ivors *et al*., 2006 ; Montarry *et al*., 2010 ; Croucher *et al*., 2013) et chez certains champignons

(Rieux *et al*., 2014 ; Xhaard *et al*., 2012) dans le but de retracer les routes d'invasion ou d'introduction dans de nouvelles aires géographiques. Il semble logique que *P. megakarya* se serait dispersé de l'Afrique Centrale donc du Cameroun vers l'Afrique de l'Ouest où il coexiste dans les plantations avec *P. palmivora* (Akrofi, 2015 ; Ali *et al*., 2016). L'épidémiologie moléculaire est donc très souvent utilisée à des échelles régionales ou continentales pour étudier les migrations de populations pathogènes, ou pour identifier les centres d'origine de maladies ou des effets fondateurs via les analyses phytogéographiques. Elle peut cependant être utilisée à des échelles spatio-temporelles plus fines notamment à l'échelle d'une unité de production voir parcellaire pour mieux appréhender les dynamiques épidémiques ainsi que les mécanismes de dispersion de l'inoculum (Humeau *et al*., 2006 ; Ravelomanantsoa, 2016 ; Suffert, 2016).

III.6. Mécanismes de dispersion

Les maladies causées par les *Phytophthora* peuvent être dispersées par plusieurs mécanismes de dispersion, notamment via le sol, les eaux de surface et d'irrigation, les éclaboussures (du sol vers les feuilles, les tiges et les fruits), le vent (à partir de la sporulation sur les feuilles, les tiges et les fruits), les activités humaines et celles des invertébrés (Ristaino et Gumpertz, 2000).

L'inoculum présent dans le sol constitue généralement pour les *Phytophthora* une réserve pour le développement des épidémies subséquentes. La dispersion dans le sol s'opère principalement par contact direct entre l'inoculum et les racines de la plante hôte ou indirectement via les tissus infectés. Ce mode de dispersion est caractérisé par l'agrégation de l'inoculum dans certains endroits de la parcelle et la densité des propagules de l'agent pathogène décroit avec la profondeur du sol et la distance entre les plants (Larkin *et al*., 1995). L'inoculum présent dans le sol est dynamique et peut être influencé par les propriétés physiques et chimiques du sol en relation avec la présence et la croissance des racines sensibles (Ristaino et Gumpertz, 2000).

La dispersion à travers les éclaboussures est décrite comme l'impact des gouttes de pluies sur le sol permettant le transport de l'inoculum via les éclaboussures du sol vers les parties aériennes (tiges, feuilles et fruits) de la plante. Ce mode a été identifié comme principal moyen de dispersion des agents de la pourriture brune du cacaoyer notamment *P. palmivora* et *P. megakarya* (Madden, 1998). Les épidémies résultant de ce mode de dispersion ont une expansion modérée avec des foyers locaux alors que le mouvement vertical est intense. Par ailleurs l'action cumulée du vent et de la pluie peut permettre le transport de l'inoculum sur des distances relativement plus longues. Il a été montré que par ce mécanisme, les sporanges de *P.*

palmivora atteignaient plus de 70 cm de hauteur tandis que l'inoculum véhiculé par les aérosols arriverait au niveau de la canopée des cacaoyers (McMahon et Purwantara, 2004).

Les *Phytophthora* de façon générale ont une affinité étroite avec l'eau car les zoospores pourvues de deux flagelles sont capables de nager. En outre, la libération des zoospores dans l'eau en mouvement peut leur permettre de se disperser sur de longues distances (Orlikowski, *et al*., 2009). Certaines espèces de *Phytophthora* ont été isolées dans les eaux de surface utilisées couramment comme source d'eau pour l'irrigation des plantes dans plusieurs régions du monde. L'irrigation des plantes avec une eau infectée peut être à l'origine d'une propagation rapide de l'épidémie en champ. Le mouvement de l'inoculum assuré par les eaux de surface serait un important mécanisme de dissémination des maladies polycycliques dues à *Phytophthora* sp. Ristaino et Gumpertz (2000) ont montré que ce mécanisme est très présent chez l'espèce *P. capsici* où l'inoculum peut être dispersé à plus de 70 m du point initial d'infection comparativement à *P. parasitica* (dispersion dans le sol) dont l'inoculum ne peut aller qu'à 2 m du point de la source (racine infectée).

Ce moyen de dispersion à travers les eaux de surface a été démontré pour certaines espèces du genre *Phytophthora* comme chez *P. alni*, agent responsable du dépérissement de l'aulne (Husson *et al.,* 2006; Themann *et al.,* 2002). En plus, plusieurs autres espèces ont été isolées dans les cours d'eau, les puits et les sources (Hüberli *et al.,* 2013). Le sol étant le principal réservoir de l'inoculum primaire, une dispersion de *P. megakarya* à travers les eaux de surface peut être une éventualité.

La dispersion des *Phytophthora* à travers les activités humaines est essentiellement attribuée au transport du matériel végétal infecté, du sol et des équipements contaminés. Tjosvold *et al.,* (2002) ont pu mettre en évidence le transport de l'inoculum de *P. ramorum* via la terre collée sur les chaussures des visiteurs dans un parc en Californie. Les échanges de matériel végétal seraient responsables des migrations des organismes phytopathogènes à l'échelle mondiale. Le démarrage de l'épidémie du mildiou de la pomme de terre en Europe et aux USA dans les années 1970 a été attribué au mouvement des tubercules infectés provenant du Mexique assuré par l'homme (Fry et Goodwin, 1997). L'ubiquité de *P. palmivora* dans les zones de production cacaoyère est probablement due aux échanges de variétés cacao. Il semblerait que par ce même processus *P. megakarya* a atteint les autres pays d'Afrique ; au Ghana en 1985 (Dakwa, 1987) et à la fin des années 90 la Côte d'Ivoire (Koné, 1999).

Les invertébrés tels que les fourmis, les termites et les escargots peuvent assurer le mouvement de l'inoculum (Evans, 1973). Taylor & Griffin (1981) ont montré que les fourmis noires (*Crematogaster striatula*), sont responsables du transport vertical (du sol vers la

canopée) de l'inoculum. Tandis que les tentes de fourmis construites autour des pédoncules de cabosses contiennent souvent des débris de cabosses infectées et peuvent conduire à des infections (Konam et Guest, 2004).

Une meilleure connaissance des mécanismes de dispersion est essentielle pour améliorer les stratégies de lutte contre les agents pathogènes de la pourriture brune du cacaoyer notamment *P. megakarya* qui représente actuellement une réelle menace pour le potentiel de production africaine. La connaissance des mécanismes de dispersion offre la possibilité de prévenir l'arrivée et de réduire la propagation de la maladie. Bien que la dispersion soit difficile à mesurer directement dans les agrosystèmes naturels (Bullock *et al*., 2006), l'approche descriptive des dynamiques épidémiques dans le temps et dans l'espace constitue un moyen d'explorer les mécanismes de dispersion.

IV. ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA POURRITURE BRUNE DUE À *PHYTOPHTHORA MEGAKARYA*

Les symptômes de la pourriture brune due à *P. megakarya* peuvent facilement être confondus à ceux des autres espèces de *Phytophthora* qui causent la pourriture brune (Gregory et Madison, 1981 ; Zentmyer, 1987). Toutefois les lésions présentes sur les cabosses infectées par *P. megakarya* ont une forme irrégulière comparativement à celles dues à *P. palmivora* qui sont plutôt régulières (Erwin et Ribeiro, 1996). Les cabosses sont les organes privilégiés et sont sensibles quel que soit leur stade de développement (Deberdt *et al*. 2008, Takam *et al*., 2013).

Généralement, avec l'arrivée des pluies, les cabosses proches du sol (Figure 1.6) sont les premiers organes infectés via les éclaboussures et produisent l'inoculum secondaire qui assurera par la suite la propagation de la maladie (Gregory *et al*, 1984 ; Ndoumbè-Nkeng, 2004). La dispersion de *P. megakarya* peut également se faire à travers la dissémination du matériel végétal sous forme de plants issus des pépinières où les pots sont remplis avec un sol contaminé ou l'utilisation d'une eau contaminée lors de l'arrosage de ces derniers.

Quant aux conditions d'installation de *P. megakarya*, les facteurs environnementaux semblent déterminants pour l'évolution de l'épidémie (Ndoumbè-Nkeng *et al.,* 2009). Une humidité relative supérieure à 80 % et des températures comprises entre 24 et 26 °C sont optimales pour le développement de *P. megakarya* (Erwin et Ribeiro, 1996 ; Dakwa, 1987 ; Puig *et al*., 2018). Mais température et humidité relative deviennent moins importantes en présence des pluies, l'évolution de l'épidémie semble fortement influencée par le régime pluviométrique (Gregory et Madison, 1981 ; Deberdt *et al.,* 2008). Une étude dans deux régions contrastées au Cameroun a montré que l'incidence de la maladie était plus importante sur

régime monomodale que sur régime bimodale (Ndoumbè-Nkeng *et al.*, 2004). En absence des cabosses, les propriétés physico-chimiques du sol ainsi que sa biodiversité peuvent affecter la durée de vie de l'inoculum mais très peu d'études ont porté sur cet aspect.

Les pluies constituent le principal facteur de déclenchement de la maladie et de dispersion de l'inoculum via les éclaboussures. En effet, selon Gregory *et al*., (1984) les grandes pertes de production (71 %) sont dues à la contamination de proche en proche à partir des cabosses infectées, en présence d'eau libre, les sporanges libèrent les zoospores qui grâce à leurs deux flagelles nagent et peuvent être dispersées sur des distances relativement courtes d'où l'existence des foyers d'infections dans les parcelles. Le sol est un important réservoir de *P. megakarya* et sert d'initiateur primaire du cycle d'infection (Figure 6). Gregory *et al.,* (1984) attribue 5 % des contaminations au sol tandis que les activités des termites et fourmis ainsi que celles des rongeurs et d'autres insectes dans les parcelles représentent respectivement 5,8 %, et 4,9 % et les sources indéterminées (10,9 %). La dispersion de *P. megakarya* sur de longues distances, les mécanismes et les facteurs qui sont à l'origine des premières infections dans les parcelles saines sont encore mal connus. D'après Griffin *et al.,* (1981) les infections primaires proviennent partiellement du sol et des tentes construites par les fourmis et termites alors que au moins 40% sont attribués à des sources indéterminées. Il semble cependant que certaines espèces de fourmis telles que *Camponotus* spp, *Odontomachus* spp et *Pheidole* spp soient plus impliquées dans la dissémination de l'inoculum de *P. megakarya* (Ngwohgi, 2015).



Figure 6 : Symptômes de pourriture brune sur des cabosses proches du sol dans une parcelle au Cameroun (Ndoungué)

CHAPITRE II: DYNAMIQUE SPATIO-TEMPORELLE DES INFECTIONS PRIMAIRES DUE A *PHYTOPHTHORA MEGAKARYA* DANS LES JEUNES PARCELLES CACAOYERES

INTRODUCTION

La pourriture brune des fruits du cacaoyer due à *Phytophthora megakarya* est la principale contrainte de production du cacao au Cameroun (Ndoumbè-Nkeng *et al*., 2004). Cette maladie se déroule essentiellement pendant les épisodes pluvieux et peut causer des pertes de l'ordre 80% en absence de mesures de contrôle (Ali *et al*., 2016; Ndoumbè-Nkeng, 2002). L'infection due à *P. megakarya* est caractérisée par l'apparition sur le cortex des cabosses du cacaoyer, d'une ou plusieurs tâches d'abord translucides ensuite brunâtres qui se recouvrent enfin d'un revêtement blanc crème (Akrofi*, et al.,* 2015). Les pluies constituent le principal facteur de déclenchement de la maladie et de dispersion de l'inoculum via les éclaboussures (Gregory *et al.,* 1984, Ndoumbè-Nkeng *et al*., 2009). En effet, la contamination de proche en proche à partir des cabosses infectées occasionnerait environ 71% des pertes de production (Gregory *et al.,* 1984). Le sol est considéré comme un important réservoir de *P. megakarya* et constitue la principale source d'inoculum primaire (Griffin *et al.,* 1981 ; Mfegue, 2012). Outre le sol, les coussinets floraux, les cabosses momifiées et certaines plantes généralement associées au cacaoyer sont également cités comme potentielles sources d'inoculum de *P. megakarya* (Akrofi, 2015; Akrofi *et al*., 2015; Holmes *et al*., 2003; Opoku *et al*., 2002). La dispersion de *P. megakarya* se fait principalement sur de courtes distances via les éclaboussures (Gregory, 1974; Gregory *et al*., 1984; Ndoumbe-Nkeng *et al*., 2017; Ristaino et Gumpertz, 2000; Ten Hoopen *et al*., 2010). Toutefois, une dispersion sur des distances relativement longues est possible à travers les eaux de ruissellement, les fourmis, les rongeurs et l'homme.

Connaitre les mécanismes de dispersion permettrait d'identifier les moyens de limiter l'arrivée et/ou de réduire la propagation de la maladie. Par ailleurs les analyses spatiotemporelles permettent de formuler les hypothèses sur les mécanismes de dispersion sous-jacents (Dale, 1999). De pareils travaux (Ndoumbe-Nkeng *et al.,* 2017; Ten Hoopen *et al*., 2010) effectués au sujet de *P. megakarya* ont eu lieu dans de vielles plantations regorgeant déjà un inoculum endogène important et n'ont pas permis en conséquence de visualiser les scenarii à l'origine des patterns observés.

Ce chapitre a pour objectif l'analyse spatiotemporelle des infections primaires dans les parcelles cacaoyères nouvellement installées pour une meilleure compréhension du processus de dispersion de *P. megakarya*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- **Dispositif expérimental**

L'étude a été menée dans trois (03) localités de la Région du Centre-Cameroun : Ngat, Bakoa et Kédia (Figure 7). Ces localités appartiennent à la zone agro-écologique dite forestière à régime pluviométrique bimodal. Les travaux ont portés sur des parcelles cacaoyères installées en 2006 sous système de cultures innovant. Les cacaoyers issus des croisements ou du greffage sont associés à une culture précise soit au palmier à huile *(Elaies guineensis*), soit au cocotier (*Cocos nucifera*) soit aux fruitiers *(Citrus* spp, *Persea americana*, *Dacryodes edulis*).

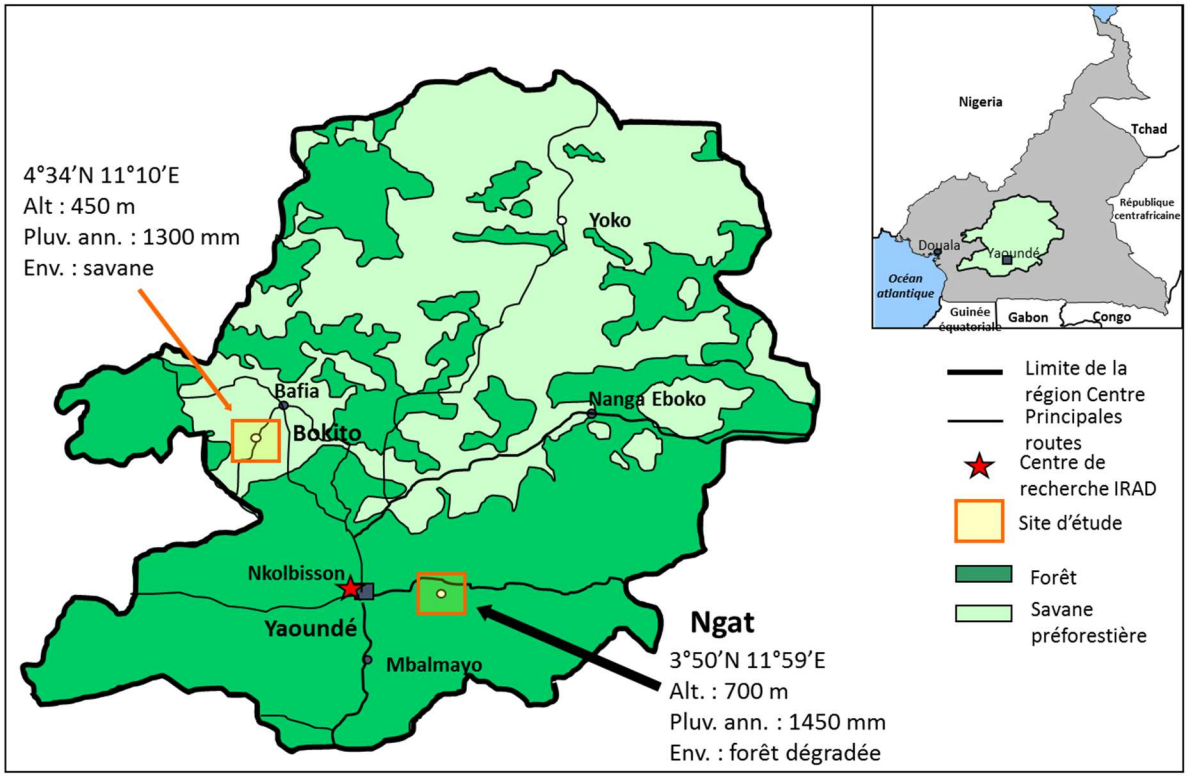

Figure 7: Présentation des sites d'étude dans la région du Centre-Cameroun

- **Collecte des données**

Le suivi des parcelles sur le terrain à travers des observations hebdomadaires a permis d'obtenir les données relatives à la présence / absence des cabosses saines et des cabosses infectées.

Le piégeage de *P. megakarya* dans le sol a été fait via l'échantillonnage du sol et a permis d'obtenir les données relatives à la présence / absence de l'inoculum dans le sol

La méthode du piégeage précédemment décrite par Nyassé (1999), consistait à introduire pour chaque échantillon de sol 10g de terre mouillée dans deux entailles d'une cabosse détachée saine, puis à la maintenir dans un environnement humide à 25°C dans l'obscurité pendant 7 jours. La notation des symptômes de la pourriture brune des fruits du cacaoyer est réalisée après 7 jours (Figure 8)



Figure 8: Étapes du piégeage : cabosse perforée (a), les trous remplis de terre d'un échantillon de sol (b) et recouverts d'un coton imbibé d'eau distillée (c), (d):infection réussie, (e): pas d'infection

Les capteurs de température et d'humidité (Tinytag Plus 2[1]), ont été installés dans les parcelles pour enregistrer des données de température et d'humidité ambiantes à différents endroits. Les données obtenues provenaient de 26 capteurs dont le nombre par parcelle était respectivement de 12 ; 6 et 8 pour Bakoa, Kedia et Ngat.

- **Analyse statistique**

L'étude de la dynamique de propagation de la maladie au sein des parcelles s'est faite suivant plusieurs approches.

La détermination du pattern de distribution spatiale des cacaoyers infectés dans le temps a été faite via la fonction K(r) de Ripley, très utilisée en écologie forestière pour caractériser les peuplements forestiers et de plus en plus exploitée en épidémiologie (Ngo Bieng *et al*., 2013; Gidoin *et al*., 2014b). L'association entre les arbres infectés a été réalisée par un test d'autocorrélations spatiales en utilisant la méthode de « join count analysis » outil approprié pour décrire ces relations lorsque les données sont qualitatives. La relation entre la présence de l'infection sur le cacaoyer et celle de l'inoculum dans le sol a été abordée en effectuant le test exact de Fisher. L'importance relative des infections primaires par rapport aux infections secondaires sur l'évolution de la maladie a été testée via le test exact de Fisher et a permis de décrire la dynamique temporelle de la maladie.

Les résultats de ce chapitre ont fait l'objet d'un article qui a été resoumis dans « Plant Disease » :

[1] http://www.geminidataloggers.com/

Spatial and temporal analysis of *Phytophthora megakarya* epidemic in newly established cacao plantations

ARTICLE 1

plant disease

Spatial and temporal analysis of Phytophthora megakarya epidemic in newly established cacao plantations

Journal:	*Plant Disease*
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Research
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	NDOUNGUE, MINETTE MIREILLE; Montpellier SupAgro, BDI; IRAD, Ngo Bieng, Marie-Ange; CIRAD Ribeyre, Fabienne; CIRAD Bonnot, François; CIRAD, UPR 29 Cilas, Christian; CIRAD, NEEMA, Claire; Montpellier SupAgro, BDI ten Hoopen, GM; CIRAD Departement Systemes biologiques, UR Bioagresseurs; Cocoa Research Centre,
Keywords:	disease development and spread < Epidemiology < Subject Areas, Oomycetes < Causal Agent, Tropical plants < Crop Type, Phytophthora megakarya, primary infections, spatial pattern, temporal evolution, Theobroma cacao

SCHOLARONE™
Manuscripts

Spatial and temporal analysis of *Phytophthora megakarya* epidemic in newly established cacao plantations

Ndoungué Djeumekop M. M.[1,2,A] ,. Ngo Bieng M. A[3], Ribeyre F.[4], Bonnot F[5]., Cilas C[4], Neema C[2] and Ten Hoopen G. M.[1,6]

[1] IRAD, Laboratoire de Phytopathologie, BP 2123 Yaoundé, Cameroun

[2] Montpellier SupAgro, UMR BGPI, F-34398 Montpellier, France

[3] CIRAD, UPR Forêts et Sociétés, CATIE, Costa Rica. Forêts et Sociétés, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France.

[4] CIRAD, UPR Bioagresseurs, F-34398 Montpellier, France. Bioagresseurs, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France.

[5] UMR BGPI, INRA, Montpellier SupAgro, Univ. Montpellier, Cirad, TA A-54/K, Campus de Baillarguet, 34398, Montpellier, France"

6 CIRAD, UPR Bioagresseurs, Cocoa Research Centre, Trinidad and Tobago. Bioagresseurs, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France.

[A] Author for correspondence:

Tel: (+237) 694025128

Email: mireillendoung2015@yahoo.fr

Abstract

Studying spatial and temporal plant disease dynamics helps to understand pathogen dispersal processes, a necessary undertaking in epidemiology in order to improve disease control recommendations. In this study, three cacao plots devoid of primary inoculum of *Phytophthora megakarya* (causal agent of cacao black pod disease) upon establishment in 2006, were monitored for presence of disease on a weekly basis from 2009 to 2016. Ripley function, join count statistics and Fischer Exact test were used to analyse spatial and temporal disease dynamics. Disease distribution maps show aggregated disease patterns in all plots although for the years of disease onset, exogenous primary infections were mostly randomly distributed. The K-function confirmed these results indicating that inoculum generally disperses only over short distances. Moreover, significant positive spatial autocorrelations showed that diseased trees were often clustered up to a distance of 3-9 m. Temporal disease progression was low meaning that endogenous inoculum failed to establish itself which is partly explained by rigorous phytosanitation and partly by unfavourable microclimatic conditions for disease development. Since *P. megakarya* had difficulty establishing itself in the plots, proximity to already infected cacao plantations drove infection dynamics. Thus, isolation of newly established cacao plantations from infected ones and rigorous phytosanitation as a preventive strategy appears to be an effective approach to control black pod for newly established cocoa plantations.

Keywords: *Phytophthora megakarya*, primary infections, spatial pattern, temporal evolution, *Theobroma cacao*

Introduction

Cacao (*Theobroma cacao* L.) is an important cash crop in West and Central Africa, the region which accounts for approximately 70% of global cacao production (ICCO, 2014). Production is mainly by smallholder farmers who are facing numerous production constraints, including those due to pests and diseases. Losses due to pests and diseases are estimated at around 30% of potential global production (Flood, 2004; Ploetz, 2016). Cacao production in Africa is particularly threatened by two major diseases: cacao black pod rot disease (BPD), caused by two *Phytophthora* species, *P. palmivora* and *P. megakarya* (Akrofi, 2015; Ali *et al*., 2016) and cacao swollen shoot virus (CSSV) disease (Akrofi, 2015; Ploetz 2016). Whereas BPD is of concern in all West African cacao producing countries, CSSV is of particular concern in Côte d'Ivoire and Ghana (Muller, 2016; Bailey *et al*., 2016).

Cacao black pod rot disease in Africa was first attributed to *P. palmivora* only. However, it became apparent, based on symptoms, morphology, aggressiveness and losses, that other species were involved (Sansome *et al*., 1975, 1979). This led to the description of *P. megakarya* by Brasier and Griffin in 1979. *Phytophthora megakarya* is actually the more aggressive of the two species and can cause up to 80% loss if no control measures are applied (Ali *et al*., 2016; Ndoumbè-Nkeng, 2002). This species is well established in Cameroon, Gabon, Nigeria, and Sao Tome & Principe (Brasier & Griffin, 1979; Nyasse *et al*., 1999) where it seems to have largely displaced *P. palmivora* (Akrofi, 2015; Mfegue, 2012). From the border area between Nigeria and Cameroon, *P. megakarya* spread to Togo in 1982, Ghana in 1985, and Côte d'Ivoire in 2003 (Dakwa, 1987; Djiekpor *et al*., 1982; Risterucci *et al*., 2003), where it is still in an invasive phase, coexisting with *P. palmivora*.

Since the identification of *P. megakarya* as a cacao threat, numerous studies have looked at control strategies. Considerable efforts have been made towards cacao resistance breeding and selection, yet no complete resistance to *P. megakarya* has been obtained (Gutiérrez *et al*., 2016). Phytosanitation of cacao farms helps to reduce the disease but must be supplemented with other methods (Ndoumbè-Nkeng *et al*., 2004; Nembot *et al*., 2018). Chemical control is the most common method used by farmers to reduce BPD (Deberdt *et al*., 2008; Opoku *et al.,* 2007). Yet due to the many undesirable effects of chemical control on the environment, the health risks for producers and consumers, and the risk for the development of pathogen resistance, more sustainable ways to manage BPD are urgently needed. Integrated pest management (IPM) is increasingly recognised as a workable solution to these problems.

Integrated pest management (IPM) is defined by the EU Framework Directive 2009/128/EC as the careful consideration of all available plant protection methods and subsequent integration of appropriate measures, and emphasises the growth of a healthy crop with the least possible disruption to agro-ecosystems and encourages natural pest control mechanisms (EU directive 2009/2018/EC). Barzman *et al*. (2015) define a set of eight principles to implement in any IPM strategy, where the first of these eight principles is prevention. Disease prevention can be considered as those measures taken to avoid the occurrence of disease but also those to reduce or stop disease progression when established.

The soil is considered the main inoculum reservoir of *P. megakarya*. Inoculum can survive there up to 18 months (Brasier *et al*., 1981; Ward and Griffin, 1981). Primary infections appear at the beginning of the rainy season when inoculum from the soil reaches pods on the tree through splash dispersal (Brasier and Griffin, 1979). Disease symptoms resulting from infection processes are observed on pods in the form of black lesions throughout (Guest, 2007; Nyasse *et al*., 1999). The first symptoms are observed between 2 to 3 days after infection (Akrofi, 2015), followed by a sporulation phase where lesions are covered with mycelium carrying sporangia, mostly within a week after infection (Deberdt *et al*., 2008; Ndoumbè-Nkeng, 2009; Ward and Griffin, 1981). Inoculum derived from sporulating pods can induce secondary infections or inoculum can be returned to the soil. Besides soil, flower cushions, mummified pods, bark, shade trees, and others crops common in cacao plantations have been pointed out as possible inoculum sources of *P. megakarya* (Akrofi, 2015; Akrofi *et al*., 2015; Holmes *et al*., 2003; Opoku *et al*., 2002). It is important to note however, that these have not unequivocally been proven to be alternative sources of primary inoculum.

Temperature, rainfall and humidity are prime determinants for the establishment and dispersal of many pathogens, including *Phytophthora.* Differences in disease occurrence and severity of BPD are partly due to differences in (micro-)climate (Gregory and Madison, 1981; Deberdt *et al*., 2008; Ndoumbè-Nkeng *et al*., 2009). *Phytophthora megakarya* has a short distance dispersal mechanism, mainly through rain splashing (Gregory, 1974; Gregory *et al*., 1984; Ndoumbe-Nkeng *et al*., 2017; Ristaino. and Gumpertz, 2000; Ten Hoopen *et al*., 2010). *Phytophthora* spp. also need free water for propagule germination and infection and the influence of rainfall on temporal dynamics of BPD has been well documented (e.g. Deberdt *et al*., 2008; Ndoumbè-Nkeng *et al.,* 2009). Yet little is known about how microclimatic conditions, such as temperature and relative humidity, influence spatial disease distribution. Long distance dispersion is also poorly documented, although rodents, water, and humans, through e.g. contaminated soil on shoes or pruning equipment, probably serve as vectors for *P. megakarya* dispersion. Nonetheless, this has not yet unequivocally been proven.

Knowledge on dispersal mechanisms is essential to improve control of *P. megakarya* by providing the possibilities of preventing arrival and spread of disease. However, dispersal is difficult to measure in natural agro-systems (Bullock *et al*., 2006). Knowledge of spatial patterns allows to generate hypotheses on the underlying dispersal mechanisms that occur in the field (Dale, 1999). Moreover, spatial pattern analysis could provide quantitative information on population dynamics of pathogens and help with experimental design and sampling programs in epidemiological research (Campbell & Madden, 1990). Epidemics caused by *Phytophthora* species are often initially patchy in appearance and this patchiness reflects environmental and genetic heterogeneity and population growth acting on the processes of reproduction, dispersal, and mortality (Ristaino. and Gumpertz, 2000).

Few studies looked at spatiotemporal dynamics of BPD. Moreover, the few existing studies (Ndoumbe-Nkeng *et al.,* 2017; Ten Hoopen *et al*., 2010) were carried out in cacao farms where *P. megakarya* was already well established. Since observed spatial patterns are often related to past

processes that give rise to them, it is difficult in such plantations to hypothesise on some of the underlying processes, especially regarding primary infections and disease establishment. Studying spatial and temporal dynamics of BPD in farms initially devoid of endogenous inoculum can provide relevant information that could help to avoid arrival of *P. megakarya* inoculum and to halt disease spread once established.

Therefore, the objective of this study was to gain information on dispersal mechanisms of *P. megakarya* as well as factors involved in disease establishment in newly planted cacao plots by describing: i) the spatial pattern of primary infections, ii) the spatial autocorrelation of such infections, and iii) their progression over time.

Materials and Methods

Description of experimental site

The study was carried out over the period 2009 to 2016 on three smallholder plots located in the Centre region of Cameroon. Plots were located in three villages: Bakoa, Kedia, and Ngat. All villages are in the bimodal rain forest agro-ecological zone, characterised by a relatively intense dry season from November to March, followed by a short wet season from March/April to May/June, a short dry season from June to August and a long wet season from August to November. The main cocoa production cycle generally starts with flowering after the first rains in March/April (short wet season) and ends in November/December of the same year sometimes overflowing into January. Bakoa and Kedia are localised in the forest-savannah transitional zone at 4°34'N, 11°09'E, 450 masl and 4°29'N, 11°29'E, 470 masl, respectively with mean temperatures ranging from 20 to 30 °C and rain fall of about 1100 mm per year. Vegetation is made up of gallery forest and grassland (Jagoret *et al*., 2012). Ngat is located in a typical forest zone at 3°46'N, 11°49'E, 700 masl and is more humid than the forest-savannah transitional zone. Mean temperature range from 20 to 25 °C and rain fall is about 1600 mm per year. The initial vegetation is forest, which is currently progressively being replaced by a more agricultural landscape.

The smallholder plots were installed in 2006 using cacao germplasm consisting of newly developed hybrids and farmer selected planting materials, which are to be assessed for their productivity and possibly disease resistance under farmer field conditions. Full-sib seedlings obtained through a single crossbreeding between parents with known resistance levels to *P. megakarya* or grafted clonal materials (mostly farmer selections or cocoa varieties with known resistance to *P. megakarya* used as control, such as SNK10) were planted mainly in lines and separated from others by perennial companion crops. For a list of the hybrids and farmer selected planting materials see e-Xtra 1. Cacao plots were installed on unshaded land (deforested areas or savannah) that had not harboured cacao trees for at least 20 years. Cacao and companion trees were planted at the same time. For the first two to three years after planting, shade was provided by banana and plantain since the companion tree crops at the time of planting (2006) were of similar size as the cocoa trees.

In Bakoa, two contiguous plots were selected, 57 x 72 m and 45 x 54 m (Fig. 1a), where a total of 594 cacao trees were intercropped with either coconut (*Cocos nucifera*) or African oil palm trees (*Elaeis guineensis*). These companion trees were planted at 12 x 7.5 m with three continuous lines of cacao trees spaced 3 x 3 m in between. These plots were surrounded by an old (>20 years), well managed agroforestry based cacao plantation where *P. megakarya* was already well established (Fig. 1a). Although the two Bakoa plots differed slightly in lay-out and were intercropped with different species, since they were contiguous, they were considered as one single plot with a total area of 117 x 57 m.

Two plots of 66 x 76 m and 48 x 69 m were selected respectively in Kedia and Ngat. A total of 354 cacao trees were intercropped with African oil palm planted at 14 x 7.5 m in Kedia (Fig. 1b) while fruit trees (*Citrus* spp*, Persea americana* and *Dacryodes edulis*) were used in Ngat and planted at 6 x 12 m with 352 cacao trees (Fig. 1c). The Kedia plot was surrounded at its southern site by a river, at its eastern side by an old cacao plantation (>15 years) and the other sides by newly established cacao farms (>5 years) (Fig. 1b). The Ngat plot was surrounded on three sides by densely overgrown abandoned cacao (>30 years) and on one side by annual crops which were later replaced by a similar cocoa plot as the one studied. Fruit trees replaced a cacao tree whereas oil palm and coconut trees were planted on separate lines (Fig. 1c). The Kedia and Ngat plots were established on a slight slope (Figs. 1b and 1c). In all three locations, *P. megakarya* was present in the surrounding environment/cocoa plantations at the moment of installation and throughout the observational period (2009-2016).

It is important to note that this study was carried out on farmer fields. These cacao plantations represent a considerable farmers' investment and contribute significantly to the livelihood of these farmers. Consequently, farm management decisions were primarily in the hands of the farmer, contrary to on-station trials. Even though farmers were willing to avoid as much as possible fungicide sprays in order to accommodate the research, in two cases they decided to apply fungicides. In Bakoa, a copper based fungicide (Kocide), was applied curatively at least twice during the 2013 production season. In Kedia, a single curative treatment took place after a flooding event in 2014.

Data collection

From June 2009 to December 2016, all cacao plots were closely monitored in order to detect *P. megakarya* infections. Assessment of disease severity by counting total number of healthy and infected pods per tree would have been very time consuming since each plot has >300 cacao trees. Thus observations focused on the presence or absence of cacao pods and disease incidence, i.e. the presence (1) or absence (0) of infected pods on a tree. These observations were done by local observers once a week for each cacao tree. Unfortunately, due to logistical problems the data sets for 2012 for all three plots were incomplete and this year was excluded from the analyses.

When a *P. megakarya* infection was present, rotten pod(s) was/were removed from the tree. This was done to eliminate as much as possible secondary inoculum which would allow a better understanding of the relative importance of primary inoculum on disease occurrence and spread. On a

weekly or monthly basis, the total number of productive and/or diseased trees were generally too low to allow for meaningful temporal or spatial analyses. The data were therefore pooled on a yearly basis for analyses. At the end of each main production cycle (which coincides in general with calendar year) a status for each cacao tree was defined as follows (considering the whole production cycle) 1) "Non-Productive" for trees with no cacao pods (or dead trees), 2) "Healthy" for trees harbouring only non-infected pods and 3) "Infected" for trees harbouring at least one infected pod. This allowed us to visualize the distribution of *P. megakarya* infections in each plot per calendar year using the plantation lay-out maps (Fig. 1).

It is important to mention that in Cameroon, the only plant organs visibly affected by *P. megakarya* are the cocoa pods, contrary to *P. palmivora* that causes not only pod rot but also cankers and leaf blight in cocoa. Thus cocoa trees change health status within and between years based on the presence or absence of healthy and rotten pods.

In June 2009, before the appearance of any rotten pods, 20 soil samples were collected in Bakoa, 10 in Kédia and 10 in Ngat, to test for the presence of *P. megakarya*, according to the method described by Mfegue (2012) and Ndoungué *et al*. (2018). Subsequent soil sampling, from 2010 till the end of 2016, was done twice a year, once during the large dry season and once during the large wet season. Soil samples were taken throughout the whole plantation at the foot of trees that were classed either as "Healthy" or "Infected" the previous year. The number of samples varied per plot and between years, depending largely on the number of "Infected" trees in the year previous to the sampling year. Soil sample locations are given in Fig. 1. The relationships between soil samples testing negative (0) or positive (1) for the presence of *P. megakarya* and cocoa tree status, healthy (0) or infected (1) were analysed by calculating the odds ratio using two dimensional contingency tables. Because of low numbers expected in some cells of the contingency table, the one-sided Fisher Exact test (Agresti, 2007) was used. Three relationships were tested: H1 disease incidence in year t is related to pathogen presence in the soil in year t_{+1}, H2 incidence and H3 presence in the soil in year t are related to incidence and presence in soil in year t_{+1}.

Spatial disease pattern and correlation

Spatial disease patterns were analysed using Ripley's K(r) function which is increasingly being used in ecological and epidemiological studies (Gidoin *et al*., 2014b; Hinman *et al*., 2006; Jolles *et al*., 2002; Ngo Bieng *et al*., 2013; Oro *et al*., 2012). Ripley's function was shown to be appropriate for analysing point processes (Cressie, 1993) and was used to determine spatial distribution of "Infected" cacao trees at plot scale.

Ripley's K(r) is a tool for analysing a completely mapped spatial point process, e.g. data on the location of events. K(r) describes the characteristics of the point processes over a range of scales. The function is $K(r) = \lambda^{-1}E$, where E (r) = expected mean number of points within a distance r of a randomly chosen point and λ is the density (number of points i.e. infected trees per unit of area) on the studied

plot. Since distance between "Infected" cocoa trees and the number of points per unit area (λ) are used in the analysis, possible effects of the spatial lay-out of the plots are integrated in the results.

For the Poisson process, which serves as a null hypothesis $K(r) = \pi r^2$, the spatial pattern is random. For an aggregated pattern, it is expected that points have on average more neighbours than for the null hypothesis, and thus $K(r) > \pi r^2$. Conversely, for a regular process the points would have on average fewer neighbours than for the null hypothesis, then $K(r) < \pi r^2$.

To facilitate interpretation, Besag (1977) defined a linearized modified K(r) function as $L(r) = \sqrt{\frac{K(r)}{\pi}} - r$, where for any Poisson process, at all distances of *r*, L(r) = 0 for random processes, for aggregated processes L(r)> 0 and for regular processes L(r) <0.

However, the above K and L functions underestimate the values of K(r) and L(r) because of the points located near the borders, which have fewer neighbours than other points in the study area (Goreaud, 2000). To avoid misinterpretation due to the border effect, it is advisable to use r-values corresponding to a quarter or half of the width of the study area (Goreaud, 2000). In this study, as the edge lengths of the plots were all comprised between 40 and 80 m, an r-value of 20 m was used.

Here we were interested in the spatial structure of "Infected" cacao trees, and since cacao trees in this study were regularly distributed, they were considered as the reference population. The significance of the determined pattern was assessed through a comparison to a classic null hypothesis of complete spatial random distribution, following the Monte Carlo Method (Besag & Diggle 1977 in Goreaud, 2000; Landcaster & Downes, 2004). A confidence interval of L(r) at the 0.01 level for each of the three plots through 10 000 random permutations of healthy and infected trees was build. The analyses were performed by year when at least ten infected trees were present within a plot.

Join-count statistics was used to characterise the relative location of neighbouring infected cacao trees similar to Bonnot *et al.* (2010) and Oro *et al*. (2012) in order to provide information on the directionality of infections. These statistics measure association by counting the number of pairs of neighbours that are diseased (D-D), the number of pairs of neighbours that are healthy (H-H), and the number of pairs in which one is diseased and one is not (D-H). These counts can be performed following many spatial proximity patterns: within rows (vertically), across rows (horizontally), diagonally or a combination of these at different distances (Cliff and Ord, 1981; Reynolds and Madden, 1988). The observed number of joins is compared to the expected one under the null hypothesis of no spatial autocorrelation to determine whether the association is statistically significant.

For each plot with *d* infected cacao trees (D), the D-D join statistic was calculated for each pair of infected cacao trees separated by *r* rows and *t* trees along the row for each year. The spatial autocorrelation analysis was performed by simulating for each plot and each year, plots with the same dimensions and the same number of infected trees. This number of infected trees was generated by randomly assigning disease to *d* locations. This was done through 1000 permutations of observed data.

For each simulated field, the D-D statistic was computed for each (*r, t*) class, and subsequently compared to the observed D-D value. Significant spatial autocorrelation was detected using two-sided tests at the level of 0.005 and 0.001 and the set of all obtained p-values was used to build a 2D correlogram (symmetrical along the x-axis) with $-30 \leq r \leq 30$ and $t \leq 30$. Since the analysis uses distance classes, the non-alignment of rows (vertical distribution) in the plot did not pose a problem.

Special attention was given to differences in vertical versus horizontal spatial autocorrelation for the Bakoa and Kedia plots, where cocoa is intercropped with coconut or oil palm, this in order to see whether these crops and their spacing could provide a barrier to *P. megakarya* dispersal.

Temporal disease dynamics

Since weekly disease incidence was low, temporal disease dynamics was considered at a yearly basis yet differentiation between infections due to primary or secondary inoculum was done using weekly data. Primary infections were defined as infections caused by primary inoculum from an environmental reservoir, such as the soil or e.g. the surrounding environment of the cocoa plots. Secondary infections were defined as those infections that stem from infected pods within the cocoa plot, producing secondary inoculum.

Temporal disease dynamics was studied by looking at the relative importance of infections due to primary and secondary inoculum over years. Several assumptions were made to differentiate infections due to primary or secondary inoculum with reference to previous studies (Gregory and Maddison, 1981; Ndoumbè Nkeng *et al.,* 2002; 2017; Ten Hoopen *et al*., 2010). Primary inoculum is responsible for the first infection in each year. Given the limited distance over which rain splash dispersal occurs (Gregory *et al*., 1984; Gregory and Maddison, 1981; Ten Hoopen *et al*., 2010), at plot level all infections occurring at distances of 6 m or more were also considered to be due to primary inoculum. At the level of the cacao tree, recurrent infections separated by more than two weeks were considered to be independent of the previous infection, given that the latent period is approximately 1 week (Akrofi, 2015; Bailey *et al*., 2016). Any infection occurring within two weeks and at distances less than 6 m from previous infections, were considered to be due to secondary inoculum. Based on these assumptions, the number of primary and secondary infections was estimated for each year.

We tested at individual tree level three hypotheses: H1) more secondary infections in year t derive from primary infections in year t; H2) higher number of infected trees in year t leads to higher number of primary infections in year t_{+1}; H3) more secondary infections in year t generate more primary infections in year t_{+1}. The analysis was performed for individual plots as well as on data from all plots together using two dimensional contingency tables. The one-sided Fisher Exact test (Agresti, 2007) was used since it is adapted to rare events.

All analyses were carried out in R, version 3.3.1 software (R Core Team, 2013). The Ripley function was obtained using the ads package (Pélissier and Goreaud, 2010), the join count analysis was

performed by programming, data from the soil samples and the temporal dynamics of primary and secondary inoculum was tested using the exact 2 x 2 package (Fay *et al*., 2018).

Temperature and relative humidity

In order to see whether observed spatial patterns could be (partially) explained by intra-plot microclimatic variability, a total of 28 Tinytag plus 2 data loggers (TGP450, Gemini Data loggers, UK) were used to register temperature and relative humidity at different locations in each plot (13, 6, and 9 data loggers in Bakoa, Kedia and Ngat, respectively). Calibration of data loggers was checked prior to their utilisation by comparing readings to a Vantage Pro 2 (Davis, CA, US) weather station. Although rainfall is a primary factor in *P. megakarya* dispersal and explains for a large part temporal patterns at plot scale (e.g. Deberdt *et al*., 2008, Ndoumbé-Nkeng *et al*., 2009), here, it was considered less important with regard to spatial patterns at plot scale. Moreover, rainfall measurements at microclimate scale (intra-plot differences in rainfall) were outside the scope of the project and rainfall was thus not recorded.

The locations of the data-loggers were coded as follows: for the Bakoa plot, B1 to B13, K1 to K6 for the Kedia and N1 to N9 for the Ngat plot. Data-loggers were placed regularly throughout the plots in order to capture overall microclimatic variability (Fig. 1). Each data logger was placed in the canopy of a cacao tree approximately 2 m above ground level. Data were registered every 30 minutes from 15 June to 30 November 2016, which corresponds to the large rainy season and generally the period where BPD is most prevalent. Data loggers B3 (Bakoa), N2 and N3 (Ngat) malfunctioned and their data were discarded.

The microclimatic variables chosen for analysis for the period under observation, were mean maximum daily temperature T_{max}, given that *P. megakarya* has a relatively low optimum growth temperature for a tropical pathogen compared with for example *P. palmivora* (Puig *et al*. 2018); mean time in hours per day ($h.d^{-1}$) that temperature was above 30 °C, the temperature at which *P. megakarya* stops growth (Puig *et al*. 2018), mean daily minimum relative humidity (RH_{min}), and the mean daily amplitude (difference between daily max and min relative humidity) given that humidity is an important factor in BPD epidemics (Monteith and Butler 1979; Butler, 1980).

The Kruskal-Wallis test and the Wilcoxon rank test were used to compare the distribution of T_{max}, RH_{min} and their amplitudes, T_{ampl} and $RH_{ampl,}$ recorded at each point within the registered period. The same analysis was used to compare plots. This was done to see whether the micro-climatic conditions were similar within or between plots and if not, whether these differences could help explain observed spatial patterns of disease occurrence.

Results

***Phytophthora megakarya* arrival and soil samples**

All 2009 soil samples tested negative for the presence of *P. megakarya*. Plot layout-maps illustrating spatial distributions of infections and the results from the soil sampling for each plot for each year are

shown in Fig. 1. The arrival of BPD infections occurred at different times in the plots. First infections were observed at the end of 2009 in Ngat on two cacao trees (Fig. 1c), followed in 2010 by the plot in Bakoa where infections appeared on 12 trees (Fig. 1a). BPD was noted in 2011 in Kedia on 13 trees (Fig. 1b). After the appearance of first infections in each plot, subsequent disease spread differed when looking at the evolution of spatial distributions of infected trees over time.

The number and percentage of soil samples that tested positive for the presence of *P. megakarya* per plot and per year varied between plots and years. In Bakoa the first positive soil samples were found the same year the disease was first observed on cocoa pods (Fig. 1a). In Kedia and Ngat the first positive soil samples were collected the year following the arrival of the disease (Fig. 1b, c).

Since the one-sided Fisher test used to determine associations between soil infestation and disease incidence showed similar results for individual plots (data not shown) compared with pooled data from all plots, only the results for pooled data are presented (Table 1). The analyses show that only in one case 2014-2015, disease incidence was significantly linked to soil infestation the following year (Table 1, H1). Moreover, it showed that disease incidence in year t was significantly linked to disease incidence the following year (t_{+1}) (Table 1, H2) and that soil infestation was only significantly linked to soil infestation the following year for the final years of observation, 2015-2016 (Table 1, H3).

Spatial disease pattern and correlation

For the Bakoa plot (Fig. 2a), in 2010, L(r) values did not exceed the confidence interval, therefore we could not reject the null hypothesis of complete spatial randomness of infected trees. From 2011 to 2016, Bakoa showed significant positive L(r) values for $r > 5$ m (Fig. 2a), spatial disease patterns were thus aggregated these 5 years. When looking at the distribution of infected trees over time (Fig 1a), it becomes apparent that the locations of infected tree-clusters varied between years. In other words, there were no clusters of infected trees that were consistently located at similar positions over time.

In Kedia, from the appearance of infections in 2011 until 2016, all L(r) function curves displayed significant positive values meaning that the observed disease patterns were aggregated (Fig 2b). In 2011 and 2013 most infections were localised in the Eastern part of the plot, close to the river (Fig. 1b). In 2014, the flooding event caused a more even distribution of infections throughout the lower part of the plot (the part actually inundated, closest to the river). It is interesting to mention that up till the flooding event most infections (n=13) were localised in the Eastern part of the plot, as in 2011 and 2013 (data not shown). Moreover, it is important to mention that the river flows from East to South. In 2015 and 2016, infected trees were localised in the South east of the plot, slightly more towards the south when compared with previous years (Fig. 1b).

In Ngat, for those years that the analysis was possible (more than 10 infected trees) the disease pattern was always aggregated (Fig. 2c). Apart from 2009, all infections were located towards the Eastern part of plot whereas in 2016 an additional cluster was observed in the southern part (Fig. 1c).

Generally, aggregated patterns of infected trees were observed (Fig. 2). Although the distribution of infected tree clusters varied slightly between years, especially in Bakoa, there was a consistency in location of certain clusters of infected trees. This consistency was most pronounced in Kedia and Ngat.

For the results of the join-count statistic, only those spatial autocorrelations (PSA) attached to the core cluster, the centre of the correlogram, are of actual interest. PSA not attached to the core cluster are rare events, unlikely to occur. Significant positive PSA were found in all plots for most years. No negative PSA were found. Core cluster size ranged from 3-9 meters and cluster size generally increased over time (Fig. 3). In Bakoa the direction of the PSA was on the x-axis in 2010 and slightly more on the y-axis from 2011 to 2016, meaning that a PSA was more evident in columns than rows (Fig. 3a).

PSA were also detected for all years in Kedia with a slightly more vertical aspect (along the y-axis) than horizontal (along the x-axis) except for 2015 and 2016 (Fig. 3b). Since in Kedia the slope of the plot is upwards away from the river (Fig 1B), this vertical aspect can not be explained by dispersal through run-off water (directed towards the river) For Ngat, no correlation was found in 2009. From 2010 to 2016, significant PSA were detected. A more vertical (along the y-axis) distribution of PSA was found in 2010 and from 2013-2015, a more horizontal (along the x-axis) distribution was observed in 2011 and 2016 (Fig. 3c). Contrary to Kedia, in Ngat this more vertical distribution is likely linked to run-off water along the slope of the plot from south to north (Fig 1c).

It is important to mention that both the river and run-off water tested positive for the presence of *P. megakarya* based on a baiting and isolation technique using avocado leaves and molecular identity confirmation (data not shown), which clearly indicates the potential role of water-based dispersal in disease dynamics.

Temporal disease evolution

When looking at the evolution of the number of infected trees over time, in Bakoa and Kedia numbers fluctuated whereas in Ngat it generally increased (Fig. 4). In Bakoa, after the first 12 diseased trees observed in 2010, the number of diseased trees varied from 19 in 2011 to 89 (highest) in 2013. In Kedia, the number of infected trees fluctuated around 25 from 2011 to 2016, except in 2014 when it reached 137. Actually, in 2014 until 4 November, 13 infected trees were observed, then, after heavy rainfall led to flooding up to 36 m from the river into the plot, the number of infected trees increased to 67 and finally to 137 at the end of 2014. In Ngat, two diseased trees were observed in 2009 and 2010. This number gradually increased to 15 in 2011 and finally 38 in 2016 (Fig. 4).

Temporal representation of primary and secondary infections (Fig. 5), show that BPD was most predominant during the large wet season of each year (September to November). Primary inoculum initiates not only epidemics but continues to induce infections throughout the year (Fig 5). However, in most instances towards the end of the production season, secondary infections become more prevalent. This is especially clear in Bakoa for the years 2011-2016 (Fig 5a), for the Kedia plot in years 2013 and

2016 (Fig. 5b) and Ngat (Fig. 5c) in 2011, 2014 and 2016. Interestingly, in Kedia and Ngat in 2015 (Figs 5b and c, respectively) basically all infections were considered primary infections.

Since the one-sided Fisher test used to determine associations between primary and secondary infections at the individual tree level, showed similar results for individual plots (data not shown) compared with pooled data from all plots, only the results for pooled data are presented (Table 2). The analyses show that at the level of the individual tree, most secondary infections were derived from primary ones and few from non-primary infections (Table 2, H1). Moreover, it showed that primary infections in year t_{+1} were significantly linked to the infected trees of the previous year *(t)* (Table 2, H2) and mainly to those with secondary infections (Table 2, H3) in that year (*t)*.

Temperature and relative humidity

When looking at the microclimatic variables, significant difference (*P<0.0001*) was observed between plots (Table 3). Mean daily time (in hours day^{-1}) that temperature was > 30 °C, shows that Kedia was the hottest locality (with 5.5 hour.day^{-1}), followed by Bakoa (4.5 hour.day^{-1}) and Ngat the coolest one with absence of temperatures exceeding 30°C during the period of data collection.

For all microclimate variables, significant differences (*P<0.0001*) between microclimate measuring points were observed in all plots (Table 3). In Bakoa $T_{>30}$, T_{max} and T_{ampl} were lower in B6, B7 and B9 compared with the other points while in point B7 a high RH_{max} with small RH_{ampl} was registered (84.1 % with 14.9 %). Interestingly, locations B7 and B9 showed recurrent infections. However, a high number of infected trees was observed in 2013 at location B6. In Kedia, the coolest location was K4 located in the main infection area. The average values obtained were respectively 3.5 hour.day^{-1}, 31.8°C and 11.6°C for $T_{>30}$, T_{max} and T_{ampl}, and 63.0% and 37.6% for RH_{min} and RH_{ampl}. In Ngat, when compared with the other plots, relatively low $T_{>30}$, and $T_{max.}$ were observed. The coolest point of the plot was N1 with no temperature above 30°C ($T_{>30}$ = 0), T_{max} and T_{ampl} were 26.5°C and 6.9°C and RH_{min} and RH_{ampl}, were 68.7% and 29.9%, respectively. Although location N1displayed the most optimal microclimatic conditions for BPD, it was located at the opposite site of the main disease area.

Discussion

The aim of this study was to describe spatial and temporal dynamics of *P. megakarya* infections in newly established cacao plantations in order to identify and generate hypotheses on the processes involved in *P. megakarya* dispersal and establishment. Since all soil samples collected in all plots before the arrival of first infections tested negative for the presence of *P. megakarya*, inoculum responsible for the first infections (2009 Ngat, 2010 Bakoa, 2011 Kédia) was of exogenous origin. In the surrounding environment of all three plots, “old” cocoa affected by *P. megakarya* was present and thus very likely at the origin of these first infections.

Spatial disease dynamics

Looking at the spatial patterns and correlations of infected trees in the three plots for the years when first infections were observed, random (Fig. 2a), aggregated (Fig. 2b) or undetermined (Fig. 1c, 2009) pattern of infections and few (Fig. 3a & b) or no (Fig. 3c) PSA were found. Over time, all infection patterns became aggregated and more PSA were detected, with core clusters of 3-9 meters. Since PSA are governed by 1) dispersal and/or 2) the environment (Koenig, 1999), given the short natural dispersal distance mechanism due to rain splashing of *P. megakarya* (Gregory & Madison, 1981), and the weekly removal of infected pods, which limits secondary infections (Nembot *et al*., 2018) this explains the small core cluster size. These results do indicate however, given the aggregated patterns and PSA, that disease spread is step by step to neighbours of infected trees. This spatial pattern of BPD has also been observed in relatively old infected cacao plantations (Mfegue, 2012; Ndoumbè-Nkeng *et al*., 2017; Ten Hoopen *et al*., 2010).

The surrounding environment is important as it is likely the origin of first infections. The intra-plot environment, especially the presence of coconut and oil palm trees in Bakoa and Kedia and the presence of a slope in Kedia and Ngat seemed to influence the direction of PSA. Given that the palm trees were planted on separate lines, this increases the distance over which dispersal of secondary inoculum should take place between cocoa trees on opposite sides of the palm trees, thereby presenting a barrier to horizontal intra-plot dispersal (Figs. 1a & 3a). The presence of a slope facilitates dispersal through run-off water (run-off water tested positive for the presence of *P. megakarya*, data not shown). In the case of Ngat this led to an increase in infections along the slope (Fig. 1c), whereas in the case of Kedia (Fig. 1b), it did not, since the slope went upwards from the area with most infections.

Although this is more or less consistent with expectations, it was expected that over time, an increase in infected trees would lead to larger areas of contiguous infected trees leading to PSA clusters of larger size. This however, was not the case for Bakoa, whereas this seemed to occur, albeit on a limited scale, in Kedia and Ngat. The question therefore is, why did the number of infected trees remain relatively low and did not continuously increase over time as expected? Although variability in annual rainfall distribution and quantity could explain differences in number of infected trees between years, as the flooding event in 2014 clearly demonstrates, it does not explain the why the number of infected trees remained relatively low in all three plots.

Two potential explanations come to mind, weekly phytosanitation and fungicide treatments, the latter being a factor to take into careful consideration when interpreting the results. In Bakoa (in 2013) and Kedia (in 2014), fungicides were sprayed on a curative basis. In both cases, the subsequent year showed a decrease in total number of infected trees. In the case of Kedia this decrease was quite substantial (Fig. 4). Yet, in well-established infected cocoa plantations, phytosanitation and regular fungicide spraying do not normally cause such a drastic reduction in black pod rot as observed here. Weekly phytosanitation is insufficient to eliminate secondary inoculum production completely (Ndoumbé Nkeng *et al.* 2004; Nembot *et al*., 2018). Ndoumbé Nkeng *et al.* (2004) even found higher

pod rot levels after rigorous phytosanitation efforts the year before. Moreover, the fungicide used here, a copper based contact fungicide, was applied once in Kedia and twice that we know off in Bakoa. The fungicide leaches off in two to three weeks, after which it does not continue to exert control.

It thus seems that in this case, when the disease is not yet well established, phytosanitation (and possibly fungicide treatments) might be more effective compared with conditions where the disease is already well established. The reason for this lies within the soil. Rotten pods produce secondary inoculum that through a leaching process reaches the ground and, through a poorly understood process, is incorporated into a soil inoculum reservoir. From there it can re-infect cocoa pods. Phytosanitation and fungicide sprays reduce the amount of secondary inoculum produced and thus its incorporation into a soil inoculum reservoir. Whereas in older plantations soil inoculum is ubiquitous and thus provides a continuous endogenous source of inoculum even when phytosanitation occurs, in newly planted plantations as here, this inoculum reservoir has to build up.

This idea is further supported by the finding that only in once case a significant link was found between disease incidence and soil infestation the following year (Table 1, H1) and only in the final years of observation (2015-2016) a significantly link for soil infestations between years was found (Table 1, H3). This idea is also supported by data from Ndoungué *et al*. (2018) which showed that in a plantation >20 years old, where *P. megakarya* was already well established, out of 18 soil samples, 16 (>88%) tested positive for *P. megakarya*. Since in the Ndoungué *et al.* (2018) study for each sample (n=18) three subsamples were taken to check for the presence of *P. megakarya,* it could be argued that this would lead to an overestimation compared with this study. However, when looking at the number of subsamples (3 x 18, n=54), 32 (> 59%) of these tested positive for *P. megakarya*. In this study, out of 1479 soil samples, only 173 (11.7%) tested positive for *P. megakarya*. Even when only looking at soil samples taken at the foot of trees that actually had BPD the year before, out of 556 samples, only 120 (21.6%) tested positive for *P. megakarya* (see e-Xtra 2).

When disease incidence is low, farmers normally do not rigorously control BPD by phytosanitation or fungicide spraying. It thus seems that the rigorous phytosanitation employed in this study, prevented the build-up of a soil inoculum reservoir explaining the slow disease progression.

In Ngat, despite the relatively more favourable microclimatic conditions for BPD spread and the absence of fungicide applications, there was also a relatively low number of diseased trees. Besides phytosanitation, this could also be explained by the very low productivity of this plot, with a relatively high number of unproductive trees (Fig 1c). Whereas productivity was >1 kg of dry cocoa beans per cacao tree in Bakoa and Kédia, it was less than 0.2 kg in Ngat (based on data from 2013-2017; O. Sounigo, pers, comm). The low productivity and relatively high number of non-productive trees in Ngat is due to the impact of a cocoa mirid (S*ahlbergella singularis*) on production capacity of cacao trees. A study on mirid distribution and their damages in 2009 and 2010 on six cacao plots showed that density and damage was high in the Ngat plot compared to other studied plots (Mahob *et al.*, 2015). Beilhe *et*

al., (2017) showed that losses due to mirid attacks are not limited to pod damage but impact negatively on the productive capacity of trees. Less pods means less host organs for *P. megakarya* to infect.

Microclimate impact

Rainfall is a prime explanatory variable for temporal patterns of infections and is linked to the number of infected trees within a plot (Deberdt *et al*., 2008, Ndoumbé-Nkeng *et al*., 2009, 2017). However, overall rainfall data does not explain spatial variability within plots. The microclimatic environment influences establishment and spatial distribution of the disease in the plots. Although the available data presented here prevents us from establishing definitive causal relationships with disease distribution, indications of the impact of micro-climate on disease distribution were found. Naturally, the savannah environment (in Bakoa and Kedia) presents a less conducive environment for BP disease development than the forest environment (Ngat). Interestingly, *P. megakarya* being a tropical pathogen, it actually has a relatively low temperature optimum, between 23-26 °C (and no growth above 30 °C) (Brasier and Griffin, 1979; Puig *et al*., 2018), conditions which are clearly more often observed in the forest than the savannah environment (Table 3). Despite the fact that mean maximum temperature in the savannah plots was over 30°C (Table 3), corresponding to the threshold at which *P. megakarya* starts losing its viability *in vitro* (Puig *et al*., 2018), the occurrence of disease took place. Although it is unlikely that lethal temperatures are maintained in cacao fields for sufficient duration of time to eliminate *P. megakarya,* temperatures of 30 °C or more, which reduces *P. megakarya* growth, are more common in the unshaded versus shaded conditions and in savannah versus the forest plots, which could explain intra- and inter-plots differences in occurrences (Table 3). However, it is important to note that temperature is also influenced by other meteorological factors such as wind speed, vegetation and topography. Similarly, humidity is influenced by plot structural and topographical features. Medeiros (1967) showed that shaded plantations in humid areas such as river valleys appear to be more prone to disease than well ventilated plantations in neighbouring areas receiving similar rainfall.

When comparing between years, the location of infection clusters was most consistent in Kedia and Ngat, and the location of infection clusters was more variable in Bakoa. When looking at the micro-climate data we see that for the Bakoa plot, there did not seem to be a particular area which was consistently infected. This is also reflected in the micro-climate data which did not show any part of the plot having optimal micro-climatic conditions for *P. megakarya* development. In Kedia, microclimate was most conducive for disease development in the eastern part of the plot where infections were consistently observed (Fig. 1b). This is not surprising given the relative favourable environment provided by the river and the shade provided by the tree border alongside the river bank. Finally, in Ngat microclimate was generally more conducive to *P. megakarya* development, compared with the other two plots, and intra-plot differences were less pronounced (Table 3). However, infections were mostly located in the eastern part of the plot (Fig. 1c). This part of plot receives more shade in the morning compared to other parts of the plot. This could induce dew to remain on pods after sunrise for a more

extended amount of time, facilitating the germination of spores of *P. megakarya*. Monteith & Butler (1979) showed that persistent dew on the pod surface for up to 3 hours after sunrise are ideal conditions for BPD development.

Temporal disease dynamics

Little is known about the relative importance of (soil-borne) primary inoculum of *P. megakarya* in black pod rot epidemics over the course of the lifetime of a cocoa plantation. Moreover, very little is known about the relative importance of different dispersal mechanism in epidemics. Although rain splash has clearly been established as the principal means of short range dispersal, the role of long range dispersal in epidemics remains unclear. Studying the arrival and subsequent spread of *P. megakarya* in young plantations where diseased pods are eliminated on a weekly basis, allows distinction between infections due to primary or secondary inoculum and can provide insight in the role of dispersal processes in epidemics, something much more difficult to realise in plantations where *P. megakarya* is already well established.

Temporal dynamics of primary and secondary infections revealed that secondary infections were most often derived from primary ones than from other infections (Table 2, Fig. 5). Since this result was obtained at the individual tree level, it indicates that there was more within than between trees dispersal. Moreover, most infected trees generated secondary or primary inoculum that contributed to them being infected within the same or the following year (Table 1, 2). The lack of increase of the total number of infected trees over time is thus because secondary inoculum mainly causes self-infection but fails to disperse between trees. This supports the hypothesis emitted by Ten Hoopen *et al*. (2010) who stated that primary inoculum is the main determinant for the spatial development of an epidemic at the plantation level and that secondary inoculum is mainly responsible for the within-tree temporal development of an epidemic.

The results also indicate that primary inoculum does not only initiate the epidemic but continues to induce infections throughout the year(s) (e.g. Fig. 5). The exact fisher test performed for individual plots (data not shown) and the combined data from all plots (Table 2) confirmed this hypothesis and these results are in line with Nembot *et al*. (2018) who also demonstrate the importance of primary inoculum in *P. megakarya* disease epidemics. Moreover, in all plots and throughout the years, primary infections occur at distances of over 6 meters from any given potential inoculum source. This indicates that long range dispersal plays an important role, at least in the early years, in epidemics.

Studying population dynamics of *P. megakarya* can help to detect the introduction of exogenous inoculum and could provide information on the origins of exogenous inoculum. Interestingly, the flooding event that occurred in 2014 in Kedia caused a large increase in number of infected trees, most of these located in the lower part of the plot that was actually flooded (up to 36 m into the plot). Since there were infected pods prior to the flooding event, the question remains whether the flooding caused endogenous inoculum to be dispersed, whether exogenous inoculum was brought in by the river, or both.

Interestingly, water samples from the river before the flooding tested positive for *P. megakarya* (data not shown) and thus the flooding event more than likely introduced exogenous inoculum. It is known that many *Phytophthora* spp such as *P. ramorum*, *P. alni*, and *P. parasitica* are dispersed by streams & rivers (Husson *et al*., 2006; Neher & Duniway, 1992; Themann *et al*., 2002) yet to our knowledge this is the first time this is also shown to be true for *P. megakarya*. It is important to note that the flooding event in Kedia in 2014, actually brought into play a second dispersal mechanism, besides rain-splash, and the assumptions made to distinguish between primary and secondary infections where thus not valid anymore as of the date of the flooding event. Eliminating these data from the Fisher exact test did not however, change the outcome of the results, showing that the observed effects are robust.

This flooding event demonstrates one of the mechanisms for long range dispersal. Other long range dispersal mechanisms include e.g. ants. Although the role of ants in establishing BPD infections has been determined (Evans, 1973; Ngwohgi, 2015) the distance over which they might transport inoculum remains unclear. Finally, the role of human mediated transport of inoculum should not be neglected either. The continued presence of a disease cluster as of 2010 in the Ngat plot next to a footpath through the plot might present a clue as to the importance of human mediated dispersal.

More efficient means to detect and quantify (soil-borne) inoculum of *P. megakarya* will also go a long way to help elucidate the factors that govern BPD epidemics in cocoa. Based on our observations some infection cluster appeared and disappeared over time thus we believe there is a steady influx of exogenous inoculum throughout the years. Yet in the observed plantations, in spite of this steady influx, *P. megakarya* seemed to have difficulty establishing itself. This seems to be somewhat contradictory in light of the multiple possibilities that *P. megakarya* has to survive in cocoa plantations. *Phytophthora megakarya* can survive up to 18 months in the soil (Ward and Griffin, 1981). Several intercropped species (*Elaeis guineensis*, *Persea Americana*) and *Musa spp* (present during the first 2-3 years after plot installation in 2006) were identified as "alternative" hosts for *P. megakarya* (Akrofi *et al*., 2015) yet here no contribution to BPD establishment and dispersal was observed. On the contrary, *C. nucifera* and *E. guineensis* seem to act as a barrier in Bakoa as supported by a PSA mainly present within columns (Fig 4a). Moreover, claims that *P. megakarya* can survive and remain viable for many months in bark, wood, and plant debris and readily cause cankers (Akrofi, 2015; Appiah *et al*., 2004) have to be interpreted somewhat cautiously. Ali *et al* (2016) e.g. showed that out of a sample of 39 *Phytophthora* isolates collected in Ghana between 1993 and 2012, identified as *P. megakarya*, 38 were actually *P. palmivora*. Yet, the idea that *P. megakarya* survives elsewhere than the soil cannot be discarded either given the high level of intra-tree dispersal, the significant link for within tree disease incidence between subsequent years (Table 1, H2) and low presence in the soil. The findings here do however, clearly indicate the difficulty of *P. megakarya* establishment in the studied plots.

Conclusions: Based on the data presented here it seems there is a distinct possibility to create cacao plantations in which the disease has low impact. The results indicate that primary inoculum plays a more

important role than previously thought in disease epidemics. That being so, more attention should be focused on management of primary inoculum. By rigorous phytosanitation, as soon as first infections are observed, disease progress over years can be slowed and the build-up of a soil inoculum reservoir limited. By slowing the build-up of the inoculum reservoir, phytosanitation in young cocoa plantations actually seems to be more effective compared with phytosanitation in plantations where a substantial inoculum reservoir exists. In young cocoa plantations phytosanitation should thus not only be seen as a control measure but also as a preventative measure. Such a practice would greatly reduce the need for fungicide applications. However, this means altering the mind-set of farmers since they generally start phytosanitation only when the disease surpasses a certain threshold, often providing the pathogen with ample time to build an inoculum reservoir. Accompanying measures to further limit the establishment of an inoculum reservoir such as e.g. soil applications with biocontrol agents (Ndoungué *et al*. 2018) could provide additional means to limit disease progression.

Since the disease had difficulty establishing itself in the studied plots, it was the surrounding environment that provided a steady source of exogenous inoculum. Consequently, efforts should be made to limit primary inoculum of *P. megakarya* arrival by maintaining sufficient distance or using other plant species as barriers when creating new cacao plantations. Such a strategy is also envisioned in Côte d'Ivoire and Ghana to limit the impact of CSSV disease and would thus have the added benefit of limiting BPD.

Furthermore, as proven by the flooding event, flood prone areas should be avoided as rivers can transport *P. megakarya* propagules. Nonetheless, the presence of river near a cacao plantation could be beneficial for irrigation and serves as a water source for e.g. pesticide applications.

This study is a first on how newly established cacao cropping systems become infected with *P. megakarya*. Complementary studies are needed for further clarification on the mechanisms for long range (> 6 m) dispersal and the identification of inoculum entry pathways in order to improve management strategies of BPD.

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge funding by the ATP Omega3, ATP Safsé, and the 'Dispositif en partenariat (DP)' Agroforesterie Cameroun. We would like to thank CIRAD and IRAD staff that helped implement the project and provided useful information. We especially thank Olivier Sounigo, Raymond Bourgoing, Bruno Efombagn, Zacharie Techou, Sandrine Petchayo and Christian Nembot for their participation. We also address our gratitude to the farmers Emile Ohono, Robert Kanigoule†, Andre Belebele and Germain Bilongo who agreed to work with us on their farms.

References

Akrofi, A. Y. 2015. *Phytophthora megakarya*: a review on its status as a pathogen on cacao in West Africa. *Afr. Crop. Sci*. 23:67-87.

Akrofi, A. Y., Amoako-Atta, I., Assuah, M., and Asare, E. K. 2015. Black pod disease on cacao (*Theobroma cacao* L) in Ghana: spread of *Phytophthora megakarya* and role of economic plants in disease epidemiology. *Crop Prot.* 72:66-75.

Agresti, A. 2007. An Introduction to Categorical Data Analysis, 2nd ed John Wiley & Sons394p.

Ali, S. S., Amoako-Atta, I., Bailey, R. A., Strem, M. D., Schmidt, M., Akrofi, A. Y., Surujdeo-Maharaj, S., Kolawole, O. O., Begoude, D. B. A., ten Hoopen, G. M., Goss, E., Mora, P. W., Meinhardt, and Bailey, A. B. 2016. PCR-based identification of cacao black pod causal agents and identification factors possibly contributing to *Phytophthora megakarya's* field dominance in West Africa. *Plant pathol.* 65:1095-1108 doi: 10.1111/ppa12496.

Appiah. A. A., Opoku. I. Y., and Akrofi. A. Y. 2004. Natural occurrence and distribution of stem cankers caused by *Phytophthora megakarya* and *Phytophthora palmivora* on cocoa. *Eur. J. Plant Pathol*. 110: 983-990

Bailey, B.A., Ali, S., Akrofi, A.Y., and Meinhardt, L. 2016. Phytophthora megakarya, a causal agent of black pod rot in Africa. In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 267-303. *Springer* 630pp.

Barzman, M., Bàrberi, P., Birch, A. N. E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel, B., Jensen, J. E., Kiss, J., Kudsk P., Lamichhane, J. R., Messéan, A., Moonen, A. C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J. L., and Sattin, M. 2015. Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Develop.* 35:1199-1215 doi: 10 007/913593-015-0327-9.

Beilhe, B. L., Ketchiemo, T. F., and Niemenak, N. 2017. Analyse de la relation dégâts dommages entre mirides et cacaoyer. *Int. Cacao Res. Symp.* 2017-11-13/2017-11-17, Lima, Peru.

Besag, J. 1977. Contribution to the discussion of Dr Ripley's paper. *J. Roy. Stat. Soc.* B39:193-195.

Bonnot, F., de Franqueville, H., and Lourenço, E. 2010. Spatial and spatiotemporal pattern analysis of coconut lethal yellowing in Mozambique. *Phytopathology* 100:300-312.

Brasier, C. M., and Griffin, M. J. 1979. Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cacao. Transactions of the *Br. Mycol. Soc.* 72(1):111-143.

Brasier, C. M., Griffin, M. J., Ward, M. R., Idowu, O. L., Taylor, B., and Adedoyin. S. F. 1981. Epidemiology of *Phytophthora* on Cocoa in Nigeria: No. 25. Final Report of the International Cocoa Black Pod Research Project. *Commonw. Mycol. Inst. Kew. Phytopathol. Pap*. Kew, Surrey-London; 1981.

Bullock, J. M., Shea, K., and Skarpaas, O. 2006. Measuring plant dispersal: an introduction to field methods and experimental design. *Plant Ecol.* 186:217–234.

Butler, D. R. 1980. Dew and Thermal lag: measurements and an estimate of wetness duration on cacao pods. *Quart. J. Met. Soc.* 106: 539-550.

Campbell, C. L., and Madden, L. V. 1990. Spatial aspects of plant disease epidemics II: analysis of spatial patterns. In *Introduction to Plant Disease Epidemiology*, eds. CL Campbell and LV Madden, 1:289–328. New York: Wiley. 532 pp.

Cliff, A. D., and Ord, J. K. 1981. Spatial processes: Models and applications. London, 266p.

Cressie, N. A. C. 1993. Statistics for Spatial Data. London, UK: Wiley–Blackwell.

Dakwa, J. T. 1987. A serious outbreak of black pod disease in a marginal area of Ghana. Proceedings of the *10th Int. Cacao Res. Conf*., Santo Domingo, Dominican Republic, 17- 23rd May, 1987.

Dale, M. R. 1999. Concepts of spatial pattern analysis in plant ecology, In Spatial Pattern Analysis in Plant Ecology, ed. M. Dale, pp. 1–30. *Cambridge. Univ. Press.* 326 pp.

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

Djiekpor, E. K., Partiot, M., and Lucas, P. 1982. The cacao black pod disease due to *Phytophthora* sp in Togo determination of species responsible. *Cafe Cacao Thé* 26 (2):97-108.*

European Union, 2009. Directive 2009/128/EC of the European parliament and of the council of 21 October 2009: establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides. *Official journal of the European Journal* 309/71.

Evans, H. C., 1973. Invertebrate vectors of *Phytophthora palmivora* causing black pod disease of cocoa in Ghana. *Ann. Appl. Biol*., 75: 331-345.

Fay P. M., Hunsberger, A S., Nason, M., and Gabriel, E. 2018. Exact Tests and Confidence Intervals for 2x2 Tables. R package version 1.6.3, p25.

Flood, J., Guest, D., Holmes, K.A., Keane, P., Padi, B., and Sulistyowati, E. 2004. Cocoa under attack. In: J. Flood & R. Murphy (Eds.), Cocoa futures (p. 164). Chincina, CO: CABIFEDERACAFE.

Gidoin, C., Babin, R., Beilhe, L. B., Cilas, C., Hoopen, G. M. T., and Bieng, M. A. N. 2014b. Tree spatial structure, host composition and resource availability influence mirid density or black pod prevalence in cacao agroforests in Cameroon. *PLoS ONE*, 9 (10) e109405 doi:10.1371.

Goreaud, F. 2000. Apports de l'analyse de la structure spatiale en forêt tempérée à l'étude et à la modélisation des peuplements complexes. Thèse de doctorat, *ENGREF*, centre de Nancy, France, p 526.

Gregory, P. H. 1974. *Phytophthora* disease of cacao. *Longman Group Limited*, London, 348p.

Gregory, P., Griffin, M., Maddison, A., and Ward, M. 1984. Cocoa black pod: A reinterpretation. *Cocoa Growers' Bulletin* 35, 5-22.

Gregory, P. H., and Maddison, A. C. 1981. Epidemiology of *Phytophthora* on Cocoa in Nigeria. *Commonw. Mycol. Inst. Kew. Phytopathol. Pap*. No. 25.

Guest, D. 2007. Black pod: diverse pathogens with a global impact on cacao yield. *Phytopathology.* 97:1650–1653.

Gutiérrez, O. A., Campbell, A. S., and Phillips-Mora, W. 2016. Breeding for Disease Resistance in Cacao, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 567-609. *Springer* 630pp.

Hinman, S. E., Blackburn, J. K., and Curtis, A. 2006. Spatial and temporal structure of typhoid outbreaks in Washington, D.C., 1906–1909: evaluating local clustering with the Gi* statistic. *Inter. J. Hist. Geograph.* 5:1-13 doi: 10.1186/1476-072X-5-13.

Holmes, K. A., Evans, H. C., Wayne, S., and Smith, J. 2003. *Irvingia*, a forest host of the cacao black pod pathogen, *Phytophthora megakarya*, in Cameroon. *Plant Pathol.* 52:486–490

Husson, C., Thoirain, B., Ioos, R., Frey, P., and Marçais, B. 2006. L'eau, vecteur d'agents pathogènes: cas du *Phytophthora* de l'Aulne. *Rev. For. Fr*. LVIII: 351-360.

International Cocoa Organization, 2014. Economics Committee: The cocoa market situation. *4th meeting*, London, 16-18 September 2014.

Jagoret, P., Michel-Dounias, I., Snoeck, D., Todem Ngnogué, and H., Malezieux E. 2012. Afforestation of savannah with cacao agroforestry systems: a small-farmer innovation in central Cameroon. *Agrofor. Syst.* 86:493–50.

Jolles, E. A., Sullivan, P., Alker, P. A., and Harvell, D. C. 2002. Disease transmission of aspergillosis in sea fans: inferring process from spatial pattern. *Ecology*, 83(9), 2373–2378.

Landcaster J., and Downes, B. J., 2004. Spatial point pattern analysis of available and exploited resources. *Ecography*, 27:94-102.

Koenig, W.D. 1999. Spatial autocorrelation of ecological phenomena. *Tree* 14:22-26

Maddison, A. C., and Griffin, M. J. 1981. Detection and movement of inoculum. In: Gregory, P. H. & Maddison A. C. (Eds.), Epidemiology of *Phytophthora* on cocoa in Nigeria, *Commonw. Mycol. Inst. Kew. Phytopathol. Pap*. No. 25.

Mahob, R. J., Baleba, L., Yede, Dibog, L., Cilas, C., Bilong Bilong, C. F., and Babin, R. 2015. Spatial distribution of *Sahlbergella singularis* hagl. (hemiptera: miridae) populations and their damage in unshaded young cacao-based agroforestry systems. *Int. J. Plant Animal Environ. Sci*. 5:121-131 ISSN 2231-4490.

Medeiros, A. G. 1967. Caracterizacao de area 'Foco' da 'podridao parda'. *Infome Technico* CEPEC, 38-39.

Mfegue, V. 2012. Origine et mécanismes de dispersion des populations de *Phytophthora megakarya*, pathogène du cacaoyer au Cameroun. Thèse de doctorat. *Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques* Montpellier-SupAgro, 186p

Monteith, L. J., and Butler, D. R. 1979. Dew and Thermal lag: a model for cocoa pods. *Quart. J. Met. Soc.* 105:207-215.

Muller, E. 2016. Cacao Swollen Shoot Virus (CSSV): history, biology, and genome, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 337-358. *Springer* 630pp.

Nembot, C., Takam Soh, P., ten Hoopen, G.M., and Dumont, Y. 2018. Modeling the temporal evolution of cocoa black pod rot disease caused by *Phytophthora megakarya. Math Meth Appl Sci.* 41:8816–8843. DOI: 10.1002/mma.5206

Ndoumbè-Nkeng, M. 2002. Incidence des facteurs agro-écologiques sur l'épidémiologie de la pourriture brune des fruits du cacaoyer au Cameroun : contribution à la mise en place d'un modèle d'avertissements agricoles. Thèse de Doctorat. *Institut National Agronomique Paris-Grignon.*

Ndoumbè-Nkeng, M., Cilas, C., Nyemb, E., Nyasse, S., Flori, A., and Sache, I. 2004. Impact of removing disease pods on cacao black pod caused by *Phytophthora megakarya* and on cacao production in Cameroon. *Crop Prot.* 23 (5):415-424.

Ndoumbè-Nkeng, M., Efombagn, M. I. B., Nyasse, S., Nyemb, E., Sache, I. and Cilas, C. 2009. Relationships between cacao *Phytophthora* pod rot disease and climatic variables in Cameroon. *Plant Pathol.* 31: 309-320.

Ndoumbè-Nkeng, M., Efombagn, M. I. B., Bidzanga, N. L., Sache, I., and Cilas, C. 2017. Spatio-temporal dynamics on a plot scale of cacao black pod rot caused by *Phytophthora megakarya* in Cameroon. *Eur. J. Plant Pathol*. 147:579–590.

Ndoungué, M., Petchayo, S., Techou, Z., Nana, W. G., Nembot, C., Fontem, D., and Ten Hoopen, G. M. 2018. The impact of soil treatments on black pod rot (caused by *Phytophthora megakarya*) of cacao in Cameroon. *Bio. Cont.* 123:9-17.

Neher, D., and Duniway, J.M. 1992. Dispersion of *Phytophthora parasitica* in tomato fields by furrow irrigation. *Plant Dis*. 76: 582-586.

Ngo Bieng, M. A., Gidoin, C., Avelino, J., Cilas, C., Deheuvels, O., and Wery, J. 2013. Diversity and spatial clustering of shade trees affect cacao yield and pathogen pressure in Costa Rican agroforests, *Bas. App. Ecol.* 14(4):329–336.

Ngwohgi, M. F. 2015. Rôle des fourmis arboricoles dans la dissémination de *Phytophthora megakarya* Brasier et Griffin, agent causal de la pourriture brune du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) au Cameroun. *Mémoire de Master, Université de Yaoundé I*, 71p.

Nyasse, S., Grivet, L., Risterucci, A. M., Blaha, G., Berry, D., and Lanaud, C. 1999. Diversity of *Phytophthora megakarya* in Central and West Africa revealed by isozyme and RAPD markers. *Mycol. Res.* 103:1225- 1234.

Opoku, I. Y., Akrofi, A. Y. and Appiah, A. A. 2002. Shade trees are alternative hosts of the cacao pathogen *Phytophthora megakarya*. *Crop Prot.* 21:629-634.

Opoku, I. Y., Assuah, M. K., and Aneani, F. 2007. Management of black pod disease of cacao with reduced number of fungicide application and crop sanitation. *Afr. J. agri. Res.* 2:601-604.

Oro, Z. F., Bonnot, F., Ngo-Bieng, M. A., Delaitre, E., Dufour, P. B., Ametefe, E. K., Mississo, E., Wegbe, K., Muller, E., and Cilas, C. 2012. Spatiotemporal pattern analysis of cacao swollen shoot virus in experimental plots in Togo. *Plant Pathol.* 61:1043–1051.

Pélissier, R., and Goreaud, F. 2015. Ads: Spatial point patterns analysis. R package version 1.5-2.2. Pion. 266 p.

Ploetz, R. 2016. The impact of diseases on cacao production: a global overview, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 33-59. *Springer* 630pp.

Puig, A. S., Ali, S., Strem, M., Sicher, R., Gutierrez, O. A., and Bailey, B. A. 2018. The differential influence of temperature on *Phytophthora megakarya* and *Phytophthora palmivora* pod lesion expansion, mycelia growth, gene expression, and metabolite profiles. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 102:95-112.

R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Reynolds, K. M., and Madden, L. V. 1988. Analysis of epidemics using spatio-temporal autocorrelation. *Phytopathology* 78:240-246.

Ristaino, J. B., and Gumpertz, M. L. 2000. New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. *Annu. Rev. Phytopathol*. 38:541-576.

Risterucci, A. M., Paulin, D., Ducamp, M., N'Goran, J. A. K., and Lanaud, C. 2003. Identification of QTLs related to cacao resistance to three species of *Phytophthora*. *Theor. Appl.Genet.*108:168-174

Sansome, E., Brasier, C. M., and Griffin, M. J. 1975. Chromosome size differences in *Phytophthora palmivora*, a pathogen of cacao. *Nature*. 255:704-705.

Sansome, E., Brasier, C. M., and Sansome, F. W. 1979. Further cytological studies on the 'L' and 'S' types of *Phytophthora* from cacao. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 73(2):293-302.

Ten Hoopen, G. M., Sounigo O., Babin, R., Yédé, Dikwe, G., and Cilas, C. 2010. Spatial and temporal analysis of a *Phytophthora megakarya* epidemic in a plantation in the Centre of Cameroon. *16th Int. Cacao Res. Conf.* 2009-11-16/2009-11-21, Bali, Indonésie.

Themann, K., Werres, S., Luttmann, R., and Diener, H. A. 2002. Observations of *Phytophthora* spp. in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stocks. *Eur. J. Plant Pathol.* 108:337-343.

Ward, M. R., and Griffin, M. J. 1981. Soil phase of cacao *Phytophthora*. In: Epidemiology of cacao in Nigeria. Gregory, P. H. (ed.) Common. *Mycol. Inst. Phytopathol*. *Pap*. 25:50-61.

Table 1: Odds ratio, lower limit of confidence interval (inf. CI) and P-value of one-sided Fisher exact test for three hypotheses about the relationship between disease incidence and soil infections of *P. megakarya* in cocoa.

Transition year	Odds ratio	Inf. CI	P-value
H1:Disease incidence in year *t* related to soil infection in year t_{+1}			
2013-2014	0.44	0.20	0.44
2014-2015	0.38	0.16	0.01
2015-2016	0.54	0.24	0.13
H2: Disease incidence in year *t* related to disease incidence in year t_{+1}			
2013-2014	3.34	2.22	1.35e-08
2014-2015	3.11	1.90	5.70e-07
2015-2016	5.46	3.07	1.62e-06
H3: Soil infection in year *t* related to soil infection in year t_{+1}.			
2013-2014	2.30	0.42	0.36
2014-2015	1.79	0.46	0.46
2015-2016	13.77	4.36	1.05e-06

Table 2: Odds ratio, lower limit of confidence interval (inf. CI) and P-value of one-sided Fisher exact test for three hypotheses about the relationship between primary and secondary infections of *P. megakarya* in cocoa

Year/Transition year	Odds ratio	Inf. CI	P-value
H1: More secondary infections in year *t* derive from primary infections in year *t*			
2011	239.19	101.02	2.2e-16
2013	194.23	98.80	2.2e-16
2014	23.81	16.58	2.2e-16
2015	374.73	168.91	2.2e-16
2016	83.34	47.98	2.2e-16
H2: Higher number of infected trees in year *t* leads to higher number of primary infections in year t_{+1}			
2013-2014	3.75	2.52	3.035e-08
2014-2015	4.65	2.98	5.938e-09
2015-2016	7.37	4.26	3.983e-09
H3: More secondary infections in year *t* generate more primary infections in year t_{+1}.			
2013-2014	4.02	2.68	1.203e-08
2014-2015	4.38	2.71	3.304e-07
2015-2016	6.28	3.30	3.159e-06

Table 3: Mean maximum temperature ($T_{max,}$ °C), mean daily temperature amplitude (T_{ampl}, °C), mean time per day T> 30°C ($T_{>30°C,}$ hour.day^{-1}), Mean Minimum relative humidity (RH_{min}, %) and mean daily RH amplitude (RH_{ampl}, %) for each plot in different locations

Plot	ID loggers	T_{max} °C *	T_{ampl} °C	T>30°C	RH_{min} %	RH_{ampl} %
Bakoa[1]	B1	32.3b	11.0ab	4.0ab	63.8ab	40.6c
	B2	31.4ab	10.0ab	3.5ab	66.3b	34.1b
	B4	33.4b	12.4b	4.5b	62.8ab	37.2b
	B5	33.0b	11.7ab	3.9ab	60.4ab	39.6c
	B6	29.8a	8.8a	3.0a	70.1b	35.3b
	B7	29.8a	8.6a	2.6a	40.8a	59.2d
	B8	31.8ab	10.7ab	3.9ab	63.1ab	36.8b
	B9	29.6a	8.7a	3.1a	68.5b	31.5b
	B10	34.7c	13.6b	4.9b	54.9ab	44.5c
	B11	31.3ab	9.1a	3.7ab	84.1c	14.9a
	B12	33.1b	12.1b	3.8ab	38.3a	61.6d
	B13	32.4b	11.3ab	4.1ab	62.5ab	38.0b
Kedia	K1	35.9c	15.2c	5.5ab	55.5c	43.6ab
	K2	33.7b	13.2b	7.6b	46.3b	53.7b
	K3	34.2bc	13.9b	5.1ab	47.6b	52.0b
	K4	31.8a	11.6a	3.5a	63.0d	37.6a
	K5	35.9c	15.6c	4.9ab	39.9a	59.8c
	K6	34.8bc	14.5bc	5.2ab	59.0c	40.9a
Ngat	N1	26.5a	6.95a	0.0a	68.7bc	29.9b
	N4	28.7b	8.61b	2.0b	71.6c	28.2ab
	N5	29.9bc	10.48c	1.9b	50.4a	49.6c
	N6	29.7bc	10.19c	2.0b	68.8bc	31.0b
	N7	29.9bc	10.21c	2.3b	57.6a	42.3c
	N8	31.6c	11.63d	2.6b	63.5b	36.7bc
	N9	29.5bc	10.03c	1.8b	76.3c	23.7a
Mean Bakoa**	-	31.9b	10.6b	3.8b	61.4b	39.4b
Mean Kédia	-	34.4c	14.0c	4.7c	51.9a	47.9c
Mean Ngat	-	29a	9.3a	1.8a	66.4c	32.8a

*Values in the same column followed by the same letter are not statistically different from other values in the same plot (Kruskal-Wallis and Wilcoxon rank test at P=0.05).

**Mean values per plot, values in the same column followed by the same letter are not statistically different between plots (Kruskal-Wallis and Wilcoxon rank test at P=0.05).

Figure legends

Figure 1: Plot layouts and their neighbouring environments as established in 2009 and locations of Tinytag temperature and relative humidity data loggers in 2016 (black squares) (top of the figures). Subsequent plot layouts show the spatial distribution of the three cacao health statuses starting from the year first infections were observed for a) Bakoa, from 2011 to 2016, where cocoa is interspersed with lanes containing oil palm (to the left) and coconut (to the right), b) Kedia, from 2010 to 2016, where cocoa is interspersed with oil palm trees and c) Ngat, from 2009 to 2016, where certain cocoa trees are replaced with fruit trees (f). Slope direction is indicated from top to bottom by the arrow on the right. The orange line in Fig. 1c, marks a well traversed footpath.

Legend: each square corresponds to a cocoa tree with as status either "Healthy" (grey), "Infected" (black), or "Non-Productive" (light grey). White areas correspond to areas where no cocoa was grown either because of the interspersed oil palm (Bakoa and Kedia), coconut (Bakoa) or fruit trees (Ngat NGA) or because of the presence of other crops. Locations with a horizontal bar depict soil sample locations testing negative, and triangles depict soil sample locations testing positive for the presence of *P. megakarya.*

Figure 2: Ripley function L(r) for "Infected" cacao trees for a) Bakoa from 2013 to 2016, b) Kedia from 2011 to 2016 and c) Ngat from 2011 to 2016.

Solid line = observed values; dashed lines = 0.99 confidence interval under the hypothesis of complete spatial randomness obtained through simulation of 10 000 L(r) curves using the Monte Carlo method.

Figure 3: Correlogram maps showing the results (in p-values) of the join-count statistics analysis between "Infected" cacao trees for a) Bakoa from 2010-2016, b) Kedia from 2011-2016 and c) Ngat from 2009 to 2016. Correlograms are symmetrical along the x-axis.

Figure 4: Total number of infected cocoa trees per year, per plot.

Figure 5: Temporal dynamics of primary and secondary infections over time in a) Bakoa from 2010-2016, b) Kedia from 2011-2016 and c) Ngat from 2011-2016. For all plots year 2012 is absent since data is incomplete for this year.

Solid line= primary infections, dashed line= secondary infections
Horizontal lines at the top of the graph depict the dry - - - - - and the wet —··—· seasons.

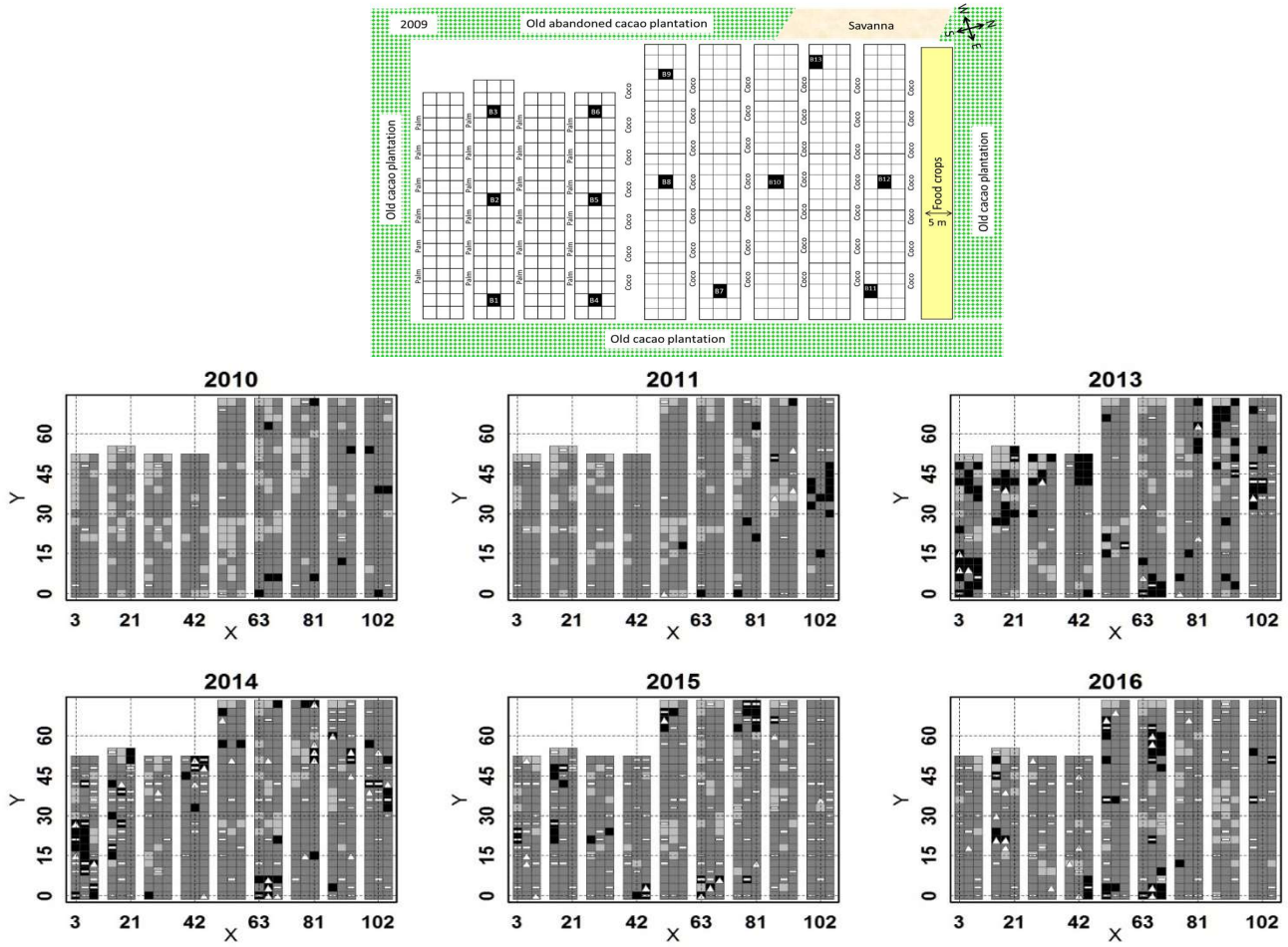
2009
Old abandoned cacao plantation
Savanna
Old cacao plantation
Old cacao plantation
Old cacao plantation
Food crops
5 m
B1
B2
B3
B4
B5
B6
B7
B8
B9
B10
B11
B12
B13
2010
2011
2013
2014
2015
2016
Y
X
0
15
30
45
60
3
21
42
63
81
102

Fig. 1a

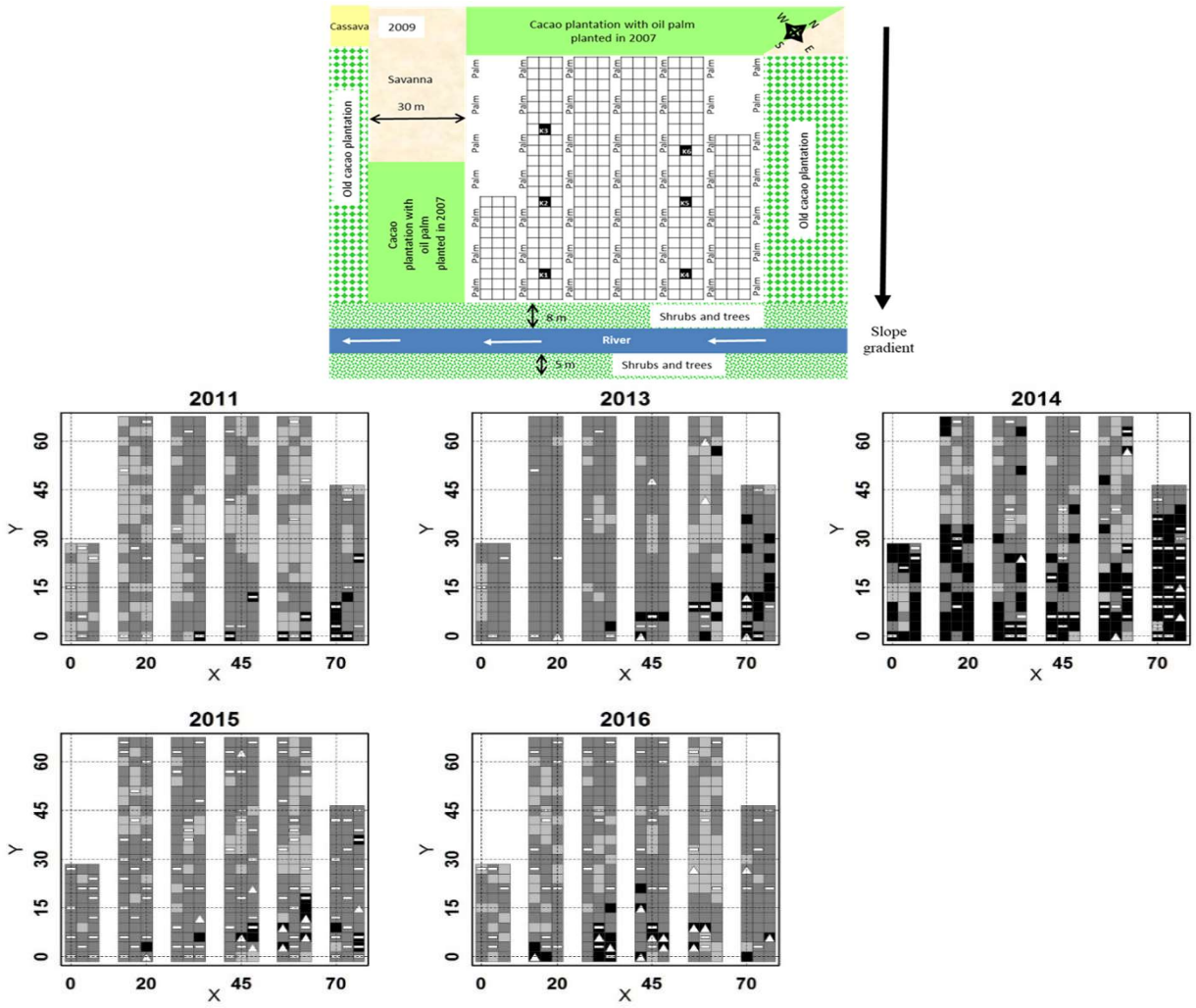
Cassava
2009
Cacao plantation with oil palm planted in 2007
Savanna
30 m
Old cacao plantation
Cacao plantation with oil palm planted in 2007
Old cacao plantation
Palm
8 m
Shrubs and trees
River
5 m
Shrubs and trees
Slope gradient
2011
2013
2014
2015
2016
Y
X
0
15
30
45
60
0
20
45
70

Fig. 1b

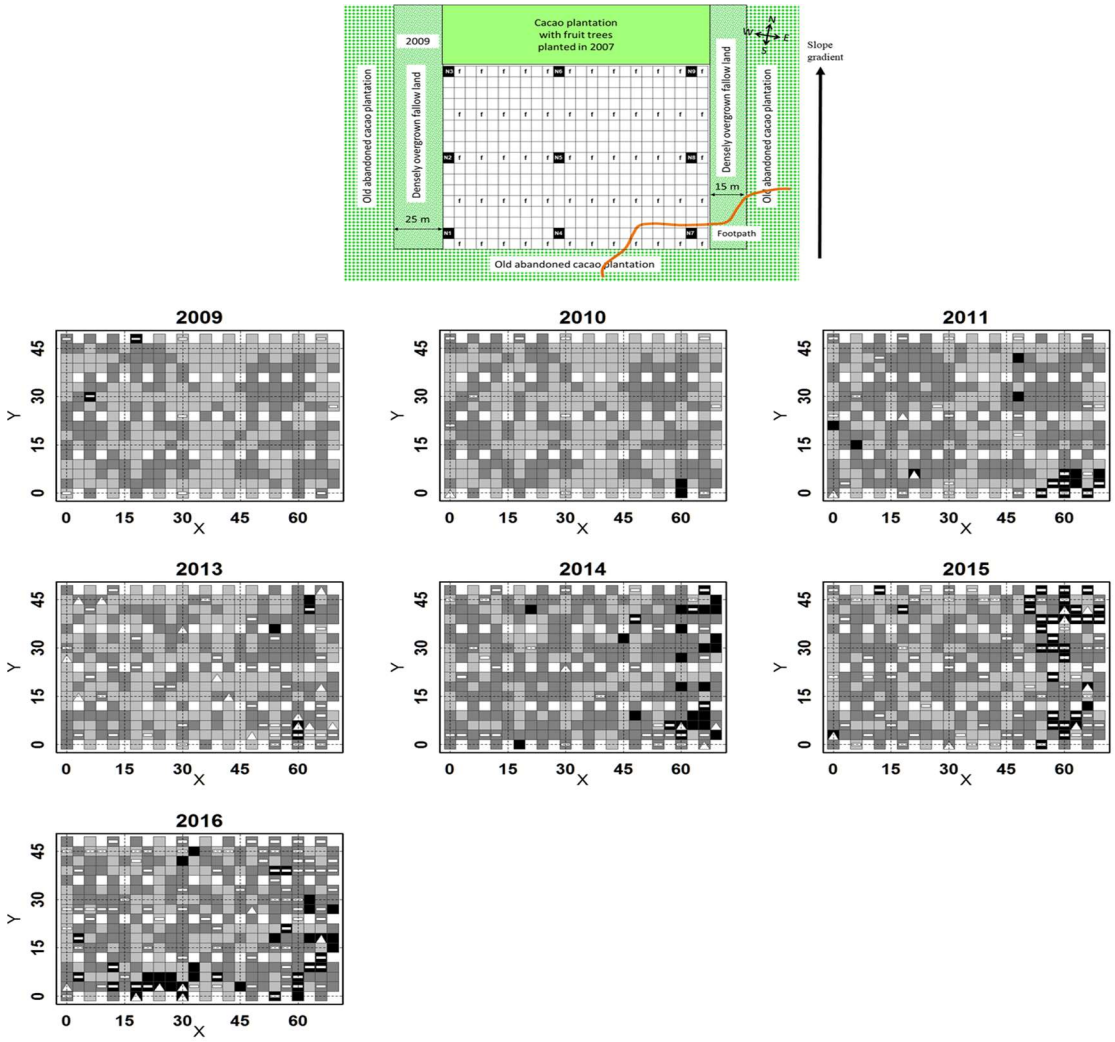
Cacao plantation
with fruit trees
planted in 2007
2009
Old abandoned cacao plantation
Densely overgrown fallow land
25 m
15 m
Footpath
Old abandoned cacao plantation
Densely overgrown fallow land
Old abandoned cacao plantation
Old abandoned cacao plantation
Slope
gradient
2009
2010
2011
2013
2014
2015
2016
X
Y

Fig. 1c

Figure 1: Plot layouts and their neighbouring environments as established in 2009 and locations of Tinytag temperature and relative humidity data loggers in 2016 (black squares) (top of the figures). Subsequent plot layouts show the spatial distribution of the three cacao health statuses starting from the year first infections were observed for a) Bakoa, from 2011 to 2016, where cocoa is interspersed with lanes containing oil palm (to the left) and coconut (to the right), b) Kedia, from 2010 to 2016, where cocoa is interspersed with oil palm trees and c) Ngat, from 2009 to 2016, where certain cocoa trees are replaced with fruit trees (f). Slope direction is indicated from top to bottom by the arrow on the right. The orange line in Fig. 1c, marks a well traversed footpath.

Legend: each square corresponds to a cocoa tree with as status either "Healthy" (grey), "Infected" (black), or "Non-Productive" (light grey). White areas correspond to areas where no cocoa was grown either because of the interspersed oil palm (Bakoa and Kedia), coconut (Bakoa) or fruit trees (Ngat NGA) or because of the presence of other crops. Locations with a horizontal bar depict soil sample locations testing negative, and triangles depict soil sample locations testing positive for the presence of *P. megakarya.*

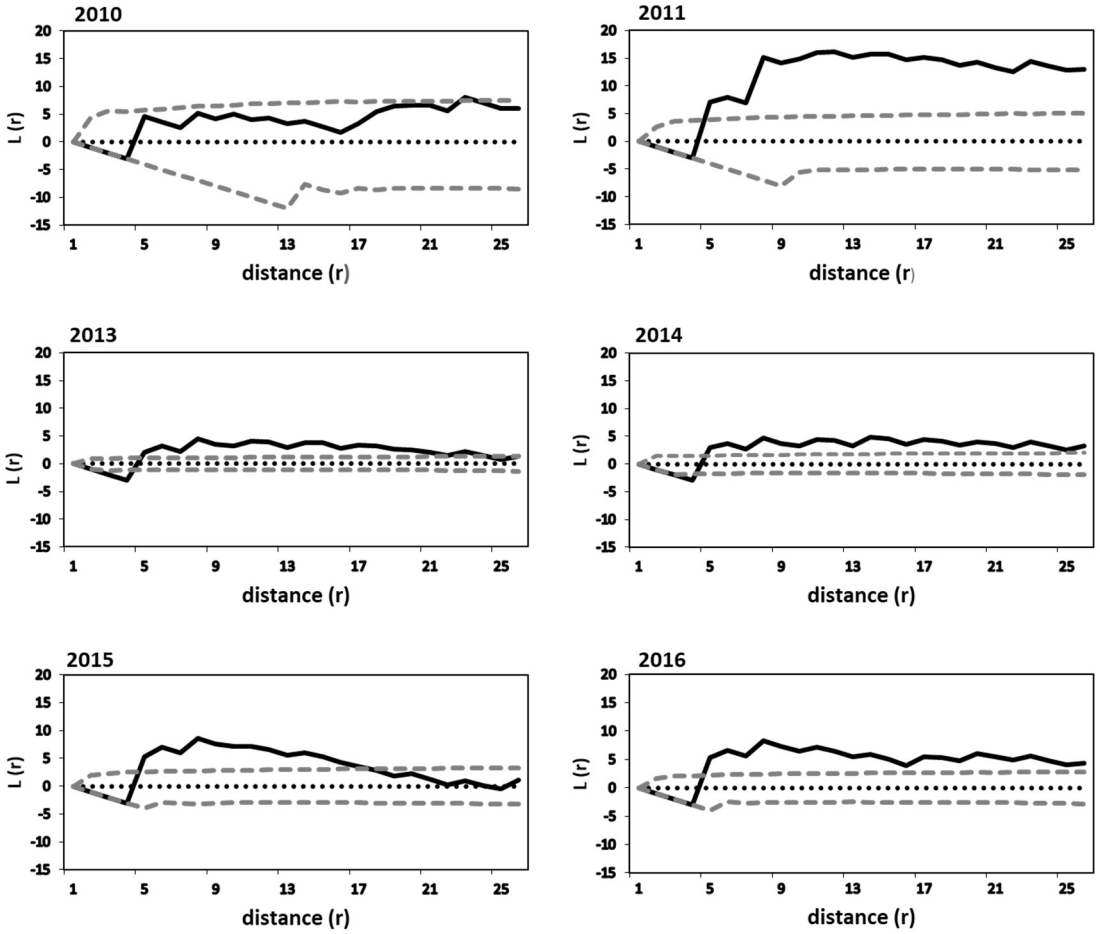

Fig. 2a

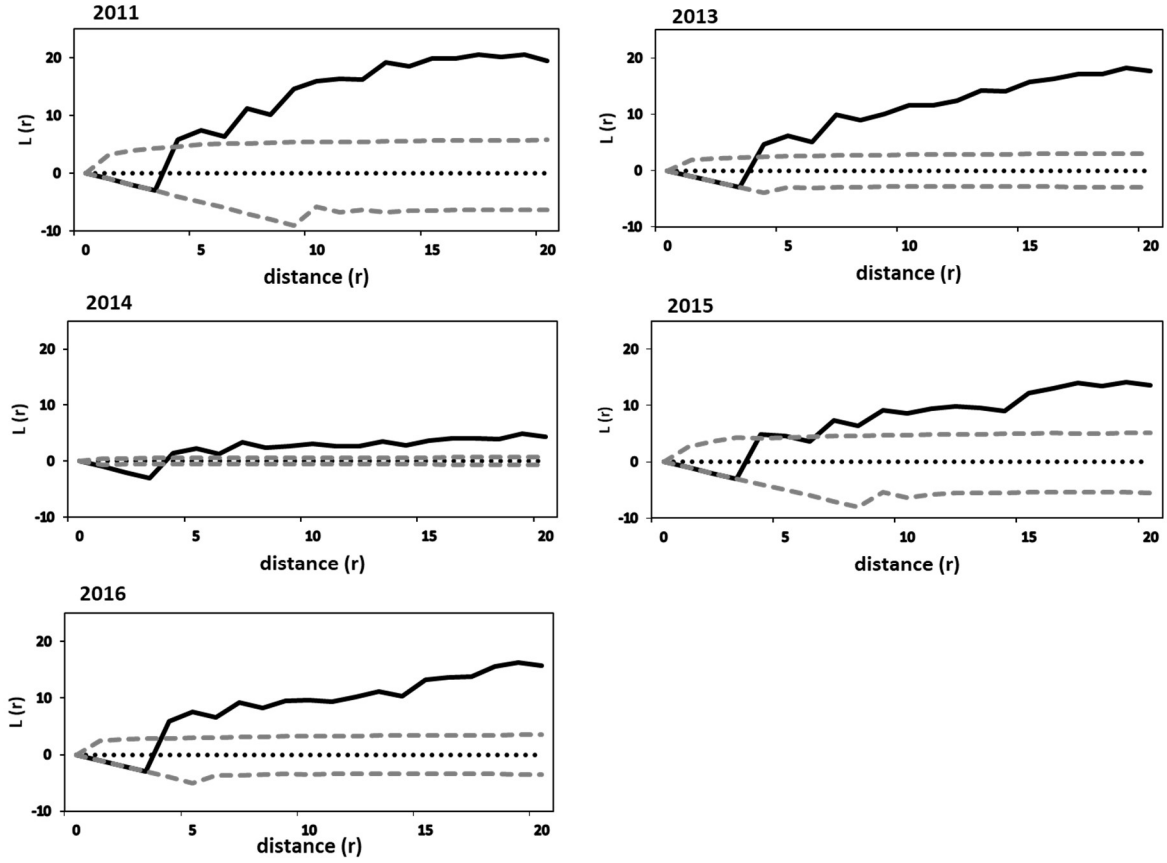

Fig. 2b

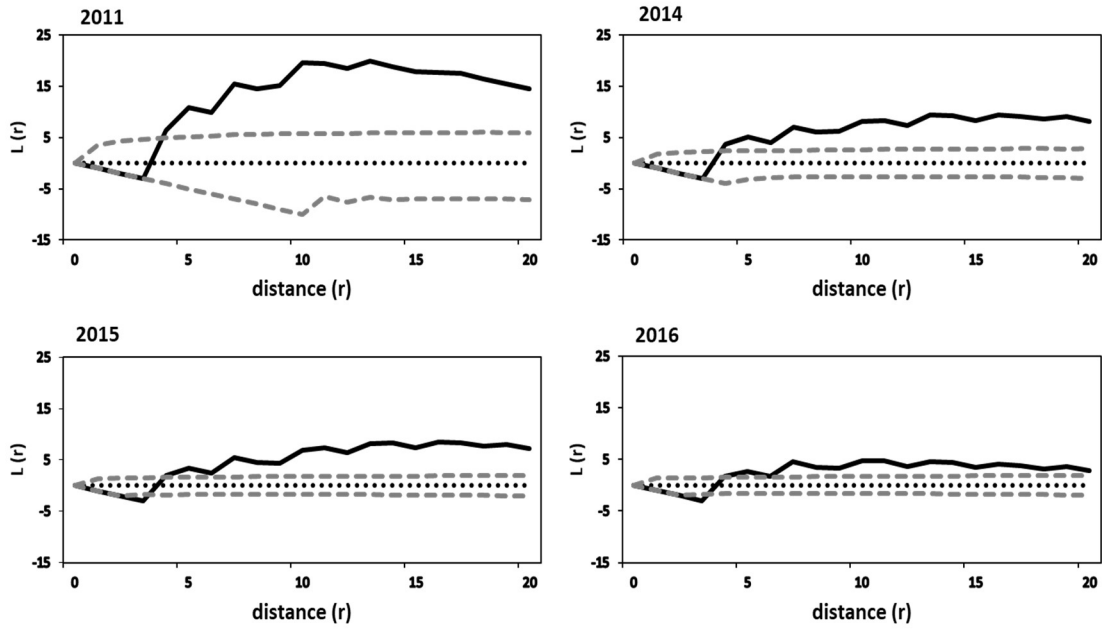

Fig. 2c

Figure 3: Ripley function L(r) for "Infected" cacao trees for a) Bakoa from 2013 to 2016, b) Kedia from 2011 to 2016 and c) Ngat from 2011 to 2016.

Solid line = observed values; dashed lines = 0.99 confidence interval under the hypothesis of complete spatial randomness obtained through simulation of 10 000 L(r) curves using the Monte Carlo method.

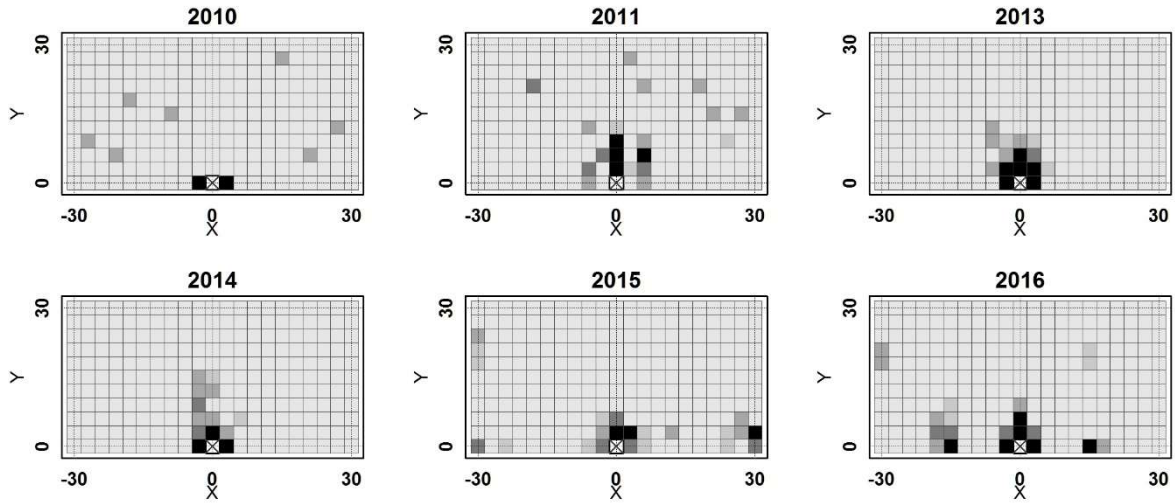
2010
2011
2013
2014
2015
2016
Y
X
30
0
-30
0
30

Fig. 3a

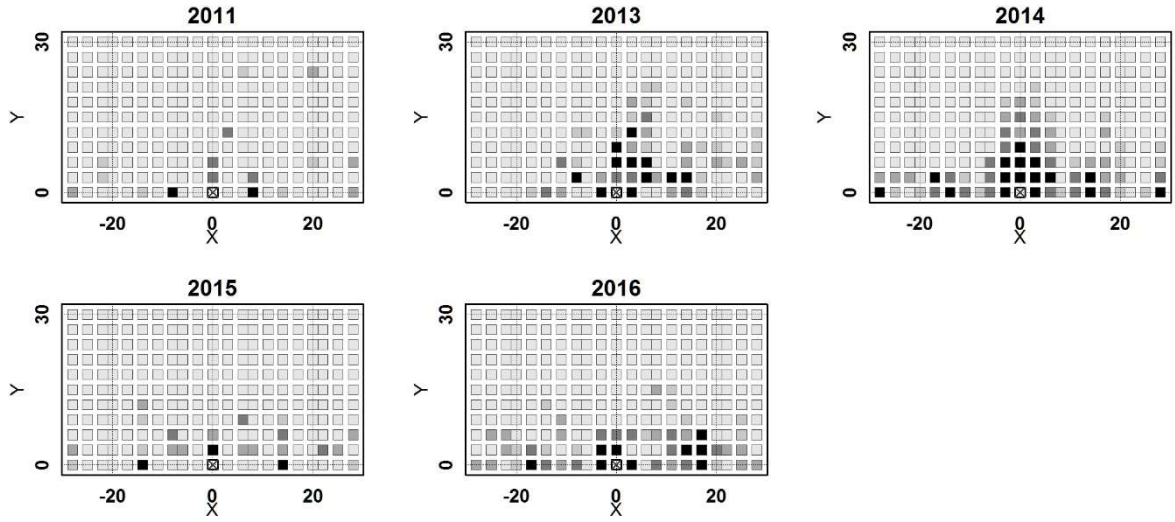
2011
2013
2014
2015
2016
Y
X
30
0
-20
0
20

Fig. 3b

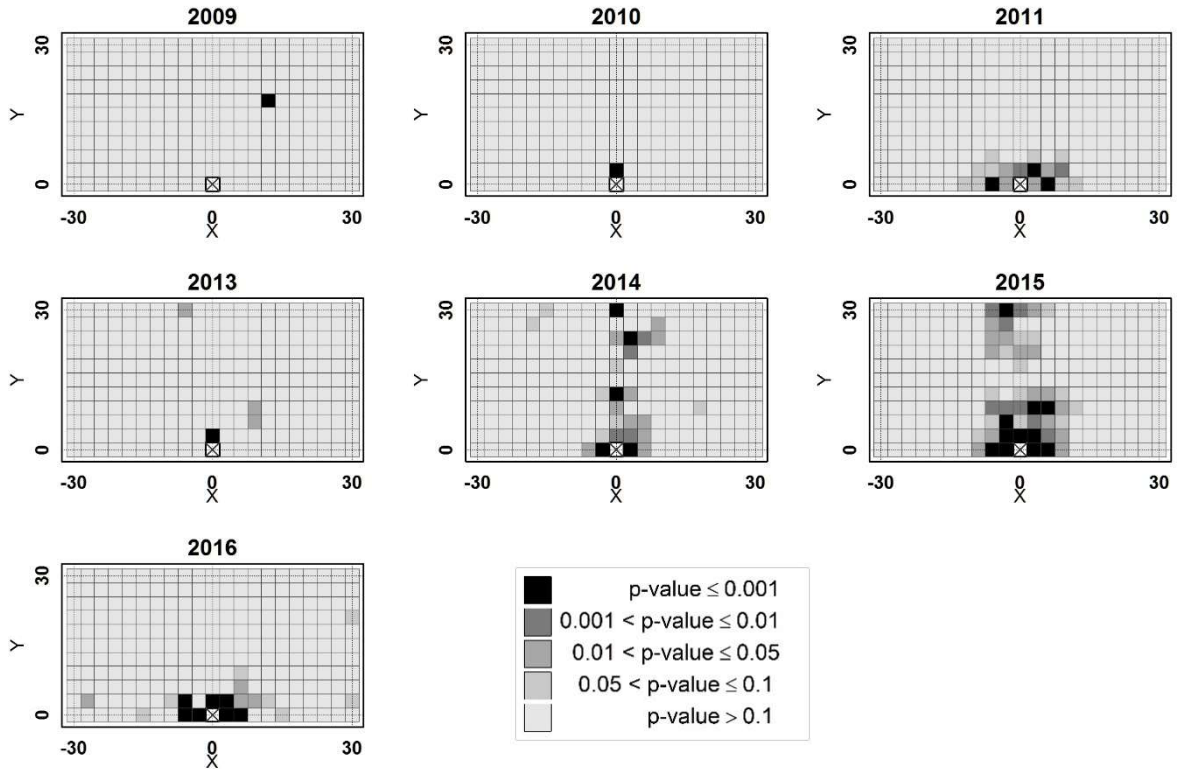

Fig. 3c

Figure 3: Correlogram maps showing the results (in p-values) of the join-count statistics analysis between "Infected" cacao trees for a) Bakoa from 2010-2016, b) Kedia from 2011-2016 and c) Ngat from 2009 to 2016. Correlograms are symmetrical along the x-axis.

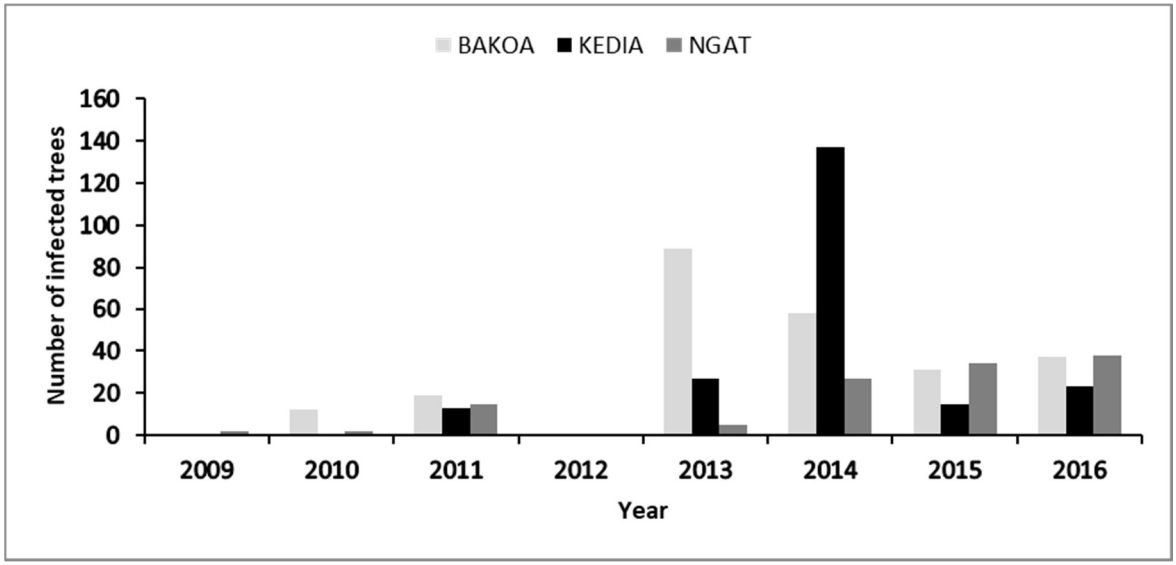

Figure 4: Total number of infected cacao trees per year, per plot

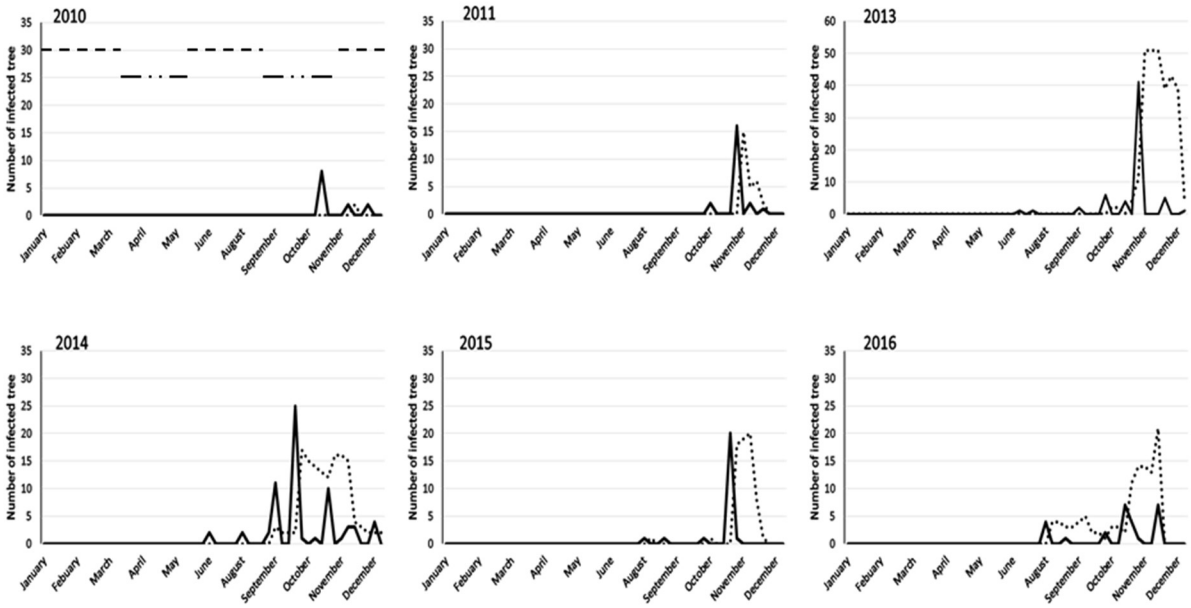
2010
2011
2013
2014
2015
2016
Number of infected tree
January
Febuary
March
April
May
June
August
September
October
November
December

Fig. 5a

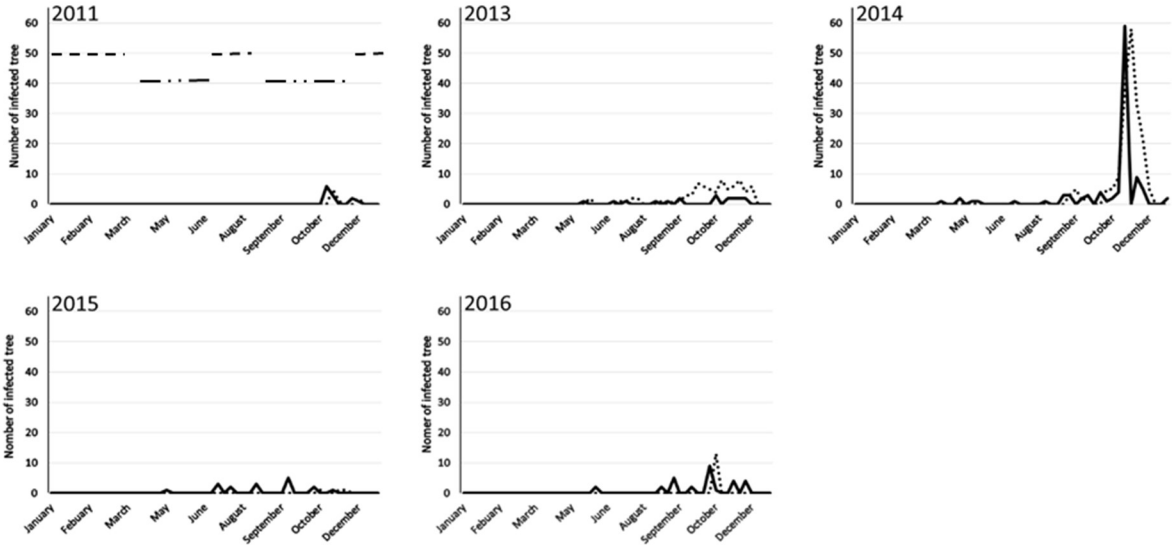
2011
2013
2014
2015
2016
Number of infected tree
Nomber of infected tree
Nomer of infected tree
January
Febuary
March
May
June
August
September
October
December

Fig. 5b

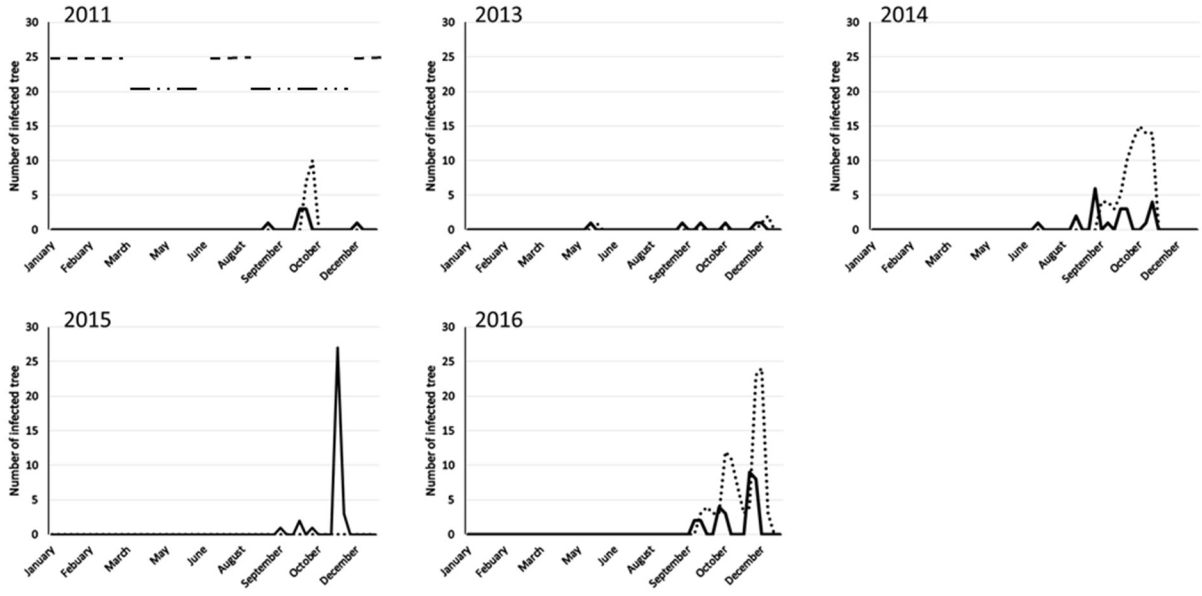

Fig. 5c

Figure 5: Temporal dynamics of primary and secondary infections over time in a) Bakoa from 2010-2016, b) Kedia from 2011-2016 and c) Ngat from 2011-2016. For all plots year 2012 is absent since data is incomplete for this year.

Legend

Dry season

Wet season

Primary infections

Secondary infections

Table *e*-Xtra 1: List of planting materials present in the three smallholder cocoa plots

Type of planting material	Bakoa	Kedia	Ngat
Full-sibs from crosses	T 79/501 × SNK 413 PA 107 × M A12 UPA 143 × SNK 413 SNK 619 × GU 255/V SNK 608 × PA 70 UPA 143 × SNK 64 AMAZ 15/15 × SNK 413 T 79/501 × SNK 64 T 60/887 × SNK 64 IMC 67 × SNK 64 SCA 12 × SNK 16+REC T 79/501 × SNK 109 UPA 143 × SNK 64	IMC67 × SNK109 IMC 67 × SNK 64 SCA12 × SNK 16+REC T 79/501 × SNK 64 UPA 143 × SNK 64 PA 107 × SNK 614	IMC 67 × SNK 109 IMC 67 × SNK 64 SNK 109 × T 79/501 T 79/501 × SNK 109 UPA 143 × SNK 64 PA 107 × MO 20 SNK 625 × NA 33 BBK 1418 × MO 20
Clonal material	ICS 84 P 7 SNK 10 SNK 413		
Farmer selections	BK 1 BK 2 BK 3 BK 4 BK6 BK 7 BK 10 BK 12 TALBA 1 BK 3 BK 17		

Table *e*-Xtra 2: Number of soil samples per plot (Bakoa, Kédia, Ngat) and per year (2009 to 2016 except 2012) and the number and percentage of samples that tested positive for the presence of *P. megakarya,* for samples taken at the foot of trees classed either as "Healthy" or "Infected" the year before (except 2009).

		Number of soil samples			Number of soil samples positive for *P. megakarya**			Percentage soil samples positive for *P. megakarya*		
Plot	Year	Healthy trees	Infected trees	Total trees	Healthy trees	Infected trees	Total	Healthy trees	Infected trees	Total
	2009	20	0	20	0	-	0	0	-	0
	2010	40	0	40	2	-	2	5.0	-	5.0
	2011	47	8	55	2	0	2	4.3	0	3.6
Bakoa	2013	57	48	105	1	11	12	1.8 a	22.9 b	11.4
	2014	54	133	187	2	30	32	3.7 a	22.6 b	17.1
	2015	113	67	180	1	13	14	0.9 a	19.4 b	7.8
	2016	124	19	143	12	9	21	9.7 a	47.4 b	14.7
	2009	10	0	10	0	-	0	0	-	0
	2010	20	0	20	0	-	0	0	-	0
	2011	20	0	20	0	-	0	0	-	0
Kedia	2013	28	21	49	3	6	9	10.7 a	28.6 b	18.4
	2014	35	42	77	0	6	6	0 a	14.3 b	7.8
	2015	55	70	125	2	9	11	3.6 a	12.9 b	8.8
	2016	63	20	83	6	14	20	9.5 a	70.0 b	24.1
	2009	10	0	10	0	-	0	0	-	0
	2010	18	4	22	2	0	2	11.1	0	9.1
	2011	22	4	26	1	1	2	4.6	25.0	7.7
Ngat	2013	40	24	64	10	6	16	25.0 a	25.0 a	25.0
	2014	43	15	58	1	4	5	2.3 a	26.7 b	8.6
	2015	46	49	95	3	5	8	6.5 a	10.2 a	8.4
	2016	58	32	90	5	6	11	8.6 a	18.8 a	12.2
Total		923	556	1479	53	120	173	5.7 a	21.6 b	11.7

* Numbers in a row followed by the same letter do not differ at P=0.05 Fisher exact test

CHAPITRE III: DIVERSITE GENETIQUE DE *PHYTOPHTHORA MEGAKARYA* EN RELATION AVEC L'EPIDEMIE DE LA POURRITURE BRUNE DANS LES JEUNES PARCELLES CACAOYERES

INTRODUCTION

L'étude de la dynamique spatiotemporelle a permis de montrer une fois de plus que la pourriture brune due à *P. megakarya* se propage de proche en proche dans un rayon de 6 à 9 m. Ce type de dispersion favorise généralement la coalescence des arbres infectés qui entrainent la formation des foyers ou agrégats d'infections. Malgré l'existence des agrégats dans les parcelles étudiées, l'incidence de la maladie étaient relativement faible traduisant ainsi une difficulté de l'inoculum à se reproduire. Bien que peu d'échantillons du sol aient montré la présence de l'inoculum dans le sol, ce dernier joue néanmoins un rôle déterminant dans le déroulement de l'épidémie. Le caractère intermittent de certaines infections observées suggère une arrivée récurrente de l'allo-inoculum donc d'un moyen de dispersion autre que celui via les éclaboussures. L'hypothèse d'une dispersion à travers les eaux de ruissellement a été émise, ainsi qu'une dispersion depuis les parcelles cacaoyères voisines. Des travaux ont montré que l'épidémiologie moléculaire peut fournir des informations complémentaires relatives aux mécanismes de dispersion ainsi que des sources d'inoculum (Milgroom et Fry, 1997; Milgroom, 2001). En effet, la caractérisation moléculaire de certaines populations de *Phytophthora* sp. a permis de retracer les routes d'invasion ainsi que d'étudier l'agressivité des lignées clonales invasives chez *P. infestans* (Croucher *et al*., 2013 ; Mariette *et al*., 2016). Les marqueurs microsatellites précédemment développés par (Mfegue *et al*., 2012) ont permis d'étudier les populations de *P. megakarya* à l'échelle de l'Afrique de l'Ouest et du Centre. Ce chapitre concerne l'étude de la diversité des populations épidémiques de *P. megakarya* en relation avec les potentielles sources d'inoculum suivantes : le sol, les cabosses, l'environnement voisin de la parcelle et les eaux de ruissellement dans le but de mieux comprendre la dynamique entre ces différents compartiments.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- **Collection des isolats de *Phytophthora. megakarya***

La collecte des isolats a été réalisée directement à partir des cabosses infectées dans les parcelles expérimentales et dans les plantations cacaoyères voisines (Chapitre 2). Elle a également été faite à travers des piégeages en utilisant les cabosses détachées pour les échantillons du sol et les feuilles d'avocatier pour les eaux de ruissellement. L'ensemble des souches de *P. megakarya* ont été collectées entre 2009 et 2016 (Annexe 1) dans les parcelles étudiées dont 250 à Bakoa, 182 à Kédia et 182 à Ngat. Compte tenu du faible pourcentage de

réussite des méthodes de piégeages utilisées, un test de détection a été conduit pour évaluer l'efficacité du piégeage.

- **Détermination du seuil de détection de la méthode de piégeage via les cabosses détachées**

L'évaluation a été faite via le protocole de piégeage de *P. megakarya* dans les échantillons du sol décrit dans le chapitre précédent. L'inoculum a été préparé à partir d'une suspension de zoospores issues d'une culture de sept (07) jours d'incubation. La suspension a été calibrée via un heamatocymètre pour obtenir cinq concentrations de 3,3 x 10^1 à 3,3 x 10^5 zoospores/ml. La terre préalablement stérilisée, ensuite humidifiée avec la suspension de spores a été utilisée pour inoculé les 20 cabosses détachées et perforées (10g de terre par entaille) et les cabosses ont été maintenues dans les chambres humides. Au bout d'une semaine d'incubation, la présence des nécroses a été observée et les résultats obtenus montrent que le pourcentage de détection décroit avec la concentration (Figure 9). Cet essai a été répété deux fois.

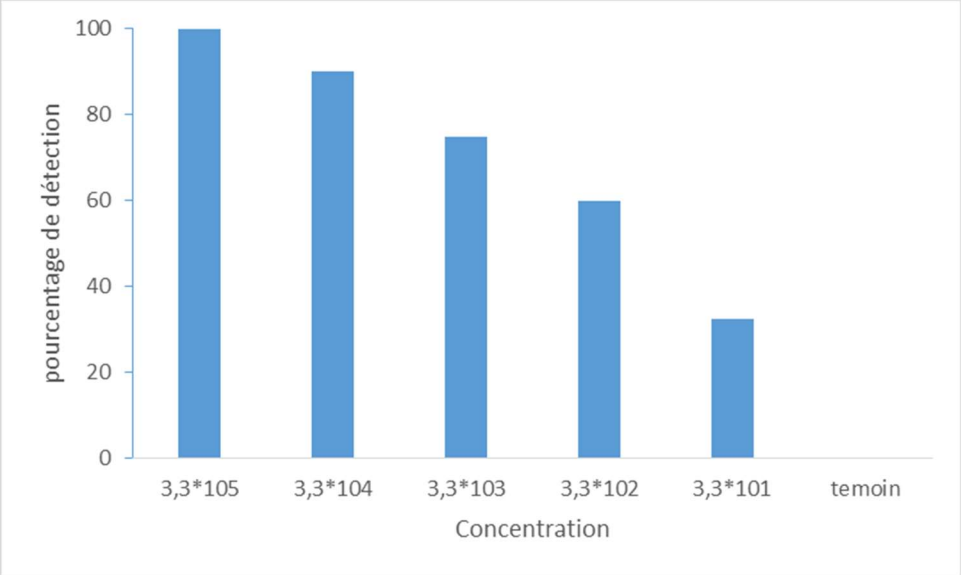

Figure 9: Pourcentage de détection des cabosses inoculées à différentes concentrations (zoospores/ml)

- **Caractérisation des souches de *Phytophthora. megakarya***

Le génotypage des 614 souches collectées s'est fait à l'aide de 14 marqueurs microsatellites et les données de typage obtenues ont fait l'objet d'une analyse descriptive via GenAlex. Au regard du caractère clonal de *P. megakarya* une analyse phylogénétique a été faite pour visualiser les relations entre les MLG ainsi que leur évolution dans le temps. Cette analyse a été faite par la méthode de l'arbre couvrant minimum encore appelée « Minimum Spanning

Tree » inférée par l'algorithme de eBURSt implémenté dans le logiciel Phyloviz. À l'issue du génotypage des souches échantillonnées, les MLG majoritaires ont fait l'objet d'un test de pouvoir pathogène pour voir si leur forte fréquence était liée à leur pouvoir pathogène.

Les résultats relatifs à la caractérisation des souches de *P. megakarya* sont présentés dans l'article ci-dessous.

ARTICLE 2 (*en préparation*)

Genetic diversity of *Phytophthora megakarya* in relation to black pod disease spread in young cacao plantations in Cameroun

Ndoungué Djeumekop M. M.[1,2], Blondin L[2]., Herail C[2]., Ducamp M[2]., Ten Hoopen G. M.[1,3]and Neema C.[4 A]

[1] IRAD, Laboratoire de Phytopathologie, BP 2123 Yaoundé, Cameroun

[2] CIRAD, UMR BGPI, F-34398 Montpellier, France. BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France.

[3] CIRAD, UPR Bioagresseurs, Cocoa Research Centre, Trinidad et Tobago. Bioagresseurs, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France.

[4] Montpellier SupAgro, UMR BGPI, F-34398 Montpellier, France. BGPI, Univ Montpellier, CIRAD, Montpellier, France.

[A]Author for correspondence:

Abstract

Phytophthora megakarya is the most virulent *Phytophthora* species reported on cacao (*Theobroma cacao*) in Africa. Previous studies have shown that it disperses mainly through rain splash from soil to pod where infection occurs. However, this mechanism takes place in already infected cacao plantations. How *P. megakarya* arrives in disease free plantations and what process determines subsequent successful establishment are largely unknown. Disease monitoring with molecular tools can help to better understand dispersal mechanisms. The objective of this work is to identify the introduction pathways of *P. megakarya* in young cocoa plantations that could help predict and prevent further spread.

This study was carried out in Central-Cameroon on three cacao plantations, located in two distinct agro-ecological regions (savanna and forest) and established in 2006 on lands free of primary inoculum. These plantations were monitored on a weekly basis, from 2009 to 2016, for the presence of *P. megakarya*. As soon as first infections occurred, we started to collect *P. megakarya* in the field and from the surrounding environment. *Phytophthora megakarya* collection was also done through baiting technics from soil samples and in runoff water. A total of 614 *P. megakarya* strains were isolated and genotyped using 14 polymorphic SSR markers. A pathogenicity test was done to assess the most frequent genotypes.

Results indicate that disease incidence was relatively low from 2009 to 2016 and the sampled *P. megakarya* populations showed limited genetic diversity. Fifty one (51) Multilocus Genotypes (MLG) were obtained for all habitats but just one was constant over the years in each agro-ecological region. Based on the occurrence of MLGs, it appears that the single constant MLG is the founder genotype which could be the main responsible for disease spread. Several genotypes were shared between the studied plantation and its surrounding environment suggesting that inoculum originated primarily from neighboring cocoa plantations. Moreover, the single constant genotype was also detected in soil and water. The importance of soil in dispersal mechanism is already well known, yet this is the first time that *P. megakarya* is detected in run-off water. The pathogenicity test revealed that strains from savanna region were more pathogenic than those of forest area. The implications of these findings for *P. megakarya* control are discussed.

Introduction

Phytophthora megakarya Brasier and Griffin belongs to the Oomycetes, a group of diploid filamentous protists (Kroon *et al*., 2004). It was reported on cocoa (*Theobroma cacao*) as one of the *Phytophthora* species responsible of black pod disease (BPD) in West and Central Africa (Cilas and Despreaux, 2004, Ali *et al*., 2016). It is characterized by polycyclic epidemics with aerial life on pods which mainly occur during the rainy season with abundant production of sporangia containing infective zoospores and soil born resting stages during the dry season (Mfegue, 2012). Among the species causing BPD, *P. megakarya* is known as the most aggressive species (Ali *et al*., 2016, 2017) since losses can easily reach 80-90% when no control measures are used (Nyassé, 1997, Ndoumbè Nkeng, 2002) and cacao pods are susceptible at all development stages (Takam *et al*., 2013). It has displaced *P. palmivora* in Cameroon and Nigeria (Nyasse *et al*., 1999; Mfegue, 2012; Akrofi, 2015) and is currently coexisting with *P. palmivora* in Ghana and Ivory Coast. This indicates that BPD due to *P. megakarya* is an invasive disease which is spreading from Central to West African countries.

Interspecies hybridization is common in the *Phytophthora* genus. Since *P. megakarya and P. palmivora* are heterothallic species, they require for sexual reproduction the simultaneous presence of hyphae of two opposite mating types, designated A1 and A2. Mating type A1 is more predominant in the field than A2 for *P. megakarya* and inversely for *P. palmivora,* indicating that both commonly reproduce clonally but the evolution of both species in field could lead to the occurence of a new species (Mfegue, 2012). Moreover, both mating types of *P. megakarya* have been reported in Cameroon, Equatorial Guinea, Ghana, and Nigeria which could also lead to more virulent races through sexual recombination (Appiah *et al*., 2003; Nyassé *et al*., 1999). The introduction of *P. megakarya* in Ivory Coast (Dakwa *et al*., 1987), the greatest world cacao producer could lead to cocoa crisis in this country already threaten by cacao swollen shoot disease, a serious threat for cocoa. Thus there is a challenge to prevent further spread of *P. megakarya* into other cacao production regions.

Genetic studies on *P. megakarya* populations with isozyme and molecular markers (RAPDs and SSRs) showed two strongly differentiated groups in the geographical range of P. megakarya, one for Central and other for West-Africa. An intermediate group found in the Cameroon-Nigeria border area, was suggested as founder population from which both the Central and West African groups have emerged (Nyasse *et al*., 1999; Mfegue, 2012). All these findings suggest Cameroun as the potential centre of origin of *P. megakarya*. Although cacao originated from tropical South America (Zhang and Motilal, 2018), *P. megakarya* is only found

in West and Central Africa (Nyassé, 1997) so it was probably present in Africa on native plants and colonized cacao through host jump (Mfegue, 2012). Although its original host(s) is (are) still unknown, *Irvingia* sp and some crops common in cacao plantations were cited as potential alternative hosts of *P. megakarya* (Akrofi *et al*., 2015; Holmes *et al*., 2003; Opoku *et al*., 2002). However, these potential hosts are still subject to controversy because their direct implications in disease epidemic are not yet established.

P. megakarya infection cycles usually start at the beginning of the rainy season when primary inoculum disperses through splashing from soil to pods (Brasier *et al.*, 1979). Apart from soil, flower cushions, mummified pods, bark, shade trees, and others crops common in cacao plantations have been pointed out as possible inoculum reservoirs (Akrofi *et al*., 2015; Holmes *et al*., 2003). *P. megakarya* as many members of *Phytophthora* species are capable of producing several types of spores (zoospores, sporangia, chlamydospores) and hyphae structures that all can induce infection. At plantation level, infection due to *P. megakarya* can occur through two means: i) directly from pod to pod or/and ii) indirectly from other sources of inoculum (soil, insects, neighbouring plots…etc.) considered respectively as secondary and primary inoculum. A recent study (Ndoungue *et al*., 2019 *submitted*) showed that at the plantation level primary inoculum is the main determinant for the spatial and temporal development while secondary inoculum is mainly responsible for the within-tree temporal development of BPD as previously suggested by Ten Hoopen *et al*., (2010). Interestingly Nembot *et al*., (2018) showed that it is necessary to take external sources of inoculum (primary inoculum) in consideration for efficient management of BPD. Since primary inoculum is dispersed through several dispersal mechanisms which seems difficult to measure through classical epidemiological tools, studying population dynamics of *P. megakarya* can help to detect the introduction of inoculum coming from external sources.

Nyasse (1999) and Mfegue (2012) focused on invasiveness routes of *P. megakarya* at a large scale (West-Africa) and at country scale in Cameroon through population studies. They showed that the introduction of cacao in Africa through Fernando Po (Cameroon) and its dispersion to other countries were associated to recent cacao germplasm exchanges then was the main hypothesis of *P. megakarya* spread in West and Central Africa. However, the relative importance of dispersal mechanisms at local or plot level has not yet been studied. Molecular tools such as Multiple Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis (MLVA) mainly used for bacteria organisms, has proved to add information (as tracing sources of infection) to the classical epidemiological investigations techniques (De Massis *et al*., 2015). Moreover, they have been used in clinical epidemiological purposes to identify sources and routes of

contamination. Single Sequence Repeats (SSR) known as tools to determine polymorphism in short sequence repeats loci is an analogous of MLVA and thus can be used as typing method to assess the genetic relatedness and epidemiological investigations of clonal organisms such as *Phytophthora* spp. Molecular monitoring of *P. megakarya* isolates in newly established cocoa plots through SSR markers developed by Mfegue *et al.,* (2012) could help to identify introduction pathways in these plots. Therefore the aim of this study was to determine genotypes distribution as well as their relatedness according to source of isolation and localities in order to better understand *P. megakarya* dispersal mechanisms.

Material and methods

Phytophthora megakarya sampling

Isolates were collected through several field surveys during seven years (2009, 2010, 2011, 2013, 2014, 2015 and 2016) in three smallholders cacao plots located in three localities (Bakoa, Kedia and Ngat) of Centre-Cameroon. Although these localities belong to the same agro-ecological region, Bakoa and Kedia are located in the savanna-forest transition zone whereas Ngat is in the forest zone. The plots were established in 2006 on land free of endogenous *P. megakarya* inoculum but surrounded by old cacao plantations where BPD was present (Fig. 1). In addition to neighbouring old cacao plantations, some plots were established on a clear slope (Kedia, Ngat) and bordering a river (Kedia). Cacao plants resulting from research selection were intercropped with other plant species like *Cocos nucifera* and *Elaeis guineensis* oil tree in Bakoa (Fig. 1a), African oil palm in Kedia (Fig. 1b) and fruit tree (*Citrus* spp, *Dacryodes edulis*, *Persea Americana*) in Ngat (Fig. 1c). These plots were monitored on a weekly basis for the presence of black pod rot from 2009 to 2016 (Ndoungue *et al*., 2019, *submitted*). As soon as first infections occurred (end of 2009), *P. megakarya* was regularly isolated directly from infected cacao pods using V8 culture media in experimental plots and their neighbouring old cacao plantations. Soil samples were collected in experimental plots twice a year corresponding to the latent and fructification periods (Table 1). Isolates were obtained from soil samples and water indirectly through baiting technique using detached pods and avocado leaf respectively (Table 1 & 2) (Mfegue, 2012, Ndoungue *et al*., 2019, *submitted*).

Mating type determination

Each isolate was plated on carrot agar medium and paired with A1 and A2 testers and then incubated in the dark at 25°C for 10 to 14 days. Oospores production was observed under the microscope, when it occurs the mating type of the isolate was determined as the opposite of the tester (Montarry *et al*., 2010).

Microsatellites markers

A study by Mfegue *et al.* (2012) on microsatellite development of *P. megakarya* used 110 primers for preliminary screening polymorphism which lead to twelve published SSR markers. Fourteen SSR markers were used among which eleven selected from twelve previously published by Mfegue *et al*., (2012) and three developed among other loci. The 14 microsatellites used in this study are presented in Table 3.

DNA extraction

For DNA extraction, mycelia were brushed out from a seven-days old culture grown on standard V8 media and transferred to tubes containing 60 mL liquid V8 + Potato Dextrose Broth (PDB), and grown at 25°C for 7 seven days. DNA was extracted using a standard chloroform protocol. For each tube of mycelia, 1 ml of modified CTAB buffer (2% cetyl trimethylammonium bromide, 1.4M NaCl, 100mM Tris HCl pH 8, 20mM EDTA pH 0.8, 1% PVP (polyvinyl pyrrolidone) 350000, 1% Na2SO3, 1 mg/ml Protéinase K and 0.2 mg/ml RNase) was used, followed by incubating at 65°C for 1h and centrifuging at 13000 rpm for 5 min. After taking the upper phase into a 2 ml fresh tube 1 ml, each tube was treated with 1 ml of phenol/chlorophorm (1/1) then centrifuged for 10 min, and the obtained upper phase was transferred to another 1.5 ml fresh tube. Precipitation was done by adding 700 µl isopropanol, incubated at -20°C for 1 h and centrifuged for 30 mn at 13000rpm. DNA pellet was washed with 70% ethanol, air dried and re-suspended in 60 µL sterile milli-Q water, and stored at -20 °C.

Amplification and genotyping

Amplifications were performed using 10 µL reaction mixture consisting of 5 µL 1X QIAGEN Multiplex Master Mix, 1 µL 0.5X Q-Solution, 1 µL of 10X multiplex primers mix (0.2µM) and 3 µL DNA (20 ng µL−1). PCR was performed in a thermocycler (PTC200, MJ Research) under the following conditions: initial denaturation at 94 °C for 15 min followed by 10 cycles of 94 °C for 30 s, 60 °C (slowdown 0.5° C per cycle) for 90s and elongation phase of 72 °C during 75s, directly followed by 30 cycles of 94 °C for 30s 55 °C of 90s and final of 72

°C for 75s. The PCR products were diluted and mixed with a standard size LIZ500 (Applied Biosystems) and formamide then electrophoresis was performed using a capillary sequencer (Applied Biosystems). Allele size was calibrated using the reference strain NS269 used in previous studies (Nyassé, 1999; Mfegue, 2012) and a matrix of genotypes was generated using GeneMapper software version 4.0 (Applied Biosystems).

Data analyses

Genetic diversity was measured by calculating the percentage of polymorphic loci (P), the effective number of alleles, Nei's gene diversity (H_E), using the GenAlEx version 6.5 program (Peakall & Smouse 2012).

The F_{ST} indices of pairwise population comparison (Nei, 1977) was used to measure genetic differentiation using ARLEQUIN software version 3.5 (Excoffier & Lischer 2010). The genetic structure was further described by performing a hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) and a calculation of linkage disequilibrium for each pair of loci in each population using ARLEQUIN 3.5.

Clonal reproduction is common in Oomycetes and especially *Phytophthora* species, consequently their populations do not respect assumptions of the Hardy-Weinberg law. Data obtained via microsatellites markers allow to generate Multilocus Genotypes (MLGs). We inferred a MLGs network to describe lineages and clonal complexes through a Minimum Spanning Tree (MST) using an eBURST algorithm (Feil *et al*., 2004). MLGs can gradually diversify as they increase in frequency. Their allelic profiles will differ producing new locus variants. Pairs of MLGs could differ by one, two or several allelic mismatches corresponding to single-, double- or multiple-locus variants. In the MST representation each circle represents a MLG and its diameter is relative to the MLG frequency. The MST was constructed with the goeBurst algorithm implemented in PHYLOViZ software (Francisco *et al*., 2009) using the principle of parsimony in phylogeny (Edwards & Cavalli-Sforza 1965).

The eBURST algorithm implemented as a Java applet at http://eburst.mlst.ne using a bootstrapping procedure was used to identify possible clonal complexes and their predicted founding genotypes.

Pathogenicity test

Inoculum was obtained through sporangia production from a seven days culture on standard V8 media enriched with β-sistosterol. The sporangial suspension was incubated at 4°C for 1 hour to promote zoospore release, zoospores suspension was then adjusted to 3.10^6

zoospores per ml using a Malassez haemocytometer. Observations on inoculated leaves were made on the 3rd and 7th day after inoculation to describe symptom development. The evaluation scale symptom made by Nyassé *et al*., (1999) was used for symptoms lecture. This scale varied from zero to five where: zero = no symptom development; 1= penetrations observed at the inoculation; 2=connected points; 3= reticulate necrotic aspect; 4= marbled necrosis; and 5= true necrosis. A leaf was divided into six compartments for inoculation of 5 isolates and a control (NS269 strain). The experience was repeated three times and inoculation of each isolate was repeated on three leaves. The analysis was done on the mean total values obtained by addition of the different symptom values divided by the number of leaves for each genotype. Analysis of variance and Turkey test were done by using the R software 3.3.1 to test and compare the level of pathogenicity of selected genotypes on their host, respectively.

Results

Phytophthora megakarya sampling

A total of 614 *P. megakarya* strains were isolated from infected pods (Table 2). From 2009 to 2016, 496 isolates were obtained from surveys on infected pods. During the first two years (2009-2010), the total number of infections was 16 which lead up to 6 isolates collected in experimental plots compared to other years although disease incidence was low in 2015. In Bakoa, 192 isolates were collected with 77 from Plot 1 and 115 from their surrounding environment (SE1); 142 in Kedia (91 and 51 from Plot 2 and SE2) and 162 in Ngat (76 and 86 from Plot 3 and SE3).

A total of 1477 soil samples (Table 1) were used to inoculate healthy pods (two holes per pod) which were incubated at ambient temperature in 100% HR room for seven days then isolation was made from necrosis observed around holes of pod, using a V8 culture medium. A total number of 106 isolates were obtained from soil only trough baiting technique from the beginning of trial to 2016. For each experimental plot, 58, 29, and 19 soil isolates were respectively obtained from plots 1, 2, and 3 respectively (Table 4).

Between 2014 and 2015, *P. megakarya* was sampled from the river bordering the plot of Kedia and from run-off water in Ngat (Table 4). A number of 60 net bags containing ten avocado leaves were deposited inthe river stream (46 bags in Kedia) or run-off water (14 bags Ngat) then the bags were attached to a surrounding tree with a twine. After seven days, the bags

were collected and *P. megakarya* was isolated from necrotic leaves and cultivated on PARPH medium. Twelve isolates were obtained through water sampled in river near Plot 2 in Kedia and in run-off water in Plot 3 in Ngat.

Mating type determination

The single mating type A1 was detected in the overall samples of *P. megakarya* collected from 2009 until 2016.

Genetic diversity within *P.megakarya* populations

Since the number of isolates obtained per year as well as those from infected pods, soil and water were in imbalance, the population level was defined according to the locality. Genetic variability was assessed by measuring the diversity within localities (Table 5). Results showed limited genetic diversity in the sampled plots. A total of 53 alleles were identified over the 14 microsatellites loci with 2 to 8 alleles per locus. Allele frequencies are presented in Table 6. The mean number of alleles per population varies from 2 to 3. According to the diversity index (Shannon's Index), the genetic variability was higher in Kedia (0.43) than in Bakoa (0.36) and Ngat (0.24). Excess of heterozygosity was observed in all populations, compared to the expected one and was confirmed with negative fixation index values in Bakoa and Kedia. The 614 *P. megakarya* isolates split into 51 MLGs with two dominant genotypes: MLG11 and MLG 16 (Fig. 2). About 55% of isolates belonged to MLG11 and 29% to MLG 16 while 33 MLGs were represented by a single isolate.

Population differentiation

Fst value for pairwise comparisons between the 3 populations was 0.19 (Table 6). Population of Ngat was significantly differentiated from that of Bakoa with the highest Fst values (Fst = 0.29; $P = 0.05$) and from population of Kedia (Fst = 0.27, $P = 0.05$) (Table 6). AMOVA analysis showed that total genetic variation was highly due to differences observed within population (81%) rather than among population (19%) (Table 7).

Clonal lineage identification

In this study, we were interested in epidemic progression considering that cacao plantations were initially free of *P. megakarya* inoculum. The relatedness between MLGs were represented through a Minimum Spanning Tree (MST) according to year, experimental plots,

their surrounding environment, and their origin. The MST obtained with the 51 MLGs revealed two over-represented genotypes (MLG11 and MLG16) shared among the three different localities with others MLGs located at the edges of the network (Fig. 2). These genotypes MLG16 and MLG11 were frequent in savanna and forest regions, respectively, and therefore can be considered as distinct clonal lineages. The MLG11 has more (14) single locus variants (SLVs) producing a clonal complex almost only present in Bakoa and Kedia while MLG16 and its five SLVs was more prevalent in Ngat (Fig. 2)

Multilocus genotypes distribution

The evolution of MLGs per year in each population shows that the diversity varies with time though the two dominant genotypes MLG11 and MLG16 were always present from 2009 until 2016 in savanna zone as well as in forest region (table 8).

According to the isolate origin, 64.7% of the total genotypes were isolated from infected pods, 43% from soil and only 0.2% from water. In localities, the most frequent genotypes observed throughout the studying period were MLG 16 dominant in the forest area and MLG 11 dominant in savanna region. Others genotypes were also found simultaneously in different sources of isolation (pod, soil and water) as well as in experimental versus neighbouring plots (Table 8).

Pathogenicity of main genotypes

The genetic analysis revealed four frequent genotypes. A pathogenicity test was performed to determine whether their high frequency was correlated to their pathogenicity. Ten isolates (three of MLG 11, three of MLG 16, two of MLG 2 and two of MLG 10) were tested against three cacao genotypes with different levels of susceptibility (resistant, moderately resistant, and susceptible). Variance analysis showed significant differences ($P<0.001$) in pathogenicity level among the MLGs tested as well as in level of susceptibility for cacao varieties (Fig. 3). Genotypes MLGs 11 and 16 were significantly less aggressive than MLG 2, a SLV of MLG11, on the moderately susceptible and the susceptible varieties. The pathogenicity of the four MLGs was not separated on the resistant cultivar.

Discussion

***Phytophthora megakarya* sampling and SSR markers selection**

Phytophthora megakarya was more frequently isolated from infected pod, probably because pods were collected when symptomatic compared to soil and water. Only 11% of soil samples were positive for the presence of *P. megakarya*. This result indicated that inoculum was not much in the soil as it does not have time to build itself there viewing the rigorous phytosanitation that was made in each experimental plot (Ndoungue and *al*. 2019 submitted). However the baiting method was evaluated to be successful (100%) when inoculum concentration is at least 3.10^3 Among isolates collected from water through avocado leaves, two were identify as *Phytopythium* and one as *Phytophthora cryptogea* based on the ITS sequence. Thus this means that the baiting method was not only specific to *P. megakarya*. This is not surprising, since avocado (*Persea Americana*) is known as *P. cinnamomi* host (Zentmyer, 1980) and widely spread in African avocado producer countries including Cameroon (Nagel *et al*., 2013). This method could therefore be used to collect others members of *Phytophthora* genus and related species. During the overall collection period, we have faced isolates conservation difficulties which lead to some isolates losses for as a total of 165 isolates were obtained from soil samples and finally genotyping data arise from 106 isolates.

Genetic diversity and structure

Analysis of genetic variation among isolates of *P. megakarya* using allelic frequencies at 14 microsatellite loci indicated significant variation between localities, but demonstrated limited variation among individuals of each locality. Most of the variation among isolates within each population was due to SSR differences detected at one to five loci. However heterozygosity was higher than expected across all loci (Table 5), this could be due to rare outcrossing events among distantly related populations, followed by significant clonal reproduction, as results showed the presence of a single mating type A1. This was observed to be true for other *Phytophthora* species populations (Förster *et al*., 1994). Rare and very closely related genotypes were detected in this study and in addition to the observed heterozygosity, they could be the result of mitotic or somatic recombination (Goodwin, 1997). This mechanism has been shown to be significant in populations of the potato pathogen *Phytophthora infestans* (Goodwin *et al*., 1994). Indeed, it has been suggested that clonal reproduction may be advantageous to invasive organisms as it is the case of *P megakarya* and that mitotic recombination may act to purge clonal organisms (Dobrowolski *et al*., 2003; Gladieux *et al.,* 2008).

Pathogenicity

Significant difference was observed among the selected genotypes on the susceptible and moderately susceptible cultivars. It appears that genotypes coming from savanna zone were more aggressive than the one of forest zone. Though the forest genotype MLG 16 rate slightly higher than one (considered as the resistance point) meaning that they were less aggressive compared to others. This result suggest that genotypes may be adapted to each agro-ecological zone. Because savanna environment is less conducive to *P. megakarya* growth, it consequently lead to reinforced fitness in this zone compared to those of forest zone which is more conducive. Although the cacao germplasm was selected, no correlation between planted cacao family and genotypes was observed in field. Since intercropped species were mostly *Phytophthora* spp hosts, no infection was detect trough visual prospection.

Dispersal patterns

Identification of introduction pathways of *P. megakarya* was one of the objective of this study in order to find measures necessary for disease prevention. Since the established cacao plots were free of endogenous inoculum, a previous study (Ndoungue *et al.*, 2019 *submitted*) hypothesised that primary inoculum originated from the neighbouring cacao plantations. The MLG network shown by the MSTree distinguished the localities in two groups. Isolates from Bakoa and Kedia were more related and shared numerous MLGs. Most of the strains from these origins belong to the clonal complex defined by MLG11 sharing the most frequent genotypes. This supports the very low genetic differentiation between these two localities and further strong genetic links between these two experimental plots from the savanna-forest transition area. On the other side, almost all the strains from Ngat in a forest area are grouped in the clonal complex defined by MLG16 in relation with the genetic differentiation between Ngat and Bakoa or Kedia populations. In each locality most MLGs with high frequencies were found both in the experimental plots and in their surrounding environments suggesting strong epidemiological links between these two compartments. In addition, the major MLG responsible for the epidemics in the different experimental plots, i.e. MLG11 for Bakoa and Kedia and MLG16 for Ngat, increased in frequency over the years and was probably present in the surrounding plots as they were detected in these old plots before or at the same time as in the experimental plots. In addition, these MLGs were also detected in the soil but after they were described on pods. The data presented here also indicate that one single genotype is mainly responsible of disease spread in each zone supporting a clonal dispersion. The MLG 11 for savanna zone (Bakoa and Kedia) and MLG 16 for forest zone (Ngat). Although MLG 11 and MLG 16 were found in all the study sites they were different on four loci and exhibit different

phenotypic features as pathogenicity level suggesting different introductions events or a unique introduction from a plot hosting different populations. The close genetic relation between Bakoa and Kedia populations support that they mainly originated from a single population that could be present in their surrounding environments. The old cocoa plots present in these two localities could have been epidemiologically related sharing the same MLGs that contribute as inoculum for the experimental plots. Others strains were more distantly related to this main group closely related to MLG11 that had a lesser contribution to this epidemics. The Ngat population was isolated from another agro-ecosystem in the forest which is naturally less connected with other areas which could partially explain a genetically different population.

Whereas the exact mechanism by which primary inoculum disperses from neighbouring cacao plantations to experimental plots is unknown, based on distance between them it is clear that other dispersal mechanisms than splashing took place. Those mechanisms involve insect activities especially tent building ants since tents built on pod were demonstrated to be associated to *P. megakarya* infection (Taylor and Griffin, 1981). One ant species that is particularly concerned is *Crematogaster striatula,* because it mostly used plant debris to construct tents including cacao infected pod tissues (Evans, 1973). Furthermore, a recent study showed a positive correlation between ant species richness and BPD incidence in cacao fields which suggest that most ant species were involved in BPD spread (Rizali *et al*., 2018). All these findings indicate that *P. megakarya* primary inoculum could be disperse through insects especially tent building ants despite the fact that the distance range of dispersion is not yet known. Vertebrate animals and human are also pointed as vectors of inoculum. In this study, pod damages result from squirrels feeding were observed in Ngat plot and wounded pods were sometimes infected. In this same plot the consistent infection cluster near the footpath indicate that human would have been involved in the installation of the infection at this site (Ndoungué *et al*., 2019 *submitted*). Unfortunately collection of soil stuck under boots of producers tested negative for *P. megakarya*.

Relationship between genotypes from water, soil and pods was weak probably due to the relatively low number (12) of isolates collected from water. However, the dominant genotypes MLG 11 and MLG 16 common to pod and soil were also found in water isolates in Kedia while the single water isolate of Ngat share MLG 4 with those of soil. Despite the unbalanced number of water isolates and others, this study supports that water not only in the form of rain but stream and runoff could be involved in *P. megakarya* dispersal. Moreover flooding event occured in 2014 in Kedia leading to high disease incidence (Ndoungue *et al*., 2019 *submitted*) and consequently increased *P. megakarya* diversity compared to previous year.

The clonal lineage MSTree also shows strong epidemiological links between pod and soil which is not surprising since the well-known dispersal mechanism of *P. megakarya* undergoes through splashing that involves soil and pod on the tree (Brasier and Griffin, 1979; Ristaino & Gumpertz, 2000). Soil was identified as the inoculum reservoir of *P. megakarya* as it has the ability to survive in until 18 months (Brasier *et al*., 1981). But when looking the percentage of soil samples tested positive in all cacao tree (11%) as well as from previous infected cacao tree (21%), it appears that inoculum has difficulties to establish itself and or to persist in the soil. This could probably due to rigorous phytosanitation and fungicides applications done in experimental plots.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge funding by the ATP Omega3, ATP Safsé, and the 'Dispositif en partenariat (DP)' Agroforesterie Cameroun. We would like to thank CIRAD, the 'BGPI unit and Phytopathology laboratory of IRAD for logistic supports. We especially thank Zacharie Techou and Sandrine Petchayo for their help in isolates collection. We also address our gratitude to Christian Vernière for helping in data analyses.

References

Akrofi A.Y., 2015. *Phytophthora megakarya*: a review on its status as a pathogen on cacao in West Africa. *African Crop Science*, (23): 67-87.

Akrofi A.Y., Amoako-Atta I., Assuah M., Asare E.K., 2015. Black pod disease on cacao (*Theobroma cacao* L) in Ghana: spread of *Phytophthora megakarya* and role of economic plants in disease epidemiology. *Crop protection*, 72(2015) 66-75.

Ali S.S., Amoako-Atta I., Bailey R.A., Strem M.D., Schmidt M., Akrofi A.Y., Surujdeo-Maharaj S., Kolawole O.O, Begoude D.B.A., ten Hoopen G.M., Goss E., Mora P.W., Meinhardt L.W. and Bailey A.B., 2016. PCR-based identification of cacao black pod causal agents and identification factors possibly contributing to *Phytophthora megakarya's* field dominance in West Africa. *Plant pathology*, doi: 10.1111/ppa12496.

Ali S.S., Shao J., Lary D.J., Kronmiller B., Shen D., Strem M.D., Amoako-Attah I., Akrofi A.Y., Begoude B.A.D., Ten Hoopen G.M., Coulibaly K., Kebe B.I., Melnick R.L., Guiltinan M.J., Tyler B.M., Meinhardt L.W. & Bailey B.A., 2017. *Phytophthora megakarya* and *P. palmivora*, closely related causal agents of cacao black pod rot, underwent increases in genome sizes and gene numbers by different mechanisms. Genome Biology and Evolution 9 (3), 536–557. doi:10.1093/gbe/evx021

Appiah A.A, Flood J., Bridge P. and Archer S., 2003. Inter-and intraspecific morphometric variation and characterization of *Phytophthora* isolates from cocoa. *Plant Pathology* 52(2):168-180.

Balloux F., Lehmann L. and de Meeûs T., 2003. The Population Genetics of Clonal and Partially Clonal Diploids. *Genetic Society of America*, 164: 1635-164.

Berry D. and Cilas C., 1994. Etude génétique de la réaction à la pourriture brune des cabosses chez des cacaoyers (*Theobroma cacao* L) issus d'un plan de croisements diallèle. *Agronomie*, 14 599-609.

Brasier C.M. and Griffin M.J., 1979. Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cacao. Transactions of the *British Mycological Society*, 72(1):111-143

Cilas C. and Despréaux D., 2004. Improvement of cocoa tree resistance to *Phytophthora* diseases. *Cirad* 167p.

Dakwa J.T., 1987. A serious outbreak of blackpod disease in a marginal area of Ghana. Proceedings of the *10th Int.Cacao Res. Conf.*, Santo Domingo, Dominican Republic, 17- 23rd May, 1987.

De Massis F., Ancora M., Atzeni M., Rolesu S., Bandino E., Danzetta M. L., Zilli1 K., Di Giannatale E. and Scacchia M., 2015. MLVA as an epidemiological tool to trace back brucella melitensis biovar 1 re-emergence in Italy. *Transboundary and Emerging Diseases*, 463-469 doi:10.1111/tbed.12397.

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

Dobrowolski M. P., Tommerup I. C., Sheare B. L., O'Brien P. A., 2003. Three clonal lineages of *Phytophthora cinnamomi* in Australia revealed by microsatellites. *Phytpathology* 93: 695–704

Evans H.C., 1973. New developments in black pod epidemiology. *Cacao Growers' Bulletin*, No. 20:10-16

Excoffier L. and Lischer H.E.L., 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources* 10:564-567. DOI:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x.

Feil E. J., Li B. C., Aanensen D. M., Hanage W. P. and Spratt B. G., 2004. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *Journal of Bacteriology*, 186: 1518-1530.

Gladieux P., Zhang X.-G., Afoufa-Bastien D., Valdebenito-Sanhueza R-M., Sbaghi M. and Le Cam B., 2008. On the origin and spread of the scab disease of apple. *Plos One,* **1,** e1455.

Griffin M.J., Idowu O.L., Maddison A.C., Tailor S. and Ward M.R., 1981. Source of infections in epidemiology of Phytophthora on cocoa in Nigeria. Phytopathological paper No. 25, C.M.I., p 75-95

Hinman S.E., Blackburn J.K., and Curtis A., 2006. Spatial and temporal structure of typhoid outbreaks in Washington, D.C., 1906–1909: evaluating local clustering with the Gi* statistic. *Inter. Jl. of Hth. Geograph.* 2006, 5:13 doi: 10.1186/1476-072X-5-13.

Holmes K.A., Evans H.C., Wayne S. and Smith J., 2003. *Irvingia*, a forest host of the cacao black pod pathogen, *Phytophthora megakarya*, in Cameroon. *Plant Pathology* (2003) 52, 486–490

Husson C., Thoirain B., Ioos R., Frey P. and Marçais B., 2006. L'eau, vecteur d'agents pathogènes: cas du *Phytophthora* de l'Aulne. *Review. Forestry. French*. LVIII 351-360.

Konam J. and Guest D., 2004. Role of beetles (Coleoptera: Scolytidae and Nitidulidae) in the spread of *Phytophthora palmivora* pod rot of cocoa in Papua New Guinea. *Australasian Plant Pathology*, 33, 55-59

Kroon L., Bakker F., van den Bosch G., Bonants P. and Flier W., 2004. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Fungal Genetics and Biology* 41(8):766-782.

Mfegue C.V., Herail C., Adreit H., Mbemoun M., Techou Z., Ten Hoopen M., Tharreau D. and Ducamp M., 2012. Microsatellite markers of population studies of *Phytophthora megakarya* (*Pythiaceae*) a cacao pathogen in Africa. *American Journal of Botany*: e353-e356. 2012.

Mfegue V., 2012. Origine and mécanismes de dispersion des populations de *Phytophthora megakarya*, pathogène du cacaoyer au Cameroun. Thèse de doctorat. *Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques* Montpellier-SupAgro, 186p

Montarry J., Andrivon D., Glais I., Corbiere R., Mialdea G. and Delmotte F., 2010. Microsatellite markers reveal two admixed genetic groups and an ongoing displacement within the French population of the invasive plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Molecular Ecology*, 19 :1965-1977.

Ndoumbè-Nkeng M., 2002. Incidence des facteurs agro-écologiques sur l'épidémiologie de la pourriture brune des fruits du cacaoyer au Cameroun : contribution à la mise en place

d'un modèle d'avertissements agricoles. Thèse de Doctorat. *Institut National Agronomique Paris-Grignon.*

Ndoungué Djeumekop M. M., Ngo Bieng M. A., Ribeyre F., Bonnot F., Cilas C., Neema C. and Ten Hoopen G. M. Spatiotemporal dynamics of *Phytophthora megakarya* epidemics in newly established cocoa plantations in Cameroon. *Submitted in Plant disease*

Neher D. & Duniway J.M., 1992. Dispersion of *Phytophthora parasitica* in tomato fields by furrow irrigation. *Plant Dis*. 76: 582-586.

Nei M. 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. *Annals of Human Genetics* 41:225-233.

Nembot C., Takam Soh P., ten Hoopen G.M., and Dumont Y., 2018. Modeling the temporal evolution of cocoa black pod rot disease caused by *Phytophthora megakarya. Math Meth Appl Sci.* 41:8816–8843. DOI: 10.1002/mma.5206.

Nyassé S., 1997. Etude de la diversité de *Phytophthora megakarya* and caractérisation de la résistance du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) à cet agent pathogène. Thèse de doctorat. *Sciences Agronomiques* : Institut national polytechnique de Toulouse, 160 p.

Nyasse S., Grivet L., Risterucci A. M., Blaha G., Berry D. and Lanaud C., 1999. Diversity of *Phytophthora megakarya* in Central and West Africa revealed by isozyme and RAPD markers. *Mycological Research* 103:1225- 1234.

Opoku I.Y., Akrofi A.Y. and Appiah A.A. 2002. Shade trees are alternative hosts of the cacao pathogen *Phytophthora megakarya*. *Crop Protection* 21:629-634.

Peakall R. and Smouse P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.

R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria

Ristaino J.B. and Gumpertz M.L., 2000. New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. *Annual Review Phytopathology*, 38:541-576.

Rizali A., Tscharntke T., Buchori D., Clough Y., 2018. Separating effects of species identity and species richness on predation, pathogen dissemination and resistance to invasive species in tropical ant communities. Agricultural and Forest Entomology 20: 122 – 130.

Sansome E., Brasier C.M. and Griffin M.J., 1975. Chromosome size differences in *Phytophthora palmivora*, a pathogen of cacao. *Nature*, UK, 255(5511):704-705

Sansome E., Brasier C.M. and Sansome F.W., 1979. Further cytological studies on the 'L' and 'S' types of *Phytophthora* from cacao. Transactions of the *British Mycological Society*, 73(2):293-302

Takam S.P., Ndoumbè-Nkeng M., Sache I., Ndong N.E.P., Gwet H., Chadœuf J., 2013. Development stage-dependent susceptibility of cocoa fruit to pod rot caused by *Phytophthora megakarya*. *Eur J Plant Pathol* (2013) 135:363–370.

Taylor B. and Griffin M.J., 1981. The role and relative importance of different ant species in the dissemination of black pod disease of cocoa. . In: Epidemiology of Phytophthora on cocoa in Nigeria. Edited by Gregory PH, Maddison AC. Phytopathological paper number 25. Commonwealth Mycological Institute, Kew, London, 114 – 131.

Ten Hoopen G.M., Sounigo O., Babin R., Yédé., Dikwe G., and Cilas C., 2010. Spatial and temporal analysis of a *Phytophthora megakarya* epidemic in a plantation in the Centre of Cameroon. *16th International Cocoa Research Conference*, 2009-11-16/2009-11-21, Bali, Indonésie.

Themann K., Werres S., Luttmann R., Diener H.A., 2002. Observations of *Phytophthora* spp. in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stocks. *European Journal of Plant Patholology*, 108: 337–343

Ward M.R., and Griffin M. J., 1981. Soil phase of cacao *Phytophthora*. In: Epidemiology of cacao in Nigeria. Gregory, P. H. (ed.) Common. *Mycol. Inst. Phytopathol*. Pap., 25 : 50 61.

Zhang D. and Motilal L., 2016. Origin, dispersal, and current global distribution of cacao genetic diversity, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 3-32. Springer 630pp.

Table 1: number of soil samples collected in each experimental plot and the number of positive soil samples to *P. megakarya*

Year	collected soil samples			positive soil samples*		
	Plot 1	Plot 2	Plot 3	Plot 1	Plot 2	Plot 3
2009	20	10	10	0	0	0
2010	40	20	20	2	0	2
2011	55	20	26	3	0	2
2013	105	49	64	12	9	16
2014	187	77	58	32	6	5
2015	180	125	95	14	11	8
2016	143	83	90	16	19	8
Total		1477			165	

*: to *P. megakarya*

Table 2: Number of net bags (containing ten avocado leaves) collected in Kedia and Ngat with number of *P. megakarya* isolates

Year	Site	Number of net bag	Number of isolats
2013	Kedia	4	2
2014	Kedia	12	23
	Ngat	9	3
2015	Kedia	30	9
	Ngat	5	0
Total		60	37

Table 3: Sequence of SSR primers pairs used to amplify loci of *Phytophthora megakarya*

Locus name	GenBank EMBL Accession ID	Repeat	Primer sequence (5' to 3')
SSR1	FR750981	(TTG)7	F: TACGATCACAGACCATTCCG
			R: TGTAGCCACAATGCCACAAT
SSR6 c	FR750982	(GA)2 A(GT)7	F:CGTGAGGAAATTCTCAAGGC
			R: CAGATCTCGCCAACAACAGA
SSR7	FR750983	(GA)7	F:CGCCACCTCTTTCTTCTTTG
			R: TGTGCAAGTTTCTCCACACC
SSR11	FR750985	(CTT)7	F:ACTCTTTTTCCGTTTGGGCT
			R: GGACGAACAACAGAAGGAGC
SSR20	FR750986	(GAA)6	F:CTTTGCATTCCTCGCAGACT
			R: TCAGGAATCACCACCTCCTC
SSR22	FR750987	(GT)6	F:GGCTGTCTGATATGGGTGGT
			R: AACATCCCGTCGACACCTAC
SSR24	FR750988	(CGT)6	F:GTGGAAACAGAAGCTGCACA
			R: CCGGTCACTACCAAACGAAC
SSR28b	FR750989	(TGA)2(GA)6	F: ACTTGATCTGGTGGACGGAT
			R: GCATGGCTATGGACGAAAAT
SSR31	FR750990	(CCT)4	F:ATGACGGAGTTGCGAGCTAA
			R: GGTTTGTCGAGCTGATGGAT
SSR49	FR750991	(TTG)4	F: CTTCGGCCATGTAGGTTTGT
			R: CATGCACGCTTGACTCTCAT
SSR71	FR750992	(CTA)4 G(TA)2	F:TGGAAGATGGTTCTTTACAGC
			R: ACCGGAACAGTGGGTGTTAC
SSR27		CT	F: TTTGACCTGGAATGAAAGGG
			R: CTTCGTAAGCCCAGATCGAC
SSR61		CA	F : TGCAAATAGGCATCTGGACA
			R : GTAGATTCGCACGTCCTTCC
SSR99		AGA	F : GTGAAGACACCACGCAAGAA
			R: CATGAACATCTGCATGGCTT

Table 4: Total number of *Phytophthora megakarya* isolates obtained from infected pods in different plots and their surrounding environment from 2009 to 2016

Source of isolation	Locality	Site	2009	2010	2011	2013	2014	2015	2016	Total
Infected cacao pod	Bakoa	Plot 1	-	4	5	13	22	12	21	77
		SE 1	-	5	30	11	41	11	17	115
	Kedia	Plot 2	-	-	10	-	55	5	21	91
		SE 2	-	7	13	-	4	10	17	51
	Ngat	Plot 3	2	-	8	-	21	29	16	76
		SE 3	2	5	25	-	9	23	22	86
Soil	Bakoa	Plot 1	-	-	1	7	27	9	14	58
	Kedia	Plot 2	-	-	1	-	5	9	14	29
	Ngat	Plot 3	-	2	1	-	3	6	7	19
Water	Kedia	SE 2	-	-	-	-	4	7	-	11
	Ngat	Plot 3	-	-	-	-	1	-	-	1
Total			4	23	94	31	192	121	149	614

SE: surrounding environment

Table 5: Genetic diversity parameters in the fields studied

Population	N	N_a	P	I	uH_o	H_e	F
Bakoa	250	3.071	100	0.357	0.415	0.230	-0.256
Kedia	182	3.071	78.6	0.435	0.397	0.256	-0.194
Ngat	182	2.643	100	0.238	0.230	0.139	0.036

N = Number of isolates, N_a = Mean number of different alleles, P = percentage of polymorphic loci, I = Shannon's Index, H_o = Observed Heterozygosity, H_e = Expected Heterozygosity and F = Fixation Index.

Table 6: Fst values of each population comparison

Population comparison	Fst
Bakoa-Kedia	0.003*
Bakoa-Ngat	0.295*
Kedia-Ngat	0.268*

Table 7: Analysis of molecular results between populations (Bakoa, Kedia and Ngat)

Source of variation	d.f.	SS	Variance components	Percentage variation	P*
Among populations	2	279.486	0.34200	18.87	<0,0001
Within populations	1225	1800.693	1.46995	81.13	
Total	1227	2080.179	1.81195		

d.f.: degree of freedom, SS: Sum of squares *Based on 10000 random permutations

Table 8: Number of multilocus genotypes (MLG) between years, sources of inoculum and plots

	Bakoa	Kedia	Ngat
Years			
2009	-	1	1
2010	3	1	2
2011	3	6	3
2013	2	-	-
2014	11	19	8
2015	8	13	4
2016	3	2	2
Most sharing MLG	11; 16; 2	11; 16; 2	16; 11; 4
Inoculum sources			
Pod	12	21	7
Soil	11	8	7
Water		9	1
Most sharing MLG	11; 16	11; 16	16; 15; 11
Surrounding environment			
Experimental plots	10	10	5
Neighbouring plots	13	24	10
Most sharing MLG	11; 16; 8; 2	11; 16; 12; 2	16; 15; 11; 4

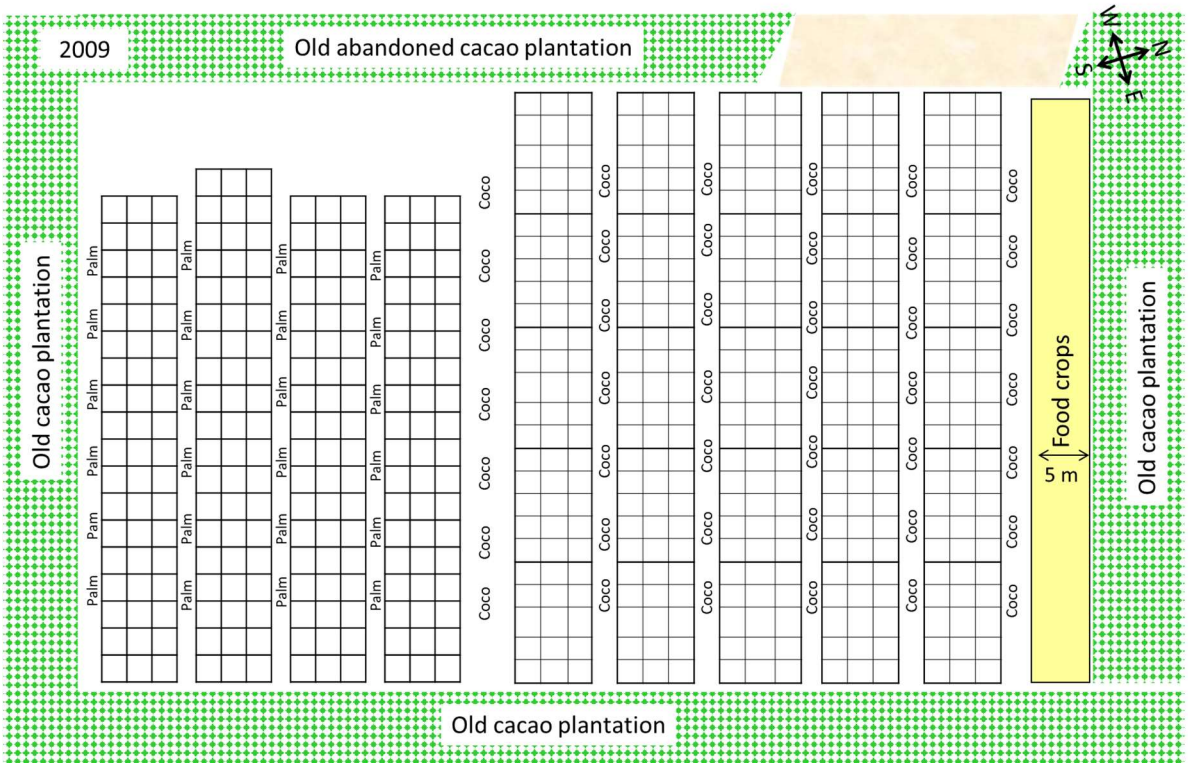
2009
Old abandoned cacao plantation
W
N
S
E
Old cacao plantation
Palm
Coco
Food crops
5 m
Old cacao plantation
Old cacao plantation

Fig 1a

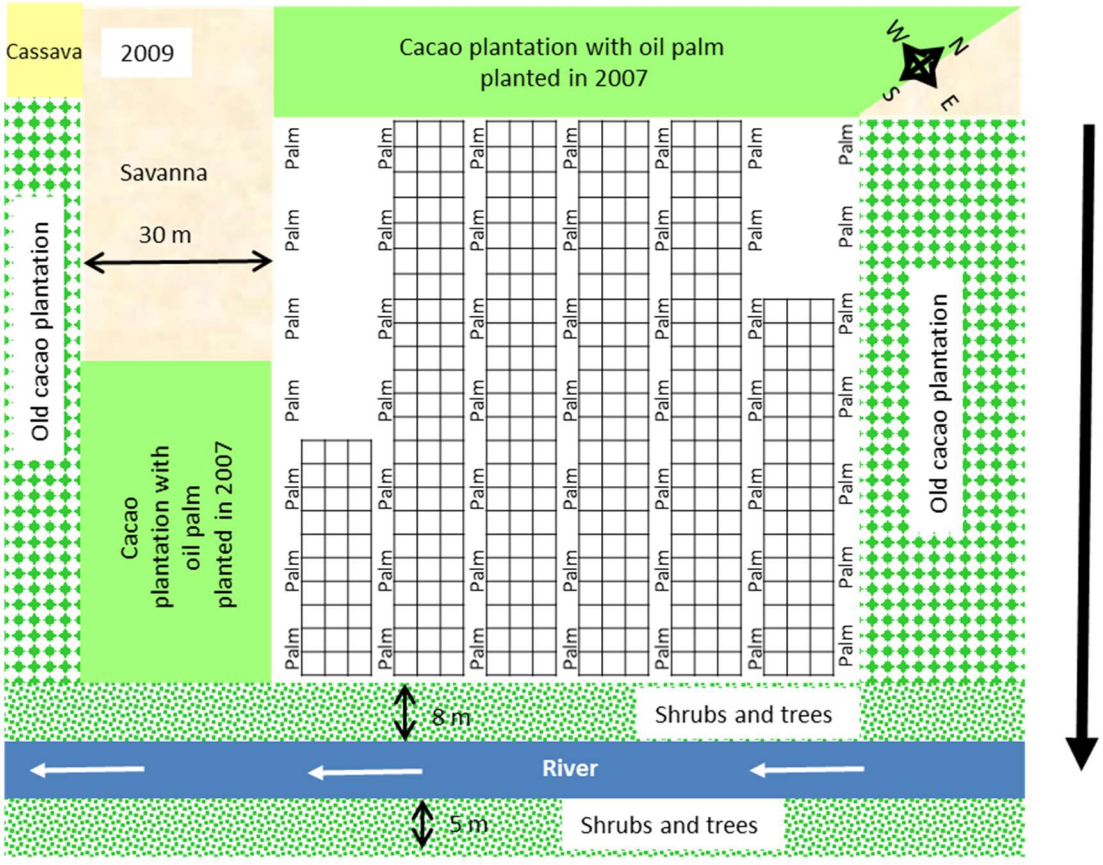
Cassava
2009
Cacao plantation with oil palm planted in 2007
W
N
S
E
Savanna
30 m
Old cacao plantation
Cacao plantation with oil palm planted in 2007
Palm
Old cacao plantation
8 m
Shrubs and trees
River
5 m
Shrubs and trees

Fig 1b

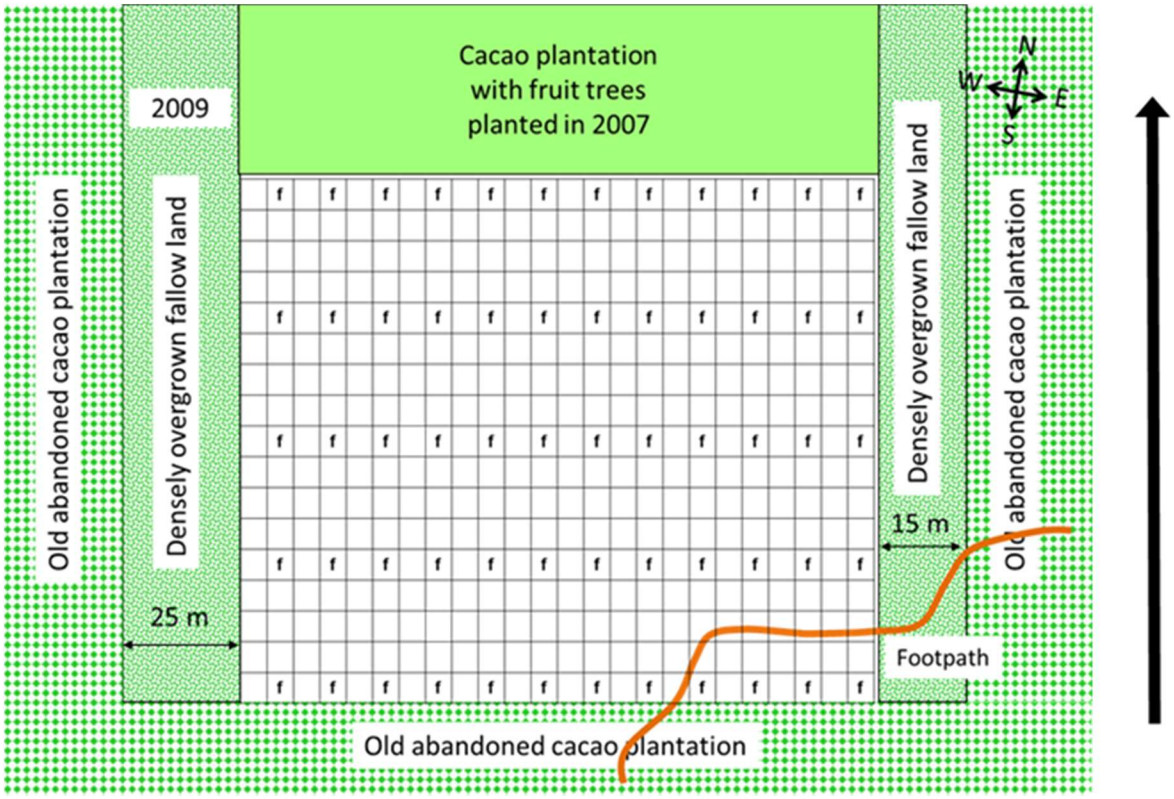

Fig 1c

Figure 1: layout of experimental plots and their surrounding environment for 1a) Bakoa plot where cocoa is interspersed with lanes containing oil palm (to the left) and coconut (to the right), 1b) Kedia plot, where cocoa is interspersed with oil palm trees and 1c) Ngat plot, where certain cocoa trees are replaced with fruit trees (f). Slope direction is indicated from top to bottom by the arrow on the right. The orange line in figure 1c, marks a well traversed footpath.

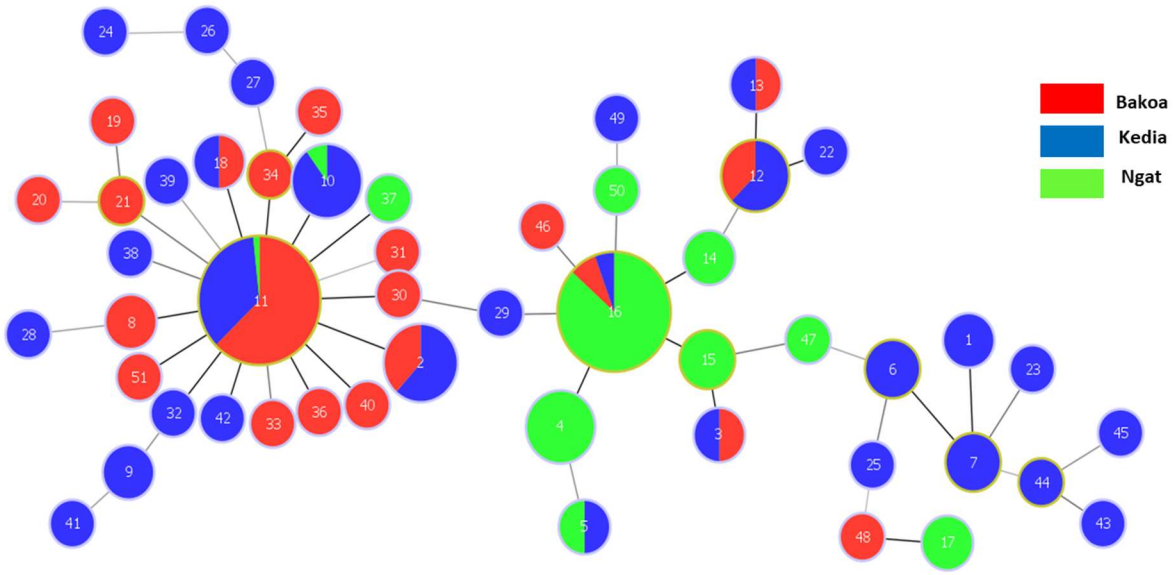

Figure 2: MSTree structure of total MLGs of *Phytophthora megakarya* isolates found in each locality

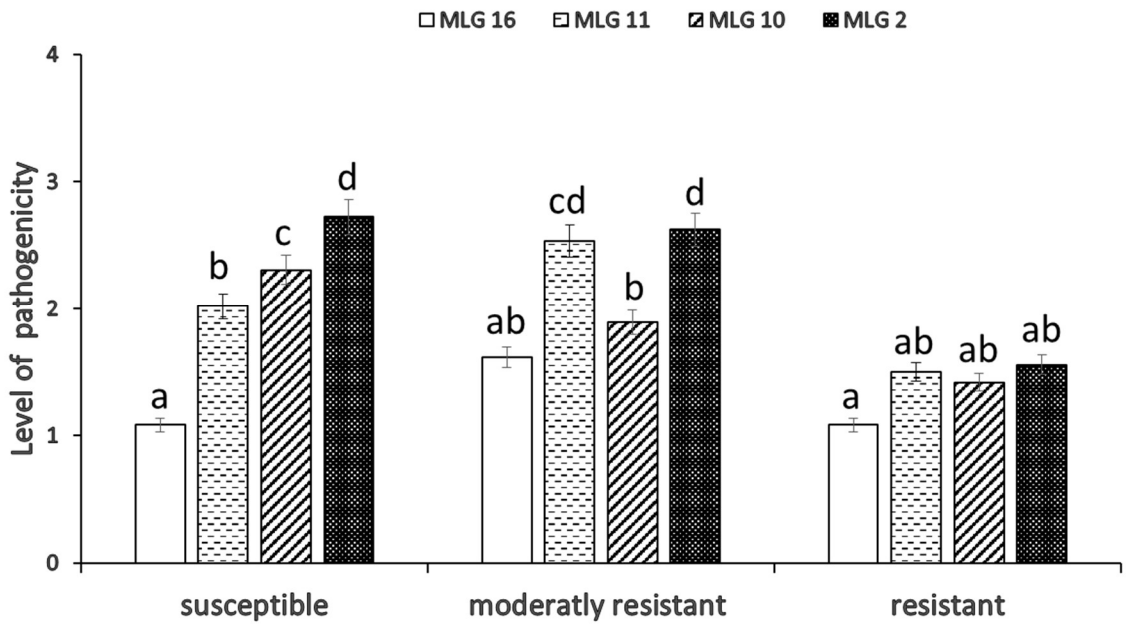

Figure 3: Level of pathogenicity of four frequent Multilocus genotypes on leaves of three cacao clones with different susceptibility to *Phytophthora megakarya*

CHAPITRE IV: CARACTÉRISATION DES PARCELLES SOUS SYSTEMES DE CULTURES INNOVANTS VIS-A-VIS DE LEUR ETAT SANITAIRE

INTRODUCTION

Le gouvernement Camerounais s'est engagé via plusieurs projets à booster la production du cacao donc atteindre 600 000 tonnes d'ici 2020. Bien que la production du cacao ait augmenté ces dernières années, il sera difficile d'atteindre l'échéance fixée à l'année 2020 donc de produire 600 000 tonnes de cacao. Selon ICCO (2019) les prévisions de la production de l'année 2018-2019 seraient 250 000 tonnes. Il a été constaté que l'augmentation du niveau de production a souvent pour corollaire la baisse de la valeur marchande en cacao. Par exemple, entre 2008 et 2012, la production totale du cacao est passée de 4,3 à 4,8 millions de tonnes soit une augmentation de 13% alors que les tendances montrent une baisse du prix du cacao dans les dix dernières années (ICCO, 2019). Cette situation conduit par conséquent à une réduction du revenu des cacaoculteurs (Fountain et Hütz-Adams, 2018). Nombreux facteurs définissent le revenu du producteur donc : quantités produites, prix à l'exportation, qualité du produit et coûts de production. Améliorer le niveau de vie des producteurs consisterait d'une part à relever le niveau de production des vergers cacao et d'autre part à diminuer les coûts de production dont l'utilisation des pesticides occupe une part importante (Gockowski *et al*., 2010). Il s'agit donc de fournir aux producteurs des informations leurs permettant d'adopter des moyens de lutte économique, écologique et durable contre les maladies et ravageurs du cacaoyer notamment la pourriture brune (principale contrainte de production au Cameroun). Des actions permettant de retarder l'apparition de la maladie et son développement s'offrent comme une mesure préventive à la pourriture brune. Ces actions ne sauraient par conséquent être proposées sans l'identification des facteurs associés à la présence de la pourriture brune des fruits du cacaoyer dans les plantations.

L'objectif de cette étude est d'identifier les facteurs endogènes (opérations culturales et cultures associées) et exogènes (environnement voisin) à l'exploitation liés à la présence de la pourriture brune des fruits du cacaoyer.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La présente étude a été effectuée au sein d'un réseau de parcelles cacaoyères mise en place entre les années 2006 et 2010 dans la région du Centre Cameroun. Le système de culture est dit « innovant », (le même système utilisé pour les travaux des chapitres 2 et 3) où les cacaoyers ont été associés soit au palmier à huile (*Elaeis guineensis*), au cocotier (*Cocos nucifera*) et aux fruitiers (*Citrus* spp, *Dacryodes edulis*, *Persea americana)* suivant une configuration particulière (Chapitre 1).

Une enquête descriptive (la fiche d'enquête présentée en annexe 2) a été conduite pendant le mois de Septembre 2016 dans la zone de transition forêt-savane, dans les localités de Bakoa et Kedia puis dans la zone de Forêt à Ngat. Un total de 28 ménages ont été enquêtés dont 13 à Bakoa, 6 à Kedia et 9 à Ngat pour un ensemble de 43 parcelles caractérisées (21, 10 et 12 pour Bakoa, Kedia et Ngat respectivement). Toutes les parcelles appartenaient au réseau « systèmes innovants » et le choix de ces dernières s'est fait suivant les critères d'âge (parcelle installée entre 2006 et 2010) et le niveau de production (présence des cabosses). Les questions relatives à l'identification du producteur, aux opérations culturales effectuées dans les parcelles ainsi que les informations sur la présence, la connaissance et la gestion de la pourriture brune des fruits du cacaoyer ont été posées directement au chef d'exploitation. Tandis que la caractérisation des parcelles s'est faite via une prospection visuelle en champ pour vérifier la présence des maladies et ravageurs de la culture principale (cacaoyer) et ceux des cultures associées car certaines sont des hôtes des potentiels nuisibles du cacaoyer. L'environnement voisin de ces parcelles a été également décrit en notant la proximité (> 50 m) avec d'autres parcelles cacaoyères saines ou infectées de pourriture brune.

Après la collecte, l'analyse des données, exclusivement descriptive, a été faite via le logiciel Excel en calculant les moyennes des variables continues et les fréquences des variables qualitatives.

RÉSULTATS

Profil des producteurs

L'analyse du profil du producteur montre que dans toutes les localités, la majorité des chefs d'exploitation sont des hommes et représentent en moyenne 89% de la population interrogée contre 11% pour les femmes (Tableau 4). L'âge moyen des producteurs étaient de 54 ans et tous étaient mariés. Les producteurs de Kedia sont plus jeunes ont en moyenne 49 ans contre 53 et 60 pour Bakoa et Ngat respectivement. Quant au niveau d'éducation, en moyenne 53% et 43% des producteurs avaient respectivement le niveau primaire et secondaire donc très peu (4%) n'avaient pas été à l'école. Dans les différentes localités, le nombre moyen d'enfants par ménage variait entre 5 et 8 (Tableau 4).

Tableau 4: Profil du producteur

Localité	Nombre de ménage	Age moyen	Sexe (%)		Niveau d'éducation (%)			Nombre moyen d'enfants
			homme	femme	aucun	primaire	secondaire	
Bakoa	13 (46)	53	12 (92)	1 (8)	0 (0)	9 (69)	4 (31)	8
Kedia	6 (21)	49	5 (83)	1 (17)	0 (0)	3 (50)	3 (50)	5
Ngat	9 (32)	60	8 (89)	1 (11)	1 (11)	3 (33)	5 (56)	5
Total	28	54	25 (8)9	3 (11)	1 (4)	15 (53)	12 (43)	6

Caractéristiques des parcelles

Les parcelles cacaoyères prospectées ont été mises en place entre 2006 et 2010 sur des précédents culturaux différents du cacaoyer sur une superficie moyenne de 3987 m^2. Ces parcelles ont été associées soit au palmier (35%), soit au cocotier (5%) ou aux fruitiers (agrumes, avocatier, et safoutier) à 60%. La majorité (n=28) des parcelles au moment de la prospection avaient entre 9 et 10 ans (créées entre les années 2006 et 2007) et représentaient respectivement 62, 70 et 67% des parcelles à Bakoa, Kedia et Ngat, (Tableau 5). Dans toutes les localités, les associations fruitières étaient dominantes (47, 60 et 83% à Bakoa Kedia et Ngat respectivement), tandis que celles avec le palmier étaient de 43% 40% et 17% respectivement à Bakoa, Kedia et Ngat. L'association avec le cocotier était la moins représentée (10%) et exclusivement présente à Bakoa (Tableau 5).

Tableau 5 : Caractéristiques des parcelles cacaoyères prospectées

Localité	Nombre parcelles	Aire moyen (m^2)	Age/an (%)			Culture associée (%)			Précédent cultural (%)		
			6	7-8	9-10	Palmier	Cocotier	Fruitiers	Savane	Forêt	Jachère/Culture
Bakoa	21 (49)	4155,2	4 (19)	4 (19)	13 (62)	9 (43)	2 (10)	10 (47)	2 (10)	3 (14)	16 (76)
Kedia	10 (23)	3891,6	0 (0)	3 (30)	7 (70)	4 (40)	0 (0)	6 (60)	6 (60)	0 (0)	4 (40)
Ngat	12 (28)	3914,5	0 (0)	4 (33)	8 (67)	2 (17)	0 (0)	10 (83)	0 (0)	0 (0)	12 (100)
Total	43	3987,1	4 (9)	11 (26)	28 (65)	15 (35)	2 (5)	26 (60)	8 (19)	3 (7)	32 (74)

Principales opérations culturales effectuées dans les parcelles

1. Réalisation des opérations culturales

Le désherbage, la taille, la fertilisation, la récolte phytosanitaire et les applications de pesticides (fongicides et/ou insecticides) sont les principales opérations effectuées dans les parcelles. Les opérations de désherbage, de taille et d'application de pesticides sont réalisées dans toutes les parcelles tandis que la fertilisation et la récolte phytosanitaire sont respectivement effectuées dans 53% et 63% des parcelles (Tableau 6). Cependant suivant la méthode de désherbage utilisée, on note que le désherbage manuel exclusif est le moins pratiqué (7%) comparativement au désherbage chimique exclusif (14%) et à la méthode combinée chimique et manuelle (79%). Selon les localités, la pratique de la méthode combinée est plus fréquente à Ngat (100%) comparativement à Bakoa (67%) et Kedia (80%). Quant à la fertilisation, les fréquences de réalisation sont plus élevées dans les localités de Bakoa (67%) et Kedia (80%) comparativement à Ngat (8%). Bien que les applications de pesticides soient fréquentes dans toutes les parcelles, les fongicides étaient appliqués dans 51% des parcelles. Par ailleurs, parmi les parcelles non traitées, la pourriture brune des fruits du cacaoyer a été observée dans 36% des cas.

Pour les cultures associées, seulement celles de palmier et agrumesfont l'objet de fertilisation et d'applications de pesticides.

Tableau 6 : Réalisation des principales opérations culturales dans les différentes parcelles

Localités	Fertilisation		Récolte sanitaire.		Désherbage		
	oui	non	oui	non	A	B	C
Bakoa	14 (67)	7 (33)	14 (67)	7 (33)	1 (5)	6 (29)	14 (67)
Kedia	8 (80)	2 (20)	6 (60)	4 (40)	2 (20)	0 (0)	8 (80)
Ngat	1 (8)	11 (92)	8 (67)	4 (33)	0 (0)	0 (0)	12 (100)
Total	23 (53)	20 (47)	28 (65)	15 (35)	3 (7)	6 (14)	34 (79)

A= manuel, B=chimique et C= manuel et chimique

2. Fréquence et période de réalisation des opérations culturales

Les opérations culturales sont réalisées généralement suivant une période donnée avec des fréquences de passage relativement régulières. Les résultats obtenus ont montré que le désherbage manuel est effectué en moyenne une fois l'an dans toutes les localités tandis que le désherbage chimique se fait deux fois l'an à Bakoa et une fois pour Kedia et Ngat (Tableau 7). Les périodes d'application sont respectivement avril-juillet-novembre, juillet-novembre et mai-

août-novembre pour Bakoa, Kedia et Ngat. Indépendamment de la méthode de désherbage choisie, il a été noté que la fréquence annuelle de désherbage est respectivement de deux (02), trois (03) et quatre (04) dans 63%, 30% et 7% des parcelles. La fertilisation du cacaoyer se fait principalement à travers l'application des engrais foliaires et très souvent couplée aux traitements des pesticides. Par conséquent le nombre et la période d'application correspondent sensiblement à ceux des traitements phytosanitaires (Tableau 7). Les traitements phytosanitaires se déclinent en application de fongicides et d'insecticides. Le Tableau 7 montre que le nombre d'applications par an de fongicides est plus élevé à Bakoa (04) comparativement à Kédia (03) et Ngat (03). Pour les applications d'insecticides, le nombre d'application par an est moins élevé à Bakoa (02) tandis que ce nombre est trois (03) pour Kedia et Ngat. Au regard des noms commerciaux des pesticides fournis par les producteurs, il ressort globalement que les matières actives utilisées pour la protection des vergers cacao étaient principalement de l'oxyde de cuivre, la combinaison d'oxyde de cuivre et de metalaxyl pour les fongicides puis de l'imidaclopride et le chlorpyriphox-ethyl pour les insecticides. Les fongicides agissant à la fois par contact et systémique (combinaison de l'oxyde de cuivre et du metalaxyl) étaient plus fréquents (70%) que ceux agissant uniquement par contact (oxyde de cuivre). De même, les insecticides agissant par voie systémique (imidaclopride) étaient plus utilisés (80%) que ceux agissant par contact, inhalation et ingestion (chlorpyriphox-ethyl).

Pour les cultures associées, seule la culture du palmier à huile bénéficie d'une fertilisation minérale de type NPK une fois l'an dans la période de mai-juin. Tandis que les cultures fruitières et principalement les agrumes reçoivent des traitements phytosanitaires très souvent synchronisés avec ceux du cacaoyer et par conséquent des mêmes produits phytosanitaires.

Tableau 4.4Tableau 7 : Nombre moyen de passage, période de réalisation des principales opérations culturales

Opérations culturales		Localités		
		Bakoa	Kedia	Ngat
Désherbage	manuel	1	1	1
	chimique	2	1	1
	période	Avril-Juil.-Nov.	Juil.-Nov.	Mai-Août-Nov.
Fertilisation	nbre de	3	5	0
	période	Juin à Nov.	Juin à Nov.	-
Traitement fongicide	nombre	4	3	3
	période	Avril à Nov.	Sept. à Nov.	Sept. à Nov.
Traitement insecticide	nbre de	2	3	3
	période	Juil.-Nov.	Mars-Juil.-Nov.	Mars-Juil.-Nov.

Principaux maladies et ravageurs observés sur cacaoyer

Les maladies observées dans les parcelles étaient principalement la pourriture brune, le dieback (dessèchement de la plante à partir des bourgeons terminaux attribué très souvent à *Lasiodiplodia theobromae*) (Mbenoun *et al*., 2008) et le jaunissement (caractérisé par diminution de la persistance de la couleur verte des feuilles due à une période sèche prolongée) dont les fréquences moyennes respectives étaient: 67%, 19% et 26% (Tableau 8). Quant aux ravageurs, la présence des mirides a été observée dans la quasi-totalité des parcelles d'où une fréquence de 95% alors que les foreurs ont été notés dans 33% des cas (Tableau 8). En ce qui concerne la répartition dans les localités, il a été constaté que dans toutes les localités, tous les fléaux recensés étaient présents avec des fréquences similaires sauf pour le cas du jaunissement exclusivement présent dans la zone de transition forêt-savane à Bakoa et Kedia avec des fréquences de 33% et 40% respectivement.

Tableau 8 : Fréquence d'observation des maladies et ravageurs du cacaoyer dans les parcelles prospectées

Localités	Maladies (%)			Ravageurs (%)	
	Pourriture brune	Dieback	Jaunissement	Mirides	Foreurs
Bakoa	14 (67)	3 (14)	7 (33)	21 (100)	8 (38)
Kedia	6 (60)	2 (20)	4 (40)	8 (80)	3 (30)
Ngat	8 (67)	3 (25)	0 (0)	12 (100)	3 (25)
Total	28 (65)	8 (19)	11 (26)	41 (95)	14 (33)

Principaux maladies et ravageurs observés sur les cultures associées

Dans les parcelles (26) où les fruitiers ont été associés au cacaoyer, les maladies recensées sont la phaeoramulariose due à *Phaeoramilaria angolensis* (38%) et le greening due à *Canditatus liberibacter* (8%) pour les agrumes, et l'anthracnose *Collectotricum* (4%) pour l'avocatier. Par ailleurs, aucune maladie n'a été recensée sur le safoutier (Tableau 9). La cercosporiose *Cercospora elaeidis* était omni présente (87%) dans la majorité des parcelles (13 sur 15) où le palmier est la culture associée, et aucune maladie n'a été observée pour le cocotier (Tableau 9).

Tableau 9: Fréquence d'observation des maladies des cultures associées dans les parcelles prospectées

Localités	Parcelle fruitiers	Agrumes (%)		Avocatier (%)	Parcelle palmier	Palmier (%)
		Phaeoramilariose	Greening	Anthracnose		Cercosporiose
Bakoa	10	2 (20)	1 (10	0 (0)	9	7 (78)
Kedia	6	5 (83)	0 (0)	0 (0)	4	4 (100)
Ngat	10	3 (30)	1 (10)	1 (10)	2	2 (100)
Total	26	10 (38)	2 (8)	1 (4)	15	13 (87)

Relation entre état sanitaire de la parcelle et celui de son environnement voisin vis à vis de la pourriture brune des fruits du cacaoyer

Les données relatives à la description de l'environnement proche des parcelles ont montré que 91% des parcelles sont situées à proximité (> 50 m) d'autres cacaoyères parmi lesquelles 72% étaient infectées de pourriture brune. Toutefois, 9% des parcelles n'avaient aucune cacaoyère dans leur voisinage. La Figure 10 résume l'état sanitaire des parcelles en

relation avec celui de leur environnement proche. On observe que la plupart (51%) des parcelles infectées ont un environnement proche infecté, et 21% des parcelles saines ont un voisinage sain (Figure 10).

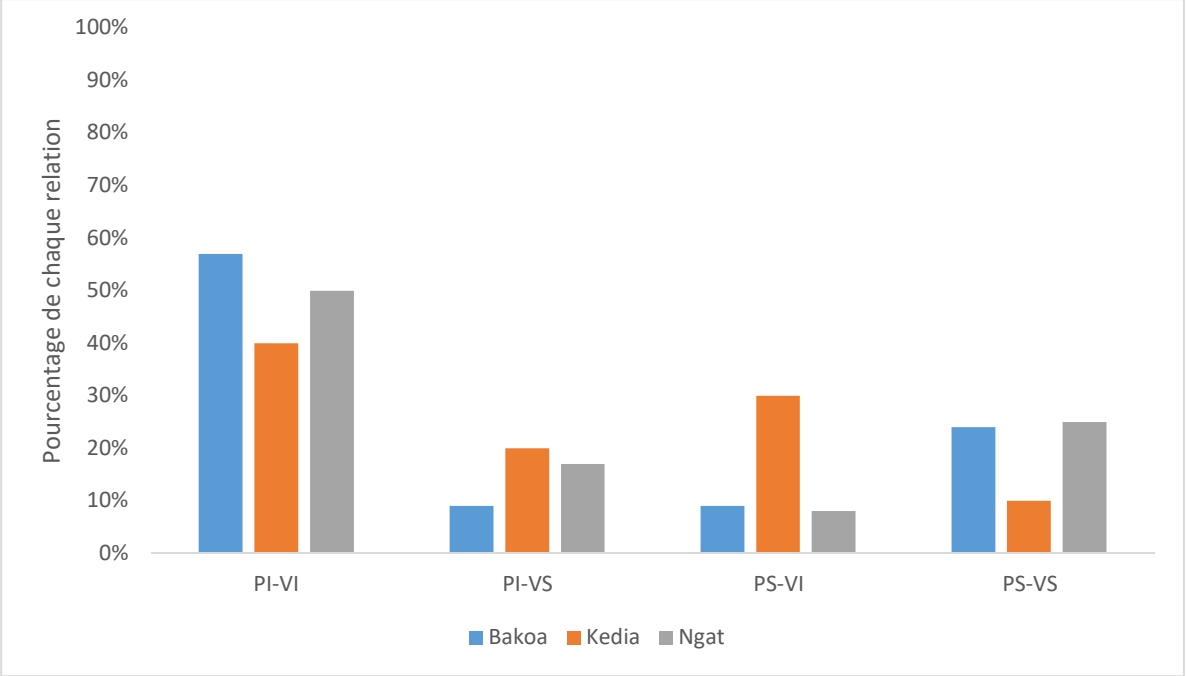

Figure 10 : Pourcentage des différentes relations entre état sanitaire de la parcelle et celui de son environnement proche

Légende: PI= parcelle infectée, PS= parcelle saine; VI=voisinage infecté, VS= voisinage sain.

DISCUSSION

La mise en place et la conduite d'une cacaoyère exigent non seulement un certain nombre de décisions mais aussi des activités techniques à mener par le producteur. Il était question dans ce chapitre, à partir de la caractérisation des parcelles et des opérations culturales effectuées d'identifier les facteurs endogènes et exogènes associés à la présence de la pourriture brune des fruits du cacaoyer.

Les producteurs enquêtés appartenaient majoritairement à la gente masculine ayant l'âge moyen de 54 ans car la cacaoculture est une activité longtemps réservée aux hommes et représente une forme d'appropriation des terres au regard de son caractère pérenne (Jagoret *et al*., 2011). La faible présence des femmes témoigne néanmoins qu'elles prennent de nouveaux rôles dans la gestion des cacaoyères passant de manœuvre à chef d'exploitation. Le niveau scolaire des producteurs était majoré autour des études secondaires ce qui suggère d'avantage

l'approche participative avec la mise en place des champs écoles dans le processus de vulgarisation pour faciliter le transfert de connaissances.

La caractérisation des parcelles a montré qu'elles avaient été installées pour la plupart sur des jachères ce qui montre une forte conversion des terres précédemment destinées aux cultures vivrières en cacaoyères. Cette conversion s'expliquerait par une baisse de fertilité de ces terres au regard des exigences des cultures vivrières (Jagoret, 2011). Parmi les associations culturales adoptées, les associations fruitières étaient plus fréquentes que celles avec le palmier et le cocotier. Cette préférence s'expliquerait par l'absence des opérations post-récoltes et la facilité à écouler les fruits sur le marché comparativement aux fruits du palmier et du cocotier. Par ailleurs tous les producteurs de palmier avaient un équipement pour l'extraction d'huile et commercialise par conséquent l'huile de palme. De nombreuses études ont montré l'importance de ces cultures dans l'amélioration du revenu du cacaoculteur (Gockowski & Dury, 1999 ; Gockowski *et al.,* 2010 ; Jagoret, 2011).

Les opérations culturales recensées étaient principalement le désherbage, la taille, la fertilisation, la récolte phytosanitaire et les applications de pesticides. Bien que le désherbage ait été effectué dans toutes les parcelles, la fréquence annuelle était relativement faible surtout dans la localité de Ngat (zone de forêt) où l'enherbement serait plus important comparativement aux localités de Bakoa et Kedia (transition forêt-savane). Il est généralement recommandé d'effectuer le désherbage tous les trois mois soit quatre (04) fois par an mais seules 7% des parcelles étaient entretenues à cette fréquence recommandée. La taille et la récolte phytosanitaire ont été déclarées par les producteurs comme des opérations qui se déroulent de façon régulière mais pendant la prospection en champ, il a été constaté qu'elles ne se faisaient pas de façon rigoureuse. Cette façon de réaliser la taille et la récolte sanitaire pourrait conduire à l'existence des foyers de mirides et de *P. megakarya*. Quant à la fertilisation, elle est novatrice pour bon nombre de cacaoculteurs bien que l'application des engrais foliaires soit plus fréquente dans la zone de transition forêt savane. Ce niveau d'application se justifierait par de récentes périodes sèches relativement longues qui ont conduit au jaunissement du feuillage des cacaoyers et ont amené les producteurs à adopter la fertilisation foliaire comme solution.

Les applications d'insecticides et de fongicides ont été réalisées pour contrôler principalement les mirides et la pourriture brune des fruits du cacaoyer. Les matières actives couramment utilisées étaient l'imidaclopride et chlorpyriphox-ethyl pour les insecticides d'une part et l'oxyde de cuivre et le Metalaxyl pour les fongicides d'autre part. Par ailleurs, il a été constaté que des amendements ont été faits au niveau de l'homologation de certaines matières actives. Depuis la date du 25 novembre 2016, l'importation et l'homologation des pesticides à

base de Metalaxyl sont interdites au Cameroun, seule la forme isomerique Metalaxyl-M encore appelée Mefenoxam est autorisée. Il a été également noté que les insecticides à base de chlorpyriphox-ethyl utilisés par les producteurs pour lutter contre les mirides du cacaoyer sont homologués pour la lutte contre les scolytes de baies du caféier ce qui suggère une sensibilisation auprès des producteurs sur l'utilisation des pesticides autorisés pour la protection des vergers cacaoyers.

Les maladies recensées aussi bien sur le cacaoyer que sur les cultures associées n'ont pas révélé la présence d'une nouvelle maladie sauf le cas du jaunissement signalé par les producteurs. Le jaunissement est une pathologie récente observée suite aux périodes sèches rudes et relativement longues dues aux aléas climatiques. Les espèces de *Phytophthora citrophthora* et de *Phytophthora palmivora* sont à la fois des agents responsables de la pourriture brune des fruits du cacaoyer et des maladies telles que la gommose des Citrus et la pourriture du cœur du cocotier due respectivement. Toutefois, ces espèces de *P. citrophthora* et *P. palmivora* n'ont pas été observées dans les parcelles où les Citrus et le cocotier étaient associés aux cacaoyers. Par ailleurs, il a été noté que l'environnement proche des parcelles était très souvent associé à la pourriture brune. La création des nouvelles parcelles cacaoyères à proximité des anciennes déjà infectées pourrait favoriser l'arrivée et l'installation de la maladie dans les nouvelles cacaoyères. Néanmoins environ 20% des parcelles infectées n'avaient pas des parcelles infectées dans leur environnement proche ce qui suggère que d'autres moyens de dispersion autre que la dispersion via les éclaboussures existent et assurent probablement le transport d'inoculum d'une parcelle à l'autre. Ces autres moyens de dispersion peuvent s'opérer à travers les insectes, les rongeurs, l'eau en mouvement, les humains etc… et méritent d'être investiguer pour d'avantage comprendre les mécanismes de dispersion de *P.megakarya*.

CHAPITRE V: DISCUSSION GÉNÉRALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V.1 DISCUSSION GÉNÉRALE

Au lendemain de la crise économique des années 80, les réformes d'ajustement structurel adoptées par l'État camerounais vont entraîner d'importants changements dans les politiques macroéconomiques. La filière cacao va connaitre : la suppression des subventions aux engrais et aux pesticides, la libéralisation des prix du cacao et le retrait général des interventions gouvernementales du sous-secteur du cacao. En outre, la hausse du prix des intrants de cacao a été aggravée par la dévaluation du franc CFA, qui a doublé les prix des pesticides importés essentiels pour la lutte contre les parasites du cacao (Mbondji, 2010 ; Tano, 2012). La gestion des nuisibles du cacaoyer via l'application des pesticides jadis assuré entièrement par l'État sera désormais prise en charge par les producteurs démunis et peu outillés dans l'utilisation des pesticides. Cette situation a eu pour conséquence l'abandon de nombreux vergers et la recrudescence de la pourriture brune dans les plantations cacaoyères.

Au Cameroun, la pourriture brune des fruits du cacaoyer est présente dans tous les bassins de production et connue comme contrainte phytosanitaire majeure. Comme par mimétisme à la gestion antérieure de cette maladie, la lutte chimique est le principal moyen utilisé par les producteurs pour protéger les vergers cacao. Par ailleurs, les producteurs font face à de nombreux problèmes relatifs la gestion des pesticides notamment au niveau du choix, de l'acquisition, la manipulation, du stockage etc (Mahob *et al*., 2014). En effet, les pesticides sont très souvent associés à la perte de la biodiversité, au développement de la résistance des agents pathogènes, à la pollution de l'environnement (Norgrove 2007 ; Ndoungue *et al*., 2018 ; Gonzalez-Tobon *et al*., 2019). Le métalaxyl principal ingrédient actif de fongicides systémiques utilisées en cacaoculture est en voie de remplacement par l'Union Européenne en raison de ses nombreux isomères non actifs. En outre, le niveau maximal de résidus stricte (LMR) du métalaxyl y compris d'autres mélanges d'isomères constitutifs, incluant le métalaxyl-M (somme des isomères) est de 0,1 mg / kg (UE, 2017).

Cependant, depuis le début des années 2000 dans le document de Stratégie de Développement du Secteur Rural (SDSR), l'État envisage relancer la filière cacao en projetant une production annuelle de 600 000t d'ici l'an 2020, mais dans un processus d'autonomisation des producteurs ce qui implique que ces derniers doivent supporter toutes les charges liées à la production du cacao (MINEPAT, 2016). Au regard des difficultés rencontrées par les producteurs dans l'acquisition et l'utilisation des pesticides, il devient urgent de trouver des mesures permettant de limiter leur utilisation afin de promouvoir des bonnes pratiques agricoles pour une cacaoculture durable (MINEPAT, 2016 ; Sonwa *et al* 2005).

Un suivi épidémiologique de la pourriture brune dans des parcelles nouvellement installées peut fournir des indications pour l'élaboration des modèles d'avertissements et de prévisions phytosanitaires. Dans le cadre de cette thèse, il s'est présenté comme un préalable à l'identification des facteurs qui gouvernent le démarrage, l'installation et la propagation des infections afin de contribuer à la mise en place des leviers d'actions nécessaires pour limiter la dispersion de *P. megakarya* et la propagation de la pourriture brune dans les vergers cacao.

Ce travail avait donc pour objectifs :

1. Analyser la dynamique spatio-temporelle des infections primaires dues à *P. megakarya* dans les parcelles ;
2. Étudier la population de *P. megakarya* en relation avec la propagation de la maladie et ;
3. Identifier les facteurs associés à la présence de la pourriture brune.

❖ **Dynamique spatiale de la maladie**

L'étude de la dynamique spatiale de la maladie a permis d'examiner les patterns spatiaux ainsi que les corrélations entre les arbres infectés. Les résultats obtenus ont montré que le pattern spatial des premières infections était soit aléatoire (Bakoa), soit agrégée (Kedia) ou indéterminé (Ngat) tandis que l'existence d'une corrélation positive (Bakoa et Kedia) ou non (Ngat) a été détectée. Au fil des années, tous les patterns d'infection se sont agrégés et des corrélations positives ont été détectées davantage, avec des agrégats de taille comprise entre 3 et 9 mètres. Ces résultats similaires à ceux de Mfegue (2012), Ndoumbè-Nkeng *et al*. (2017) et Ten Hoopen *et al*. (2010) indiquent que la maladie se propage de proche en proche, et confortent une fois de plus l'hypothèse d'un mode de dispersion à courte distance (Ristaino et Gumpezt, 2000).

Sachant que les parcelles n'avaient pas abrité de cultures cacaoyères dans le passé donc dépourvu d'inoculum endogène, l'inoculum primaire responsable des premières infections proviendrait très probablement de l'environnement voisin. Toutefois, la configuration spatiale des cultures associées (Bakoa et Kedia) et la topographie (pente) des parcelles (Kedia et Ngat) semblent avoir une influence sur l'orientation de la propagation. Les lignes intercalaires des palmiers et cocotiers avec celles des cacaoyers dans les parcelles de Bakoa et Kedia auraient favorisé la dispersion verticale en limitant la dispersion horizontale de l'inoculum secondaire. Une propagation de la maladie suivant la pente a été observée à Ngat suggérant ainsi un mode

de dispersion de l'inoculum via les eaux de ruissellement. En effet des travaux ont montré que la topographie et les systèmes de cultures ont une influence sur la dynamique des maladies

Par ailleurs, au regard du nombre de cacaoyers infectés par parcelle, l'incidence de la maladie était relativement faible. Il parait que l'environnement intra-parcellaire n'était pas suffisamment favorable au développement de la pourriture brune. Le caractère polycyclique de la pourriture brune conduit généralement à une production importance d'inoculum secondaire qui entraine une propagation rapide de la maladie. La dispersion via les éclaboussures à partir des cabosses infectées peut entrainer plus de 70% des infections dues au *P. megakarya* (McMahon et Purwantara, 2004). L'importance de la pluie sur l'incidence de la pourriture brune a été montrée (Deberdt *et al*., 2008, Ndoumbé-Nkeng *et al*., 2009). Les pluies sont très souvent liées au nombre d'arbres infectés et expliquent généralement la dynamique temporelle (Ndoumbé-Nkeng *et al*., 2017) tandis que l'environnement microclimatique influe sur la variabilité spatiale et pourrait donc agir sur l'installation et la distribution spatiale de la maladie dans les parcelles. Les données microclimatiques notamment de températures et d'humidité relative ont montré une hétérogénéité spatiale au sein des parcelles. Cette hétérogénéité était plus prononcée dans les parcelles de Kedia et de Ngat. Elle était due à la présence d'une rivière sur une bordure de la parcelle de Kedia alors qu'à Ngat, l'emplacement de la parcelle par rapport au lever du soleil a créé des endroits plus ombragés que d'autres au sein de la parcelle. Bien que la relation entre la pourriture brune et l'ombrage ne soit pas encore clairement définie, il semble que sous ombrage, l'évaporation de la rosée matinale sur les cabosses est retardée ce qui favoriserait le développement des infections dues à *P. megakarya* (Monteith & Butler, 1979). Malgré que ces endroits cités dans les parcelles de Kédia et de Ngat fussent respectivement les principaux sites d'infections, une relation statistique n'a pas été établie entre les variables microclimatiques et la présence de la maladie. Les localités de Bakoa et Kedia comparativement à celle de Ngat sont dans la zone marginale de production du cacao où les cacaoculteurs ont réussi à développer un système de production performant (Jagoret *et al*., 2012. Toutefois, les données obtenues dans les parcelles étudiées ont montré ces localités étaient moins favorable au développement de la pourriture brune avec des températures maximales supérieures à 30°C correspondant à la température seuil où la croissance in vitro de *P. megakarya* est stoppée (Puig *et al*., 2018). En effet, les températures optimales de *P. megakarya* sont comprises entre 23 et 26°C (Brasier et Griffin, 1979 ; Erwin et Ribeiro, 1996 ; Puig *et al*., 2018). Malgré les températures supérieures à 30°C dans les localités de Bakoa et Kedia, la prévalence de la maladie observée indique qu'elles n'étaient pas maintenues pendant une durée suffisante pour éliminer *P. megakarya*. La présence/absence d'ombrage pourrait également

influencer sur les variables de températures et d'humidité relative. Medeiros (1967) a montré que les plantations ombragées dans les zones humides telles que les vallées fluviales semblent plus sujettes aux maladies que les plantations bien ventilées dans les zones voisines recevant des précipitations similaires.

En outre, les tests de relation entre la présence de l'inoculum dans le sol et celles arbres infectés n'étaient significatifs que dans les dernières années de l'essai indiquant que le sol était très peu impliqué dans le processus d'infection dans les premières années. Ces résultats s'expliquerait par la faible quantité de l'inoculum dans le sol due aux récoltes phytosanitaires hebdomadaires et éventuellement l'application ponctuelle des fongicides dans certains parcelles. Il a été néanmoins montré que la récolte phytosanitaire était insuffisante pour contrôler la pourriture brune (Ndoumbé Nkeng *et al*., 2004; Nembot *et al.,* 2018). Quant aux applications de fongicides, elles assurent la protection des cabosses pendant un temps relativement court (21 jours) et ne sauraient en conséquence justifier l'état sanitaire des cacaoyers au-delà de ce temps et encore moins dans les années suivantes. Il parait donc que dans des plantations cacaoyères où le sol ne contient pas encore assez d'inoculum comparativement aux vielles plantations, une récolte phytosanitaire rigoureuse et/ou une application ponctuelle de fongicides peuvent permettre de maintenir la maladie à un niveau relativement bas. L'intervention précoce à travers la récolte phytosanitaire dans de jeunes plantations retarderait ainsi la mise en place du réservoir d'inoculum au niveau du sol.

Malgré les conditions microclimatiques relativement plus favorables à la propagation de la pourriture brune à Ngat, et l'absence d'application de fongicides, le nombre d'arbres malades était relativement faible. Ce résultat pourrait s'expliquer par le nombre relativement élevé d'arbres non productifs observé résultant principalement de l'impact des mirides du cacao (*Sahlbergella singularis*). Une étude sur la distribution des mirides et leurs dommages en 2009 et 2010 sur six parcelles de cacao a montré que la densité et les dommages étaient élevés dans la parcelle de Ngat par rapport aux autres parcelles étudiées (Mahob *et al*., 2015). Beilhe *et al*. (2017) ont montré que les pertes dues aux attaques de mirides ne se limitent pas aux dommages causés aux cabosses, mais influent négativement sur la capacité de production des arbres à l'avenir.

- **Dynamique temporelle**

L'étude de la dynamique temporelle a permis de montrer que l'évolution de la pourriture brune dans toutes les parcelles étaient lente vu le nombre d'arbres infectés par parcelle pendant la période d'essai. La description de la dynamique spatiale a montré que *P. megakarya* avait

des difficultés à se disperser pour des raisons énumérées ci-dessus. Par ailleurs, la récolte phytosanitaire hebdomadaire a permis de distinguer les infections dues à l'inoculum primaire et celles dues à l'inoculum secondaire et a donc aider à comprendre d'avantage sur le rôle de chaque type d'inoculum dans le processus de propagation. Les résultats obtenus ont montré qu'à l'échelle d'un arbre que les infections secondaires résultaient plus souvent des infections primaires indiquant ainsi une dispersion verticale dominante (au sein d'un même arbre) comparativement à celle horizontale (entre arbres).

L'augmentation lente du nombre total d'arbres infectés au fil du temps s'explique donc par le fait que l'inoculum secondaire a provoqué principalement des auto-infections comparativement aux infections entre arbres. Ceci conforte l'hypothèse émise par Ten Hoopen *et al*. (2010) qui ont déclaré que l'inoculum primaire était le principal déterminant du développement spatial au niveau de la plantation alors que l'inoculum secondaire était principalement responsable du développement temporel (intra-arbre) de l'épidémie due à *P. megakarya*.

L'étude de la dynamique temporelle de chaque type d'infection a permis de noter que l'inoculum primaire ne déclenche pas seulement l'épidémie, mais continue à induire des infections tout au long de l'année. De plus le caractère intermittent de certaines infections indique une arrivée constante de l'inoculum exogène au sein des parcelles ce qui confirme l'hypothèse émise par Nembot *et al*. (2018) que l'inoculum primaire a un rôle déterminant dans le démarrage des épidémies et encore plus dans les premières années. Sachant que l'inoculum primaire peut provenir des dispersions sur courtes ou longues distances, des études axées sur la sa caractérisation permettraient d'identifier les formes de l'inoculum et les moyens de dispersion impliqués dans le démarrage de l'épidémie. Des travaux similaires sur la septoriose de blé ont permis de montrer que les ascospores étaient responsables du démarrage de l'épidémie dans les parcelles initialement dépourvues d'inoculum endogène (pycnidiospores) (Suffert, 2016).

Sur la base des observations faites dans les parcelles, une augmentation du nombre d'infections à Kedia suite à la survenue d'une inondation semble mettre en exergue le rôle de l'eau de rivière dans le processus de dispersion de *P. megakarya*. De plus, l'isolement de *P. megakarya* dans cette eau via un piégeage avant la survenue de l'inondation conforte cette hypothèse. De nombreux travaux ont montré que ce mode de dispersion existe chez certaines espèces de *Phytophthora* notamment *P. ramorum*, *P. alni* et *P. parasitica* (Husson *et al*., 2006; Neher et Duniway, 1992; Themann *et al*., 2002). Cette inondation indique ainsi que l'eau en mouvement serait l'un des mécanismes de dispersion sur de longues distances de *P. megakarya*.

Bien que l'implication des fourmis dans le processus de dispersion de *P. megakarya* ait été montrée (Evans, 1973; Ngwohgi, 2015), la distance sur laquelle elles pourraient transporter l'inoculum reste incertaine. Le rôle de l'homme dans la dispersion de l'inoculum ne doit pas être négligé. La présence constante d'un foyer d'infections de 2010 à 2016 dans la parcelle de Ngat à côté d'un sentier fournit un indice quant à l'importance de la dispersion via l'homme.

Malgré l'arrivée constante de l'inoculum exogène dans les parcelles, il a été constaté que *P. megakarya* semblait avoir du mal à s'installer. Pourtant, *P. megakarya* possède de multiples possibilités de survivre dans les plantations de cacao notamment à travers le sol (Ward et Griffin, 1981). De plus, plusieurs espèces associées au cacaoyer (*Elaeis guineensis*, *Persea Americana*) et *Musa* spp (présentes dans les deux à trois premières années de la parcelle) ont été identifiées comme hôtes « alternatifs » de *P. megakarya* (Akrofi *et al*., 2015). Mais, au contraire, des corrélations spatiales entre les cacaoyers infectés étaient positives et orientées verticalement indiquant que les espèces *C. nucifera* et *E. guineensis* formeraient une barrière à la propagation horizontale à Bakoa. Certains travaux (Akrofi, 2015; Appiah *et al*., 2004) ont montré que *P. megakarya* peut survivre et rester viable pendant de nombreux mois dans les débris d'écorce, de bois et de plantes et causer facilement des chancres, mais ce phénomène semble ne pas avoir lieu dans les parcelles étudiées vu la faible incidence de la maladie. Cependant, l'idée que *P. megakarya* survit ailleurs que dans le sol ne peut pas être écartée, des travaux de détection et d'identification de *P. megakarya* au niveau de potentielles sources d'inoculum peuvent donner des éclairages sur la question de réservoir d'inoculum.

- **Collection et isolement de *Phytophthora megakarya***

L'étude de populations de *P. megakarya* responsables de l'épidémie dans les parcelles d'étude a exigé au préalable la collecte des isolats au niveau des sources potentielles d'inoculum. La collecte des isolats a été majoritairement effectuée via les cabosses infectées comparativement au sol et à l'eau, ce qui a permis d'avoir finalement 80 % des isolats provenant des cabosses. Cette disproportion s'explique par le fait que l'échantillonnage était orienté par les symptômes de la pourriture brune. Le sol a également été fortement échantillonné mais seulement 11% des échantillons de sol avaient témoigné la présence de *P. megakarya*. Ces résultats indiquent que l'inoculum était peu présent dans le sol probablement à cause de la récolte phytosanitaire effectuée dans chaque parcelle expérimentale qui aurait limitée les quantités lessivées vers le sol (Chapitre 2). Cependant, l'évaluation du seuil de détection de la méthode de piégeage utilisée a montré que cette méthode serait efficace lorsque la concentration minimale d'inoculum dans le sol est 3.10^3 zoospores pour 10 g de sol (Chapitre 3). Ces résultats

suggèrent que des méthodes de détection et de quantification plus fine de l'inoculum contribueront à mieux examiner le rôle du sol dans les épidémies dues à *P. megakarya*. En effet, nombreuses techniques détection et de quantification ont permis d'identifier plusieurs sources d'inoculum chez *Phytophthora* sp. (Martin *et al*., 2012). La technique d'amplification quantitative de l'ADN appelée PCR à temps réel (qPCR), le dénombrement des colonies formées après dilution en boite de Pétri estimée en unités formant colonie (UFC) (Fisher et Yates, 1963); et l'immuno-détection via la méthode ELISA sont courantes (Ippolito *et al*., 2004 ; Davidson *et al*., 2008 ; Themann *et al*., 2002 ; Rollins *et al*., 2016).

Parmi les isolats prélevés dans l'eau via les feuilles d'avocatier, deux ont été identifiés comme *Phytopythium* sp. et un comme *Phytophthora cryptogea* d'après le séquençage ITS. *Phytopythium* est un nouveau genre dans la famille des Pythiaceae, de l'ordre des Peronosporales qui comprend actuellement les espèces du genre *Pythium* précédemment classé dans le clade K (de Cock *et al*., 2015). *Phytophthora cryptogea* est un agent pathogène de plusieurs plantes cultivées et ornementales et serait cosmopolite (Cline *et al*., 2008) bien que sa présence n'ait pas été signalée au Cameroun. Ces résultats montrent que la méthode de piégeage utilisée n'était pas spécifique à *P. megakarya*, elle pourrait donc être utilisée pour détecter d'autres espèces du genre *Phytophthora* ainsi que celles des familles apparentées. En effet, *P. cinnamomi*, agent pathogène de l'avocatier (*Persea americana*) est largement répandu dans les pays africains producteurs d'avocat, notamment le Cameroun (Nagel *et al*., 2013) et *P. palmivora* un des agents de la pourriture brune du cacaoyer est également sur avocatier au Cuba (Machado *et al*.,2013).

- **Diversité génétique de *Phytophthora megakarya***

La caractérisation moléculaire des souches de *P. megakarya* collectées dans les sites d'étude a été réalisée via le génotypage SSR combiné à l'étude génétique des populations. L'analyse de la variabilité génétique au sein des souches de *P. megakarya* sur 14 loci microsatellites a montré une variabilité non significative entre les individus de chaque localité. Cette variabilité était principalement due aux différences détectées entre un et cinq locus. Par ailleurs, une forte variabilité a été observée entre les populations de la zone de forêt et celles de savane. Toutefois les populations de la zone de savane (Bakoa et Kedia) étaient peu différenciées entre elles. L'hétérozygotie observée était plus élevée que celle attendue pour tous les loci (Chapitre 3), cela serait dû à de rares événements tels que des croisements entre des populations éloignées (ayant eu lieu avant le démarrage de l'épidémie) suivis d'une reproduction clonale (déroulement de l'épidémie). En effet, un seul type sexuel A1 a été observé

au sein de la population étudiée ce qui conforte d'avantage l'hypothèse d'une reproduction essentiellement clonale. Des résultats similaires ont été obtenus chez d'autres populations de *Phytophthora* spp. (Förster *et al*., 1994). Des génotypes rares et très proches ont été détectés dans cette population et, en plus de l'hétérozygotie observée, il pourrait être le résultat d'une recombinaison mitotique ou somatique (Goodwin, 1997). Ce mécanisme s'est révélé significatif dans les populations de *Phytophthora infestans*, l'agent pathogène de la pomme de terre (Goodwin *et al*., 1994). En effet, il a été suggéré que la reproduction clonale serait avantageuse pour les organismes invasifs car elle leur permet de coloniser rapidemrent l'espace, comme le cas de *P. megakarya* tandis que la recombinaison mitotique contribuerait à purger les organismes clonaux (Dobrowolski *et al*. 2003; Gladieux *et al*. 2008).

- **Conséquences épidémiologiques**

La caractérisation des souches de *P. megakarya* à l'aide des marqueurs moléculaires et l'étude des relations génétiques entres les souches via l'approche de l'arbre couvrant minimum ont permis de consolider les résultats obtenus de l'étude la dynamique des infections dues à *P. megakarya* au sein des parcelles. L'analyse des arbres couvrants minimum a permis d'identifier sur la base de leur appartenance géographique deux complexes clonaux CC 11 et CC 16. La structure de chaque complexe clonal a montré une structure en étoile avec plusieurs liens de locus variant unique (ou single locus variant = SLV) qui divergent du génotype central (MLG 11 et MLG 16) vers les autres génotypes (Chapitre 3). Ce résultat suggère une épidémie à expansion clonale récente dont les génotypes MLG 11 et MLG 16 sont les présumés fondateurs. En effet, plusieurs génotypes étaient partagés entre les différents compartiments notamment entre les parcelles et leur environnement voisin ; entre les cabosses, le sol et l'eau ce qui indique un flux de gènes entre les différents compartiments. En joignant à ces résultats les informations épidémiologiques relatives à la dynamique spatiotemporelle (Chapitre 2), il ressort qu'un seul génotype serait responsable de la propagation de la maladie dans chaque zone agro-écologique. Le génotype MLG 11 pour la zone de savane (Bakoa et Kedia) et MLG 16 pour la zone forestière (Ngat). Au regard du nombre de génotypes partagés entre les parcelles expérimentales et leur environnement, et l'absence d'inoculum endogène au démarrage de l'épidémie, l'origine de l'inoculum primaire responsable des premières infections serait les plantations cacaoyères voisines. Alors que le principal mode de dispersion de *P. megakarya* se fait via les éclaboussures, il est probable qu'un ou d'autres mécanismes de dispersion aient permis des échanges entre les parcelles expérimentales et les plantations environnantes. La dispersion de l'inoculum pourrait s'opérer via les fourmis, car elles sont souvent associées au développement

de la pourriture brune. En effet, *Crematogaster striatula* est l'une des espèces de fourmis particulièrement concernée, car elle utilise principalement des débris végétaux pour construire sur des cabosses des tentes contenant de la terre et parfois des débris de cabosses infectées (Evans, 1974 ; Ngwohgi, 2015). En outre, une étude récente a montré une corrélation positive entre la richesse en espèces de fourmis et l'incidence de la pourriture brune dans les cacaoyères, ce qui suggère que la plupart des espèces de fourmis seraient impliquées dans la dispersion de *P. megakarya* (Rizali *et al*., 2018). Les vertébrés comme les rongeurs et les humains sont également désignés comme potentiels agents de dispersion d'inoculum. Dans la parcelle de Ngat, La présence constante d'un foyer d'infection près du sentier indique que l'homme aurait été impliqué dans l'installation de l'épidémie (Chapitre 2). Des essais de collecte de terre collée sous les bottes des producteurs pour le piégeage de *P. megakarya* n'ont malheureusement pas permis de mettre en évidence ce mode de dispersion. Par ailleurs, Tjosvold *et al*. (2002) ont isolé *P. ramorum* à partir de la terre présente sous les chaussures des visiteurs d'un parc touristique. En revanche, cette étude réalisée en milieu naturel fournit des hypothèses qui pourront être testées dans des conditions contrôlées. En effet, des travaux permettant de suivre la propagation ainsi que la survie de l'inoculum au niveau des différents compartiments impliqués dans le déroulement de l'épidémie donneront plus de précisions sur les mécanismes de dispersion ainsi que les sources d'inoculum. Des travaux similaires ont été faits pour améliorer l'utilisation des agents de lutte biologique comme *Trichodema* sp. (Dodd *et al*., 2004; Lübeck *et al*., 2002).

Les relations entre les génotypes issus de l'eau et ceux du sol d'une part et ceux des cabosses d'autre part sont faibles, probablement en raison du nombre relativement faible (12) d'isolats prélevés dans l'eau. Cependant, les génotypes majoritaires MLG 11 et MLG 16 communs aux cabosses et au sol ont également été retrouvés dans les isolats provenant de l'eau à Kedia, tandis que celui de Ngat partage le MLG 4 avec ceux du sol. Malgré le déséquilibre entre le nombre d'isolats collectés dans l'eau et celui des autres, cette étude montre que l'eau n'intervient pas seulement sous forme de pluie, mais aussi comme cours d'eau et via le ruissellement à la dispersion de *P. megakarya*. De plus, l'inondation survenue en 2014 à Kedia a entraîné une augmentation de l'incidence de la maladie (Chapitre 2) et, par conséquent, a accru la diversité de *P. megakarya* comparativement aux années précédentes. Il aurait été néanmoins intéressant de déterminer l'importance relative de chaque source d'inoculum dans le déroulement de l'épidémie. L'épidémiologie moléculaire de du flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) de la pomme de terre a montré que la source importante d'inoculum du phylotype IIB1 était celle provenant des semences (Ravelomanantsoa, 2016). Par contre

d'autres travaux axés sur les sources d'inoculum ont montré que quel que soit la source, l'inoculum est toujours suffisant pour démarrer l'épidémie suggérant ainsi des stratégies de lutte orientées vers l'adaptation pathogène-hôte (Suffert, 2016).

L'arbre couvrant minimum a montré également de forts liens épidémiologiques entre les génotypes des cabosses et ceux du sol, ce qui n'est pas surprenant puisque le mécanisme de dispersion bien connu de *P. megakarya* se fait via les éclaboussures impliquant ainsi le sol et des cabosses sur l'arbre (Brasier et Griffin, 1979; Ristaino & Gumpertz, 2000). Toutefois, vu le pourcentage d'échantillons de sol testés positifs pour l'ensemble des cacaoyers (11%) par rapport au nombre d'échantillons collectés, il paraît que l'inoculum a eu des difficultés à s'installer dans le sol. Ce résultat est conforté par la présence de certains génotypes exclusivement présents au niveau des cabosses. Ce résultat serait dû principalement à la récolte sanitaire et éventuellement l'application de fongicides qui ont réduit de façon considérable la quantité d'inoculum secondaire limitant ainsi la conservation dans le sol. Par ailleurs, la présence exclusive de certains génotypes dans le sol laisse penser à un phénomène de compétition ou de faible fitness qui auraient limité l'expression de ces derniers au niveau des cabosses.

Les génotypes majoritaires MLG 11 et MLG 16 différents sur quatre loci paraissent également différents sur des caractères phénotypiques. En outre, l'évaluation de la pathogénicité a permis de montrer que les génotypes provenant de la zone de savane ont présentés plus d'agressivité que ceux de la zone forestière. Ce résultat suggère que les génotypes se seront adaptés à chaque zone agro-écologique, car Le génotype MLG 16 majoritaire en zone de forêt se trouvait également en zone de savane depuis le démarrage de l'épidémie où il est minoritaire. L'environnement de savane est moins favorable au développement de la pourriture brune et par conséquent hostile à la croissance de *P. megakarya*. Cet environnement pourrait donc à défaut de la réduire renforcer la fitness des génotypes de cette zone contrairement à la zone forestière qui est plus propice. Par ailleurs, il a été montré dans les populations de *P. infestans* que les lignées clonales majoritaires ne sont pas toujours les plus agressives (Mariette *et al*., 2016) due à des stratégies d'histoire de vie différentes. Il semble que les lignées agressives investissent dans la virulence (ou transmission intra-épidémique) tandis que les lignées invasives le font au niveau de la transmission inter-épidémique (Andrivon *et al*., 2007) ce qui conduit à la coexistence d'individus de différentes fitness au sein d'une même population. L'apparition et la disparition de certains génotypes seraient le résultat de mutations ou de flux de gènes assuré par la dispersion. Bien que le matériel végétal cacao soit sélectionné, aucune corrélation entre les familles de cacao plantées

et les génotypes n'a été observée sur le terrain. En effet, en dépit de la présence de certaines hôtes (espèces associées au cacaoyer) de *Phytophthora* spp dans les parcelles, aucune infection n'a été détectée à travers des prospections visuelles.

- **Facteurs associés à la présence de la pourriture brune**

La caractérisation des parcelles sous systèmes de culture innovants en vue d'identifier les facteurs endogènes et exogènes associés à la pourriture brune a permis de montrer que les opérations culturales notamment la taille, le désherbage, la récolte sanitaire et les applications de pesticides sont les moyens que le producteur utilise pour contrôler la maladie. Cependant, il a été constaté que ces opérations culturales qui aideraient à limiter l'arrivée ou de réduire la propagation de la maladie n'étaient pas exécutées de façon rigoureuse. Bien que la zone de savane soit moins favorable au développement de la pourriture brune, il parait que les producteurs de cette localité entretiennent mieux leurs parcelles que ceux de la zone forestière (Chapitre 4). Ces résultats montrent que le producteur a un rôle déterminant dans la gestion de la cacaoyère bien plus à travers les opérations culturales nécessaires pour limiter l'incidence de la maladie. Toutefois ces derniers soulignent un manque de motivation due à la volatilité des prix du cacao qui conduit très souvent à un manque d'intérêt. C'est probablement pour pallier à ce problème que de nombreux producteurs choisissent des associations culturales pourvoyeuses de revenus (Gockowski & Dury, 1999 ; Gockowski *et al.,* 2010 ; Jagoret, 2011). L'insuffisance des connaissances sur les pesticides ainsi que leur mauvaise utilisation dans la lutte contre les ennemis du cacaoyer suggèrent un besoin en accompagnement technique pour les aider à adopter les bonnes pratiques agricoles.

La caractérisation des parcelles a montré qu'elles avaient été installées pour la plupart sur des jachères ce qui montre une forte conversion des terres précédemment destinées aux cultures vivrières en cacaoyères. Cette conversion serait due à une baisse de fertilité de ces terres au regard des exigences des cultures vivrières (Jagoret, 2011). Les espèces associées au cacaoyer notamment l'avocatier, les *Citrus* sp. et le cocotier sont respectivement les hôtes de *P. cinnamomi*, *P. citrophthora* et de *Phytophthora palmivora* qui peuvent potentiellement causer la pourriture brune du cacaoyer. Les maladies dues à ces espèces de *Phytophthora* n'ont néanmoins pas été observées sur les cultures associées. Malgré que les données collectées n'étaient pas suffisantes pour réaliser les analyses de corrélation notamment multivariées, il a été noté par ailleurs, que l'environnement proche particulièrement les plantations cacaoyères voisines étaient très souvent associées à la présence de la pourriture brune. La création des nouvelles parcelles cacaoyères à proximité des anciennes déjà infectées pourrait favoriser

l'arrivée et l'installation de la maladie dans les nouvelles. Toutefois, certaines parcelles infectées (20%) étaient dans un environnement proche exempt de pourriture brune. Ce résultat indique que la dispersion sur de longues distances est d'avantage responsable de l'arrivée de l'inoculum primaire dans les nouvelles parcelles (Nembot *et al.,* 2018).

Le recensement des maladies du cacaoyer en champ a permis de noter que les aléas climatiques peuvent être à l'origine de nouvelles pathologies notamment le jaunissement du feuillage dont les producteurs ont adopté la fertilisation foliaire comme mesure palliative.

V.2 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La lutte chimique via l'utilisation des fongicides de synthèses est la méthode de lutte couramment utilisée contre la pourriture brune des fruits du cacaoyer. Cependant, les problèmes liés à l'utilisation de ces produits phytosanitaires exigent la recherche des solutions de lutte économiques et durables. Les travaux menés dans le cadre de cette thèse constituent un premier pas vers la recherche des mesures préventives contre cette maladie. L'étude de la dynamique des infections primaires dues à *P. megakarya* via l'utilisation complémentaire des outils épidémiologiques et moléculaires ont permis de montrer l'importance relative de l'inoculum primaire principalement constitué de l'allo-inoculum issu de l'environnement voisin dans le démarrage et l'installation de l'épidémie. Le sol, les cultures associées et le microclimat joue un rôle déterminant dans la dynamique de la maladie. En outre, le rôle des eaux de surface a été mis en évidence et à notre connaissance c'est la première fois que *P. megakarya* soit isolé de l'eau. Ces résultats ont permis de faire quelques recommandations :

- L'arrivée de l'inoculum primaire de *P. megakarya* peut être limitée en maintenant une distance suffisante entre les plantations cacaoyères ou en utilisant d'autres espèces végétales comme barrières lors de la création de nouvelles plantations. Une telle stratégie est également recommandée en Côte d'Ivoire et au Ghana pour limiter la propagation de la maladie du cocoa swollen shoot virus (CSSV).
- Une récolte phytosanitaire rigoureuse dès l'apparition des premières infections permettra de réduire l'évolution de la maladie au fil des années et par conséquent limiter la mise en place d'un réservoir d'inoculum au niveau du sol. Contrairement aux vielles plantations où l'inoculum est suffisamment présent dans le sol, une telle pratique dans les nouvelles permettrait de réduire les applications de fongicides.
- Les zones exposées aux inondations sont à éviter car comme dans le cadre de cette thèse, les rivières peuvent transporter des propagules de *P. megakarya* ou favoriser l'explosion de l'épidémie.

Cette étude a toutefois présenté des insuffisances qui méritent d'être pris en compte dans les travaux futurs.

L'analyse spatiotemporelle a permis de comprendre davantage les mécanismes de dispersion en milieu réel à l'echelle parcellaire, des expérimentations en milieu contrôlé permettront de tester certaines hypothèses émises et aboutiront probablement aux estimations de variables locales nécessaires pour la construction des modèles de prévision.

Les données microclimatiques n'ont pas permis de faire des analyses de corrélations entre microclimat et la présence de la maladie, un dispositif de collecte plus dense permettra de clarifier l'importance du microclimat.

La quantification d'inoculum au niveau des potentielles sources (le sol, coussinet floraux, écorce, les hôtes alternatifs…) via les récentes méthodes de détection permettront de déterminer leur importance relative dans le déroulement de l'épidémie afin d'améliorer les mesures préventives existentes.

Cette thèse est une première où le suivi de l'épidémie de *P. megakarya* est fait dans les systèmes de culture de cacao récemment mis en place. Des études complémentaires sont nécessaires pour comparer la dynamique épidémique avec celles des autres systèmes de cultures à base de cacaoyers.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Akrofi A. Y, 2015. *Phytophthora megakarya*: a review on its status as a pathogen on cacao in West Africa. *African Crop Science Journal* 23(1):67-87.

Akrofi A. Y, Amoako-Atta I, Assuah M and Asare EK. 2015. Black pod disease on cacao (*Theobroma cacao*, L) in Ghana: Spread of *Phytophthora megakarya* and role of economic plants in the disease epidemiology. *Crop Protection* 72:66-75.

Ali S. S., Amoako-Attah I., Bailey R. A., Strem M. D., Schmidt M., Akrofi A. Y., Surujdeo-Maharaj S., Kolawole O. O., Begoude B. A. D., Hoopen G. M. ten, Goss E., Phillips-Mora W., Meinhardt L. W. and Bailey B. A., 2016. PCR-based identification of cacao black pod causal agents and identification of biological factors possibly contributing to *Phytophthora megakarya*'s field dominance in West Africa. *Plant Pathology* 65(7):1095-1108.

Ali S. S., Shao J., Lary D. J., Kronmiller B., Shen D., Strem M. D., Amoako-Attah I., Akrofi A. Y., Begoude B. A., Ten Hoopen G. M., Coulibaly K., Kebe B. I., Melnick R. L., Guiltinan M. J., Tyler B. M., Meinhardt L. W., and Bailey B. A., 2017. *Phytophthora megakarya* and *Phytophthora palmivora*, closely related causal agents of cacao black pod rot, underwent increases in genome sizes and gene numbers by different mechanisms. *Genome Biology Evolution* 9:536-557.

Andrivon D., Pilet F., Montarry J. and *al*., 2007. Adaptation of *Phytophthora infestans* to partial resistance in potato: evidence from French and Moroccan populations. *Phytopathology* 97, 338-43.

Appiah A. A., Flood J., Bridge P., and Archer S., 2003. Inter-and intraspecific morphometric variation and characterization of *Phytophthora* isolates from cocoa. *Plant Pathology* 52(2):168-180.

Appiah A. A., Opoku I. Y. and Akrofi A. Y., 2004. Natural occurrence and distribution of stem cankers caused by *Phytophthora megakarya* and *Phytophthora palmivora* on cocoa. *European Journal of Plant Pathology* 110(10):983-990.

Aragaki M. and Uchida J., 2001. Morphological distinctions between *Phytophthora capsici* and *P. tropicalis* sp. nov. *Mycologia* 93:137-145.

Argout X., Salse J., Aury J.-M., Guiltinan M. J., Droc G., Gouzy J., and al., 2011. The genome of Theobroma cacao. *Nature Genetics*, 43(2), 101-108.

Ashby S. F., 1929. Strains and taxonomy of *Phytophthora palmivora* Butler (P. Faberi Maubl.). *Transactions of the British Mycological Society,* 14(1-2), 18–38. doi:10.1016/S0007-1536(29) 80025-3.

Awudzi Godfred, 2017. Reassessment of the temporal distribution and damage of *Bathycoelia thalassina* (Herrich-Schaeffer) on cocoa in Ghana. ISCR 2017.

Babacauch K.D., 1980. Structure and dynamique des populations de *Phytophthora* sp. Parasite du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). *Thèse d'Etat*, Université de Paris-Sud, Orsay, 153p.

Babin R., 2009. Contribution à l'amélioration de la lutte contre le Miride du cacaoyer *Sahlbergella singularis* Hagl. (Hemiptera : Miridae). Influence des facteurs agro-écologiques sur la dynamique des populations du ravageur. *Thèse de Doctorat*, Université de Montpellier III – Paul Valéry, 202p.

Bailey B. A., Evans H. C., Phillips-Mora W., Ali S. S., and Meinhardt L. W., 2018. *Moniliophthora roreri*, causal agent of cacao frosty pod rot. *Molecular Plant Pathology*, 19:1580-1594.

Banque mondiale, 2008. Rapport sur le développement dans le monde : l'agriculture au service du développement. www.worldbank.org. ISBN : 978-0-8213-7299-9.

Beilhe B. L., Tounkam K. F., Niemenak N., 2017. Analyse de la relation degats dommage entre miride and cacaoyer. ISCR 2017, Lima, Peru.

Benassi V. L. R. M., Souza C. A. S., Valente F. I. and Lenzi J. C., 2013. Carmenta foraseminis (Lepidoptera: Sesiidae), nova broca de frutos de cacau no Brasil. *Revista de Agricultura*, V88 (1) : 70-75.

Berry D., and Cilas C., 1994. Etude génétique de la réaction à la pourriture brune des cabosses chez des cacaoyers (*Theobroma cacao* L) issus d'un plan de croisements diallèle. *Agronomie*, 14 599-609.

Bidzanga N., Fotsing B., Agoume V., Madong B., Awana N. O., Zapfack L., 2009. Mycotrophie and connaissances paysannes des essences fertilitaires dans les agroforets a base de cacaoyers du sud Cameroun. *Cameroon Journal of Experimental Biology,* http://dx.doi.org/10.4314/cajeb.v5i2.51944

Blair J. E., Coffey M. D., Park S. Y., Geiser D. M., and Kang, S. (2008). A multi-locus phylogeny for Phytophthora utilizing markers derived from complete genome sequences. *Fungal Genetics* and *Biology*, 45(3), 266-277.

Bourgoing R. et Todem H., 2010a. Association du cacaoyer avec le palmier ou le cocotier. Systèmes innovants en cacaoculture. Création d'une nouvelle parcelle sur jachère ou savane : guide technique Montpellier : CIRAD, 110 p.

Bourgoing R. et Todem H., 2010b. Association du cacaoyer avec les fruitiers. Systèmes innovants en cacaoculture. Création d'une nouvelle parcelle sur jachère ou savane : guide technique Montpellier : CIRAD, 82 p.

Bourgoing R. et Todem H., 2013. Régénération des vieilles cacaoyères par recépage-greffage and redensification des cacaoyers and fruitiers associés : systèmes innovants en cacaoculture. Une méthode développée dans les vieilles cacaoyères improductives au Cameroun. Guide technique Yaoundé : IRAD-CIRAD, 109 p.

Bowers J. H., Martin F. N., Tooley P. W. and Luz E. D. M. N., 2007. Genetic and morphological diversity of temperate and tropical isolates of Phytophthora capsici. *Phytopathology*, 97, 492–503.

Brasier C. and Griffin M., 1979. Taxonomy of '*Phytophthora palmivora*' on cocoa. *Transactions of the British Mycological Society* 72(1):111-143.

Brasier C., Griffin M. and Maddison A., 1981. The cocoa black pod *Phytophthoras*. In: Gregory PH and Maddison AC (Eds.) *Epidemiology of Phytophthora on cocoa in Nigeria. Final report of the International Cocoa Black Pod Research Project. Phytopathological Papers 25:18-30*. Kew: Commonwealth Mycological Institute.

Braudeau J., 1969. Le cacaoyer. Maisonneuve and Larose, Paris, 304p.

Brown J. S., Phillips-Mora W., Power E. J., Krol C., Cervantes-Martinez C., Motamayor J. C. and al., 2007. Mapping QTLs for resistance to frosty pod and black pod diseases and horticultural traits in Theobroma cacao L. *Crop Science*, 47(5), 1851-1858.

Bullock J. M., Shea K., and Skarpaas O., 2006. Measuring plant dispersal: an introduction to field methods and experimental design. *Plant Ecology*. 186:217–234.

Bymolt R., Laven A., Tyszler M., 2018. Demystifying the cocoa sector in Ghana and Côte d'Ivoire. Chapter 7, the importance of cocoa. The Royal Tropical Institute (KIT).

CABI, 2018. *Phytophthora megakarya* (black pod of cocoa). *Crop Protection Compendium Pest Datasheet*. Wallingford. CAB International. https://www.cabi.org/cpc/datasheet/40979.

Castaneda Y. V., Gutiérrez J. M., Ruiz S. B. M.and Hernandez-Baz F., 2015. Ocurrencia de los barrenadores Carmenta foraminis EICHLIN y Carmenta theobromae (BUSCK) (Lepidoptera: Sesiidae) en Theobroma cacao L., en el departamento de Antioquia-Colombia. *Boletın del Museo de Entomologıa de la Universidad del Valle* 16 (1) : 34-38.

Chee K. H., and Wastie R. L., 1970. Black pod disease of cocoa. *Planter*, Kuala Lumpur, 46, 294–297.

Cheesman E., 1944. Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cocoa populations. *Tropical Agriculture*, 21, 145–146.

Cilas C. and Despréaux D., 2004. EDS Improvement of cocoa tree resistance to *Phytophthora* diseases. *Cirad* 167p.

Cline E. T., Farr, D. F. and Rossman A. Y., 2008. A Synopsis of Phytophthora with Accurate Scientific Names, Host Range, and Geographic Distribution. *Plant management network*.

Cobigo M., Lachenaud P. and Barel M., 2018. Lettre du Conseil Scientifique du PNRG Novembre 2018 - n°2.

Cooke D., Drenth A., Duncan J., Wagels G. and Brasier C., 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. *Fungal Genetics and Biology* 30:17:32.

Cornejo O. E., Yee M.-C., Dominguez V. , Andrews M., Sockell A., Strandberg E., Livingstone III D., Stack C., Romero A., Umaharan Pathmanathan, Royaert S., Tawari N. R., Ng P., Gutierrez O., Phillips W., Mockaitis K., Bustamante C. D. & Motamayor J. C. 2018. Population genomic analyses of the chocolate tree, *Theobroma cacao* L., provide insights into its domestication process. *Communications Biology*, DOI: 10.1038/s42003-018-0168-6

Cornejo O. E., Yee M.-C., Dominguez V., Andrews M., Sockell A., Strandberg E., Livingstone III D., Stack C., Romero A., Umaharan P., Royaert S., Tawari N. R., Ng P., Gutierrez O., Phillips W., Mockaitis K., Bustamante C. D. and Motamayor J. C., 2018. *Theobroma cacao L*., provide insights into its domestication process. Communications Biology, doi: 10.1038/s42003-018-018-0168-6.

Croucher P. J. P., Mascheretti S. and Garbelotto M., 2012. Combining field epidemiological information and genetic data to comprehensively reconstruct the invasion history and the microevolution of the sudden oak death agent *Phytophthora ramorum* (Stramenopila: Oomycetes) in California *Biology Invasions*, 15:2281-2297.

Cuatrecasas J., 1964. Cocoa and its allies: A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Smithsonian Institution (*Washington*) 35: 379-614.

Dakwa J. T., 1987. A serious outbreak of black pod disease in a marginal area of Ghana. Proceedings of the *10th International Cacao Research Conference*, Santo Domingo, Dominican Republic, 17- 23rd May, 1987.

Dale M. R. 1999. Concepts of spatial pattern analysis in plant ecology, In Spatial Pattern Analysis in Plant Ecology, ed. M. Dale, pp. 1–30. *Cambridge. Univ. Press.* 326 p.

Davidson J. M., Patterson H. A., and Rizzo D. M., 2008. Sources of inoculum for *Phytophthora ramorum* in a redwood forest. *Phytopathology* 98:860-866.

Daymond A. J., Hadley P., 2008. Differential effects of temperature on fruit development and bean quality of contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 153, 175-185.

de Cock, A.W., Lodhi A. M., Rintoul T. L., Bala K., Robideau G. P., Gloria Abad Z., Coffey M. D., Shahzad S., Lévesque C. A., 2015. *Phytopythium*: molecular phylogeny and systematics. *Persoonia* 34, 2015: 25–39.

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

Delabie J. H. C., Jahyny B., do Nascimento I. C., Mariano C .S. F., Lacau S., Campiolo S., Philpott S. M., and Leponce M., 2007. Contribution of cocoa plantation of native ants (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) with a special emphasis on the Atlantic forest fauna of southern Bahia, Brazil. *Biodiversity and Conservation* 16:2359-2384.

Dick M. W., 1992. Patterns of phenology in population of zoosporic fungi, In the fungal community. Its organization and role in the ecosystem. Eds. Carroll G. C. and Wicklow D. T. New York: Marcell Dekker 355‑382 p.

Dixon J., Gulliver A., Gibbon D., 2001. Systèmes d'exploitation agricoles and pauvreté. Améliorer les moyens d'existence des agriculteurs dans un monde changeant. FAO, Rome, Italie 43p.

Djiekpor EK, Goka K, Lucas P and Partiot M. 1981. Cocoa black pod rot caused by *Phytophthora*. in Togo: assessment and control strategies. *Cafe Cacao Thé* 25(4):263-268.

Dobrowolski M. P., Tommerup I. C., Sheare B. L., O'Brien P. A., 2003. Three clonal lineages of *Phytophthora cinnamomi* in Australia revealed by microsatellites. *Phytpathology* 93: 695-704.

Dodd, S.L., Hill, R.A. and Stewart, A. 2004. Monitoring the survival and spread of the biocontrol fungus Trichoderma atroviride (C65) on kiwifruit using a molecular marker. *Australasian Plant Pathology* 33, 189-196.

Drenth A. and Guest D.I., 2004. Principles of *Phytophthora* Disease management. In: Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia. Drenth A. and Guest D. I. ACIAR Monograph 114.

Drenth A. and Sendall B., 2001. Practical guide to detection and identification of *Phythophthora*. CRC for *Tropical Plant Protection Brisbane* Australia 42p.

Drenth A., and Guest D., 2013. *Phytophthora palmivora* in tropical tree crops. In K. Lamour (Ed.), *Phytophthora:* A global perspective 187-196pp. Oxfordshire: CABI Publishing.

Duguma B., Gockowski J., Bakala J., 2001. Smallholder cacao (Theobroma cacaon Linn.) cultivation in agroforestry systems of west and central Africa: challenges and opportunities. Agroforestry Systems 51: 177-188p.

Efombagn M. I. B., Bieysse D., Nyassé S., Eskes A., 2011. Selection for resistance to *Phytophthora* pod rot of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Cameroon: Repeatability and reliability of screening tests and field observations. *Crop Protection,* 30 (2), 105-110.

EI-Hamalawi Z. A. and Menge J. A., 1996. The Role of Snails and Ants in Transmitting the Avocado Stem Canker Pathogen, *Phytophthora Citricola*. *Journal* of the *American Society* for *Horticultural Science* 121(5):973-977

Erwin D. C. and Ribeiro O. K., 1996. *Phytophthora* disease worldwide. APS Press, St Paul, Minnesota-USA. *American Phytopathological Society Press*.

Evans H. C., 1973. New developments in black pod epidemiology. *Cocoa Growers' Bulletin*, No. 20:10-16

Evans H. C., Bezerra J. L. and Barreto R. W., 2013. Of mushrooms and chocolate trees: Aetiology and phylogeny of witches' broom and frosty pod diseases of cacao. *Plant Pathology*, 62, 728‐740.

FAO, 2014. The state of food and agriculture 2014: Innovation in family farming. Rome: FAO.

Feil E. J., Li B. C., Aanensen D. M., Hanage W. P. and Spratt, B. G., 2004. eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *Journal of Bacteriology*, 186: 1518-1530.

Fischer R. A. and Yates F., 1963. Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research, 6th edition. Oliver Boyd, Edinburgh, 146p.

Flood J., Guest D., Holmes K. A., Keane P., Padi B. and Sulistyowati E., 2004. Cocoa under attack. In: Flood J and Murphy R (Eds.) *Cocoa Futures: a source book of some important issues facing the cocoa industry*. Chincina, Columbia, CABI-FEDERACAFÉ, USDA. 164p. ISBN 9589744117 37-53.

Fontem D. A., Olanya O. M., Tsopmbeng G. R., and Owona M. A. P., 2005. Pathogenicity and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates obtained from garden huckleberry, potato and tomato in Cameroon. *Crop Protection* 24: 449-456.

Förster H., Oudemans P., and Coffey M. D., 1990. Mitochondrial and nuclear DNA diversity within six species of *Phytophthora*. *Experimental Mycology*, 14, 18–31.

Fountain A. C. and Hütz-Adams F., 2015. Cocoa Barometer 2015-USA Edition. Available at http://www.cocoabarometer.org/International_files/Cocoa%20Barometer%202015%20USA.pdf.

Fountain A. C. and Hütz-Adams F., 2018. Cocoa Barometer 2018-USA Edition. Available at http://www.cocoabarometer.org/International_files/Cocoa%20Barometer%202018%20USA.pdf.

Franzen M. and Borgerhoff M., 2007. Ecological, Economic and Social Perspectives on Cocoa Production Worldwide. *Biodiversityation Conserv* 16 : 3835-3849.

Fry W., Goodwin S. B., 1997. Resurgence of the Irish potato famine fungus. *Bioscience* 47:363-71.

Gafsi M., 2007. Gestion de l'exploitation agricole familiale africaine. In Exploitations agricoles familiales en Afrique de l'Ouest and du Centre eds Gafsi and *al*. Quae, CTA, 475p.

Gidoin C., Babin R., Beilhe L. B., Cilas C., Hoopen G. M. T., and Bieng M. A. N. 2014b. Tree spatial structure, host composition and resource availability influence mirid density or black pod prevalence in cacao agroforests in Cameroon. *Plos One*, 9 (10) e109405 doi:10.1371.

Gladieux P., Zhang X.-G., Afoufa-Bastien D., Valdebenito-Sanhueza R.-M., Sbaghi M., Le Cam B., 2008. On the origin and spread of the scab disease of apple. *Plos One,* 1, e1455.

Gockowski J, Tchatat M, Dondjang J P, Hietet G, Fouda T. 2006. The value of biodiversity in the beti cocoa agroforests of southern Cameroon. Paper presented at the *International Society of Tropical Foresters Conference on Conservation and The Agricultural Frontier*, Yale University, School of Forestry and Environmental Science, New Haven, CT., April 7, 2006.

Gockowski J. and Dury S., 1999. The economics of cocoa fruit agroforests in southern Cameroon. In: Jimenez, F., Beer, J. (Eds.), Multi strata Agroforestry Systems with Perennial Crops. CATIE, Turrialba, Costa Rica, pp. 239-241.

Gockowski J. and Sonwa D., 2008. Biodiversity and smallholder cocoa production systems in West Africa STCP Working Paper Series 6 (Version January 2008). International Institute of *Tropical Agriculture*, Accra, Ghana.

Gockowski J. and Sonwa D., 2010. Cocoa Intensification Scenarios and Their Predicted Impact on CO2 Emissions, Biodiversity Conservation, and Rural Livelihoods in the Guinea Rain Forest of West Africa. *Environmental Management.* DOI 10.1007/s00267-010-9602-3.

Gockowski J., Tchatat M., Dondjang J.P., Hietet G. and Fouda T., 2010. An Empirical Analysis of the Biodiversity and Economic Returns to Cocoa Agroforests in Southern Cameroon', Journal of Sustainable Forestry, 29: 6, 638-6702010.

Gockowski J., Weise S., Sonwa D., Tchtat M. and Ngobo M., 2004. Conservation because it pays: shaded cocoa agroforests in West Africa. In: « Theobroma Cacao: Ancient Crop, Medicinal Plant, Surprising Future Symposium », Feb. 10, 2004. National Academies, Washington, DC. 29 p.

Gonzalez-Tobon J., Childers R. A., Regnier M., Rodriguez A., Olave C., Fry W. E., Restrepo S. and Danies G., 2019. Is the phenomenon of mefenoxam-acquired resistance in *Phytophthora infestans* universal? Plant Disease https://doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1906-RE.

Goodwin S. B., Cohen B. A., Fry W. E., 1994. Panglobal distribution of a single clonal lineage of the Irish potato famine fungus.*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,*91, 11591-11595.

Goodwin, S. B., 1997. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology*, 87, 462–473.

Gregory P. H., 1974. *Phytophthora* disease of cocoa. *Longman Group Limited*, London, 348p.

Gregory P. H., and Maddison A., 1981. Epidemiology of *Phytophthora* on cocoa in Nigeria. *Phytopathological Paper*, 25, 23–26.

Gregory P. H., Griffin M. J., Maddison A. C. and Ward M. R., 1984. Cocoa black pod: a reinterpretation. Cocoa Growers' Bulletin, No. 35:5-22.

Griffin M. J., Idowu O. L., Maddison A. C., Taylor B., and Ward M. R. 1981. Source of infection. In P. H. Gregory & A. C. Maddison (Eds.), Epidemiology of *Phytophthora* on cocoa in Nigeria, *Phytopathology paper* No. 25 (pp. 75–95). Kew, Survey: Commonwealth Mycological Institute.

Griffin M.J., 1977. Cocoa *Phytophthora* Workshop. Rothamsted Exp. Stn. England: PANS. p. 107-110.

Guest D., 2007. Black pod: Diverse pathogens with a global impact on cocoa yield. *Phytopathology* 97:1650-1653.

Hebbar P. K., 2007. Cacao diseases: A global perspective from an industry point of view. *Phytopathology* 97:1658-1663.

Hidalgo E., Bateman R., Krauss U., ten Hoopen G.M., and Martinez A., 2003. A field investigation into delivery systems for agents to control *Moniliophthora roreri*. *European Journal of Plant Pathology*, 109,953-961.

Holmes K. A., Evans H. C., Wayne S. and Smith J., 2003. Irvingia, a forest host of the cocoa black-pod pathogen, *Phytophthora megakarya*, in Cameroon. *Plant Pathology* 52:486-490.

Hüberli, 2013. Fishing for *Phytophthora* from Western Australia's waterways: a distribution and diversity survey. *Plant Pathology* 42(3) pp.251-260.

Humeau L., Roumagnac P., Picard Y., Robène-Soustrade I., Chiroleu F., Gagnevin L. and Pruvost O., 2006. Quantitative and molecular epidemiology of bacterial blight of onion in seed production fields. *Phytopathology* 96:1345-1354.

Husson C., Thoirain B., Ioos R., Frey P., Marçais B., 2006. L'eau, vecteur d'agents pathogènes: cas du *Phytophthora* de l'Aulne. *Review. Forestery. Fr*. LVIII 351-360.

ICCO, 2010. Annual report 2009-2010. International Cocoa Organization. http://www.icco.org.

ICCO, 2017. Quarterly bulletin of cocoa statistics, Vol. XLIII, No. 3, cocoa year 2016/17.

ICCO, 2019.Quartely Bulletin of Cocoa Statistics Vol XLV, No 1 Cocoa year 2018-2019.

IMF, 2015. Consultation with Cameroon, Press Release No. 15/534, November 2015, URL: http://www.imf.org/external/np/sec/pr/2015/pr15534.htm.

IMF, 2016b. Second review under the extended credit facility arrangement and request for waiver for non observance of performance criterion. Press release, staff report and statement by the executive director for Ghana. IMF country report No. 16/16, URL https://www.imf.org/external/pubs/ft/scr/2016/cr1616.pdf.

INS (Institut National de la statistique), 2008. Tendances, profil and déterminants de la pauvreté au Cameroun entre 2001-2007. Cameroun, 108p.

Ippolito A., Schena L., Nigro F., Ligorio V. S. and Yaseen T., 2004. Real-time detection of *Phytophthora nicotianae* and *P. citrophthora* in citrus roots and soil. *European Journal of Plant Pathology* 110: 833–843.

Irizarry H. and Rivera E., 1998. Early yield of five cacao families at three locations in Puerto Rico. *Journal of agriculture of the University of Puerto Rico,* 82(3-4), 163–171.

Ivors K., Garbelotto M., Vries I. D. E., Ruyter-Spira C., Hekkert B. T., Rosenzweig N., Bonants P., 2006. Microsatellite markers identify three lineages of *Phytophthora ramorum* in US nurseries, yet single lineages in US forest and European nursery populations. *Molecular Ecology,* 15, 1493-1505.

Jagoret P., 2011. Analyse and évaluation de systèmes agroforestiers complexes sur le long terme : Application aux systèmes de culture à base de cacaoyer au Centre Cameroun. *Thèse de Doctorat*, Montpellier SupAgro, 288p.

Jagoret P., Bouambi E., Menimo T., Domkam I. and Batomen F., 2008. Analyse de la diversité des systèmes de pratiques en cacaoculture : cas du Centre Cameroun. *Biotechnology Agronomic Society Environment*, 12(4), 367-377.

Jagoret P., Michel-Dounias I., Snoeck D., Todem Ngnogué H., Malezieux E., 2012. Afforestation of savannah with cocoa agroforestry systems: a small-farmer innovation in central Cameroon. *Agroforestery System* 86:493-50.

Jamin J.-Y., Havard M., M'Betid-Bessane E., Vall E. and Fall A., 2007. Dynamique and evolution des exploitations agricoles. In Exploitations agricoles familiales en Afrique de L'Ouest and du Centre eds Gafsi and al. Quae, CTA, 475p.

Johnson E. S., Rutherford M. A., Edgington S., Flood J., Crozier J., Cafá G., Buddie A. G., Offord L., Elliott S. M. and Christie K. V., 2017. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot on *Theobroma cacao* in Jamaica. *New Disease Reports* 36, 2.

Kaosiri T. and Zentmyer G. A., 1980. Protein, esterase and peroxidase patterns in the *Phytophthora palmivora* complex from cacao. *Mycologia* 72:988-1000

Keane P. J., 1974. Vascular-streak dieback (Oncobasidium theobromae) of cocoa. In P. H. Gregory (Ed.), Phytophthora diseases of cocoa (pp. 283‑286). London: Longman.

Kellam M. K. and Zentmyer G. A., 1981. Isolation of *Phytophthora citrophthora* from cocoa in Brazil. *Phytopathology* 71: 230.

Kellam M. K. and Zentmyer G. A., 1986. Morphological, physiological, ecological and pathological comparisons of *Phytophthora* species isolated from Theobroma cacao. *Phytopathology*, 76, 159–164.

Konam J .K. and Guest D. I., 2004. Role of flying beetles (Coleoptera Scolytidae and Nitidulae) in the spread of *Phytophthora* pod rot of cocoa in Papua New Guinea. *Australasian Journal Plant Pathology* 31, 382-383.

Konam J. K. and Guest D. I., 2002. Leaf litter mulch reduces the survival *of Phytophthora palmivora* under cocoa trees in Papua New Guinea. *Australasian Journal of Plant Pathology* 31, 381-383.

Koné Y. R., 1999. Étude de la structure actuelle des populations de *Phytophthora* spp., agents de la pourriture brune des cabosses du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. Mémoire de Diplôme d'Agronomie Approfondie, Option Défense des cultures, École Supérieure d'Agronomie, Yamoussoukro. 111 p.

Krauss U., Hidalgo E., Bateman R., Adonijah V., Arroyo C., Garcia J., Crozier J., Brown N.A., Ten Hoopen G.M., and Holmes K.A., 2010. Improving the formulation and timing of application of endophytic biocontrol and chemical agents against frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in cocoa (*Theobroma cacao*). *Biological Control* doi: 10.1016/j.biocontrol.2010.05.011.

Kroon L., Bakker F., van den Bosch G., Bonants P., and Flier W., 2004. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Fungal Genetics and Biology* 41(8):766-782

Kroon L., Brouwer H., de Cock A. and Govers F., 2012. The genus *Phytophthora* anno 2012. *Phytopathology* 102:348-364.

Lamour K. H., & Hausbeck M. K., 2001. Investigating the spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan. *Phytopathology*, 91, 973-980.

Lamour K. H., Stam R., Jupe J. and Huitema E., 2012. The Oomycete broad-host-range pathogen *Phytophthora capsici. Molecular Plant Pathology,* 13(4), 329-337.

Lanaud C., Fouet O., Clément D., Boccara M., Risterucci A., Surujdeo-Maharaj S., Legavre T., and Argout X., 2009. A meta-QTL analysis of disease resistance traits of Theobroma cacao L. Molecular Breeding, 24(4), 361-374.

Laplante M., 2014. L'agriculture familiale. *Les éditions des journaux officiels*. NOR: CESL1100026X.

Larkin R. P., Gumpertz M. L., Ristaino J. B., 1995. Geostatistical analysis of *Phytophthora* epidemic development in commercial bell pepper fields. *Phytopathology* 85:191–203.

Lass T., 2004. Balancing cocoa production and consumption, In Cocoa Futures: A source book of some important issues confronting the cocoa industry. Eds. Flood J. and Murphy R. *The Commodities Press*, CABI, 164p.

Lawrence J. S., Luz E. D. M. N., and Resnik F. C. Z., 1982. The relative virulence of *Phytophthora palmivora* and *P. capsici* on cacao in Bahia, Brazil. In: Proceedings of the 8th International *Cocoa Research Conference*, 1981, Cartagena, Colombia. Lagos, Nigeria: Cocoa Producers' Alliance, pp. 395-400.

Liyanage N. I. S., and Wheeler B. E. J., 1989. *Phytophthora katsurae* from cocoa. *Plant Pathology*, 38, 627-629.

Lozano T. Z. E., and Romero C. S. 1984. Estudio taxanomico de aislamientos de Phytophthora patogenos de cacao. Agrociencia, 56, 176-182.

Lübeck M., and Funck J. D., 2002. Monitoring of biocontrol agents based on Trichoderma strains following their application to glasshouse crops by combining dilution plating with UP-PCR fingerprinting. *Biocontrol Science and Technology* 12, 371-380.

Machado M., Pena-Marey M., Alvarez A., Diaz A., Zamora V. and Coto O., 2013. Intraspecific variability of *Phytophthora palmivora* Butler strains isolated from avocado (*Persea americana* Mill.) orchards on Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, Vol 28:3 178-184.

Madden L. V., 1998. Rain-splash and spore dispersal: a physical perspective. In *The Epidemiology of Plant Diseases*, ed. DG Jones, pp. 348–70. London: Kluwer. 460P.

Maddison A. C., and Griffin M. J., 1981. Detection and movement of inoculum, In Epidemiology of *Phytophthora* on cocoa in Nigeria Gregory, P. H. & Maddison A. C. (Eds.), *Phytopathological. Paper*. No. 25. Kew: Commonwealth Mycological Institute, pp. 31-49.

Mahob R. J., Diboc L., Ten Hoopen G. M., Nyassé S., Ndoumbè-Nkeng M., Bilong Bilong M. C. F., Babin R., Mbenoun M., Amang J., Mbang A., Badjeck P. I., Yede and Rutherford M., 2014. Pesticides use in cocoa sector in Cameroon: characterization of supply source, nature of actives ingredients fashion and reasons for their utilization. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(5): 1976-1989.

Mahob, R. J., Baleba, L., Yede, Dibog, L., Cilas, C., Bilong Bilong, C. F., and Babin, R. 2015. Spatial distribution of *Sahlbergella singularis* hagl. (Hemiptera: miridae) populations and their

damage in unshaded young cacao-based agroforestry systems. *International Journal of Plant and Environment Science*. 5:121-131 ISSN 2231-4490.

Mariette N., Mabon R., Corbiere R., Boulard F., Glais I., Marquer B., Pasco C., Montarry J. and Andrivon D., 2016. Phenotypic and genotypic changes in French populations of *Phytophthora infestans*: are invasive clones the most aggressive? *Plant Pathology*, 65, 577–586.

Martin F. N. and Tooley P. W., 2004. Identification of *Phytophthora* isolates to species level using restriction fragment length polymorphism analysis of a polymerase chain reaction-amplified region of mitochondrial DNA. *Phytopathology* 94(9):983-991

Martin F. N., Abad Z. G., Balci Y., and Ivors K., 2012. Identification and detection of Phytophthora: Reviewing our progress, identifying our needs. *Plant Disease,* 96(8), 1080-1102.

Mbarga J. B., Begoude B. A. D., Ambang Z., Meboma M., Kuate J., Schiffers B., Ewbank W., Dedieu L. and ten Hoopen G. M., 2014. A new oil-based formulation of *Trichoderma asperellum* for the biological control of cacao black pod disease caused by *Phytophthora megakarya*. *Biological control* 77 15-22.

Mbenoun M., Momo Zeutsa E. H., Samuels G., Nsouga Amougou F. and Nyasse S., 2008. Dieback due to *Lasiodiplodia theobromae*, a new constraint to cocoa production in Cameroon. *Plant Pathology* 57, 381

Mbondji P., 2010. Le cacaoyer au Cameroun. Presse de l'Université Catholique d'Afrique Centrale, 254p.

McKelvie A. D., 1956. Cherelle wilt of cacao, pod development and its relation to wilt. *Journal of Experimental Botany*, 7, 252–263.

McMahon P. and Purwantara A., 2004. 6.1 Phytophthora on cocoa. Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia: 104–114.

McMahon P. and Purwantara A., 2016. Vascular Streak Dieback (Ceratobasidium theobromae): History and Biology, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 307-336. *Springer* 630p.

Medeiros A. G., 1967. Caracterizacao de area 'Foco' da 'podridao parda'. *Infome Technico* CEPEC, 38-39.

Mfegue C. V., Herail C., Adreit H., Mbenoun M., Techou Z., ten Hoopen M., Tharreau D., and Ducamp M., 2012. Microsatellite markers for population studies of *Phytophthora megakarya* (Pythiaceae), a cacao pathogen in Africa. *American Journal of Botany*, 99, e353-e356.

Mfegue V., 2012. Origine and mécanismes de dispersion des populations de *Phytophthora megakarya*, pathogène du cacaoyer au Cameroun. Thèse de doctorat. *Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques* Montpellier-SupAgro, 186p.

Milgroom M. G. and Fry W. E., 1997. Contributions of population genetics to plant disease epidemiology and management. *Advances in Botanical Research*. 24:1–30.

Milgroom M. G., 2001. The synthesis of genetics and epidemiology: Contributions of population biology in plant pathology. *Journal of Plant Pathology.* 83:57-62.

MINEPAT, 2016. Stratégie de développement du secteur rural. Cameroun, 160p.

Montarry J., Andrivon D., Glais I., Corbiere R., Mialdea G., and Delmotte F., 2010. Microsatellite markers reveal two admixed genetic groups and an ongoing displacement within the French population of the invasive plant pathogen *Phytophthora infestans*. *Molecular Ecology*, 19: 1965-1977.

Monteith L. J. and Butler D. R., 1979. Dew and Thermal lag: a model for cocoa pods. *Quartely Journal of. Meteological. Society.* 105:207-215.

Mossu G., 1990. Le cacaoyer. Maisonneuve and Larose, Paris, 160p.

Mossu G., 1992. Cocoa. The MacMillan Press Ltd, 103 pp.

Motamayor J. C., Lachenaud P., da Silva e Mota J. W., Loor R., Kuhn D. N., Brown J. S., et al., 2008. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L). PLoS One, 3, e3311. doi:10.1371/journal.pone.0003311.

Motamayor J. C., Risterucci A. M., Lopez P. A., Ortiz C. F., Moreno A. and Lanaud C., 2002. Cacao domestication the origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity,* 89, 380-386.

Mpika J., Kébé I. B., Issali A. E., N'Guessan F. K., Druzhinina S., Komon-Zélazowska M., Kubicek C. P. and Aké S., 2009. Antagonist potential of *Trichoderma* indigenous isolates for biological control of *Phytophthora palmivora* the causative agent of black pod disease on cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Côte d'Ivoire. *African Journal of Biotechnology* 8(20):5280-5293

Muller E., 2016. Cacao Swollen Shoot Virus (CSSV): history, biology, and genome, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 337-358. *Springer* 630pp.

N'Guessan P., Gouamené C. N., N'Guessan K. F., Aka A. R., Tahi G. M., Coulibaly K., Kassin K. E., Assi M. E., Guiraud S. B., Kébé B. I., 2017. La chenille *Achaea catocaloides* Guenee (Lepidoptera ; Erebidae), une nouvelle menace pour la cacaoculture en Côte d'Ivoire. ISCR 2017, Lima, Peru.

Nagel J. H., Gryzenhout M., Slippers B. and Wingfield M. J., 2013. *Phytophthora*: a global perspective. In: Lamour K (Ed.) *The occurrence and impact of Phytophthora on the African continent*. Wallingford: CAB International. ISBN 9781780640938. pp. 204-214.

Nations unies, 2018. World urbanization prospects. The 2018 revision, 126p..

Ndoumbè-Nkeng M., 2002. Incidence des facteurs agro-écologiques sur l'épidémiologie de la pourriture brune des fruits du cacaoyer au Cameroun : contribution à la mise en place d'un modèle d'avertissements agricoles. Thèse de Doctorat. *Institut National Agronomique Paris-Grignon.*

Ndoumbè-Nkeng M., Cilas C., Nyemb E., Nyassé S., Flori A., and Sache I., 2004. Impact of removing disease pods on cocoa black pod caused by *Phytophthora megakarya* and on cocoa production in Cameroon. *Crop Protection* 23(5), 415-424.

Ndoumbè-Nkeng M., Efombagn M. I. B., Nyasse S., Nyemb E., Sache I. and Cilas C., 2009. Relationships between cocoa *Phytophthora* pod rot disease and climatic variables in Cameroon. *Plant Pathology* 31: 309-320.

Ndoumbè-Nkeng M., Efombagn M.I.B., Bidzanga N.L., Sache I. and Cilas C., 2017. Spatio-temporal dynamics on a plot scale of cocoa black pod rot caused by *Phytophthora megakarya* in Cameroon. *European Journal of Plant Pathology*, 147:579-590.

Ndoungue M., Petchayo S., Techou Z., Nana W. G., Nembot C., Fontem D., ten Hoopen, G. M., 2018. The impact of soil treatments on black pod rot (caused by *Phytophthora megakarya*) of cacao in Cameroon. *Biological Control* 123, 9-17. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.016.

Neher D. and Duniway J.M., 1992. Dispersion of *Phytophthora parasitica* in tomato fields by furrow irrigation. *Plant Disease*. 76: 582-586.

Nembot C., Takam Soh P., ten Hoopen G. M. and Dumont Y., 2018. Modeling the temporal evolution of cocoa black pod disease caused by *Phytophthora megakarya*. *Mathematical Methods in the Applied Sciences.* DOI: 10.1002/mma.5206.

Ngo Bieng M. A., Gidoin C., Avelino J., Cilas C., Deheuvels O., and Wery J., 2013. Diversity and spatial clustering of shade trees affect cacao yield and pathogen pressure in Costa Rican agroforests, *Basic Applied. Ecology* 14(4):329-336.

N'Guessan P., Gouamené C. N., N'Guessan K. F., Aka A. R., Tahi G. M., Coulibaly K., Kassin K. E., Assi M. E., Guiraud S. B. and Kébé B. I., 2017. La chenille Achaea catocaloides guenee (Lepidoptera ; Erebidae), une nouvelle menace pour la cacaoculture en Côte d'ivoire.

Nguyem Ban J., 1996. Lutte contre les maladies and ravageurs du cacaoyer. *Plantations Recherches Développement* 3(3): 193-197.

Ngwohgi M. F., 2015. Rôle des fourmis arboricoles dans la dissémination de *Phytophthora megakarya* Brasier and Griffin, agent causal de la pourriture brune du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) au Cameroun. *Mémoire de Master, Université de Yaoundé I*, 71p.

Nkamleu G. B., Nyemeck J. and Gockowski J., 2010. Technology Gap and Efficiency in Cocoa Production in West and Central Africa: Implications for Cocoa Sector Development. *Working Papers Serie*s N° 104, African Development Bank, Tunis, Tunisia.

Norgrove L., 2007. Effects of different copper fongicide application rates upon eartworm activity and impacts on cocoa yield over four years. *European Journal of Soil Biology*, 43 (2007) S303-S310.

Nyasse S., Grivet L., Risterucci A. M., Blaha G., Berry D. and Lanaud C., 1999. Diversity of *Phytophthora megakarya* in Central and West Africa revealed by isozyme and RAPD markers. *Mycological Research* 103:1225- 1234.

Opoku I. Y., Akrofi A. Y., and Appiah A. A., 2002. Shade trees are alternative hosts of the cocoa pathogen *Phytophthora megakarya*. *Crop Protection* 21:629-634.

Opoku I. Y., Appiah A. A., Akrofi A. Y. and Owusu G. K., 2000. *Phytophthora megakary,* a potential threat to the cocoa industry in Ghana. *Ghana Journal of Agricultural Science* 33:237-248.

Orlikowski L. B., Ptaszek M., Trzewik A. and Orlikowska T., 2009. Water as the source of *Phytophthora* spp. pathogens for horticultural plants scientific works of the lithuanian institute of horticulture and lithuanian university of agriculture. 28(3).

Oro Z. F., Bonnot F., Ngo-Bieng M. A., Delaitre E., Dufour P. B., Ametefe E. K., Mississo E., Wegbe K., Muller E., and Cilas C., 2012. Spatiotemporal pattern analysis of cacao swollen shoot virus in experimental plots in Togo. *Plant Pathol.* 61:1043–1051.

Oudemans P. and Coffey M. D., 1991. Isozyme comparison within and among worldwide sources of three morphologically distinct species of *Phytophthora*. *Mycological Research* 95 (1):19-30.

Panabieres F., Marais A., Trentin F., Bonnet P. and Ricci P., 1989. Repetitive DNA polymorphism analysis as a tool for identifying *Phytophthora* species. *Phytopathology* 79 (10):1105-1109.

Partiot M., 1976. La résistance horizontale du cacaoyer au *Phytophthora* spp. : Contribution à l'étude de son évaluation, son amélioration and de son utilisation. *Thèse de Doctorat de 3ème cycle*, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, 89p.

Partiot M., Amefia Y. K., Djiekpor E. K. and Bakar K. A., 1978. Le "Swollen shoot du cacaoyer au Togo, Inventaire préliminaire and première estimation des pertes causées par la maladie. Café, Cacao, Thé, Vol.XXII, n° 3, juil-sept 1978 : 217-228.

Paulin D., Ducamp M. and Lachenaud P., 2008. New sources of resistance to *Phytophthora megakarya* identified in wild cocoa tree populations of French Guiana. *Crop Protection* 27:1143-7.

Pereira J. L., Almeida L. C. C. and Santos S. M., 1996. Witches' broom disease of cocoa in Bahia: Attempts at eradication and containment. *Crop Protection*, 15, 743‑752.

Phillips-Mora W., Aime M. C., and Wilkinson M. J., 2007. Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America. *Plant Pathology*, 56, 911‑922.

Ploetz R., 2016. The impact of diseases on cacao production: a global overview, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 33-59. *Springer* 630p.

Puig A. S., Ali S., Strem M., Sicher R., Gutierrez O. A. and Bailey B. A., 2018. The differential influence of temperature on *Phytophthora megakarya* and *Phytophthora palmivora* pod lesion expansion, mycelia growth, gene expression, and metabolite profiles. *Physiology Molecular. Plant Pathology* 102:95-112.

Purwantara A., Iswanto A., Sukamto S., McMahon P. J., bin Purung H., Lambert S., Guest, D. I. and Keane P. J., 2009. New symptoms of Vascular-streak dieback of cocoa in South-east: Possible causes, studies required and control. In *Proceedings of the 16th International Cocoa Research Conference*, Bali, Indonesia, 16–21 November 2009. Cocoa Producers Alliance.

Ravelomanantsoa S. H., 2016. Biologie des populations du complexe d'espèces *Ralstonia solanacearum* appliquée à l'épidémiologie du flétrissement bactérien de la pomme de terre à Madagascar. *Thèse de Doctorat*, en cotutelle avec Université de la Réunion and Université d'Antananarivo, 238p.

Rieux A., Soubeyrand S., Bonnot F., Klein E. K., Ngando J. E., Mehl A., Ravigné V., Carlier J. and Lapeyre de Bellaire L., 2014. Long-distance wind-dispersal of spores in a fungal plant pathogen: Estimation of anisotropic dispersal kernels from an extensive field experiment. *Plos One* 9: e103225.

Ristaino J. B. and Gumpertz M. L., 2000. New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. *Annual Review Phytopathology*, 38:541-576.

Rizali A., Tscharntke T., Buchori D. and Clough Y., 2018. Separating effects of species identity and species richness on predation, pathogen dissemination and resistance to invasive species in tropical ant communities. *Agricultural and Forest Entomology* **20:** 122-130.

Rollins L., Coats K., Elliot M. and Chastagner G., 2016. Comparison of five detection and quantification methods for *Phytophthora ramorum* in stream and irrigation water. *Plant Disease*, http.//dx.doi.org/10.1094.

Samuels G. J. and Hebbar P., 2005. *Trichoderma*: its potential for control of diseases of cacao. *Proceedings, 14th international cocoa research conference. Cocoa Producer's alliance*. Vol II, 2005.

Sansome E., Brasier C. M. and Griffin M. J., 1975. Chromosome size differences in *Phytophthora palmivora,* a pathogen of cocoa. *Nature* 255:704-705

Sansome E., Brasier C., and Sansome F. W., 1979. Further cytological studies on the L-type and S-type of *Phytophthora* from cocoa. *Transactions of British Mycological Society* 73:293-302

Sonwa D. J., Coulibaly O., Adesina A. A., and Janssens M. J. J., 2008. Management of cocoa: Constraints during acquisition and application of pesticides in the humid forest zones of southern Cameroon. *Crop Protection* 27:1159-1164.

Sonwa D. J., Coulibaly O., Adesina A. A., Weise S. F. and Tchatat M., 2002. Integrated pest management in cocoa agroforest in southern Cameroon: constraints and overview. *Integrated pest management review*.7:191-199.

Sonwa D. J., Weise S., Adesina A., Nkongmeneck A. B., Tchatat M., Ndoye O., 2005. Production constraints on cocoa agroforestry systems in West and Central Africa: The need for integrated pest management and multi-institutional approaches. *The forestry chronicle* vol. 81, no. 3.

Sreenivasan, T. N. (1975). A new *Phytophthora* Annual Report, Cocoa Research Unit. St. Augustine, Trinidad. 20p.

Stamps D. J., 1985. *Phytophthora megakarya*. *IMI Descriptions of Fungi and Bacteria*, No.84, Sheet 832. Wallingford: CAB International.

Stamps D. J., Waterhouse G. M., Newhook F. J., Hall G. S., 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Mycological Papers*. Wallingford, UK: CAB International.

Suffert F., 2016. Processus and mécanismes centrés sur l'inoculum : une approche fonctionnelle and expérimentale de l'épidémiologie végétale. *Thèse d'Habilitation à Diriger des Recherches,* Université Paris-Sud.

Surujdeo-Maharaj S., Sreenivasan T. N., Motilal L. A., and Umaharan P., 2016. Black pod and other *Phytophthora* induced diseases of cacao: history, biology, and control, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 213-266. *Springer* 630p.

Takam S. P., Ndoumbè-Nkeng M., Sache I., Ndong N.E.P., Gwet H., Chadœuf J., 2013. Development stage-dependent susceptibility of cocoa fruit to pod rot caused by *Phytophthora megakarya*. *Eur J Plant Pathol* (2013) 135:363-370.

Tano M. A., 2012. Crise cacaoyère and stratégies des producteurs de la sous-préfécture de Meadji au sud-ouest ivoirien. *Thèse de doctorat*, Université Toulouse le Mirail-Toulouse II. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00713662/document.

Taylor B.and Griffin M. J., 1981. The role and relative importance of different ant species in the dissemination of black pod disease of cocoa, In Epidemiology of *Phytophthora* on cocoa in Nigeria. Eds Gregory PH, Maddison AC. *Phytopathological paper* number 25. Commonwealth Mycological Institute, Kew, London, 114-131.

Temple L., Minkoua N. J.-R. and David O., 2007. Diversité des systèmes de cultures dans les exploitations cacaoyères au Cameroun and demande en innovation technique. In Exploitations agricoles familiales en Afrique de L'Ouest and du Centre. Eds Gafsi and al. *Quae*, *CTA*, 475p.

Ten Hoopen G. M. and Krauss U., 2016. Biological Control of Cacao Diseases, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., 511-566. *Springer* 630pp.

Ten Hoopen G. M. and Phillips-Mora W., 2017. Frosty pod rot in Jamaica. Available at http://incocoa.org/data/INCOPED_FPR_Jamaica.pdf.

Ten Hoopen G. M., Deberdt P., Mbenoun M. and Cilas C., 2012. Modelling cacao pod growth: implications for disease control. *Annals of Applied Biology* 160, 260-272.

Ten Hoopen G. M., Sounigo O., Babin R., Yédé, Dikwe G. and Cilas C., 2010. Spatial and temporal analysis of a *Phytophthora megakarya* epidemic in a plantation in the Centre of Cameroon. *16th International Cocoa Research Conference*, 2009-11-16/2009-11-21, Bali, Indonésie.

Themann K., Werres S., Luttmann R. and Diener H. A., 2002. Observations of *Phytophthora* sp. in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stocks. *European Journal of Plant Patholology*, 108: 337-343.

Tjosvold S. A., Chambers D. L., Davidson J. M. and Rizzo D. M., 2002. Incidence of *Phytophthora ramorum* inoculum found in soil collected from a hiking trail and hikers' shoes in a California Park. In Proceedings of Sudden Oak Death, a Science Symposium, USDA Forest Service and University of California, Berkeley 53p.

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

Turner P. D., 1961. Strains of *Phytophthora palmivora* Butl. (Butl.) from *Theobroma cacao* L. Isolates from non-African countries. Transactions of the British Mycological Society, 44, 409‑416.

Tyler B. M., Tripathy S., and al. 2006. *Phytophthora* genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis. *Science* 313, 1261-1266.

UE (Union Européenne), 2017. Règlement (UE) 2017/1164 de la commission du 22 juin 2017 modifiant les annexes II and III du règlement (CE) no 396/2005 du Parlement européen and du Conseil en ce qui concerne les limites maximales applicables aux résidus d'acrinathrine, de métalaxyl and de thiabendazole présents dans ou sur certains produits. *Journal officiel de l'Union européenne*, L 170/3.

United Nations, 2018. Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 2019. World Urbanization Prospects: The 2018 Revision.

Vernon A. J., 1971. Canker: the forgotten disease of cocoa. Cocoa Growers' Bulletin, 16, 9–14.

Vos J. G. M., Ritchie B. J., and Flood J., 2003. *Discovery learning about cocoa: an inspirational guide for training facilitators*. Wallingford: CAB International. 122 pp.

Ward M. R., and Griffin M. J., 1981. Soil phase of cocoa *Phytophthora*, In: Epidemiology of cocoa in Nigeria. Gregory, P. H. (ed.) Commonwealth *Mycological. Institute.* Pap., 25 : 50-61.

Waterhouse G. M., 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycological Papers, no. 92. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Waterhouse G. M., 1970. Taxonomy in *Phytophthora*. *Phytopathology* 60:1141-1143.

Wharton A. L., 1957. Black pod disease resistance and tolerance. In *Cocoa Breeding Conference*, Tafo, Ghana, 7-9 pp.

Wharton A. L., 1974. Cushion infection. In *Phytophthora* disease of cocoa, Eds, P. H. Gregory London, Longman 141-148pp.

Wood G. A. R. and Lass R. A., 1985. History and development Cocoa. 4th ed. Oxford, Blackwell Science.

Xhaard C., Barres B., Andrieux A., Bousset L., Halkett F. and Frey P., 2012. Disentangling the genetic origins of a plant pathogen during disease spread using an original molecular epidemiology approach. *Molecular Ecology* 21: 2383-2398.

Zarrillo S., Gaikwad N., Lanaud C., Powis T., Viot C., Lesur I., Fouet O., Argout X., Guichoux E., Salin F., Solorzano R. L., Bouchez O., Vignes H., Severts P., Hurtado J., Yepez A., Grivetti L., Blake M. and Valdez F., 2018. The use and domestication of *Theobroma cacao* during the mid-Holocene in the upper Amazon. *Nature, Ecology and Evolution*. https://doi.org/10.1038/s41559-018-0697-x.

Zentmyer G. A., 1987. Taxonomic relationships and distribution of species of *Phytophthora* causing black pod of cocoa. *Proceedings of the Tenth International Cocoa Research* Conference, Santo Domingo, Dominican Republic, 17-23 May 1987. London, UK: Cocoa Producers' Alliance, 391-395.

Zentmyer, G. A., Kaosiri, T., and Idosu, G. 1977. Taxonomic variants in the *Phytophthora palmivora* complex. Transactions of the British Mycological Society, 69, 329-332.

Zhang D. and Motilal L., 2016. Origin, dispersal, and current global distribution of cacao genetic diversity, In Cacao diseases: a history of old enemies and new encounters. Eds. Bailey B.A. &. Meinhardt L.W., pp. 3-32. *Springer* 630pp.

ANNEXES

Annexe 1: liste des souches de *P. megakarya* collectées dans cette étude

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0001	2009	Ngat	NGF	Cabosse	42	16
ZTH0002	2009	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH0003	2009	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0004	2009	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0005	2009	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0007	2010	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	16
ZTH0009	2010	Bakoa	BAC	Cabosse	B19	16
ZTH0014	2010	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	16
ZTH0015	2010	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	16
ZTH0020	2010	Kédia	KPV	Cabosse	TV	16
ZTH0027	2010	Ngat	NPV	Cabosse	TV	15
ZTH0031	2010	Ngat	NGF	Sol	42	16
ZTH0032	2010	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	46
ZTH0033	2010	Ngat	NGF	Sol	TV	15
ZTH0036	2010	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0039	2010	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0044	2010	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	16
ZTH0045	2010	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0047	2010	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	16
ZTH0049	2010	Kédia	KEP	Cabosse	TV	16
ZTH0050	2010	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	16
ZTH0051	2010	Ngat	NPV	Cabosse	TV	15
ZTH0055	2010	Kédia	KPV	Cabosse	TV	16
ZTH0057	2010	Kédia	KEP	Cabosse	TV	16
ZTH0058	2010	Kédia	KPV	Cabosse	TV	16
ZTH0059	2010	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0060	2010	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0062	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0063	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0066	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0069	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0070	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0074	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0075	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0077	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0079	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0080	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0082	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0084	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0085	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0086	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0087	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0089	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0090	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	2
ZTH0091	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0092	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0095	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0096	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0097	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0099	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0106	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	2
ZTH0107	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0108	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0109	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0143	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0147	2011	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0148	2011	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0149	2011	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0151	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0152	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	4
ZTH0153	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	4
ZTH0154	2011	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0156	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0161	2011	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0162	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0163	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0168	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0169	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	4
ZTH0171	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0177	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0179	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0180	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0181	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0187	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0190	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0201	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	2
ZTH0202	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	2
ZTH0203	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	2
ZTH0205	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0206	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0208	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0209	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0210	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0213	2011	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0214	2011	Kédia	KEP	Cabosse	10	9
ZTH0217	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	6
ZTH0218	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	11

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0221	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0224	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0234	2011	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0235	2011	Ngat	NGF	Cabosse	TV	16
ZTH0241	2011	Ngat	NGF	Cabosse	TV	16
ZTH0242	2011	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0244	2011	Kédia	KEP	Sol	TV	29
ZTH0245	2011	Ngat	NGF	Sol	1	10
ZTH0246	2011	Bakoa	BAC	Sol	B1	11
ZTH0254	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	24
ZTH0257	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0264	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0265	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0270	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0271	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0272	2011	Bakoa	BAC	Cabosse	B24	11
ZTH0273	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0274	2011	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	11
ZTH0277	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0279	2011	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	21
ZTH0281	2011	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	11
ZTH0283	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0284	2011	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0286	2011	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	11
ZTH0289	2011	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0291	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0292	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0294	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0297	2011	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0301	2011	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0302	2011	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH0303	2011	Ngat	NGF	Cabosse	TV	16
ZTH0304	2011	Ngat	NGF	Cabosse	TV	16
ZTH0309	2011	Kédia	KEP	Cabosse	TV	11
ZTH0373	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0398	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH0399	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH0400	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH0405	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0418	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0419	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH0421	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH0422	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0423	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0424	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0425	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH0426	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0427	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0429	2013	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0431	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0433	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0448	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0450	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0451	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0452	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0453	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0454	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0455	2013	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0465	2013	Bakoa	BAP	Sol	4	16
ZTH0466	2013	Bakoa	BAP	Sol	2	11
ZTH0467	2013	Bakoa	BAP	Sol	8	11
ZTH0468	2013	Bakoa	BAC	Sol	B15	16
ZTH0469	2013	Bakoa	BAC	Sol	B15	11
ZTH0470	2013	Bakoa	BAC	Sol	B15	16
ZTH0498	2013	Bakoa	BAC	Sol	B6	16
ZTH0504	2014	Bakoa	BAP	Sol	8	11
ZTH0505	2014	Bakoa	BAP	Sol	4	16
ZTH0506	2014	Bakoa	BAP	Sol	8	11
ZTH0508	2014	Bakoa	BAP	Sol	12	11
ZTH0510	2014	Bakoa	BAP	Sol	12	11
ZTH0519	2014	Kédia	KEP	Sol	10	11
ZTH0520	2014	Kédia	KEP	Sol	10	6
ZTH0521	2014	Kédia	KEP	Sol	1	11
ZTH0522	2014	Bakoa	BAC	Sol	B6	11
ZTH0523	2014	Bakoa	BAC	Sol	B24	11
ZTH0524	2014	Bakoa	BAC	Sol	B5	11
ZTH0525	2014	Bakoa	BAC	Sol	B19	11
ZTH0526	2014	Bakoa	BAC	Sol	B6	11
ZTH0527	2014	Bakoa	BAC	Sol	B20	11
ZTH0528	2014	Bakoa	BAC	Sol	B14	16
ZTH0529	2014	Bakoa	BAC	Sol	B14	16
ZTH0531	2014	Bakoa	BAC	Sol	B6	11
ZTH0532	2014	Bakoa	BAC	Sol	B23	11
ZTH0533	2014	Kédia	KEP	Cabosse	10	7
ZTH0534	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	32
ZTH0535	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	10
ZTH0536	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	10
ZTH0537	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	10
ZTH0538	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	10
ZTH0539	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	10

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0540	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	10
ZTH0541	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	10
ZTH0542	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	10
ZTH0543	2014	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH0544	2014	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH0545	2014	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH0546	2014	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH0547	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0554	2014	Ngat	NGF	Eau	EAU	14
ZTH0555	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B14	11
ZTH0556	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B14	11
ZTH0557	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0558	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0559	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	2
ZTH0568	2014	Kédia	KEP	Cabosse	TV	2
ZTH0570	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	4
ZTH0571	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	4
ZTH0572	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0573	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0576	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0577	2014	Ngat	NGF	Sol	2	17
ZTH0579	2014	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0581	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0582	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0583	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0584	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0585	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0586	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0587	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0588	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0589	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0590	2014	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH0592	2014	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0594	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0596	2014	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH0598	2014	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH0599	2014	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH0600	2014	Kédia	KEP	Cabosse	10	2
ZTH0601	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	22
ZTH0602	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	1
ZTH0603	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	7
ZTH0604	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	7
ZTH0607	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	11
ZTH0608	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	18
ZTH0609	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B20	11

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0610	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B19	11
ZTH0611	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B15	11
ZTH0612	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B5	11
ZTH0613	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B4	11
ZTH0614	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	51
ZTH0615	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0616	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0618	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0620	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	2	2
ZTH0621	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0622	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	1	11
ZTH0623	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0624	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	4	11
ZTH0625	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0626	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0627	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0629	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0630	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0631	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0631bis	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0633	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	12
ZTH0634	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	12
ZTH0635	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	18
ZTH0636	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0637	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	2
ZTH0639	2014	Kédia	KEP	Cabosse	10	23
ZTH0640	2014	Kédia	KEP	Cabosse	1	2
ZTH0642	2014	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0643	2014	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0644	2014	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0646	2014	Bakoa	BAC	Sol	B15	11
ZTH0647	2014	Bakoa	BAC	Sol	B14	11
ZTH0659	2014	Bakoa	BAP	Sol	8	11
ZTH0660	2014	Kédia	KEP	Sol	1	11
ZTH0661	2014	Kédia	KEP	Sol	10	1
ZTH0663	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	4
ZTH0664	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	4
ZTH0670	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0671	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0672	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0673	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0676	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0677	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	37
ZTH0678	2014	Kédia	KEP	Eau	EAU	27
ZTH0679	2014	Kédia	KEP	Eau	EAU	49

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0686	2014	Kédia	KEP	Eau	EAU	26
ZTH0687	2014	Kédia	KEP	Eau	EAU	41
ZTH0692	2014	Ngat	NGF	Sol	27	14
ZTH0695	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0696	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0697	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0698	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0699	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0700	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	40
ZTH0701	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	11
ZTH0702	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0704	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0705	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0706	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0710	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0712	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0713	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0725	2014	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0729	2014	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0731	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	50
ZTH0732	2014	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0733	2014	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0733bis	2014	Ngat	NGF	Cabosse	6	11
ZTH0734	2014	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0735	2014	Ngat	NGF	Cabosse	27	11
ZTH0736	2014	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH0741	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	47
ZTH0745	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0747	2014	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0749	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH0750	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH0751	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	12
ZTH0752	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	45
ZTH0753	2014	Kédia	KEP	Cabosse	4	11
ZTH0755	2014	Kédia	KEP	Cabosse	4	38
ZTH0757	2014	Kédia	KEP	Cabosse	12	11
ZTH0758	2014	Kédia	KEP	Cabosse	4	11
ZTH0759	2014	Kédia	KEP	Cabosse	12	11
ZTH0760	2014	Kédia	KEP	Cabosse	4	9
ZTH0762	2014	Kédia	KEP	Cabosse	4	11
ZTH0763	2014	Kédia	KEP	Cabosse	12	13
ZTH0764	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH0765	2014	Kédia	KEP	Cabosse	2	6
ZTH0767	2014	Kédia	KEP	Cabosse	12	11
ZTH0768	2014	Kédia	KEP	Cabosse	28	11

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0769	2014	Kédia	KEP	Cabosse	12	11
ZTH0774	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0777	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0780	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0784	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0785	2014	Bakoa	BAP	Cabosse	8	11
ZTH0788	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0789	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0790	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0791	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	31
ZTH0792	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0798	2014	Bakoa	BAC	Cabosse	B23	11
ZTH0804	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0805	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0806	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0808	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0809	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	12
ZTH0811	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	12
ZTH0812	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	11
ZTH0815	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0816	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	11
ZTH0818	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	13
ZTH0821	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	12
ZTH0822	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0823	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	11
ZTH0824	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0825	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0827	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	48
ZTH0828	2014	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0829	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	20
ZTH0830	2014	Bakoa	BPV	Sol	TV	11
ZTH0838	2015	Bakoa	BAP	Sol	8	35
ZTH0839	2015	Bakoa	BAP	Sol	8	8
ZTH0840	2015	Ngat	NGF	Sol	12	16
ZTH0841	2015	Kédia	KEP	Sol	28	10
ZTH0843	2015	Kédia	KEP	Sol	2	11
ZTH0844	2015	Kédia	KEP	Sol	1	11
ZTH0845	2015	Kédia	KEP	Sol	10	39
ZTH0846	2015	Kédia	KEP	Sol	10	25
ZTH0847	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0849	2015	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH0852	2015	Kédia	KEP	Cabosse	1	11
ZTH0853	2015	Kédia	KEP	Cabosse	1	16
ZTH0854	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0855	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	44

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0856	2015	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH0857	2015	Bakoa	BAC	Sol	B23	34
ZTH0858	2015	Bakoa	BAC	Sol	B23	11
ZTH0859	2015	Bakoa	BAC	Sol	B6	8
ZTH0860	2015	Kédia	KEP	Sol	10	11
ZTH0861	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	B5	11
ZTH0862	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	19
ZTH0863	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	11
ZTH0864	2015	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH0865	2015	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0866	2015	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0867	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	2
ZTH0868	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0869	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0870	2015	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0871	2015	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0872	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	12
ZTH0873	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0875	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	2
ZTH0876	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	28
ZTH0877	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	4
ZTH0878	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0879	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0880	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0881	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0882	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0883	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0884	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0885	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0886	2015	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH0887	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0888	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0889	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	11
ZTH0890	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0891	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0892	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0893	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0894	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	4
ZTH0896	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0897	2015	Bakoa	BAC	Sol	B5	11
ZTH0898	2015	Bakoa	BAC	Sol	B6	3
ZTH0899	2015	Bakoa	BAC	Sol	B6	11
ZTH0900	2015	Bakoa	BAP	Sol	12	11
ZTH0902	2015	Kédia	KPV	Eau	eau	11
ZTH0903	2015	Kédia	KPV	Eau	eau	12

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0904	2015	Ngat	NGF	Sol	6	16
ZTH0906	2015	Ngat	NGF	Sol	6	16
ZTH0907	2015	Ngat	NGF	Sol	27	5
ZTH0908	2015	Ngat	NGF	Sol	27	16
ZTH0910	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	B5	30
ZTH0911	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	6	11
ZTH0912	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	11
ZTH0913	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	11
ZTH0914	2015	Bakoa	BAC	Cabosse	B20	11
ZTH0916	2015	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0917	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0918	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0919	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0920	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0921	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0922	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0923	2015	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH0925	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0926	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	43
ZTH0927	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH0928	2015	Kédia	KPV	Cabosse	TV	42
ZTH0929	2015	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH0931	2015	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH0932	2015	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH0934	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0935	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0936	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0937	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0938	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0939	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0940	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0941	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0942	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0943	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0944	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0945	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0946	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0947	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0948	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0949	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0950	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0951	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0952	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0953	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0954	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH0955	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0956	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0957	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0958	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0959	2015	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH0961	2015	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH0962	2015	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH0963	2015	Kédia	KEP	Sol	28	16
ZTH0964	2015	Ngat	NGF	Sol	2	16
ZTH0967	2015	Kédia	KPV	Eau	eau	16
ZTH0968	2015	Kédia	KPV	Eau	eau	16
ZTH0969	2015	Kédia	KPV	Eau	eau	5
ZTH0970	2015	Kédia	KPV	Eau	eau	3
ZTH0971	2015	Kédia	KPV	Eau	eau	11
ZTH0972	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0973	2015	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH0974	2015	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH0975	2016	Bakoa	BAP	Sol	12	33
ZTH0976	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B10	11
ZTH0978	2016	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0979	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0980	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0981	2016	Bakoa	BAC	Sol	B10	11
ZTH0984	2016	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH0985	2016	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH0986	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0987	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH0988	2016	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH0989	2016	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH0991	2016	Kédia	KEP	Sol	2	11
ZTH0992	2016	Kédia	KEP	Sol	10	11
ZTH0996	2016	Kédia	KEP	Sol	10	11
ZTH0997	2016	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH0998	2016	Bakoa	BAP	Cabosse	2	11
ZTH0999	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B10	36
ZTH1000	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1002	2016	Bakoa	BAP	Sol	12	11
ZTH1003	2016	Bakoa	BAC	Sol	B9	11
ZTH1004	2016	Bakoa	BAC	Sol	B15	11
ZTH1005	2016	Bakoa	BAP	Sol	12	11
ZTH1006	2016	Bakoa	BAP	Sol	2	11
ZTH1007	2016	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH1008	2016	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH1010	2016	Ngat	NGF	Cabosse	12	16
ZTH1011	2016	Ngat	NGF	Sol	12	16

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH1012	2016	Ngat	NGF	Sol	1	16
ZTH1013	2016	Ngat	NGF	Sol	1	16
ZTH1015	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B5	11
ZTH1016	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	11
ZTH1017	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	11
ZTH1018	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B9	11
ZTH1020	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1021	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1022	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1024	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1026	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1027	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1028	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1029	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1032	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1033	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1034	2016	Kédia	KEP	Cabosse	10	11
ZTH1035	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH1036	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH1037	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH1038	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1039	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1040	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1041	2016	Kédia	KEP	Cabosse	4	11
ZTH1042	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1043	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1044	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1045	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1046	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	16
ZTH1047	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1048	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1049	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1050	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1051	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1052	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1053	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1054	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1055	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1057	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1058	2016	Ngat	NGF	Cabosse	12	16
ZTH1059	2016	Ngat	NGF	Cabosse	1	16
ZTH1060	2016	Ngat	NGF	Cabosse	53	16
ZTH1061	2016	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH1062	2016	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH1065	2016	Ngat	NGF	Cabosse	1	16

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH1066	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1067	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1068	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1069	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1070	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1071	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1073	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1074	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1075	2016	Bakoa	BAP	Sol	2	11
ZTH1076	2016	Bakoa	BAP	Sol	4	11
ZTH1078	2016	Bakoa	BAP	Sol	2	11
ZTH1082	2016	Bakoa	BAC	Sol	B6	11
ZTH1083	2016	Bakoa	BAC	Sol	B6	11
ZTH1084	2016	Bakoa	BAC	Sol	B5	11
ZTH1085	2016	Bakoa	BAC	Sol	B9	11
ZTH1086	2016	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH1087	2016	Kédia	KEP	Sol	1	11
ZTH1088	2016	Kédia	KEP	Sol	10	11
ZTH1090	2016	Kédia	KEP	Sol	4	11
ZTH1091	2016	Kédia	KEP	Sol	2	11
ZTH1092	2016	Kédia	KEP	Sol	2	11
ZTH1094	2016	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH1095	2016	Kédia	KEP	Sol	28	11
ZTH1096	2016	Ngat	NGF	Sol	2	16
ZTH1098	2016	Ngat	NGF	Sol	12	16
ZTH1099	2016	Ngat	NGF	Sol	2	11
ZTH1100	2016	Ngat	NGF	Sol	27	11
ZTH1102	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1103	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH1104	2016	Kédia	KEP	Cabosse	28	11
ZTH1107	2016	Kédia	KEP	Cabosse	2	11
ZTH1108	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1109	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1110	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1111	2016	Kédia	KPV	Cabosse	TV	11
ZTH1115	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B9	11
ZTH1116	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B5	11
ZTH1117	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B11	11
ZTH1118	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B9	11
ZTH1119	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B9	11
ZTH1121	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B1	11
ZTH1122	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B1	11
ZTH1123	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B24	11
ZTH1124	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	11
ZTH1125	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B10	11

Isolats	Année	Localité	Parcelle	Source	Variété	Génotype
ZTH1126	2016	Bakoa	BAC	Cabosse	B6	11
ZTH1128	2016	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH1129	2016	Bakoa	BAP	Cabosse	12	11
ZTH1130	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1131	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1132	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1133	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1136	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1138	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1139	2016	Bakoa	BPV	Cabosse	TV	11
ZTH1141	2016	Ngat	NGF	Cabosse	12	16
ZTH1142	2016	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH1143	2016	Ngat	NGF	Cabosse	2	16
ZTH1144	2016	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH1145	2016	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH1146	2016	Ngat	NGF	Cabosse	27	16
ZTH1147	2016	Ngat	NGF	Cabosse	6	16
ZTH1149	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1150	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1151	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1152	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	11
ZTH1153	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1154	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1156	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1157	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1158	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1159	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1160	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1161	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1162	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
ZTH1163	2016	Ngat	NPV	Cabosse	TV	16
PPW1	2014	Ngat	NGF	Sol		17

Annexe 2 : trame d'enquête utilisée

Caracterisation des parcelles cacaoyeres sous systemes innovants vis-à-vis de leur etat sanitaire : precisement sur l'apparition et l'evolution de la pourriture brune des fruits du cacaoyer

S01Q00	**Section 1 : Equipe de collecte d'informations et des données**	
S01Q01	Nom de l'enquêteur	
S01Q02	Nom de l'enquêté	
S01Q03	Date de l'enquête	
S01Q04	Nom de l'agent de saisie	
S01Q05	Date de saisie	

S02Q00 Section 2 : Identification du producteur

S02Q01	Région	
S02Q02	Département	
S02Q03	Arrondissement	
S02Q04	Village	
S02Q05	Appartenez-vous à une Organisation Paysanne (GIC ou Coopérative)	*1=pour oui; 2=pour non*
S02Q06	si oui laquelle	
S02Q07	Nom du chef d'exploitation (CE)	
S02Q08	Nom du répondant (si autre que le CE)	
S02Q09	Age du CE	
S02Q10	Sexe du CE	*1=masculin; 2=féminin*
S02Q11	Niveau d'éducation du CE *1=Aucun, 2=Primaire, 3=Secondaire 1er cycle, 4=Secondaire 2nd cycle, 5=Supérieur, 6=Autre (préciser)*	
S02Q12	Profession du CE	
S02Q13	Situation professionnelle du CE	*1=en service; 2= retraité*
S02Q14	Situation matrimoniale du CE *1=Marié(é), 2=Célibatiare, 3=Divorcé(e), 4=Veuf (ve)*	
S02Q15	Nombre de femmes du CE	
S02Q16	Nombre d'enfants du CE (biologiques)	
S02Q17	Autres (adoptifs)	
S02Q18	Activité principale du CE *1= Agriculture, 2=Pisciculture, 3= Pêche, 4= Artisanat, 5= Elévage, 6= Commerce, 7= Salarié, 8= Aucune, 9=Autre (préciser)*	

S02Q19	Autres activités	

S03Q00 Section 3 : Description de la parcelle

S03Q01	Coordonnées de la parcelle	
S03Q02	Date de mise en place	
S03Q03	Superficie	
S03Q04	Famille cacaoyer	
S03Q05	densité cacaoyer	
S03Q06	Culture associée	
S03Q07	densité culture associée	
S03Q08	Précèdent cultural *1=forêt; 2=savane; 3=jachere; 4=autre culture*	
S03Q09	Pente	

S04Q00 Section 4 : Entretien de la parcelle

S04Q01	Origine des fonds *1=épargne personnelle; 2=association; 3= banque. 4=autre*

S04Q02 Evaluation du type de main d'œuvre (MOF=main d'œuvre familiale, MOA=main d'œuvre amicale ou coopérative, MOS=main d'oeuvre salariale) utilisée dans l'exploitation

S04Q02a	MOF homme moins de 18 ans	
S04Q02b	MOF homme plus de 18 ans	
S04Q02c	MOF femme moins de 18 ans	
S04Q02d	MOF femme plus de 18 ans	
S04Q02e	MOA homme moins de 18 ans	
S04Q02f	MOA homme plus de18 ans	
S04Q02g	MOA femme moins de 18 ans	
S04Q02h	MOA femme plus de 18 ans	
S04Q02i	MOS homme moins de 18 ans	
S04Q02j	MOS homme plus de 18 ans	

S04Q02k	MOS femme moins de 18 ans	
S04Q02l	MOS femme plus de 18 ans	

S04Q03 Evaluation des charges d'entretien et la gestion de la culture principale (cacaoyer)

S04Q03a1	Prunning	1=oui, 2=non
S04Q03a2	Nombre de passage pruning	
S04Q03a3	Périodes pruning	
S04Q03a4	Nombre de jour/passage pruning	
S04Q03a5	Nombre heure moyen/jour pruning	
S04Q03a6	Nombre personne MOF pruning	
S04Q03a7	Nombre personne MOA pruning	
S04Q03a8	Nombre personne MOS pruning	
S04Q03a9	Coût MOS (FCFA)	
S04Q03a10	Remarques pruning	
S04Q03b1	Fertilisation *1=minérale, 2=organique, 3= minérale et organique, 4=aucune*	
S04Q03b2	Nombre de passage fertilisation minérale	
S04Q03b3	Nombre de passage fertilisation organique	
S04Q03b4	Périodes de fertilisation minérale	
S04Q03b5	Périodes de fertilisation organique	
S04Q03b6	Nombre de jour/passage de fertilisation	
S04Q03b7	Nombre heure moyen/jour fertilisation	
S04Q03b8	Nombre personne MOF fertilisation	
S04Q03b9	Nombre personne MOA fertilisation	
S04Q03b10	Nombre personne MOS fertilisation	
S04Q03b11	Coût MOS (FCFA) fertilisation minérale	
S04Q03b12	Coût MOS (FCFA) fertilisation organique	
S04Q03b13	Remarque fertilisation	
S04Q03c1	Désherbage *1=manuel, 2=chimique, 3= manuel et chimique, 4=aucun*	
S04Q03c2	Nombre de passage désherbage manuel	
S04Q03c3	Nombre de passage désherbage chimique	
S04Q03c4	Périodes de désherbage	

S04Q03c5	Nombre de jour/passage désherbage manuel	
S04Q03c6	Nombre de jour/passage désherbage chimique	
S04Q03c7	Nombre heure moyen/jour désherbage manuel	
S04Q03c8	Nombre heure moyen/jour désherbage chimique	
S04Q03c9	Nombre personne MOF désherbage	
S04Q03c10	Nombre personne MOA désherbage	
S04Q03c11	Nombre personne MOS désherbage	
S04Q03c12	Coût MOS (FCFA) désherbage manuel	
S04Q03c13	Coût MOS (FCFA) désherbage chimique	
S04Q03c14	Remarque désherbage	
S04Q03d1	récolte phytosanitaire	1=oui, 2=non
S04Q03d2	Nombre de passage récolte phytosanitaire	
S04Q03d3	Périodes récolte phytosanitaire	
S04Q03d4	Nombre de jour/passage récolte phytosanitaire	
S04Q03d5	Nombre heure moyen/jour récolte phytosanitaire	
S04Q03d6	Nombre personne MOF récolte phytosanitaire	
S04Q03d7	Nombre personne MOA récolte phytosanitaire	
S04Q03d8	Nombre personne MOS récolte phytosanitaire	
S04Q03d9	Coût MOS (FCFA)	
S04Q03d10	Remarques récolte phytosanitaire	
S04Q03e1	Traitements phytosanitaires *1=fongicide, 2=insecticide, 3=fongicide et insecticide, 4=aucun*	
S04Q03e2	Nombre de passage traitement fongicide	
S04Q03e3	Nombre de passage traitement insecticide	
S04Q03e4	Périodes traitement fongicide	
S04Q03e5	Périodes traitement insecticide	
S04Q03e6	Nombre de jour/passage traitement phytosanitaire	
S04Q03e7	Nombre heure moyen/jour traitement phytosanitaire	
S04Q03e8	Nombre personne MOF traitement phytosanitaire	
S04Q03e9	Nombre personne MOA traitement phytosanitaire	
S04Q03e10	Nombre personne MOS traitement phytosanitaire	
S04Q03e11	Coût MOS traitement fongicide (FCFA)	
S04Q03e12	Coût MOS traitement insecticide (FCFA)	

S04Q03e13	Remarques traitement phytosanitaire	

S04Q04 Evaluation des charges d'entretien et la gestion de la culture associée (fruitiers, palmier à huile, cocotier)

S04Q04a1	Élagage	
S04Q04a2	Nombre de passage élagage	
S04Q04a3	Périodes élagage	
S04Q04a4	Nombre de jour/passage élagage	
S04Q04a5	Nombre d'heure moyen/jour élagage	
S04Q04a6	Nombre personne MOF élagage	
S04Q04a7	Nombre personne MOA élagage	
S04Q04a8	Nombre personne MOS élagage	
S04Q04a9	Coût MOS (FCFA)	
S04Q04a10	Remarque élagage	
S04Q04b1	Fertilisation *1=minérale, 2=organique, 3= minérale et organique, 4=aucune*	
S04Q04b2	Nombre de passage fertilisation minérale	
S04Q04b3	Nombre de passage fertilisation organique	
S04Q04b4	Périodes de fertilisation minérale	
S04Q04b5	Périodes de fertilisation organique	
S04Q04b6	Nombre de jour/passage de fertilisation	
S04Q04b7	Nombre heure moyen/jour fertilisation	
S04Q04b8	Nombre personne MOF fertilisation	
S04Q04b9	Nombre personne MOA fertilisation	
S04Q04b10	Nombre personne MOS fertilisation	
S04Q04b11	Coût MOS (FCFA) fertilisation minérale	
S04Q04b12	Coût MOS (FCFA) fertilisation organique	
S04Q04b13	Remarque fertilisation	
S04Q04c1	Désherbage *1=manuel, 2=chimique, 3= manuel et chimique, 4=aucun*	
S04Q04c2	Nombre de passage désherbage manuel	
S04Q04c3	Nombre de passage désherbage chimique	
S04Q04c4	Périodes de désherbage	
S04Q04c5	Nombre de jour/passage désherbage manuel	
S04Q04c6	Nombre de jour/passage désherbage chimique	

S04Q04c7	Nombre heure moyen/jour désherbage manuel	
S04Q04c8	Nombre heure moyen/jour désherbage chimique	
S04Q04c9	Nombre personne MOF désherbage	
S04Q04c10	Nombre personne MOA désherbage	
S04Q04c11	Nombre personne MOS désherbage	
S04Q04c12	Coût MOS (FCFA) désherbage manuel	
S04Q04c13	Coût MOS (FCFA) désherbage chimique	
S04Q04c14	Remarque désherbage	
S04Q04d1	Récolte phytosanitaire	1=oui, 2=non
S04Q04d2	Nombre de passage récolte phytosanitaire	
S04Q04d3	Périodes récolte phytosanitaire	
S04Q04d4	Nombre de jour/passage récolte phytosanitaire	
S04Q04d5	Nombre heure moyen/jour récolte phytosanitaire	
S04Q04d6	Nombre personne MOF récolte phytosanitaire	
S04Q04d7	Nombre personne MOA récolte phytosanitaire	
S04Q04d8	Nombre personne MOS récolte phytosanitaire	
S04Q04d9	Coût MOS (FCFA)	
S04Q04d10	Remarques récolte phytosanitaire	
S04Q04e1	Traitements phytosanitaires *1=fongicide, 2=insecticide, 3=fongicide et insecticide, 4=aucun*	
S04Q04e2	Nombre de passage traitement fongicide	
S04Q04e3	Nombre de passage traitement insecticide	
S04Q04e4	Périodes traitement fongicide	
S04Q04e5	Périodes traitement insecticide	
S04Q04e6	Nombre de jour/passage traitement phytosanitaire	
S04Q04e7	Nombre heure moyen/jour traitement phytosanitaire	
S04Q04e8	Nombre personne MOF traitement phytosanitaire	
S04Q04e9	Nombre personne MOA traitement phytosanitaire	
S04Q04e10	Nombre personne MOS traitement phytosanitaire	
S04Q04e11	Coût MOS traitement fongicide (FCFA)	
S04Q04e12	Coût MOS traitement insecticide (FCFA)	
S04Q04de13	Remarque traitement phytosanitaire	

S05Q00 Section 5: Identification et méthodes de contrôle des maladies/ravageurs du cacaoyer

S05Q01	Citez les maladies du cacaoyer présentes dans votre parcelle *1=pourriture brune, 2=pourriture molle, 3=dieback, 4=autres (à préciser), 5=aucune*	
S05Q02	**description des symptômes**	
S05Q02a	Décrivez les symptômes de (1) si pourriture brune	
S05Q02b	Décrivez les symptômes de (2) si pourriture molle	
S05Q02c	Décrivez les symptômes de (3) si dieback	
S05Q02d	Décrivez les symptômes de (4) si autre (à préciser)	
S05Q03	**Méthodes de lutte**	
S05Q03a	Méthode de contrôle de (1) si pourriture brune 1=récolte phytosanitaire, 2=lutte chimique, 3=lutte culturale, 4=aucune	
S05Q03b	Méthode de contrôle de (2) si pourriture molle 1=récolte phytosanitaire, 2=lutte chimique, 3=lutte culturale, 4=aucune	
S05Q03c	Méthode de contrôle de (3) si dieback *1=Elimination des organes ou plants infectés, 2=lutte chimique, 3=lutte culturale, 4=aucune*	
S05Q03d	Méthode de contrôle de (4) si autre (à préciser)	
S05Q04a	Produits utilisés (nom commercial) pour (1) si traitement chimique	
S05Q04b	Produits utilisés (nom commercial) pour (2) si traitement chimique	
S05Q04c	Produits utilisés (nom commercial) pour (3) si traitement chimique	
S05Q04d	Produits utilisés (nom commercial) pour (4) si traitement chimique	
S05Q05a	dose produit utilisé pour (1)	
S05Q05b	dose produit utilisé pour (2)	
S05Q05c	dose produit utilisé pour (3)	
S05Q05d	dose produit utilisé pour (4)	
S05Q06a	Fréquence d'application du produit utilisé pour 1	
S05Q06b	Fréquence d'application du produit utilisé pour 2	
S05Q06c	Fréquence d'application du produit utilisé pour 3	
S05Q06d	Fréquence d'application du produit utilisé pour 4	
S05Q07	Méthode d'application des traitements fongiques	

S05Q08	Ravageur du cacaoyer présent dans votre parcelle *1=mirides, 2=foreur, 3=rongeurs, 4=autre, 5=aucun*	
S05Q09	Symptômes pour (1) si mirides	
S05Q10	Symptômes pour (2) si foreurs	
S05Q11	Symptômes pour (3) si rongeurs	
S05Q12	Symptômes pour (4) si autre (à préciser)	
S05Q13	Méthode de contrôle pour (1)	
S05Q14	Méthode de contrôle pour (2)	
S05Q15	Méthode de contrôle pour (3)	
S05Q16	Méthode de contrôle pour (4)	
S05Q17	Produits utilisés pour (1) si traitement chimique	
S05Q18	Produits utilisés pour (2) si traitement chimique	
S05Q19	Produits utilisés pour (3) si traitement chimique	
S05Q20	Produits utilisés pour (4) si traitement chimique	
S05Q21	dose produit pour (1)	
S05Q22	dose produit pour (2)	
S05Q23	dose produit pour (3)	
S05Q24	dose produit pour (4)	
S05Q25	Fréquence d'application du produit utilisé pour 1	
S05Q26	Fréquence d'application du produit utilisé pour 2	
S05Q27	Fréquence d'application du produit utilisé pour 3	
S05Q28	Fréquence d'application du produit utilisé pour 4	
S05Q29	Méthode d'application des traitements insecticides/raticides	

S06Q00 Section 6: Identification et méthodes de contrôle des maladies des cultures associées

S06Q01	**Identification et gestion des maladies des fruitiers**	
S06Q01a	Citez les maladies des *Citrus* présentes dans votre parcelle *1=phaeoramilariose, 2=gommose, 3=greening, 4=autres (à préciser), 5=aucune*	
S06Q01b	Méthode de contrôle pour (1)	
S06Q01c	Méthode de contrôle pour (2)	
S06Q01d	Méthode de contrôle pour (3)	
S06Q01e	Méthode de contrôle pour (4)	
S06Q01f	Produits utilisés pour (1) si traitement chimique	

S06Q01g	Produits utilisés pour (2) si traitement chimique	
S06Q01h	Produits utilisés pour (3) si traitement chimique	
S06Q01i	Produits utilisés pour (4) si traitement chimique	
S06Q01j	dose produit pour (1)	
S06Q01k	dose produit pour (2)	
S06Q01l	dose produit pour (3)	
S06Q01m	dose produit pour (4)	
S06Q01n	Fréquence d'application du produit utilisé pour 1	
S06Q01o	Fréquence d'application du produit utilisé pour 2	
S06Q01p	Fréquence d'application du produit utilisé pour 3	
S06Q01q	Fréquence d'application du produit utilisé pour 4	
S06Q01r	Méthode d'application des traitements fungiques	
S06Q02	**Identification et gestion des maladies de l'avocatier**	
S06Q02a	Citez les maladies de l'avocatier présentes dans votre parcelle *1= pourriture des fruits, 2=pourriture racinaire, 3=cercosporiose, 4=autre, 5=aucune*	
S06Q02b	Méthode de contrôle pour (1)	
S06Q02c	Méthode de contrôle pour (2)	
S06Q02d	Méthode de contrôle pour (3)	
S06Q02e	Méthode de contrôle pour (4)	
S06Q02f	Produits utilisés pour (1) si traitement chimique	
S06Q02g	Produits utilisés pour (2) si traitement chimique	
S06Q02h	Produits utilisés pour (3) si traitement chimique	
S06Q02i	Produits utilisés pour (4 si traitement chimique	
S06Q02j	dose produit pour (1)	
S06Q02k	dose produit pour (2)	
S06Q02l	dose produit pour (3)	
S06Q02m	dose produit pour (4)	
S06Q02n	Fréquence d'application du produit utilisé pour 1	
S06Q02o	Fréquence d'application du produit utilisé pour 2	
S06Q02p	Fréquence d'application du produit utilisé pour 3	
S06Q02q	Fréquence d'application du produit utilisé pour 4	
S06Q02r	Méthode d'application des traitements fungiques	

S06Q03	**Identification et gestion des maladies du palmier à huile**	
S06Q03a	Quelles sont les maladies du palmier à huile présentes dans votre parcelle 1=fusariose, 2=pourriture du cœur, 3=autre (à préciser) 4=aucune	
S06Q03b	Méthode de contrôle pour (1)	
S06Q03c	Méthode de contrôle pour (2)	
S06Q03d	Méthode de contrôle pour (3)	
S06Q03e	Produits utilisés pour (1) si traitement chimique	
S06Q03f	Produits utilisés pour (2) si traitement chimique	
S06Q03g	Produits utilisés pour (3) si traitement chimique	
S06Q03h	dose produit pour (1)	
S06Q03i	dose produit pour (2)	
S06Q03j	dose produit pour (3)	
S06Q03k	Fréquence d'application du produit utilisé pour (1)	
S06Q03l	Fréquence d'application du produit utilisé pour (2)	
S06Q03m	Fréquence d'application du produit utilisé pour (3)	
S06Q03n	Méthode d'application des traitements fungiques	
S06Q04	**Identification et gestion des maladies du cocotier**	
S06Q04a	Citez les maladies du cocotier présentes dans votre parcelle 1=pourriture des noix, 2=pourriture du bourgeon, 3=jaunissement mortel, 4=autre, 5=aucune	
S06Q04b	Méthode de contrôle pour (1)	
S06Q04c	Méthode de contrôle pour (2)	
S06Q04d	Méthode de contrôle pour (3)	
S06Q04e	Méthode de contrôle pour (4)	
S06Q04f	Produits utilisés pour (1) si traitement chimique	
S06Q04g	Produits utilisés pour (2) si traitement chimique	
S06Q04h	Produits utilisés pour (3) si traitement chimique	
S06Q04i	Produits utilisés pour (4) si traitement chimique	
S06Q04j	dose produit pour (1)	
S06Q04k	dose produit pour (2)	
S06Q04l	dose produit pour (3)	
S06Q04m	dose produit pour (4)	
S06Q04n	Fréquence d'application du produit utilisé pour (1)	
S06Q04o	Fréquence d'application du produit utilisé pour (2)	

S06Q04p	Fréquence d'application du produit utilisé pour (3)	
S06Q04q	Fréquence d'application du produit utilisé pour (4)	
S06Q04r	Méthode d'application des traitements fungiques	

S07Q00 Section 7: Chronologie d'observation de la pourriture brune et les moyens de contrôle

S07Q01	Quand aviez-vous observé dans votre champ la première infection due à la pourriture brune?	
S07Q02	Quand aviez-vous observé dans votre champ la deuxième infection due à la pourriture brune?	
S07Q03	Quand aviez-vous observé dans votre champ la troisième infection due à la pourriture brune?	
S07Q04	Depuis la première apparition décrivez la distribution et l'évolution de la maladie dans votre champ	
S07Q05	Quelle est sa fréquence dans les années?	
S07Q06	Quelles sont vos moyens de lutte? *1=récolte phytosanitaire, 2=traitement fongicide, 3=aucun*	
S07Q07	Justifiez-les	
S07Q08	Depuis combien d'années pratiquez-vous la récolte phytosanitaire (si oui)?	
S07Q09	Depuis combien d'années faites-vous des traitements fongicides (si oui)?	
S07Q10	Quelle est votre fréquence d'application dans les années?	
S07Q11	Moments d'application des traitements fongicides par rapport à la présence de la maladie *1=avant les premières infections ou après les premières pluies, 2=Après les premières infections ou pendant les grandes pluies*	
S07Q12	Faire la carte de distribution de la maladie en se servant de la fiche d'observation	

S08Q00 Section 8: Etat de connaissance du producteur sur l'origine et la répartition de la pourriture brune

S08Q01	Aviez-vous une idée sur l'origine de la maladie?	1=oui, 2=non
S08Q02	Justifiez-vous (si oui)	
S08Q03	Saviez-vous comment la maladie arrive-t-elle dans vos parcelles?	1=oui, 2=non
S08Q04	Justifiez-vous (si oui)	

S09Q00 Section 9: Description de l'environnement proche de la parcelle

S09Q01	Quel est le type de végétation situé en avant de la parcelle? *1=forêt, 2=savane, 3=jachère, 4=plantation cacaoyère sans pourriture brune, 5=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 6=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 7=autre culture,*
S09Q02	Quel est le type de végétation situé en arrière de la parcelle? *1=forêt, 2=savane, 3=jachère, 4=plantation cacaoyère sans pourriture brune, 5=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 6=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 7=autre culture,*
S09Q03	Quel est le type de végétation situé à gauche de la parcelle? *1=forêt, 2=savane, 3=jachère, 4=plantation cacaoyère sans pourriture brune, 5=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 6=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 7=autre culture,*
S09Q04	Quel est le type de végétation situé à 1=, droite de la parcelle? *1=forêt, 2=savane, 3=jachère, 4=plantation cacaoyère sans pourriture brune, 5=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 6=cacaoyère avec pourriture brune installée avant la parcelle, 7=autre culture,*

S09Q05 Schématiser la parcelle en relation avec l'environnement proche

Abstract

Phytophthora megakarya (Brasier et Griffin), one of *Phytophthora* species responsible of black pod rot on cacao tree, is causing significant losses of up to 80% if no control measures are taken in Central et West Africa. This species is known as the most aggressive on cocoa tree et it still an invasive process. Moreover, *P. megakarya* has completely replaced *P. palmivora* in the plantations of Cameroon et Nigeria but still coexists in those of Ghana et Côte d'Ivoire. The endemic nature of *P. megakarya* et its recent introduction in Côte d'Ivoire (the largest cocoa producing country) make it as a real threat to the cacao production potential of Africa et consequently fo the global cocoa industry. This situation raises questions about measures to prevent et limit the dispersal processes of this invasive species. Determination of inoculum origin in the plots / regions which are free of this species, the identification of the factors that govern the installation et propagation of *P. megakarya* black pod rot can help to identify how to prevent et limit disease spread in order to improve control strategies.

This aim of this thesis was to monitoring of *P. megakarya* infections in newly established cocoa plots. Specifically the purposes was to: i) describe the spatiotemporal dynamics of the disease in these plots, ii) study the diversity of *P. megakarya* in relation to epidemic dynamics et identify the factors associated with brown rot et iii) identify factors that are related to the presence of disease in field.

This study was conducted in three cocoa plots that were initially free of endogenous inoculum located in three localities in Cameroon: Bakoa et Kedia in the savanna zone et Ngat in the forest zone. Observations on the presence of disease between 2009 et 2016 were made to describe the infected cocoa trees dynamics. Spatial analysis revealed a cluster distribution of infested trees in all plots supported by positive autocorrelations indicating a step by step dispersion. The study of temporal dynamics allowed to highlight the relative importance of the primary et secondary inoculum. The recurrence of disease foci in certain plot locations has been observed et could be due to a favorable microclimatic environment.

The strains of *P. megakarya* collected in plots et their surrounding environment allowed genotyping through SSR markers. The description of the genetic diversity of *P. megakarya* strains showed a low genetic variability et the existence of one mating type in the studied populations suggesting a clonal reproduction. The most frequent multilocus genotypes MLG 11 et MLG 16 were observed in the plots et their neighborhoods throughout the study period et would probably be responsible of primary infections. Geographical discrimination of both clonal complexes CC 11 et CC 16 was observed, indicating an adaptation according to the savanna et forest zones respectively. The pathogenicity test of frequent strains also revealed a difference in the level of aggressiveness between those of savanna et forest.

The exploration of sample of plots shown the importance of the surrounding environment et cultural practices in black pod disease management. In short, isolation by distance or through natural hedges of new plots would limit the arrival of primary inoculum. A rigorous phytosanitation at the beginning of epidemic would help to limit the spread of the disease et the use of fungicides.

Résumé

Phytophthora megakarya (Brasier et Griffin), l'une des espèces responsables de la pourriture brune des fruits du cacaoyer est à l'origine d'importantes pertes allant jusqu'à 80% sans mesures de contrôle en Afrique Centrale et de l'Ouest. Cette espèce est connue comme la plus agressive sur cacaoyer et est dans un processus invasif. *P. megakarya* a complètement remplacé *P. palmivora* dans les plantations du Cameroun et du Nigéria mais coexiste encore dans celles du Ghana et de Côte d'Ivoire. Le caractère endémique de *P. megakarya* et sa récente introduction en Côte d'Ivoire (plus grand pays producteur de cacao) constitue une réelle menace pour le potentiel de production de l'Afrique entière et de l'industrie cacaoyère globale. Cette situation soulève des questionnements sur des mesures de prévention et de limitation des processus de dispersion de cette espèce invasive. La détermination de l'origine de l'inoculum dans les parcelles/régions encore exempte de cette espèce et l'identification des facteurs déterminant l'installation et la propagation de la pourriture brune due à *P. megakarya* peuvent permettre de trouver des leviers d'action pour améliorer les stratégies de lutte.
Cette thèse porte sur le suivi épidémiologique des infections dues à *P. megakarya* dans les parcelles cacaoyères nouvelles installées. Elle s'est proposée de : i) décrire la dynamique spatiotemporelle de la maldie au sein de ces parcelles, ii) étudier la diversité de *P. megakarya* en relation avec la dynamique épidémique et iii) d'identifier les facteurs associés à la présence de la pourriture brune.

Cette étude a été menée dans quatre parcelles cacaoyères initialement dépourvues d'inoculum endogène situées dans trois localités du Cameroun : Bakoa et Kedia en zone de savane et Ngat en zone de forêt. Des observations sur la présence de la maladie entre 2009 et 2016 ont été réalisées pour décrire la dynamique des cacaoyers infectés. L'analyse spatiale a révélé une distribution globalement agrégée des infections confortée par des autocorrélations positives indiquant une dispersion de proche en proche. L'étude de la dynamique temporelle a permis de mettre en évidence l'importance relative de l'inoculum primaire et secondaire. La récurrence des foyers d'infections dans certains endroits de parcelles a été observée et serait due à un environnement microclimatique favorable au développement de la maladie.

Les souches de *P. megakarya* collectées dans les parcelles et leur environnement voisin ont permis de faire le génotypage via les marqueurs SSR. La description de la diversité génétique des souches de *P. megakarya* a montré une faible variabilité génétique et l'existence d'un type sexuel dans les populations étudiées suggérant un mode de reproduction essentiellement clonal. Les génotypes multilocus majoritaires MLG 11 et MLG 16 ont été observés dans les parcelles et leur voisinage pendant toute la période d'étude et seraient probablement à l'origine des infections primaires. Une discrimination géographique des complexes clonaux CC 11 et CC 16 a été observée, indiquant une adaptation selon les zones de savane et de forêt respectivement. Le test de pathogénicité des souches majoritairement présentes a également mis en évidence une différence du niveau d'agressivité entre celles de savane et de forêt.

La prospection d'un réseau de parcelles a permis de montrer l'importance de l'environnement voisin et des opérations culturales dans la gestion de la maladie. En somme l'isolement par la distance ou via des haies naturelles des nouvelles parcelles limiterait l'arrivée de l'inoculum primaire. Une récolte phytosanitaire rigoureuse en début d'épidémie contribuerait à limiter la propagation de la maladie et l'utilisation des fongicides.