

# CONTRIBUTION AUX RECHERCHES SUR LA TRACHÉOMYCOSE DU CAFÉIER EN CÔTE D'IVOIRE

par Marcel MEIFFREN,  
Chef de la Division de Défense des Cultures  
de l'I. F. C. C. en Côte d'Ivoire

## GÉNÉRALITÉS

La trachéomyose du caféier est une grave maladie qui s'est manifestée en Côte d'Ivoire en 1947. Rappelons que l'agent responsable de cette affection est un champignon appartenant au genre *Fusarium* : *F. xylorioides*. Il a été décrit par MM. HEIM et SACCAS. Par sa forme parfaite, il se rattache au genre *Gibberella*. Pratiquement toute la zone caféière a été atteinte et des dizaines de milliers d'hectares ont été détruits ou si gravement atteints par la maladie qu'ils ont été abandonnés. La République Centrafricaine, le Cameroun et l'ex-Congo Belge ont eu également à en souffrir.

En Oubangui et au Cameroun ce sont les plantations d'Excelsa qui ont été décimées.

En Côte d'Ivoire, plusieurs types de caféiers étaient représentés en grande culture lorsque la maladie est apparue :

Le groupe des CANEPHORA, comprenant :

— des **Robusta** introduits du Congo (R. INEAC, R. LULLA),

— des **Canephora** indigènes, originaires de galeries forestières qui bordent de grands fleuves et appelés improprement **Kouilou**. On distingue :

— Le **Kouilou « Bandama »** (fleuve Bandama)

— Le **Kouilou « Touba »** (affluent du fleuve Sasandra).

L'INDÉNIÉ (*Coffea abeokutae*) originaire, lui aussi, de Côte d'Ivoire et surtout cultivé en Basse Côte.

Quelques rares représentants du groupe des EXCELSA.

On s'est rapidement aperçu que tous les Kouilou et l'Indénié étaient très sensibles à la maladie, que les Excelsa se comportaient mieux et surtout que

les Robusta présentait, en plein champ, un net caractère de résistance.

Avant d'exposer les travaux portant sur la recherche de caféiers résistants à la maladie, il nous paraît utile de résumer succinctement les autres méthodes de lutte qui ont été envisagées.

## LUTTE DIRECTE

Etant donné qu'il s'agit d'une maladie interne on ne pouvait rien attendre des traitements chimiques externes. La lutte par l'emploi de **fongicides systémiques** a été tentée, mais n'a pas donné de résultats appréciables.

## ARRACHAGE DES ARBRES ET MESURES DE CONSOLIDATION

La possibilité d'appliquer un traitement curatif étant exclue, on a pensé à détruire les foyers d'infection, c'est-à-dire les arbres malades.

En avril 1956, une conférence internationale s'est tenue à Yangambi et les phytopathologistes présents ont retenu les conclusions suivantes :

« La seule méthode de lutte qui se révèle réellement efficace est celle qui consiste en l'élimination systématique des caféiers atteints, dès l'apparition des premiers symptômes externes. »

« La lutte directe contre la trachéomyose demande à être poursuivie avec vigilance même dans les cas où le taux d'infection est devenu très faible. »

« Les observations et expériences faites jusqu'à présent permettent de penser qu'il est possible, sans danger d'infection immédiate, de replanter du caféier résistant aux emplacements précédemment occupés par des caféiers éliminés pour raison de trachéomycose fusarienne. »

Les planteurs qui ont suivi ces indications ont pu sauver leur plantation.

Par ailleurs, nous avons recommandé, dans certains cas, comme mesure de consolidation, le recépage des arbres non atteints associé à une culture soignée comportant notamment l'application d'une fumure appropriée.

L'administration s'est préoccupée de ce problème et afin de tenter de généraliser le traitement pour le rendre efficace, un système de primes à l'arrachage a été instauré. Des sommes importantes ont été distribuées, à ce titre, aux planteurs.

## APPLICATION DU GREFFAGE

Les travaux conduits à Bingerville ont permis de conclure que l'infection se faisait par les parties basses (collet). Si on greffe un plant sensible sur un plant résistant et qu'on inocule la greffe, celle-ci se comporte comme le sujet.

Afin de vérifier ce fait, des greffes de plants sensibles (Kouilou, Indénié) sur caféier résistant (Robusta INEAC) ont été effectuées et disposées en plusieurs points de Côte d'Ivoire, en champs qui comportent à la fois des greffes et des plants francs de pied des deux variétés.

La mise en place a été effectuée en 1955, mais étant donné l'allure endémique que présente actuellement la trachéomycose il n'est pas possible de dégager des conclusions : aucun cas de mortalité n'étant observé sur les greffes et sur les plants francs de pied.

## RECHERCHES SUR LA RÉSISTANCE

### INFECTION EXPÉRIMENTALE

Lorsqu'on se propose de trouver des variétés résistantes, la première étape à franchir consiste à mettre au point une technique d'infection expérimentale.

On se trouve en présence de nombreuses difficultés à surmonter. Une technique d'inoculation doit répondre à un certain nombre de conditions.

Il faut pouvoir travailler rapidement sur de nombreux représentants d'une population ou d'un clone afin d'obtenir des résultats statistiquement valables et par ailleurs opérer de telle façon qu'on se rende maître au maximum des conditions de l'infection afin d'obtenir des résultats comparables.

#### Technique mise au point au Centre de Recherches de Bingerville

Nous allons décrire la technique mise au point au Centre de Recherches de Bingerville.

En 1950, DELASSUS, chargé à cette époque de l'étude de la maladie en Côte d'Ivoire, procédait à des essais d'infection. Il déposait sur une blessure, au collet de caféiers adultes, un fragment de culture sur milieu solide, de *F. xyloarioides*. Il obtint ainsi quelques résultats positifs. Mais bien qu'il ait opéré sur des caféiers Kouilou sensibles, le pourcentage de réussite était faible.

La même année, JACQUES-FÉLIX réalisait des infections sur Kouilou, Indénié et Robusta. Il obtint des résultats positifs sur Kouilou, les infections étaient négatives sur Indénié, cependant que sur Robusta il n'obtenait que des nécroses locales strictement limitées.

En 1952 nous avons repris les recherches sur l'infection expérimentale.

Nous avons infecté des caféiers en place par dépôt de fragments de culture sur des blessures. Les résultats furent si peu encourageants et tellement variables suivant différents facteurs (insolation, précipitations) que nous avons alors décidé de mettre au point une technique plus rationnelle, plus contrôlable.

Nous partions du principe qu'il fallait utiliser de jeunes plants afin de gagner du temps. Nous avons tout naturellement pensé à utiliser des plants cultivés en milieu liquide afin d'avoir un matériel comparable, le milieu de croissance étant identique.

Nous avons tout d'abord procédé à des infections par dépôt de fragments de culture obtenue sur milieu solide (gélose, pomme de terre) sur des caféiers placés dans des récipients contenant de l'eau du robinet (on peut conserver un plant de caféier vivant plusieurs mois dans de telles conditions). Puis nous avons tenté d'infecter des caféiers placés dans une culture liquide du champignon, effectuée dans de l'eau de pomme de terre. Ces deux premières séries d'essais se sont avérées décevantes.

C'est alors que nous avons eu connaissance des travaux de G. M. ARMSTRONG concernant la recherche de plants de cotonnier résistants au Wilt.

Dans cette méthode, les plants de cotonnier sont cultivés dans une solution minérale nutritive convenable et le champignon, agent du wilt, dans une solution ayant une concentration double et contenant en outre 20 g de glucose par litre. Après trempage dans la culture du champignon, les plants sont placés dans la solution nutritive normale et les

taux d'infection obtenus dans ces conditions sont très élevés.

On a donc tenté d'employer cette méthode pour les caféiers qui ont été cultivés dans les milieux nutritifs liquides utilisés au laboratoire de chimie du Centre dans les recherches sur les carences.

Nous avons pu réaliser quelques infections, mais en opérant avec des caféiers du type Kouilou sensibles, les taux d'infection positive étaient extrêmement faibles.

Devant ces insuccès relatifs, nous avons été amené à penser que dans la nature les poussées de maladie semblaient être liées à une crise physiologique : carence en un élément nutritif, manque d'eau dû à la sécheresse ou aux mobilisations considérables qui se produisent au moment de la maturation.

Pour tenter de déterminer les facteurs favorisant la maladie ou tout au moins les facteurs susceptibles d'amener les plants à un état de résistance moindre, nous avons étudié l'action de la carence en certains oligo-éléments et celle de la teneur en eau du sol.

En ce qui concerne le premier point, le dispositif suivant était utilisé : les caféiers étaient placés dans des bocaux (4 par bocal) contenant des solutions nutritives. Il y avait pour chaque formule 20 plants infectés et 20 plants témoins.

On avait retenu les combinaisons suivantes : (la solution de base comprenant N - P - K - Ca - Na, on voulait étudier l'effet de la carence en Mg et des oligo-éléments suivants : fer, manganèse, bore, zinc.)

Solution de base :	+ Fe
» » »	+ Mg
» » »	+ Mg + Fe
» » »	+ Mn
» » »	+ B
» » »	+ Fe + Mn
» » »	+ Fe + B
» » »	+ Fe + Zn

Pour éviter l'asphyxie des racines, on utilisait un barbotage d'oxygène. Les infections se faisaient par pulvérisation d'une suspension de spores de *Fusarium xylarioides*.

Cet essai a donné lieu à des observations en ce qui concerne la nutrition du caféier, mais les infections expérimentales se sont avérées négatives.

#### TENEUR EN EAU DU SOL

Par contre, en ce qui concerne la teneur en eau du sol, des indications précieuses ont pu être obtenues.

Des caféiers ont été cultivés dans des sols dont la teneur en eau variait de 1,70 % (eau d'hygroscopicité) à 40 % (saturation). Des signes de fanai-

son ont été observés pour des teneurs en eau de 7 % pour un sable humifère noir. Dès lors, des infections ont pu être réalisées sur des plants cultivés dans des sols sous abris où les arrosages étaient conduits de façon à ce que les caféiers subissent des alternances d'humidité et de sécheresse relative (teneur en eau totale 10 %). Un fait analogue avait été noté par FRASELLE à l'ex-Congo Belge. On a pu dès lors (1953) mettre au point une technique d'infection expérimentale qui nous a donné satisfaction puisque, pour des plants sensibles (Kouilou) on obtenait une mortalité atteignant 90 %. En opérant sous abri, on pouvait se placer dans des conditions identiques, en toutes saisons ; enfin on avait la possibilité d'utiliser de jeunes plants d'âge sensiblement égal : 6 mois à un an, ce qui permettait d'avoir des réponses rapides.

#### NÉCESSITÉ D'UNE BLESSURE

Nos prédécesseurs : DELASSUS, JACQUES-FÉLIX, avaient montré la nécessité de la présence d'une blessure pour qu'il y ait infection. Des essais conduits pour tenter de prouver si les blessures étaient nécessaires nous ont amené à cette même conclusion qui depuis, d'ailleurs, a fait l'unanimité des chercheurs.

#### PRÉPARATION DE L'INOCULUM

On a retenu comme milieu de culture, le milieu d'ARMSTRONG (le milieu de RICHARD a donné des résultats analogues) dont la composition est la suivante :

Sulfate de magnésium	.....	0,004 M
Nitrate de calcium	.....	0,010 M
Sulfate de potasse	.....	0,004 M
Phosphate mono-ammonique	.....	0,004 M

Traces de nitrate de fer, de zinc, de bore, de manganèse et de cuivre ;

Glucose 20 g/l.

Le milieu d'ARMSTRONG est ensemencé à partir d'une suspension de spores obtenue par lavage d'un tube de culture de *Fusarium xylarioides*, récemment isolé, sur gélose — pomme de terre.

Afin d'accroître la vitesse de croissance du champignon, on agite fréquemment les milieux de culture.

Après huit à dix jours, on estime que le développement du champignon est suffisant et que l'inoculum est prêt.

#### INFECTION

Les plants âgés de 6 mois à 1 an sont déterrés, soigneusement lavés, puis désinfectés avec une solution d'hypochlorite de calcium à 6 %. On les

rince et on pratique des blessures légères avec un scalpel sur les racines et au niveau du collet.

Les plants sont alors trempés dans l'inoculum dilué de moitié avec de l'eau stérile, puis repiqués dans des bacs en serre. On admet que la courte période d'exposition des racines à une suspension récente du champignon rend pratiquement négligeable un effet toxique des sécrétions produites pendant la croissance.

On infecte 126 plants par série disposés en deux bacs, ce chiffre étant imposé par la dimension des bacs. Pour chaque série, on disposait au début le même nombre de plants témoins qui subissaient les mêmes traitements que les plants infectés, mais qui étaient trempés dans l'eau distillée au lieu de l'être dans l'inoculum. En fait, la mortalité chez les témoins n'a jamais excédé 3%, très souvent 0%. On considère que les opérations qu'on leur fait subir ne leur causent aucun dommage.

Comme nous l'avons écrit, les arrosages sont conduits de façon à ce que la teneur en eau du sol soit maintenue à un taux supérieur à 10% après avoir laissé toutefois le temps à l'infection de se réaliser.

Les premiers symptômes de la maladie apparaissent un mois après l'infection et la mort survient au bout de deux à trois mois. En fait, ces délais subissent quelques variations suivant les variétés soumises au « test » et en pratique on laisse les plants six mois dans les bacs.

### Résultats

Quels ont été les résultats obtenus avec cette méthode ?

Les populations correspondant aux appellations courantes suivantes ont été soumises au test :

Kouilou du Bandama — *Coffea canephora* Pierre, var. *typica*. Origine : Côte d'Ivoire (rives du Bandama).

Kouilou « Touba » — *Coffea canephora* Pierre, var. *typica*. Origine : Côte d'Ivoire (régions des affluents du fleuve Sassandra).

Gamé — *Coffea canephora* Pierre, var. *typica*. Origine : Guinée.

Kouilou de Madagascar — *Coffea canephora* Pierre, var. *typica*, introduit de Madagascar en 1953. Originaire du Gabon.

Robusta Congo — *Coffea canephora* Pierre, var. *robusta*. Introduit au Congo ex-Belge en 1931. Origine : Congo ex-Belge.

Robusta Lulla — *Coffea canephora* Pierre, var. *robusta*. Introduit en Côte d'Ivoire en 1935. Origine : Congo ex-Belge.

Robusta INEAC — *Coffea canephora* Pierre, var. *robusta*, introduit du Congo ex-Belge en 1933.

Robusta « Kissidougou » — hybride supposé *robusta* x *typica*. Origine : Guinée.

Ebobo — *Coffea canephora* Pierre var. *robusta*, introduit du Congo ex-Belge vers 1914.

Excelsa — *Coffea excelsa* Chevalier. Introduit en Côte d'Ivoire en 1929.

Indénié — *Coffea abeokutae* Cramer. Origine : Côte d'Ivoire.

Nana — *Coffea canephora*, var. ? Origine : Oubangui.

Les chiffres que nous donnons ici ont déjà été publiés en 1955. De nombreuses séries expérimentales effectuées depuis ont donné pour les variétés les plus étudiées : Kouilou, Indénié, Robusta, des chiffres variant avec de faibles écarts.

Nous avons effectué plusieurs séries pour les caféiers de la Nana. Ce caféier présente un haut degré de résistance, à tout le moins à la souche de *Fusarium* de Côte d'Ivoire.

Nous portons par ailleurs ici les résultats de deux séries de greffes Kouilou/Robusta et Robusta/Kouilou, dont nous reparlerons à l'occasion du greffage considéré comme moyen de lutte contre la trachéomyose.

	Plants infectés	Plants morts	Sensibilité %
Kouilou « Touba » .....	126	103	80
Kouilou « Bandama » ...	126	118	93
Greffes Robusta INEAC/			
Kouilou .....	126	118	92
Gamé .....	126	117	92
Indénié .....	126	105	83
Excelsa .....	126	74	58
Robusta Lulla .....	126	72	57
Kouilou de Madagascar .	126	68	54
Canephora « Kissidougou »	126	64	51
Greffes Kouilou/Robusta			
INEAC .....	126	48	38
Robusta Congo .....	126	46	36
Robusta INEAC .....	126	44	35
Nana .....	126	47	33
Nana .....	126	37	29
Ebobo .....	126	25	20

Que penser de ces résultats ?

Etant donné qu'il s'agit de populations, ces chiffres n'ont qu'une valeur indicative. Pourtant nous avons pu ainsi étalonner une échelle de sensibilité et si nous donnons ici les chiffres originaux dans le souci de ne pas surcharger cet exposé, de nombreuses séries faites avec des populations sensibles, Kouilou, et résistantes, Robusta, sont toujours restées à l'intérieur des limites de l'écart type.

Le groupement remarquable des chiffres pour chaque type de population s'éclairera sans doute lorsqu'on connaîtra le facteur qui commande la

sensibilité ou la résistance. Ces résultats expérimentaux se recoupent bien en ce qui concerne les Robusta avec ceux obtenus au Congo Belge et ils confirment d'ailleurs dans les grandes lignes les faits observés dans la nature.

Les caféiers décimés par la maladie : Kouilou ou Indénié, ont succombé dans des proportions voisines. Les caféiers Robusta INEAC, Congo, ont accusé une résistance appréciable, mais on doit retenir qu'ils ne sont pas immuns. Le comportement du caféier Ebobo est remarquable. Il faut donc admettre que les conditions de l'infection ne sont pas aussi sévères dans la nature que celles auxquelles on soumet les caféiers expérimentalement. On doit considérer que les plants souffrent (alternance de sécheresse et d'humidité) et qu'on met en présence des blessures fraîches une quantité d'inoculum considérable.

Le taux de mortalité enregistré pour l'Excelsa nous a surpris et pourtant les planteurs ont bien observé que les représentants de cette variété se sont bien comportés et ont subsisté au point qu'ils envisagent souvent, de leur propre autorité, d'en replanter.

On sait qu'en Oubangui, par contre, les Excelsa ont pratiquement été détruits à 100 %.

On ne peut que faire des hypothèses pour expliquer ce phénomène. On a invoqué le dépaysement. En effet, la plupart des caféiers Excelsa cultivés en Côte d'Ivoire, originaires de l'Oubangui, ont été cultivés à Java d'où ils nous sont parvenus. La culture dans un milieu et sous un climat différents peut-elle modifier la sensibilité à la maladie ?

Nous savons maintenant par ailleurs qu'il existe des races physiologiques qui présentent un degré de virulence différent. SACCAS distingue trois races en Oubangui, en Côte d'Ivoire nous en avons caractérisé deux.

La sensibilité relative du Robusta Lulla ne nous a pas étonné outre mesure, car nous avons assez souvent trouvé parmi eux des cas de maladie en plein champ.

Le Canephora « Kissidougou », hybride supposé de Robusta et de Kouilou, se situe dans une zone intermédiaire.

Les caféiers de la Nana se sont montrés très résistants.

#### Méthodes d'infection par inoculum solide

A Boukoko, SACCAS a mis au point une méthode d'infection par inoculum solide. Voici comment il définit sa technique d'inoculation :

« La tige est tout d'abord nettoyée à l'aide de coton imbibé de formol à 3 % ou de bichlorure mercurique à 2 ‰, puis de coton imbibé d'eau dis-

tillée et stérile. Une blessure de 1 - 2 cm<sup>2</sup> de surface environ et qui atteint le cylindre central en profondeur est ouverte à 10 cm au-dessus du collet à l'aide d'un scalpel désinfecté. Après soulèvement de la languette d'écorce de bas en haut, l'inoculum, constitué par des cultures pures âgées de 8 à 10 jours, est déposé à la surface de la blessure. L'écorce est ensuite appliquée à nouveau sur la plaie. A ce niveau la tige est entourée de coton hydrophile imbibé d'eau stérile, puis d'un carton ondulé, l'ensemble étant maintenu par une ficelle. Quinze jours après l'inoculation, carton et coton sont enlevés et cette partie de la tige exposée à l'air libre. »

#### Etude comparée des deux méthodes

Afin de pouvoir comparer les résultats obtenus avec chacune des deux méthodes, nous avons infecté les variétés suivies à Bingerville suivant la méthode mise au point à la station de Boukoko.

On a utilisé au maximum pour chaque variété les plants disponibles en pépinière, ce qui explique que le nombre de plants infectés ne soit pas constant.

Voici les résultats. Nous rappelons dans la colonne de droite les chiffres obtenus par la méthode utilisée en Côte d'Ivoire.

Variétés	Inoculum solide			Trempage
	Plants infectés	Plants morts	Sensibilité %	Sensibilité %
Robusta Inéac	414	14	3,5	35
Kouilou « Bandama » .....	89	45	50,5	93
Kouilou « Toubouba » .....	233	100	43,3	80
Indénié .....	242	83	34,3	83
Excelsa .....	95	15	15,7	38
Nana .....	135	5	3,7	31,4

Nous voyons donc que la méthode d'infection par trempage est beaucoup plus brutale, donc plus probante dans la recherche de caféiers résistants, cependant que l'inoculation par dépôt d'inoculum solide présente l'avantage de pouvoir être appliquée à des arbres de tous les âges et se rapproche davantage des conditions naturelles d'infection.

Nous pensons en définitive que les deux méthodes sont utilisables et se complètent. Toutes les fois que cela est possible, nous utilisons le trempage de jeunes plants dans un inoculum liquide. Par contre, lorsque nous voulons évaluer le degré de résistance d'une population de caféiers en place, nous utilisons la méthode d'infection en pleine terre, en faisant toutefois la correction nécessaire en fonction de l'étalonnage que nous venons de présenter.

## RECHERCHE DE CAFÉIERS RÉSISTANTS A LA TRACHÉOMYCOSE

On sait qu'en première urgence, se basant sur des observations effectuées en plein champ et qui révélaient un caractère de résistance des caféiers Robusta INÉAC, on a multiplié cette population avec des moyens très importants, dans les pépinières du Service de l'Agriculture réparties dans le territoire, et on l'a largement distribuée aux planteurs.

On peut estimer à plus de 100.000 hectares les surfaces ainsi replantées et plantées depuis 1950.

Or, si le caractère de résistance de ces caféiers s'est trouvé confirmé et s'ils conviennent bien pour certaines régions, dans la région nord de la zone de culture caféière le Kouilou paraît mieux adapté. En effet, dans ces régions, l'hivernage se situe en août et septembre. La maturité des Kouilou se produit fin septembre et arrive à plein, courant octobre. La maturité des Robusta, plus tardive, survient au début de la saison sèche. Le déficit en eau se fait sentir. La plupart des grains sont creux ; ils sont envahis par le scolyte (*Stephanoderes hampei*) et en définitive ne parviennent pas à complète maturité. Ceci est valable essentiellement pour les cercles de Séguéla et Bouaké.

Même dans les régions qui conviennent mieux au Robusta, les planteurs assurent que la production du Kouilou est plus régulière alors que le Robusta donne une bonne récolte un an sur deux dans les conditions habituelles de culture extensive, sans apport de fumure notamment.

Le Kouilou est plus fruste, du fait de sa grande vigueur végétative, il ne nécessite qu'une taille d'éclaircissement. Sa robe retombante est très appréciée. Le Robusta, par contre, exige au minimum une taille de formation de bois fructifère, un étêtage, le pincement des rameaux. Enfin, il semblerait plus sensible au borer des rameaux (*Xyleborus morstatti*).

En un mot, le Kouilou originaire du pays est mieux adapté aux conditions de cultures actuelles. Par contre, le Robusta possède un grain plus gros, ce qui est important du point de vue commercial.

Par ailleurs, l'abandon des caféiers du type Indénié ne paraît pas souhaitable. En 1956, la Côte d'Ivoire n'a exporté que 500 tonnes d'Indénié. Il semble qu'il y ait possibilité d'un marché de 5.000 tonnes au moins pour satisfaire la demande des départements algériens et de certains pays scandinaves.

L'Indénié est particulièrement adapté à la culture africaine. Ce caféier vigoureux réclame le minimum de soins. Il fructifie sur le vieux bois ; seul un étêtage est nécessaire pour rendre la récolte plus facile.

Enfin les planteurs souhaitent généralement échelonner les opérations de cueillette. La culture simultanée du Kouilou, du Robusta et de l'Indénié permettrait d'étaler la production.

C'est donc pour cet ensemble de raisons qu'on a recherché des moyens qui permettent de maintenir la culture du Kouilou et de l'Indénié.

### Recherches concernant le Kouilou

Dès l'apparition de la maladie on s'est attaché à récolter des semences sur des caféiers du type Kouilou ayant survécu à la maladie. Les plants issus de ces graines étaient systématiquement infectés et toujours l'infection entraînait la mort des plants. Pourtant la descendance de deux arbres repérés dans la région de Daloa, seuls survivants d'une importante plantation, a été suivie avec la plus grande attention. Diverses circonstances (défrichage, établissement de nouvelles plantations) ont fait que ces arbres se trouvaient éloignés de tout autre caféier et étaient pratiquement isolés. Les plants issus de semences récoltées sur ces arbres ont été inoculés à plusieurs reprises et on n'a enregistré aucun cas de mortalité du fait de la trachéomyose. Ces plants ont été multipliés par bouturage et en définitive 12 clones ont été obtenus. Ces boutures ont été mises en place sur la station de Divo en juin 1959.

Voici la liste des clones et le nombre de boutures par clones :

Clone N°	Nombre de boutures
1	7
2	6
3	3
4	12
5	11
6	10
7	10
8	6
9	2
11	8
12	6
13	6

La reprise des boutures a été excellente et après un an il a été possible d'effectuer une petite récolte.

Voici d'ailleurs le schéma de travail qui a été mis au point par L. CORDIER, généticien du Centre :

« ESSAI DE CRÉATION D'UNE POPULATION A PARTIR D'ARBRES RÉSISTANTS A LA TRACHÉOMYCOSE.

#### Considération sur la méthode à employer

« Nous avons au départ un certain nombre de « caféiers qui ont résisté naturellement à la trachéomyose et à l'infection expérimentale. Comment peut-on obtenir, à partir de ces pieds-mères, une « population qui soit résistante à la trachéomyose,

« tout en ayant une productivité qui rende sa culture rentable ?

« On ne connaît pas grand'chose sur la transmissibilité du caractère « résistance à la trachéomycose ». Il faut donc que la méthode utilisée ne fasse aucune hypothèse sur ce mode de transmission, et même, si possible, qu'elle nous permette, dans une certaine mesure, d'en faire l'étude.

« De plus, à côté de la résistance à la trachéomycose, la sélection doit tendre, comme toujours, à améliorer la productivité de la population et tout cela dans les meilleurs délais.

« La méthode suivante nous semble la plus apte à satisfaire toutes ces conditions.

#### Principe de la méthode envisagée

« On réalise sur les pieds-mères des croisements du type « top-cross » dont les résultats nous renseignent sur la faculté de chacun de ces arbres à transmettre son caractère de résistance et nous permettent de déceler lesquels parmi eux sont susceptibles de donner à leur descendance le caractère « haute productivité ». Il ne reste plus ensuite qu'à croiser entre eux les pieds qui se sont révélés les meilleurs à ce double point de vue.

#### Réalisation

« Chacun des arbres mères est bouturé ; les différents clones sont plantés dans un champ isolé, mélangés (mais soigneusement repérés) de façon à pouvoir s'interféconder. C'est dans ce champ que vont se réaliser les « top-crosses », chaque clone étant pollinisé par la population de référence constituée par l'ensemble des autres clones.

« Les descendances « top-crosses » de chacun des clones sont récoltées séparément puis plantées dans un champ d'essai pour comparer leur résistance à la trachéomycose (avec infection expérimentale) et leur productivité.

« Le résultat de cet essai sera de nous indiquer quels sont les pieds-mères qui, intervenant dans un croisement, transmettent à la descendance hybride résistance et productivité.

« On supprime alors dans le champ polyclonal initial les clones indésirables :

« — s'il ne reste que deux clones jugés bons géniteurs, on a un champ semencier biclonal et le cycle de sélection est terminé.

« — s'il reste plus de deux clones, on a un premier champ semencier polyclonal, mais on peut pousser un peu plus loin la sélection et rechercher, en croisant ces clones deux à deux, quelle est la combinaison qui donne la meilleure descendance hybride.

« Cela peut se faire par la création de champs biclonaux, ou par pollinisation artificielle (cette

« méthode étant plus simple s'il y a un grand nombre de croisements à réaliser). Les descendances de ces croisements sont comparées comme tout à l'heure au point de vue résistance et productivité ; le croisement donnant la meilleure descendance sera reproduit à grande échelle dans un champ semencier biclonal. »

#### Recherches concernant l'Indénié

Une prospection a été effectuée en 1956 dans les régions d'Abidjan, Aboisso, Gagnoa, Soubré et Daloa sur l'emplacement d'anciennes plantations ayant pratiquement disparu du fait de la maladie.

Soixante-treize arbres ont été retenus pour leur vigueur et leur productivité. Ils ont été multipliés par bouturage. Malheureusement le bouturage des caféiers Abeokutae présente de grosses difficultés. Alors que pour les Canephora les pourcentages de réussite sont élevés, il n'en est pas de même pour les Indénié. Le pourcentage d'enracinement a atteint 50 %, mais les pertes dues au durcissement sont considérables. Il a été possible de sauver en définitive soixante-quatorze plants représentant vingt-sept clones.

En voici la liste :

N° du Clone	Origine	Nombre de boutures
32 ....	SPROA - GAGNOA	5
8 ....	SPROA - LAKOTA	1
9 ....	»	1
31 ....	SPROA - BOUAFLE	1
30 ....	SPROA - BOUAFLE	1
29 ....	SPROA - BINZRA	1
28 ....	E. Nene - ABOISSO	2
17 ....	SPAO - ELOKA	1
38 ....	Pelca - ABIDJAN	1
40 ....	»	1
71 ....	J. Rose - Ile BOULAY	9
64 ....	»	3
70 ....	»	4
74 ....	»	5
75 ....	»	3
61 ....	Diot - SASSANDRA	1
48 ....	Comtant - ABIDJAN	4
49 ....	»	3
11 ....	Koffi Konian - DIVO	2
53 ....	Arnaud - GAGNOA	2
54 ....	»	9
56 ....	Elie - SOUBRE	2
57 ....	»	6
66 ....	Route - ABIDJAN-BINGERVILLE	3
67 ....	»	1
51 ....	Jacquelin - GAGNOA	1
4 ....	Singer - GAGNOA	1

Ces clones ont été mis en place en champ isolé sur la station de Divo en juin 1959. Ils ont été inoculés à deux reprises en 1960.

A ce jour, aucune mortalité n'a été observée.

# RECHERCHE D'UNE ACTION ÉVENTUELLE DE L'ACIDE CHLOROGÉNIQUE DANS LA RÉSISTANCE DES CAFÉIERS A LA TRACHÉOMYCOSE

Nous venons de voir que l'infection expérimentale a permis de préciser la résistance des caféiers *Canephora Robusta* (INÉAC, Congo, Ebobo) et la sensibilité des caféiers originaires de la Côte d'Ivoire. Néanmoins cette méthode est longue. Il faut attendre plusieurs mois avant d'obtenir une réponse définitive. Nous avons tenté de mettre au point une technique plus rapide. On sait que la phyto-pathologie s'oriente de plus en plus vers des recherches d'ordre biochimique. Plus précisément, on admet que les processus d'infection et de résistance sont reflétés par le métabolisme de l'hôte. Le succès ou l'échec de l'établissement du parasite dépend grandement du métabolisme des deux organismes en présence. Le mécanisme de défense est de nature enzymatique.

Prenons un exemple. Dans le cas du mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans*) une substance brune est produite dans les zones nécrotiques du tubercule. Cette coloration est due à des produits d'oxydation des composés phénoliques par les phénolases contenues dans les tissus. La réaction est plus rapide pour les variétés résistantes que pour les variétés sensibles. Il y a chez les premières accroissement de l'activité des polyphénolases.

On note de même dans le cas de la patate douce un accroissement de l'activité diastasique et notamment des polyphénoloxydases. Il s'ensuit que les polyphénols (acides chlorogénique et caféique) s'accumulent autour des points d'infection parallèlement à l'accroissement de l'activité respiratoire.

Nous nous sommes demandé si un phénomène analogue ne pouvait être noté chez le caféier, et avons tenté de mettre en évidence une corrélation entre la résistance au *Fusarium* et des teneurs plus élevées en acide chlorogénique.

Une expérience portant sur le greffage nous avait conduit à pressentir l'existence d'un tel mécanisme de défense chez le caféier.

Quarante greffes Kouilou-sensible/*Robusta* INÉAC résistant ont été effectuées. Les plants n'ont pas été sevrés et on avait en somme 40 plants Kouilou et 40 plants *Robusta* accolés. Ces plants doubles ont été infectés par trempage. On a obtenu les résultats suivants :

Nombre de greffes infectées	Plants morts	Sensibilité %
40 greffes } 40 Kouilou	32 Kouilou	80 %
40 Robusta	9 Robusta	22,5 %

Donc pour 23 greffes, bien que le plant Kouilou soit mort, le plant *Robusta* est resté en vie et cela malgré les communications vasculaires nécessairement établies au niveau de la greffe.

Dans une première approche du problème, nous avons dosé l'acide chlorogénique dans les tissus de caféiers résistants (*Robusta*) et sensibles (Kouilou).

Après préparation d'extraits alcooliques on a dosé l'acide chlorogénique par deux méthodes :

a) Chromatographie descendante sur papier, révélation aux rayons ultra-violet et dosage au spectrophotomètre Beckmann.

b) Application du réactif d'Arnou et dosage à l'électrophotomètre de Meunier.

## PRÉPARATION DES EXTRAITS ALCOOLIQUES

Les tissus étudiés étaient mis à macérer dans de l'éthanol 95° pendant 24 heures (50 g de matière fraîche dans 200 ml d'alcool). Après avoir procédé à un broyage au «Turmix» et à 3 lavages successifs on obtenait de l'ordre de 600 à 800 ml de solution.

Après filtration, l'extrait était concentré sous vide jusqu'à un volume allant de 25 à 50 ml. On purifiait alors le jus obtenu par filtration et centrifugation. Dans le cas des tissus contenant de la chlorophylle on éliminait le corps par séparation au benzène.

## DOSAGE DE L'ACIDE CHLOROGÉNIQUE

A partir de cet extrait concentré on a procédé au dosage par les deux méthodes suivantes :

### 1) Chromatographie descendante sur papier

Solvant utilisé : butanol acétique

— butanol .....	40
— acide acétique .....	10
— eau .....	20

On déposait 300 ml de l'extrait en ligne sur du papier Whatman n° 1 et par ailleurs 50 ml d'acide chlorogénique pur «Fluka» comme témoin. Après révélation aux ultra-violets, on éluait dans 10 ml d'éthanol 70° et on dosait au spectrophotomètre Beckmann à la longueur d'onde de 324 m $\mu$ .



### Etablissement de la courbe de référence.

Concentration en acide chlorogénique γ/ml	lecture
2	0,98
4	0,165
8	0,310
12	0,500
16	0,615

### 2) Dosage par le réactif d'Arnou

Le réactif d'Arnou est spécifique des orthodiphénols.

A un millilitre d'extrait alcoolique on ajoute les réactifs suivants :

1 ml	HCl 0,5 N
1 ml	réactif d'Arnou
10 ml	eau distillée
2 ml	NaOH

Composition du réactif d'Arnou :

NO <sub>2</sub> Na	10 g
MoO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub>	10 g
Eau	100 ml

Trente secondes après l'addition de l'alcali une coloration rose se développe et la lecture est faite à l'électrophotomètre de Meunier muni d'un filtre de 515 mμ.

### Etablissement de la courbe de référence.

Concentration en acide chlorogénique γ/ml	Lecture
0	17
250	57
500	93
1.000	150
2.000	250

Les chiffres obtenus avec cette méthode sont plus élevés, car le réactif d'Arnou mesure outre l'acide chlorogénique les autres orthodiphénols.

### Dosages

Nous avons procédé au dosage de l'acide chlorogénique pour les deux variétés Robusta-résistant et Kouilou-sensible dans les tissus suivants :

- écorce et bois de tige
- écorce et bois de racine
- feuilles.

De plus, nous avons dosé ce corps dans les tiges et racines de jeunes plants (ensemble de tissus) et dans la sève recueillie aseptiquement des deux variétés.

RÉSULTATS EXPRIMÉS EN MG POUR 100 G DE MATIÈRE FRAICHE

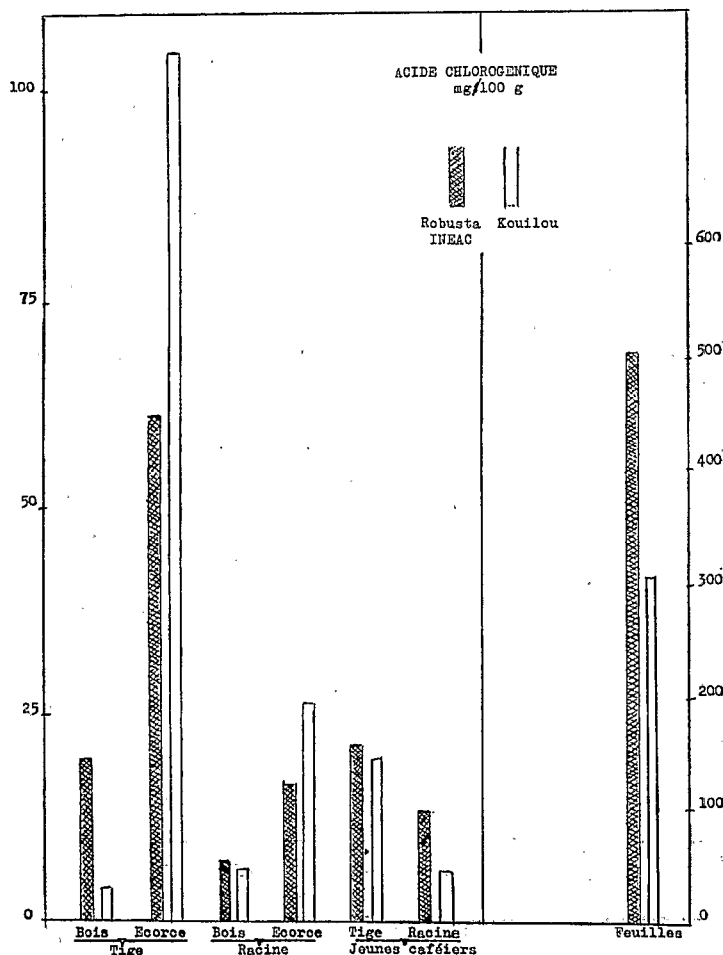
(Moyenne de deux dosages)

	Chromatographie	Arnou
Ecorce tige Kouilou .....	105,3	160,0
" " Robusta INEAC .....	61,3	96,0
Bois tige Kouilou .....	4,5	8,5
" " Robusta INEAC .....	20,0	22,5

Ecorce racine Kouilou .....	27,0	72,0
" " Robusta INEAC .....	16,6	48,0
Bois racine Kouilou .....	6,2	6,6
" " Robusta INEAC .....	7,5	8,2
Feuilles Kouilou .....	324,0	620,0
" " Robusta INEAC .....	512,0	744,0
Tige jeune Kouilou .....	19,9	21,6
" " Robusta INEAC .....	21,9	22,4
Racine jeune Kouilou .....	6,8	9,7
" " Robusta INEAC .....	14,1	19,5
Robusta Ebobo .....		
Ecorce tige .....	140,6	197,6
Bois tige .....	13,0	17,0
Ecorce racine .....	24,4	38,0
Bois racine .....	22,5	25,7
Sève Kouilou .....	0,62	0,83
" Robusta INEAC .....	0,60	0,76

### Teneurs suivant les organes

Ces résultats montrent les très fortes teneurs des feuilles. L'écorce de la tige en contient des quantités considérables. Le bois de tige et de racine, l'écorce de racine ont des teneurs qui n'excèdent pas 30 mg cependant que la sève n'en contient que des traces.



### Teneurs suivant les variétés

Les teneurs des écorces en acide chlorogénique sont plus fortes dans le cas du Kouilou cependant que le bois de tige de Robusta INÉAC présente une teneur 5 fois supérieure à celle du Kouilou.

Ces chiffres confirment les premiers résultats que nous avons obtenus en 1958 et il semble qu'on puisse parler d'une corrélation positive entre la résistance et la teneur en acide chlorogénique du bois de la tige.

On sait que dans le cas de la trachéomycose du caféier, l'infection se fait au niveau du bois et que la présence d'une blessure à travers l'écorce est nécessaire. On peut donc admettre que la teneur plus élevée en acide chlorogénique à ce niveau chez les plants résistants est liée à un mécanisme de défense tel que nous l'avons défini plus haut.

Contrairement aux résultats obtenus par infection expérimentale, le Robusta Ebobo a une teneur moindre que le Robusta INÉAC.

En ce qui concerne les jeunes plants, les teneurs des tiges sont très voisines. Cela n'infirme pas notre hypothèse.

En effet, on sait que la trachéomycose ne se ma-

nifeste pas sur jeunes plants et qu'elle n'apparaît que lors des premières fructifications.

Il est intéressant de constater que les teneurs des feuilles varient dans le même sens que les teneurs du bois de tige. Ceci pourrait présenter un intérêt pratique, car la préparation des échantillons de feuilles est plus aisée et plus rapide, encore qu'elle nécessite l'élimination de la chlorophylle.

### CONCLUSION

Les travaux portant sur l'infection expérimentale ont permis, comme on l'a vu, de déterminer les différents degrés de résistance à la trachéomycose des variétés de caféiers cultivées en Côte d'Ivoire.

La poursuite des études sur la teneur en acide chlorogénique dans les tissus de caféier devrait conduire à mettre au point une méthode plus rapide d'estimation de la résistance. Ceci permettrait de retenir ou d'éliminer les clones reconnus intéressants par le généticien.



Phyft

**CAFÉ  
CACAO  
THÉ**

Extrait du n° 1  
Janvier-Mars 1961

**CONTRIBUTION AUX RECHERCHES  
SUR LA TRACHÉOMYCOSE  
DU CAFÉIER EN CÔTE D'IVOIRE**

par Marcel MEIFFREN,  
*Chef de la Division de Défense des Cultures  
de l'I. F. C. G. en Côte d'Ivoire*

**O. R. S. T. O. M.**  
**Collection de Référence**

n° 1765, ex 1

3 NOV. 1967