

INCIDENCE POTENTIELLE DES BIOFONGICIDES À BASE DE *TRICHODERMA* SPP., SUR L'EXPRESSION DE LA FLORAISON ET DE LA QUALITÉ DES FÈVES DU CACAOYER EN CÔTE D'IVOIRE.

Mpika J.

Station de recherche sur l'Hévéa Bimbresso,
Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Abidjan

Kébé B.I.

Station de recherche sur le cacaoyer, CNRA, Divo, Côte d'Ivoire

Irié B.Z.

Station de recherche technologique, CNRA, Abidjan

Nguessan K. F.

Station de recherche sur le cacaoyer, CNRA, Divo, Côte d'Ivoire

Issali A.E

Station de recherche sur le cocotier,
Port Bouët Marc Delorme, CNRA, Abidjan, Côte d'Ivoire

Druzhinina I.S.

Komon-ZelazowskaM.

Kubicek C. P.

Institute of Chemical Engineering,
Research Area Gene Technology and Applied Biochemistry,
Vienna University of Technology, Getreidemark, Vienna

Aké S.

Laboratoire de Physiologie végétale, UFR Biosciences, Université
Felix Houphouët Boigny d'Abidjan Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

Abstracts

In Côte d'Ivoire, the control against black pod disease caused by *Phytophthora* spp. is envisaged using biofungicides based *Trichoderma*. This study was performed to verify the safety of these biofungicides on flowering cocoa, fruit set and fruit development and assess their impact on the physicochemical properties of the quality of commercial cocoa beans. Formulations of *T. virens* T7, *T. asperellum* T54, *T. spirale* T4 and *T. harzianum* T40 were sprayed on flowers and pods of cocoa 25 randomly

drawn from a population of 100 treated trees by species. The blooming flowers, rickety, fallen and then fallen rickety were counted on 10 active flower cushions per tree. The beans from the pods treated with *Trichoderma*, pH, total acidity, the content of fat, the acid number of the fat, the index of the red color and graining were measured after fermenting and drying cocoa. The results show that applications on cocoa trees of the four species of *Trichoderma* had no depressing effect on flowering cocoa, fruit set and falling knotted flowers. These applications have improved holding flowers tied treated trees. Biofungicides based *T. virens* T7, *T. asperellum* T54, *T. spirale* T4 and *T. harzianum* T40 sprayed on the pods had no influence on the chemical quality of cocoa beans. Cocoa beans from trees treated with *T. harzianum* show a slight increase in the graining.

Keywords: Cacao tree, biofungicides, *Trichoderma*, quality, cocoa beans, flowering, black pod disease, Côte d'Ivoire

Résumé

En Côte d'Ivoire, la lutte contre la pourriture brune des cabosses due à *Phytophthora* spp. est envisagée en utilisant les biofungicides à base de *Trichoderma*. Cette étude a été réalisée pour vérifier l'innocuité de ces biofungicides sur la floraison du cacaoyer, la nouaison et le développement des fruits, puis évaluer leur impact sur les propriétés physico-chimiques de la qualité des fèves de cacao marchand. Des formulations de *T. virens* T7, *T. asperellum* T54, *T. spirale* T4 et *T. harzianum* T40 ont été pulvérisées sur les fleurs et les cabosses de 25 cacaoyers tirés au hasard sur une population de 100 arbres traités par espèce. Les fleurs épanouies, nouées, chutées puis nouées et chutées ont été dénombrées sur 10 coussinets floraux actifs par arbre. Sur les fèves issues des cabosses traitées par *Trichoderma*, le pH, l'acidité totale, la teneur de la matière grasse, l'indice d'acidité de la matière grasse, l'indice de la couleur rouge et le grainage ont été mesurés après la fermentation et le séchage de cacao. Les résultats montrent que les applications sur les cacaoyers des quatre espèces de *Trichoderma* n'ont eu aucun effet dépressif sur la floraison de cacaoyer, la nouaison et la chute des fleurs nouées. Ces applications ont amélioré la tenue des fleurs nouées des arbres traités. Les biofungicides à base de *T. virens* T7, *T. asperellum* T54, *T. spirale* T4 et *T. harzianum* T40 pulvérisées sur les cabosses n'ont pas eu d'influence sur la qualité chimique des fèves de cacao. Les fèves de cacao issues des arbres traités par *T. harzianum* révèlent une légère augmentation du grainage.

Mots clés : cacaoyer, biofungicide, *Trichoderma*, qualité, fèves de cacao, biologie florale, pourriture brune, Côte d'Ivoire

Introduction

Le cacaoyer est une plante pérenne originaire des forêts tropicales humides d'Amérique. Il appartient à la famille des Malvacées (Guyot, 1992), et au genre *Theobroma*. Il est cultivé pour ses fèves utilisées pour la fabrication du chocolat. La production mondiale des fèves de cacao a été estimée à près de 3 758 000 T en 2009. Soixante-dix pourcent de cette production proviennent essentiellement de la Côte d'Ivoire et du Ghana, en Afrique l'Ouest (Anonyme, 2009 ; Lass, 2004). La Côte d'Ivoire est de loin le premier producteur mondial de cacao avec une production annuelle de 1 407 800 T (Anonyme, 2009). Néanmoins, la cacao-culture ivoirienne est soumise à une forte pression parasitaire due aux maladies et aux ravageurs. La pourriture brune des cabosses est la plus importante maladie affectant le cacao en Côte d'Ivoire (Belin et Bonaventure, 1961 ; Babacauch, 1980, Kébé *et al.*, 1996 ; Kébé, 1999). Au niveau mondial, elle engendre des pertes de production de l'ordre de 30 % (Lass, 1985). Deux espèces de *Phytophthora* sont à l'origine de la maladie. La première, *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. (Pythiaceae) est la plus cosmopolite. Elle sévit dans tous les pays producteurs de cacao, causant des pertes de l'ordre de 20 à 30 %. La seconde, *Phytophthora megakarya* Brasier & M. J. Griffin (Pythiaceae) endémique en Afrique Centrale et de l'Ouest, est l'espèce la plus agressive. Ce pathogène peut engendrer dans certains pays, la perte de la totalité de la production de cacao (Flood 2006). En Côte d'Ivoire, depuis l'apparition de *P. megakarya* dans le secteur Est du verger, vers la fin des années 1990, la pourriture brune des cabosses prend de plus en plus d'ampleur (Koné, 1999 ; Kouamé, 2006). Dans ce secteur, les pertes de production sont passées d'une moyenne de 10 % à 45 % (Kébé *et al.*, 1996 ; Kébé, 1999). Ainsi, la lutte contre la pourriture brune des cabosses en Côte d'Ivoire devient une priorité. Généralement, la stratégie de lutte contre la pourriture brune intègre les mesures agronomiques utilisées seules ou parfois en association avec la lutte chimique, la lutte génétique et la lutte biologique. Concernant cette dernière, les antagonistes naturels du *Phytophthora* spp. ont été éprouvés dans les conditions d'infection naturelle. Il a été montré que les isolats *T. asperellum* T54, *T. vires* T7 et *T. spirale* T4 ont assuré une réduction significative de l'évolution de l'épidémie (Mpika, 2010). Ils ont réduit de manière significative le taux de pourriture due à *Phytophthora*. Ces espèces ont permis l'enregistrement des indices d'efficacité variant de 79 %, pour *T. asperellum*, à 42 % pour *T. spirale* (Mpika *et al.*, 2011). Néanmoins, l'efficacité des antagonistes dépend de la prolifération et de la conservation de leurs spores introduites dans le sol sous cacaoyer, sur les cabosses et sous les coussinets floraux (Holmes *et al.*, 2007 ; Krauss et Soberanis, 2002 ; Sanogo *et al.*, 2002). Ces derniers organes constituent la source d'inoculum et de conservation la plus efficace

de *P. palmivora* (Tarjot, 1973 ; Babacauch, 1980). En plus, les coussinets floraux sont les sites de la floraison et, partant, de la fructification. Les effets des biofongicides sur la floraison, la nouaison et la fructification sont mal connus. En effet, le comportement mycoparasitaire de *Trichoderma* spp., vis-à-vis de *Phytophthora* spp., suscite des interrogations relativement à la productivité du cacaoyer. L'amélioration de la production des cabosses résulterait-elle de la réduction de l'inoculum primaire et secondaire de *Phytophthora* spp ? (Krauss et Soberanis, 2001). Cet effet bénéfique découlerait-elle aussi d'une floraison améliorée du cacaoyer ? (Deberdt *et al.*2007). Ainsi, nous avons postulé que l'établissement et la persistance des spores de *Trichoderma* sur les coussinets floraux ne serait pas nuisible sur la floraison et la fructification du cacaoyer. Aussi, la survie des propagules de *Trichoderma* sur les cabosses n'influerait pas sur la qualité des fèves de cacao.

L'objectif de la présente étude est de vérifier, d'une part, l'innocuité des applications de la biomasse des biofongicides issus de quatre isolats de *Trichoderma* sur la floraison, la nouaison et le développement des fruits et d'autre part, d'évaluer leur impact sur les paramètres physiques et chimiques de la qualité des fèves de cacao marchand.

Matériel et Méthodes

Site de l'expérimentation

La station expérimentale de Bingerville (5.21 N, 3.54 W) est située à environ 25 Km, au Nord –Est d'Abidjan. Durant les deux années d'essai, une température maximale de 31,6 °C, une température minimale de 21,9 °C avec une moyenne de 26 °C et une humidité relative de 83,45 % ont été enregistrées journalièrement. Ce site expérimental est caractérisé par un climat subtropical humide à 2 saisons de pluies (grande saison d'avril à juillet et petite saison pluies d'octobre à novembre) et 2 saisons sèches (grande saison sèche de décembre à Mars et petite saison sèche d'août à septembre) (Eldin, 1971 ; BDPA, 1978). Les variations pluviométriques ont été observées pendant les 2 années d'expérimentation. Les données relatives aux températures maximales et minimales ainsi que celles de l'humidité relative ont aussi été enregistrées.

Matériel

Il s'agit essentiellement de matériel biologique, constitué du cacaoyer et de souches de *Trichoderma*. Concernant le matériel végétal, il est constitué d'hybrides de cacaoyer issus d'un plan de croisements factoriel 4 x 2 entre les géniteurs femelles PA13, P19A, PA121 et ICS89 et mâles IMC67 et PA150. Les fleurs, cabosses et fèves obtenues à partir de ces hybrides ont été utilisées. Tous les parents appartiennent au groupe des

Haut-amazoniens, excepté ICS89, qui est un Trinitario. Ces hybrides ont été évalués dans un essai installé à Bingerville dans la parcelle expérimentale C2/1 du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA). La parcelle a été plantée en 1988 dans le but initial d'apprécier l'aptitude à la combinaison de clones génétiquement éloignés. Ainsi, 28 familles ont été expérimentées dont deux témoins. Trente arbres ont été utilisés par descendance. Ces arbres ont été plantés en randomisation totale dans trois blocs, suivant une densité de 1333 pieds/ha.

Pour le matériel fongique, les isolats de *Trichoderma* T7 (*T. virens*), T40 (*T. harzianum*), T54 (*T. asperellum*) et T4 (*T. spirale*) utilisés dans cette étude ont été obtenus à partir des fragments de cortex de cabosses infectés par *P. palmivora* enfouis dans des échantillons de sol. Ces isolats ont été retenus sur 57, en raison de la forte action inhibitrice sur la vitesse de croissance mycélienne de *P. palmivora* en culture mixte, du renforcement de la résistance intrinsèque du matériel végétal et de l'efficacité au champ dans la lutte contre la pourriture brune des cabosses du cacaoyer (Mpika *et al.* 2009 ; Mpika *et al.* 2011).

Evaluation de l'effet des traitements sur la biologie florale du cacaoyer

L'influence de *Trichoderma* a été étudiée sur les fleurs de 25 cacaoyers tirés au hasard sur une population de 100 arbres traités par un isolat donné. Sur un cacaoyer, un secteur d'un mètre a été délimité sur le tronc. La partie du tronc de l'arbre ainsi délimitée, 10 coussinets floraux actifs portant au moins 20 boutons floraux ont été repérés et marqués. Le marquage a été réalisé avec les étiquettes numérotées. Par cacaoyer, les observations hebdomadaires ont été effectuées sur dix coussinets floraux numérotés. Elles ont consisté à dénombrer sur chaque coussinet floral les fleurs épanouies, nouées et des fleurs nouées perdues (ou chutées) des cacaoyers traités avec quatre isolats de *Trichoderma* sp. Le dénombrement a débuté après 3 applications de *Trichoderma*, afin de s'assurer que toutes fleurs ont reçu la biomasse issue de la fermentation liquide. Le dénombrement des fleurs a pris fin à 1 mois après la dernière application.

Pour les fleurs épanouies, le cumul des données de 25 arbres a permis d'établir le taux de floraison. La comparaison des taux calculés entre les traitements et par rapport au témoin a permis d'évaluer l'impact des isolats de *Trichoderma* sur la floraison du cacaoyer.

Pour mesurer l'impact d'un isolat de *Trichoderma* sur les nouaisons, les fleurs nouées (stade ovaire gonflé) ont été dénombrées pour chaque isolat de *Trichoderma*. Le taux des nouaisons a été exprimé en pourcentage par rapport au nombre de fleurs épanouies comptées. La comparaison des taux obtenus entre les espèces et aussi par rapport au témoin a permis

d'évaluer l'impact en milieu réel des isolats de *Trichoderma* sur la nouaison florale du cacaoyer traité.

Les fleurs nouées perdues (ou chutées) ont été dénombrées pour chaque coussinet floral d'un arbre et d'un isolat de *Trichoderma* donné. Les valeurs obtenues ont permis de déduire le taux de fleurs wiltées. Il s'exprime en pourcentage par rapport au nombre de fleurs nouées dénombrés. La comparaison des taux calculés entre les espèces de *Trichoderma* et aussi par rapport au témoin a permis d'évaluer l'impact des traitements sur les fleurs nouées perdues et par conséquent sur la production du cacaoyer.

Evaluation de l'effet des applications des espèces de *Trichoderma* sur la qualité des fèves de cacao et variables mesurées

L'effet des applications des 4 isolats de *Trichoderma* sur la qualité des fèves de cacao a été testé sur les cabosses de 25 arbres tirés au hasard sur une population de 100 cacaoyers traités. Sur les 25 arbres, les cabosses saines mûres ont été récoltées sur les coussinets floraux préalablement repérés et marqués, comme dans l'étude de l'impact des traitements sur la biologie florale précédemment décrite. Une cabosse récoltée a été traitée de l'état cherelle (1 semaine) jusqu'à l'état mature (4 à 5 mois). Sur un cacaoyer, deux cabosses ont été récoltées soit une cinquantaine de cabosses par espèce de *Trichoderma*. Après l'écabossage, les fèves fraîches issues des cabosses d'un isolat de *Trichoderma* ont été mélangées dans un cristalliseur afin de constituer un échantillon unique. Ensuite, cet échantillon a été réparti en 2 lots de 1,2 kg des fèves fraîches. Les deux lots, ainsi constitués, ont été enfermés ou isolés dans deux filets puis mis dans deux bacs ou caisses à fermentation au sein d'une masse de fèves tout venant. Ces 2 lots ont été traités selon la technique de micro-fermentation (Challot, 1977). Les fèves issues des cabosses d'arbres non traités ont été aussi fermentées. Elles constituaient le témoin.

Après 6 j de fermentation, les fèves de cacao ont été retirées des caisses de fermentation et séchées au soleil sur des claies pendant 8 jours. Les paramètres physiques et chimiques de la qualité de cacao marchand ont été analysés sur les fèves fermentées et séchées. Les analyses ont porté sur le grainage, l'indice de couleur, l'acidité totale, la teneur en beurre ou matière grasse et l'acidité de la matière grasse. L'effet des isolats de *Trichoderma* vis-à-vis de la qualité de fèves a été évalué en comparant, entre elles, les valeurs de chaque paramètre, correspondant aux différents traitements. Six répétitions ont été réalisées pour chaque traitement testé.

Le grainage a été exprimé en nombre de fèves pour 100 g de cacao. Pour la détermination du grainage, 100 fèves entières ont été prélevées au hasard puis pesées. La masse obtenue est, par une règle de trois, convertie en nombre de fèves pour 100 g.

Toutes les analyses chimiques ont été réalisées sur la poudre de cacao obtenue à partir des fèves ayant servi à la détermination du grainage. Les fèves décortiquées et placées au congélateur à - 21° C ont été broyées au mixeur. La congélation a eu pour but de faciliter le broyage. En effet, le cacao étant riche en matière grasse, la congélation empêche l'obtention d'une pâte due à l'échauffement lors du broyage. Le broyat a été passé au tamis de 500 µm de maille et le tamisat obtenu a été utilisé pour les différentes analyses chimiques.

Pour mesurer le potentiel d'Hydrogène (pH) du cacao, 10 g de poudre de cacao ont été mis en suspension dans 90 ml d'eau distillée. Après 1 h d'agitation sur un agitateur rotatif, le mélange homogénéisé a été transféré dans un bûcher. Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (EUTECH Instruments modèle Ion 510). L'appareil a été calibré avec des solutions étalon.

L'acidité libre, également exprimée en acidité de Zeller des fèves de cacao, a été déterminée par titrage d'un extrait aqueux de fèves, avec de la soude selon la méthode classique n° 9 de l'Organisation Internationale du Café et Cacao adoptée en 1963. Ainsi, 5 g de poudre de cacao ont été mis en suspension dans 50 ml d'eau distillée, bouillie et refroidie. Après 1 h d'agitation, l'acidité libre a été dosée dans la suspension avec NaOH N/10 jusqu'à pH 8,3. Les résultats ont été exprimés en ml de NaOH N/10 nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans 1 g de poudre de cacao ou en meq de NaOH par gramme de poudre de cacao.

La formule de calcul utilisée est :

Acidité libre = $(V * N) / P$. E. meq/g, où V : Volume de NaOH versé ; N : Normalité de la solution de NaOH ; P. E : prise d'essai (en g)

Le coefficient de Zeller permet de calculer l'acidité totale qui est la somme des acides hydrosolubles, des acides gras lessivés et des acides salifiés :

Acidité totale = Acidité libre * (1/ 0,5782) ml

Quant à la teneur en beurre, elle a été déterminée par la quantité de matière grasse extraite des échantillons. Ainsi, 6 g de poudre de cacao ont été pesés et mis dans une cartouche d'extraction de WHATMAN préalablement tarée. La cartouche a été placée dans un extracteur Soxhlet monté sur un ballon de 500 ml contenant 450 ml d'éther de pétrole. L'extraction de la matière grasse a été faite au Soxhlet pendant 8 h avec de l'éther de pétrole qui sert de solvant. A la fin de l'extraction, le solvant a été évaporé à l'évaporateur rotatif (50 ° C). La matière grasse contenue dans le ballon a été séchée dans une étuve ventilée à 105 °C pendant 1 h, puis pesée

pour l'estimation de la teneur (T) en beurre du cacao. Celle-ci a été calculée en utilisant la formule :

Teneur (T) = $100 * (M_p - M_v) / M$, où M_v : masse du ballon extraction vide ; M_p : masse du ballon contenant la matière grasse ; M : masse de la poudre de cacao.

L'indice d'acide de la matière a été déterminé par titrage d'une solution de la matière grasse dans un solvant (éthanol /éther), avec de la potasse alcoolique en présence de bleu alcalin. La matière grasse extraite a été dissoute dans environ 150 ml de solvant (éthanol + éther diéthylique), puis 1 à 2 ml de bleu alcalin (indicateur coloré) ont été ajoutés dans la solution. La solution obtenue a été titrée par la potasse alcoolique. L'indice d'acidité est le nombre de milligrammes de potasse utilisés pour neutraliser 1 g de matière grasse. Il est convertible en acidité (oléique), taux d'acides gras libres exprimé en pourcent d'acide oléique.

L'expression de l'indice d'acide est :

Indice d'acide = $(V_{KOH} * N_{KOH} * 56,1) / P_{MG}$, où V_{KOH} : volume de la potasse alcoolique versé en ml ; N_{KOH} : normalité de la potasse alcoolique ; P_{MG} : masse de matière grasse extraite en mg ; 56,1: masse moléculaire de KOH.

Quant à l'indice de la couleur rouge du cacao, il a été estimé par spectrophotométrie. La poudre obtenue après broyage des échantillons décortiqués et congelés a été délipidée et séchée dans un dessiccateur, sous vide pendant 24 h afin d'éliminer la totalité du solvant. La délipidation a été faite par la méthode d'extraction de SOXHLET décrite précédemment mais dont la durée a été de 4 h. Ainsi, 5 g de poudre de cacao délipidée ont été extraits sous agitation magnétique pendant 45 min à 0 °C par 50 ml de méthanol acidifié (MeOH-HCL 12 N 1^{0/00}). Le mélange de solvant utilisé a permis d'extraire la matière colorante rouge des fèves de cacao. Après 45 min d'extraction, le mélange a été filtré sur papier. Quatre ml du filtrat ou de la solution a été mis dans une fiole de 25 ml puis ajustés en volume avec du méthanol acidifié (MeOH-HCL 12 N 1^{0/00}) jusqu'au trait de jauge. La densité optique mesurée aux longueurs d'onde de 460 nm et 525 nm a permis de calculer R.

$$R = DO_{460} / DO_{525}$$

Analyses statistiques

Quatre variables ont été mesurées sur chaque arbre incluant le témoin non traité. Ce sont : le taux des fleurs épanouies, le nombre moyen des fleurs chutées, fleurs nouées et fleurs nouées chutées. Les logiciels Xlstat version 7.5.3 et SPSS version 12.0.1 ont été utilisés pour toutes les analyses statistiques. Concernant l'effet de 4 isolats de *Trichoderma* sur la floraison, en vue de normaliser les distributions et égaliser les variances,

toutes ces variables ont subi une transformation racine carrée. Les variations annuelles des fleurs épanouies, chutées, nouées ainsi que les fleurs nouées chutées observées ont permis de les structurer en mois. L'effet de 4 isolats *Trichoderma* a été comparé par en utilisant la moyenne des quatre variables étudiées. De même, sur la qualité des fèves de cacao, les comparaisons des moyennes via l'ANOVA ont porté sur les paramètres physiques et chimiques après vérification de la normalité des distributions et l'homogénéité des variances.

Résultats

Effet des applications de quatre espèces de *Trichoderma sp.* sur la floraison du cacaoyer

Le nombre de fleurs épanouies, celui de fleurs chutées ainsi que celui des fleurs nouées puis chutées ont été discriminants pour structurer les variantes du facteur année en classes distinctes. Ainsi, deux groupes homogènes ont été observés. Le premier, constitué de l'année 1, a été caractérisé par un nombre élevé de fleurs épanouies, de fleurs chutées ainsi que celui de fleurs nouées puis chutées. Le second, composé de l'année 2, s'est singularisé par un nombre réduit de fleurs épanouies, de fleurs chutées ainsi que celui de fleurs nouées puis chutées. A l'opposé, le nombre de fleurs nouées n'a pas été discriminant. En conséquence, un seul groupe homogène a été identifié. La dispersion autour de la moyenne s'est étendue de 11 à 18,94 % (Tableau I).

Tableau I : Effet de l'année sur l'expression de quatre variables de la floraison du cacaoyer après traitements avec *Trichoderma*.

| Variable dépendante | Facteur (Année) | Moyenne transformée | | |
|-----------------------|-----------------|---------------------|--------|-------------------------|
| | | Moyenne* | CV (%) | Moyenne non transformée |
| Fleurs épanouies | année 1 | 7,83 a | 14,17 | 61,31 |
| | année 2 | 5,16 b | 11,36 | 26,58 |
| Fleurs chutées | année 1 | 7,56 a | 13,84 | 57,13 |
| | année 2 | 4,85 b | 15,03 | 23,55 |
| Fleurs nouées | année 1 | 1,50 a | 11,00 | 2,25 |
| | année 2 | 1,36 a | 14,04 | 1,85 |
| Fleurs nouées chutées | année 1 | 0,85 a | 18,94 | 0,72 |
| | année 2 | 0,50 b | 15,60 | 0,25 |

Légende : Moyenne transformée: Les valeurs suivies de lettres différentes sont statistiquement différentes selon le test t de Student, au seuil de probabilité 5 %. CV : coefficient de variation en pourcentage. **Moyenne non transformée :** les valeurs calculées ont été obtenues en élevant au carré la valeur transformée.

Effet des applications de quatre espèces de *Trichoderma* sp. sur la tenue des fleurs sur les cacaoyers

Les variables fleurs épanouies, chutées, nouées et nouées chutées enregistrées ont été structurées en mois en fonction de l'année. Conformément aux résultats susmentionnés, le nombre moyen de fleurs épanouies et de fleurs chutées a été plus important la première année que la seconde (Tableau II). Pour les fleurs épanouies, quelle que soit l'année, deux groupes de mois, dans leur composition, ont été identifiés. Le premier, composé des mois de Janvier et Février pour la première année et janvier pour la seconde année, a été marqué par un nombre élevé de fleurs épanouies, alors que le second groupe, constitué par le reste des mois a été caractérisé par un nombre faible de ces fleurs épanouies. De même, pour la variable fleurs chutées, d'une année à l'autre, deux groupes, significativement distincts, ont été observés. Le premier groupe composé des mois de Décembre et Février pour la première année et janvier pour la seconde a été caractérisé par une chute de fleurs importante. Le second groupe, constitué du reste des mois, a été marqué par une faible chute des fleurs. Les écarts entre la moyenne et les observations individuelles ont varié de 13,65 à 18,69 % (Tableau II). En se basant sur les périodes incluant les mois identifiés, l'effet des traitements avec *Trichoderma* sur l'épanouissement et la chute des fleurs a été examiné dans les objets traités.

Pour les deux périodes identifiées durant les deux années d'expérimentation, le nombre moyen de fleurs épanouies n'a montré aucune différence significative entre les traitements avec *Trichoderma*. Néanmoins, l'objet traité avec *T. harzianum* a enregistré un nombre moyen de fleurs épanouies relativement grand, tandis que l'objet traité avec *T. spirale* T4 s'est caractérisé par un faible nombre de fleurs épanouies. Par ailleurs, au cours de la seconde année, le nombre moyen de fleurs épanouies par arbre, dans tous les objets traités, excepté avec *T. spirale* T4, a été relativement important pendant la période couvrant les mois de décembre à septembre (Tableau III).

De même, d'une année à l'autre, quelle que soit la période identifiée, le nombre moyen des fleurs chutées par arbre n'a pas été statistiquement différent entre les traitements avec *Trichoderma*. Cela signifie que tous les traitements avec *Trichoderma* n'ont eu aucun effet sur la chute de fleurs épanouies du cacaoyer. En revanche, un nombre relativement plus important des fleurs chutées a été enregistré durant la première année, comparé à celui de la seconde année (Tableau IV).

Tableau II : Classification des moyennes du nombre de fleurs épanouies et de celui des fleurs chutées en fonction des périodes de floraison sur les deux années d'expérimentation au champ.

| Année | Variable dépendante | Mois | Moyenne** transformée | | |
|------------------|---------------------|----------------|-----------------------|--------|-------------------------|
| | | | Moyenne** transformée | CV (%) | Moyenne non transformée |
| Année 1 | Fleurs épanouies | Février | 9,89 a | 22,33 | 97,87 |
| | | Décembre | 9,44 a | 16,58 | 89,07 |
| | | janvier | 7,83 b | 13,65 | 61,26 |
| | | Août | 7,38 bc | 20,88 | 54,40 |
| | | Novembre | 7 bc | 13,08 | 49,03 |
| | | Septembre | 6,78 bc | 16,66 | 45,99 |
| | | Octobre | 6,30 c | 14,25 | 39,64 |
| | | Fleurs chutées | Février | 8,74 a | 26,43 |
| | Décembre | | 8,58 a | 22,67 | 73,61 |
| | janvier | | 7,98 ab | 17,20 | 63,61 |
| | Août | | 7,69 ab | 23,25 | 59,17 |
| | Septembre | | 7,01 bc | 17,22 | 49,12 |
| | Novembre | | 6,83 bc | 12,34 | 46,64 |
| | Octobre | | 5,94 c | 13,33 | 35,30 |
| Fleurs épanouies | Janvier | | 7,26 a | 16,09 | 52,71 |
| | Décembre | 5,94 b | 24,75 | 35,28 | |
| | Février | 5,42 bc | 19,26 | 29,48 | |
| | Juillet | 5,03 bcd | 21,65 | 25,30 | |
| | Novembre | 4,87 bcd | 28,33 | 24,01 | |
| | Août | 4,63 cd | 35,05 | 21,44 | |
| | Octobre | 4,36 d | 26,79 | 19,01 | |
| | Septembre | 3,93 d | 37,71 | 15,64 | |
| Année 2 | Fleurs chutées | Janvier | 7,07 a | 17,50 | 49,98 |
| | | Décembre | 5,71 bc | 25,66 | 32,60 |
| | | Février | 4,92 bc | 24,04 | 24,21 |
| | | Juillet | 4,99 bcd | 21,59 | 24,11 |
| | | Août | 4,49 cd | 37,39 | 20,16 |
| | | Novembre | 4,24 cd | 34,39 | 17,98 |
| | | Octobre | 4,1 cd | 29,10 | 16,81 |
| | | Septembre | 3,66 d | 48,69 | 23,52 |

Moyenne transformée *: les valeurs suivies de la même lettre dans une colonne ne sont pas significativement différentes selon le test de Student Newman-Keuls au seuil de risque 5 %.

Tableau III : Effectif de fleurs épanouies en fonction des traitements avec *Trichoderma* dans les périodes de mois identifiées durant les deux années d'expérimentation au champ.

| Année | Traitement | Nombre moyen de fleurs épanouies | | |
|--------------------------|--------------------------|----------------------------------|--------|-------------------------|
| | | Moyenne transformée | CV (%) | Moyenne non transformée |
| Année 1 | Février- Décembre | | | |
| | <i>T. virens</i> T7 | 10,69 a | 20,44 | 114,20 |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 10,40 ab | 19,93 | 108,18 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 9,99 ab | 13,19 | 99,90 |
| | Témoin | 9,13 ab | 15,80 | 83,37 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 8,24 b | 22,22 | 67,91 |
| | Janvier- Octobre | | | |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 7,84 a | 17,77 | 61,46 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 7,54 ab | 13,89 | 56,86 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 6,93 bc | 17,85 | 48,08 |
| Année 2 | Témoin | 6,54 c | 12,95 | 42,72 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 6,49 c | 16,08 | 42,14 |
| | Janvier | | | |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 8,62 a | 14,87 | 74,27 |
| | Témoin | 7,26 a | 16,08 | 52,75 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 7,15 a | 14,68 | 51,68 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 6,72 a | 13,40 | 45,14 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 6,64 a | 16,93 | 44,05 |
| | Décembre- Septembre | | | |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 5,81 a | 20,15 | 33,75 |
| <i>T. asperellum</i> T54 | 5,65 a | 17,98 | 31,92 | |
| <i>T. virens</i> T7 | 5,45 a | 17,67 | 29,70 | |
| <i>T. spirale</i> T4 | 3,81 b | 27,61 | 14,52 | |
| Témoin | 3,66 b | 37,27 | 13,39 | |

Moyenne transformée* : moyennes des traitements avec *Trichoderma* arrangées en colonne pour chacune Année et de mois identifiés. Les valeurs au sein d'une colonne suivie de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Dunnett au seuil de de probabilité 5 %.

Tableau IV : Classification des moyennes du nombre de fleurs chutées en fonction des traitements avec *Trichoderma* et des périodes en mois précédemment identifiées pendant les deux années d'expérimentation au champ.

| Année | Traitement | Nombre moyen de fleurs chutées | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|--------|-------------------------|
| | | Moyenne transformée | CV (%) | Moyenne non transformée |
| Année 1 | Février- octobre | | | |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 8,39 a | 22,78 | 70,37 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 8,22 a | 23,25 | 67,56 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 7,52 ab | 23,77 | 56,61 |
| | Témoin | 7,01 b | 21,78 | 49,16 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 6,65 b | 18,47 | 44,22 |
| Année 2 | Décembre- Septembre | | | |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 5,61 a | 21,48 | 31,47 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 5,22 a | 19,98 | 27,25 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 5,19 a | 19,42 | 26,94 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 3,43 b | 34,20 | 11,76 |
| | Témoin | 3,34 b | 44,61 | 11,15 |
| | Janvier | | | |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 8,51 a | 15,45 | 72,45 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 7,07 a | 17,50 | 49,95 |
| | Témoin | 6,94 a | 9,80 | 48,15 |
| <i>T. asperellum</i> T54 | 6,64 a | 14,78 | 44,03 | |
| <i>T. spirale</i> T4 | 6,29 a | 20,13 | 39,55 | |

Moyenne transformée* : moyennes des traitements avec *Trichoderma* disposées en colonne pour chaque Année et mois identifié. Les valeurs au sein d'une colonne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Dunnett au seuil de 5 % de probabilité. **Moyenne non transformée** : valeurs de la moyenne transformée au carré.

Le taux de rétention (%) des fleurs sur les cacaoyers résultant de la différence entre les fleurs épanouies et chutées a été comparé entre les traitements avec *Trichoderma*. Lors de la première année d'étude, la rétention des fleurs a révélé que tous les traitements avec *Trichoderma* n'ont pas affecté la tenue des fleurs sur les cacaoyers. En effet, le taux de rétention des fleurs s'est élevé à 8,6 % avec *T. spirale* T4 contre 5,65 % enregistré chez le témoin. La tenue des fleurs sur les cacaoyers traités avec *T. asperellum* T54, *T. virens* T7 et *T. harzianum* T40 a été statistiquement identique à celle enregistrée chez le témoin (Figure 1).

Lors de la seconde année, la tenue des fleurs sur les cacaoyers n'a pas enregistré de différence significative. Néanmoins, dans les objets traités avec *T. spirale* T4 et *T. asperellum* T54. Dans ces objets, les taux enregistrés ont respectivement été de 9,55 % et 8,39 %, valeurs comparables à celle observée chez le témoin non traité (9,49 %). Un faible taux de tenue des fleurs par arbre a été enregistré avec les cacaoyers traités avec *T. virens* T7 et *T. harzianum* T40 (Figure 2).

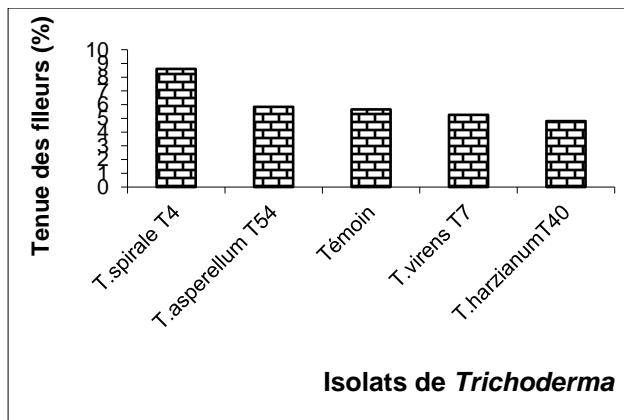


Figure 1 : Influence des applications d'espèces de *Trichoderma* sp. sur la tenue des fleurs sur les cacaoyers au cours de la première année d'étude.

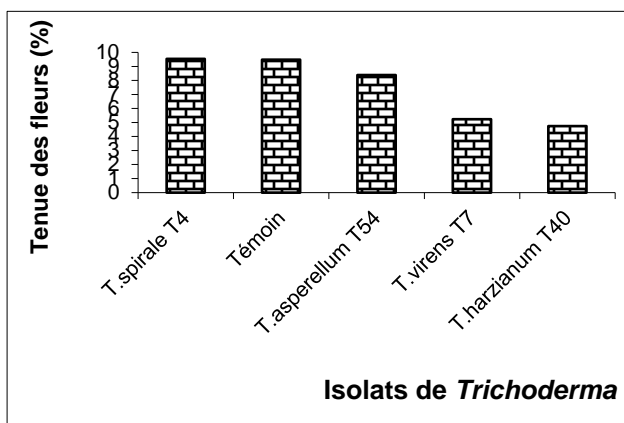


Figure 2 : Influence des applications d'espèces de *Trichoderma* sp. sur la tenue des fleurs sur les cacaoyers au cours de la seconde année d'étude
Effet des applications de quatre espèces de *Trichoderma* sp. sur la nouaison des fleurs du cacaoyer

Concernant les fleurs nouées, quelle que soit l'année, l'effectif des fleurs nouées, enregistré par cacaoyer, a été plus important comparativement aux fleurs nouées chutées. De même, la faible nouaison des fleurs a été observée durant le mois d'août. Cependant, la première année, une forte nouaison des fleurs est enregistrée pendant les mois de décembre et de février, tandis que la seconde année, elle l'a été durant les mois de novembre et de février. Au regard de la chute des fleurs nouées chutées par arbre, d'une année à une autre, deux groupes de mois distincts ont été identifiés (Tableau V).

La première année, un groupe couvrant les mois de février à octobre a été caractérisé par une chute des fleurs nouées relativement plus importante alors qu'aucune chute de celles-ci n'a été observée pendant le

mois d'août constituant ainsi un second groupe. En revanche, la seconde année, le premier groupe, formé du mois de février est marqué par une chute des fleurs nouées plus élevée, tandis que le second groupe, comprenant le reste des mois est caractérisé par une plus faible chute de fleurs nouées. Néanmoins, les écarts entre les observations individuelles et chacune des moyennes ont été très importants et supérieurs à 20 %. En se basant sur les groupes de mois identifiés, l'effet des traitements par *Trichoderma* sur la nouaison et la chute des fleurs nouées a été examiné (Tableau V).

L'analyse des résultats a révélé que les traitements avec *Trichoderma* n'ont eu aucun effet significatif sur la nouaison des fleurs (Tableau VI). En revanche, pendant la première période de la seconde année d'étude, ce taux a été élevé dans l'objet traité avec *T. asperellum* T54 et au contraire faible pour les autres objets traités avec *T. spirale* T4, *T. virens* T7 et *T. harzianum* T40. En outre, une différence non significative a été observée entre les traitements et la nouaison des fleurs pendant la seconde période.

La première année, l'analyse de la chute des fleurs nouées a montré un effet traitement significatif. Par ailleurs, le premier groupe de traitement s'est caractérisé par une importante chute des fleurs nouées tandis que des faibles chutes ont été observés dans les objets traités avec *T. spirale* T4, *T. virens* T7 et *T. harzianum* T40. En revanche, dans la seconde année, la chute des fleurs nouées n'a pas varié d'un traitement à l'autre (Tableau VII).

Tableau V : Classification des moyennes de fleurs nouées et celles nouées chutées en fonction des mois de chacune des deux années d'étude.

| Année | Variable dépendante | Mois | Moyenne** | CV (%) | Moyenne non transformée |
|-------|---------------------|-----------|-------------|--------|-------------------------|
| | | | transformée | | |
| 1 | Fleurs nouées | Décembre | 2,23 a | 28,74 | 4,97 |
| | | Février | 1,86 a | 44,09 | 3,46 |
| | | Janvier | 1,76 ab | 29,15 | 3,10 |
| | | Novembre | 1,70 ab | 36,18 | 2,89 |
| | | Septembre | 1,22 bc | 68,03 | 1,49 |
| | | Octobre | 0,93 c | 73,23 | 0,86 |
| | | Août | 0,85 c | 140 | 0,72 |
| | Nouées chutées | Février | 1,66 a | 55,18 | 2,76 |
| | | Décembre | 1,21 ab | 79,34 | 1,46 |
| | | Janvier | 0,90 b | 91 | 0,81 |
| | | Septembre | 0,89 b | 103,37 | 0,79 |
| | | Novembre | 0,76 b | 112,37 | 0,58 |
| | | Octobre | 0,58 b | 120,69 | 0,34 |
| | | Août | 0 c | - | 0 |

| | | | | | |
|------|----------------|-----------|----------|--------|------|
| 2 | Fleurs nouées | Novembre | 2,31 a | 39,31 | 5,34 |
| | | Février | 2,23 a | 33,72 | 4,97 |
| | | Janvier | 1,53 b | 44,84 | 2,34 |
| | | Décembre | 1,36 b | 61,10 | 1,85 |
| | | Octobre | 1,13 bc | 58,77 | 1,30 |
| | | Juillet | 1,05 bcd | 86,67 | 1,10 |
| | | Août | 0,68 cd | 136,03 | 0,46 |
| | | Septembre | 0,51 d | 148,24 | 0,26 |
| | Nouées chutées | Février | 1,379 a | 68,55 | 1,90 |
| | | Novembre | 0,756 b | 130 | 0,58 |
| | | Janvier | 0,58 bc | 132,59 | 0,34 |
| | | Octobre | 0,43 bc | 146,05 | 0,18 |
| | | Décembre | 0,34 bc | 275,88 | 0,12 |
| | | Septembre | 0,15 bc | 326 | 0,02 |
| Août | | 0,08 c | 346,25 | 0,01 | |
| | Juillet | 0,07 c | 368,57 | 0 | |

Tableau VI : Classification des moyennes des fleurs nouées en fonction de traitements avec *Trichoderma* sp.de chacune des deux années d'étude.

| Année | Traitement | Moyenne transformée | CV (%) | Moyenne non transformée |
|---------|--------------------------|---------------------|--------|-------------------------|
| Année 1 | Décembre- Août | | | |
| | Témoin | 1,71 a | 53,51 | 2,92 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 1,68 a | 59,52 | 2,82 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 1,44 a | 68,13 | 2,07 |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 1,39 a | 58,78 | 1,93 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 1,3 a | 63,92 | 1,69 |
| Année 2 | Novembre- Février | | | |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 3,06 a | 31,48 | 9,39 |
| | Témoin | 2,09 b | 22,03 | 4,37 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 2,077 b | 42,28 | 4,31 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 2,064 b | 22,03 | 4,26 |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 2,03 b | 39,28 | 4,1 |
| | Janvier- Septembre | | | |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 1,21 a | 81,98 | 1,46 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 1,1 a | 82,18 | 1,21 |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 1,03 a | 83,59 | 1,06 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 0,94 a | 106,06 | 0,88 |
| | Témoin | 0,88 a | 88,86 | 0,77 |

Tableau VII: Effectif de fleurs nouées chutées en fonction de traitements avec *Trichoderma* au cours de 2 années d'étude.

| Année | Traitement | Moyenne transformée | CV (%) | Moyenne non transformée |
|---------|--------------------------|---------------------|--------|-------------------------|
| Année 1 | Février- Octobre | | | |
| | Témoin | 1,49 a | 56,31 | 2,22 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 1,41 a | 63,69 | 1,99 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 0,87 b | 95,98 | 0,76 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 0,76 b | 120,26 | 0,58 |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 0,56 b | 146,61 | 0,31 |
| Année 2 | Février | | | |
| | Témoin | 1,8 a | 24,28 | 3,24 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 1,58 a | 59,75 | 2,50 |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 1,33 a | 100,53 | 1,77 |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 1,21 a | 79,01 | 1,46 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 0,97 a | 106,49 | 0,94 |
| | Novembre- Juillet | | | |
| | <i>T. asperellum</i> T54 | 0,61 a | 167,04 | 0,37 |
| | Témoin | 0,39 a | 157,95 | 0,15 |
| | <i>T. virens</i> T7 | 0,36 a | 211,67 | 0,13 |
| | <i>T. harzianum</i> T40 | 0,22 a | 202,72 | 0,05 |
| | <i>T. spirale</i> T4 | 0,15 a | 318 | 0,02 |

En outre, la tenue des fleurs nouées dans tous les objets traités a été estimée par la différence du cumul annuel, entre les fleurs nouées et fleurs nouées chutées. Durant, la première année, les traitements avec *Trichoderma* n'ont eu aucun effet dépressif sur la tenue des nouaisons. Cependant, une relative amélioration de la tenue des nouaisons dans les objets traités par les isolats de *Trichoderma* a été observée. Les traitements avec *T. harzianum* T40, *T. spirale* T4, *T. virens* T7 et *T. asperellum* T54 ont produit les taux de tenue des fleurs nouées respectivement égaux à 65,52 %, 55,69 %, 52,94 % et 35,71 %. Ces taux ont été relativement supérieurs à 34,78 % qui est la valeur enregistrée chez témoin non traité. Cependant, ces taux ont relativement varié dans les mêmes proportions au cours de la seconde année d'expérimentation (Figures 3 et 4).

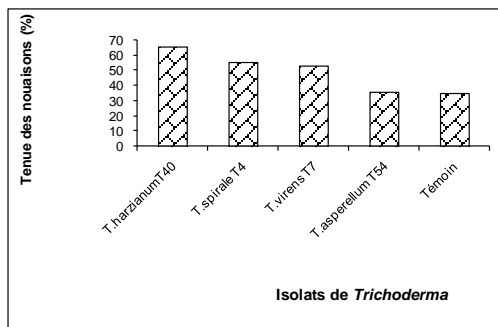


Figure 3 : Effets des applications d'espèces de *Trichoderma* sp., sur la tenue de fleurs nouées sur les cacaoyers au cours de la première année d'étude

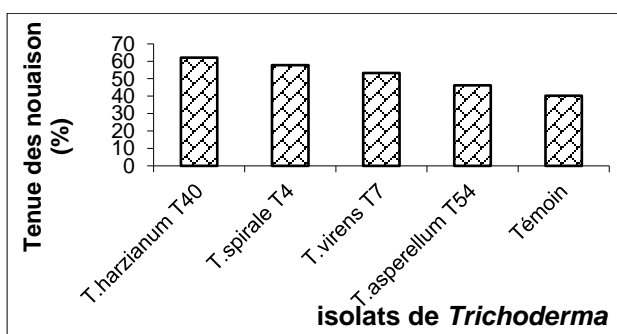


Figure 4 : Effets des applications d'espèces de *Trichoderma* sp. sur la tenue des fleurs nouées sur les cacaoyers au cours de la seconde année d'étude

Effet de traitements sur la qualité des fèves de cacao

Les résultats des expérimentations sont présentés dans le tableau VIII. Le grainage des fèves de cacao a révélé une différence significative entre les traitements effectués. Ainsi, trois groupes de traitements ont été identifiés. Le premier, constitué de *T. spirale* T4 a été caractérisé par un nombre plus grand de graines pour 100 g. Le deuxième, composé de *T. asperellum* T54 et *T. virens* T7 a été marqué par un nombre de graines pour 100 g compris entre 71 et 72. Le troisième, représenté par *T. harzianum* T40 a montré un nombre plus petit de graines pour 100 g (Tableau VIII).

Les analyses du potentiel d'hydrogène (pH) des cotylédons transformés en différents types de fèves de cacao des objets traités par les quatre espèces de *Trichoderma* ont révélé des valeurs acides variant de 3,8 à 4,25. Il en est ainsi dans tous les objets traités et sont statistiquement identiques à celles enregistrées dans l'objet témoin non traité. L'amplitude des différences entre la moyenne des mesures et les valeurs individuelles a été plus importante dans l'objet traité avec *T. harzianum* (Tableau VIII).

Les analyses de l'acidité libre des cotylédons transformés en fèves de cacao ont révélé qu'il n'existe aucune différence significative pour les quatre espèces de *Trichoderma*. Néanmoins, les fèves de cacao fermentées

issues des objets traités avec *T. virens* T7, *T. asperellum* T54, *T. harzianum* T40 ont montré une acidité libre sensiblement plus élevée que celle enregistrée dans l'objet témoin non traité. (Tableau VIII)

La teneur en matière grasse des différents types de fèves fermentées, issues des cabosses traitées avec la biomasse de *Trichoderma* a été analysée. Une telle analyse a montré qu'il n'y a pas de différence entre les teneurs en matière grasse suite aux traitements appliqués sur les cacaoyers. Les traitements n'ont pas affecté le pourcentage en beurre de cacao des fèves des cabosses traitées (Tableau VIII).

Les analyses de l'acidité du beurre dans les fèves ont montré qu'il n'existe aucune relation directe entre les acidités du beurre et l'application de la biomasse de *Trichoderma* sur le cacaoyer. Dans les fèves des cabosses traitées l'acidité du beurre est identique à celle observée dans l'objet témoin non traité (Tableaux VIII).

L'indice de coloration des fèves de cacao estimé n'a pas permis la détection de différence significative entre les traitements. Les traitements biofongicides n'ont pas affecté la coloration des fèves de cacao (Tableaux VIII).

Discussion

L'incidence potentielle des effets des applications de la biomasse de 4 isolats de *Trichoderma* sur la floraison, la nouaison et le développement des fruits ainsi que sur la qualité des fèves de cacao marchand a été analysée. Nos résultats ont montré que les cycles de floraison et de nouaison ne sont pas affectés par les traitements avec *Trichoderma*. L'année a agi sur l'expression du nombre de fleurs épanouies, celui des fleurs chutées et celui des fleurs nouées chutées. Une telle action serait attribuable aux différences d'expression des facteurs climatiques ayant prévalu d'une année à l'autre. En conséquence, l'analyse de l'incidence des traitements avec *Trichoderma* sp., a été faite par année.

En effet, les nombres moyens de fleurs épanouies, chutées, et nouées enregistrés sur les cacaoyers traités avec *Trichoderma* diffèrent peu, en comparaison des cacaoyers témoins non traités. Par contre, les taux de la tenue des fleurs et des fleurs nouées ont été significativement améliorés par les applications des *Trichoderma*. Les 4 isolats de *Trichoderma* n'ont entraîné aucune coulure des fleurs par rapport aux cacaoyers témoins non traités. Cet effet bénéfique s'expliquerait par la capacité des isolats de *Trichoderma* à coloniser et à persister sur les coussinets floraux, organes de conservation des propagules de *P. palmivora* (Muller, 1974). La colonisation des coussinets floraux par ces isolats mycoparasites de *Trichoderma* réduirait la densité d'inoculum de *P. palmivora* et par conséquent la chute des fleurs. En effet, l'importante perte des fleurs

épanouies ou nouées est souvent due, non seulement, à la régulation physiologique, à l'incompatibilité pollinique, à l'insuffisance de la pollinisation naturelle du cacaoyer, mais aussi aux attaques précoces des fleurs par *P. palmivora*. De même, dans une moindre mesure, les pertes sont dues aux piqûres d'insectes. En outre, la liaison qui existe entre les taux de tenue des fleurs et les traitements avec *Trichoderma* est relativement stable d'une année à une autre.

Toutefois, les quatre variables de la floraison mesurées ont varié selon l'année. Cela laisse supposer que les variations des cycles de floraison et la nouaison observées sont attribuées aux conditions climatiques. Les recherches sur la biologie florale ont confirmé que l'émission des fleurs dans les principales zones de culture du cacaoyer est corrélée positivement à l'intensité et à la répartition des chutes de pluies, à l'éclairement, aux régimes thermiques (températures journalières maximales basses et minimales élevées), ainsi qu'à la compétition avec les fruits déjà formés (Alvim, 1965 ; Couprie, 1974 ; Jadin et Paulin, 1988 ; Lachenaud et Mossu, 1985 ; Valle *et al.*, 1990 ; Soberanis *et al.*, 1999).

Dans cette étude, il a été mis en évidence des différences du rythme et de l'intensité des émissions florales entre les deux années d'expérimentation. Les différences sont également enregistrées entre les mois au sein d'une année. Ces dernières exprimeraient ainsi les variations du régime des précipitations et de la répartition saisonnière des températures et humidité relative enregistrées au cours de notre essai à la station de Bingerville. Cependant, la nouaison, facteur essentiel de la production, est aussi fortement liée aux pluies des douze à quatre semaines précédentes, aux radiations et aux températures maximales cumulées (Couprie, 1974). Ces facteurs climatiques ont été variables les deux années, conditionnant les variations des fleurs nouées observées d'un mois à l'autre de l'année d'expérimentation. Il est à noter, bien que les différences des paramètres de biologie florale liées aux conditions climatiques, mais les applications des isolats de *Trichoderma* éprouvés n'entraînent pas un effet dépressif sur la floraison et la nouaison du cacaoyer mais améliore la tenue des fleurs sur le cacaoyer.

Les résultats de l'analyse de quelques paramètres physiques et chimiques, de la qualité des fèves de cacao provenant de quelques cabosses traitées avec *Trichoderma* ne diffèrent pas de ceux obtenus sur les fèves des cabosses témoins non traitées. En effet, les applications de *Trichoderma* sur les cabosses n'ont pas d'influence sur la qualité chimique des fèves de cacao. Cependant, les traitements par *T. harzianum* appliqués au cacaoyer ont influé sur le grainage des fèves de cacao. Les analyses sur le pH, l'acidité libre, la teneur en matière grasse, l'acidité de la matière grasse des cotylédons des fèves ainsi que les densités optiques d'un extrait

méthanolique de pigments de cacao permettant de caractériser la fermentation et le séchage n'ont pas été influencés par les applications de *Trichoderma*. Le séchage est l'étape pendant laquelle on observe une baisse de la teneur en eau des fèves de cacao de 60 % à moins de 8 %. Les phénomènes biochimiques internes des cotylédons débutés ou non pendant la fermentation des fèves de cacao continuent ou s'achèvent au cours du séchage. Il est à noter que la fermentation et le séchage sont deux opérations fondamentales à la préparation du cacao en fèves, partant, de sa qualité. Toutefois, le suivi des populations de *Trichoderma* durant les deux opérations revêt une importance particulière non seulement au niveau de la qualité des fèves, mais aussi au niveau du stockage, puisque les *Trichoderma* sont des moisissures. Toutefois, le grainage des fèves de cacao a été amélioré sur les cacaoyers traités par *T. harzianum*. L'influence de *T. harzianum* sur le grainage des fèves s'expliquerait par son caractère biofertilisant reconnu sur les plantes cultivées (Bentiz *et al.* 2004 ; Harman, 2000 ; Harman *et al.* 2004).

Conclusion

La présente étude postulait l'hypothèse que la survie des propagules de *Trichoderma* sp., sur les coussinets floraux et les cabosses aurait des conséquences néfastes sur la biologie florale du cacaoyer et la qualité des fèves de cacao. Les résultats obtenus ont permis de constater, pourtant, une nette amélioration de la tenue des fleurs sur les objets traités avec *T. spirale* T4 et *T. asperellum* T54. De plus, les applications de *T. spirale* T4 et *T. asperellum* T54, *T. virens* T7 et *T. harzianum* T40 n'ont eu aucun effet dépressif sur la floraison du cacaoyer, sur la nouaison et la chute des fleurs nouées. Les traitements, avec les isolats de *Trichoderma*, ont amélioré la tenue des fleurs nouées. Par contre, la chute des fleurs observés ont été climat-dépendants. De même, les applications de *Trichoderma* sur le cacaoyer et notamment sur les cabosses n'ont pas eu d'influence sur les paramètres chimiques de la qualité des fèves de cacao. Cette innocuité de ces biofongicides à base de *Trichoderma* laisse entrevoir la possibilité d'utiliser ces microorganismes dans la lutte contre les maladies à *Phytophthora* sp. du cacaoyer. Toutefois, la maîtrise de la production massive de *Trichoderma* facilitera leur utilisation par les producteurs des fèves de cacao.

References:

Alvin P.T. 1965. Ecophysiology of the cacao tree. 1^{ère} Conférence internationale sur les recherches cacaoyères, Abidjan (Côte d'Ivoire) 15-20 Nov. 1965. pp. 23-25.

- Anonyme 2009. Towards a Sustainable Cocoa Chain .Power and possibilities within the cocoa and chocolate sector. Oxfam International Research Report, January 2008. 31p.
- Babacauh KD. 1980. Structure et dynamique des populations de *Phytophthora* sp. Parasite du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Paris –Sud, centre d'Orsay, 153 p
- Belin M., Bonaventure JE. 1961. Etudes effectuées sur la pourriture brune des cabosses en basse Côte d'Ivoire durant l'année 1960. Café Cacao Cola, 5 (3) : 160-169
- Benitez T., Rincon AM., Limo MC., Codon AC., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. Review Article International Microbiology, 7 : 249 – 260.
- Challot F. 1977. Essais de fermentation de petits échantillons de cacao. Café Cacao Thé, 21 (1) : 47-53;
- Coupré F. 1974. Contribution à l'étude du cacaoyer et à la préparation du cacao en Ouganda. Café Cacao Thé, 12 : 11-18.
- Deberdt P, Mfegue CV, Tondje PR, Bon MC, Ducamp M, Hurard C, Begoude BAD, Ndoumbe-Nkeng M, Hebbar PK, Cilas C. 2007. Impact of environmental factors, chemical fungicide and biological control on cacao pod production dynamics and black pod disease (*Phytophthora megakarya*) in Cameroon. Biological Control 44 (2008) 149–159
- Despreaux D. 1984. Essais de fongicides au Cameroun. In : Première réunion du groupe international de travail sur les *Phytophthora* du cacaoyer. Alliance des pays producteurs de cacao. Lomé (Togo) 20 –22 février 1984, pp .121-129.
- Druzhinina I., Kubicek C.P. 2005. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters, J zhejiang Univ. Sci. B., 6: 100-112.
- Guyot M. 1992. Systématique des angiospermes : référence à la flore du Togo. Edition financée par la Mission Française de Coopération et d'Action Culturelle de Lomé. Diffusion auprès de la bibliothèque de l'Université du Bénin, Togo. 217p.
- Jadin P., Paulin D. 1988. Etude des facteurs de production liés à la biologie florale influencés par la fertilisation minérale et (ou) l'irrigation sur cacaoyers adultes. 10eme Conf. Int. Rech. Cacaoyère. Santo Domingo, République Dominicaine. pp. 253-258.
- Harman GE. 2000. Myths and Dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease, 84 (4): 377 – 393.
- Harman GE., Howell CR., Chet I., Lorito M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews, 2: 43 – 56.

- Flood J. 2006. The threat from global spread of cocoa pests and diseases: hypothetical scenario or clear and present danger. In: proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference. 9-10 October 2006. San Jose (Costa Rica), pp.857-872
- Holmes AK., Krauss U., Samuels G. Bateman PR., Thomas SE., Crozier J. Hidalgo E., Garcia J., Arroyo C., Evans H. 2006. *Trichoderma ovalisporum* (Hypocreaceae): a potential biocontrol agent of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*). In: Proceedings 15th International cocoa research conference. In: proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference. 9-10 October 2006. San Jose, Costa Rica, pp. 1001-1006.
- Lachenaud P., Mossu G. 1985. Etude comparative de deux modes de conduit sur les facteurs du rendement d'une cacaoyère. Café Cacao Thé, 29 (1): 21 - 30
- Lass RA. 1985. Disease. In Cocoa.. Wood G.A.R., & Lass R. A. Eds. 4th edition, Longman, Longman, pp. 265- 365
- Lass T. 2004. Balancing cocoa production and consumption. In: Flood J, Murphy R. (eds) Cocoa futures - a source book on some important issues facing the cocoa industry. CABI-FEDERACAFE, USDA, Chinchina, Colombia, pp 8–15.
- Kébé BI. 1999. Rapport Annuel d'Activité 1998, Programme Café- Cacao-Cola, CNRA, Côte d'Ivoire.
- Kébé IB., N'goran JAK., Tahé GM., Paulin D., Clément D., Eskes AB. 1996. Pathology and breeding for resistance to black pod in Côte d'Ivoire. In: proceedings of the International Workshop on the Contribution of disease Resistance to cocoa Variety Improvement. 24th- 26th November, 1996. Salvador, Bahia (Brazil). pp. 135-139
- Koné YR. 1999. Etude 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, Ecole Supérieure d'Agronomie, Yamoussoukro, 111 p.
- Kouame KD., 2006. Structure et dynamique des populations de *Phytophthora* spp., agent de la pourriture brune des cabosses en Côte d'Ivoire. DEA de Physiologie végétale. UFR de Biosciences. Université de Cocody, 52 p.
- Krauss U., Soberanis W. 2002. Effect of fertilization and bio control application frequency on cocoa pods diseases. Biological control, 24: 82-89.
- Krauss U., Soberanis W. 2001. Biocontrol of cocoa pod diseases with mycoparasite mixtures. Biological Control 22, 149–158.
- Papavizas GC., Lumsden RD., 1982. Improved medium for isolation of *Trichoderma* spp. from soil. Plant. Dis., 66 : 1019-1020.

- Mpika J., Kebe BI., N'Guessan KF. 2011. Isolation and identification of indigenous microorganisms of cocoa farms in Côte d'Ivoire and assessment of their antagonistic effects vis-à-vis *Phytophthora palmivora*, the causal agent of the black pod disease, Biodiversity Loss in a Changing Planet, PhD. Oscar Grillo (Ed.), InTech. pp 303-318
- Mpika J. 2010. Isolement et identification de microorganismes indigènes de cacaoyères et mise en évidence de leurs effets antagonistes vis-à-vis de *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. Thèse unique de Physiologie végétale. UFR de Biosciences. Université de Cocody, 261 p
- Mpika J, Kébé IB, Issali AE, N'Guessan FK, Druzhinina I, Komon-Zélazowska M., Kubicek CP, 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 RA. 1974. Effect of prophylactic measures on the dissemination of *Phytophthora palmivora*. In: Gregory, P.H. (eds), *Phytophthora* disease of cocoa. Longman Group Limited, New York, pp. 169 –178
- Sanogo S., Pomella A., Hebbar PK., Bailey B., Costa JCB., Samuels GJ., Lumsden RD., 2002. Production and germination of conidia of *Trichoderma stromaticum* Samuels *et al.* (Hypocreaceae), a mycoparasite of *Crinipellis pernicioso* on Cacao. Phytopathology, 92: 1032-1037.
- Soberanis W., Rios R., Arevalo E., Zuniga L., Cabezas O., Krauss U. 1999. Increased frequency of phytosanitary pod removal in cacao (*Theobroma cacao* L.) increases yield economically in eastern Peru. Crop protection, 18 : 677 – 685.
- Tarjot M. 1973. Recherche sur la mise au point d'une lutte intégrée contre la pourriture brune des cabosses du cacaoyer en Côte d'Ivoire. Thèse 3^e cycle. Université d'Abidjan, Cote d'Ivoire. 110 p
- Valle RR., De Almeida AAF., De O.Leite RM. 1990. Energy cost of flowering, fruiting and cherelle wilt in cacao. Tree Physiology, 6 : 329-336

Tableau VIII : Effets des applications d'espèces de *Trichoderma* sp. sur les paramètres chimiques et physiques de la qualité de cacao marchand.

| Traitements | Chimiques | | | | | | | Physique |
|--------------------------|-------------|--------------------|--------------------|---------------------------------------|----------------------------|------------|--------|----------------------------------------|
| | pH | Acidité total (ml) | Matière grasse (%) | Indice d'acidité de la matière grasse | Indice de la couleur rouge | | | Grainage (nbre de fèves de cacao/100g) |
| | | | | | Densité optique | | Indice | |
| | | | | | DO (525nm) | DO (460nm) | | |
| <i>T. asperellum</i> T54 | 3,80a ±0,07 | 4,61a±0,10 | 41,64a±1,06 | 1,49a±0,06 | 0,360 | 0,412 | 1,14a | 72,58b±0,56 |
| <i>T. virens</i> T7 | 3,99a±0,11 | 4,66a±0,08 | 43,08a±0,98 | 1,39a±0,19 | 0,261 | 0,302 | 1,18a | 70,77b±1,95 |
| <i>T. spirale</i> T4 | 4,255a±0,01 | 3,86a±0,10 | 41,57a±1,46 | 1,52a±0,09 | 0,212 | 0,278 | 1,32a | 79,71c±1,80 |
| <i>T. harzianum</i> T40 | 4,07a±0,18 | 4,32a±0,27 | 43,04a±0,37 | 1,41a±0,02 | 0,330 | 0,394 | 1,19a | 64,61a±0,61 |
| Témoin | 3,97a±0,12 | 4,15a±0,29 | 44,02a±1,54 | 1,45a±0,05 | 0,261 | 0,302 | 1,18a | 73,31b±0,76 |