

Incidence de la pourriture noire des cabosses du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et caractérisation de *Botryodiplodia theobromae*, agent causal en Côte d'Ivoire

COULIBALY Klotioloma^{1*}, FOFANA Inza Jésus², DIBI-Gogbé Françoise¹, SORO Tchéféri Lacina², N'DRI Kouamé Norbert¹, GUIRAUD Brigitte Sahin¹, N'GUESSAN Walet Pierre¹, ACKA Kotaix¹, TAHI Mathias¹; ASSI Maryse¹; KONE Daouda³ et N'GUESSAN François¹.

1. Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Station de Recherche de Divo, B.P. 808 Divo/Côte d'Ivoire, Tel. /Fax (225) 32 76 08 35.

2. Université Péléforo Gon Coulibaly de Korhogo, B.P. 1328 Korhogo /Côte d'Ivoire

3. Université Félix Houphouët- Boigny d'Abidjan, 22 B.P. 582, Abidjan 22 /Côte d'Ivoire

*Auteur e-mail : coolklotiolo@yahoo.fr, Numéro de téléphone : (+225) 05 05 63 31 10

Submission 7th February 2023. Published online at <https://www.m.elewa.org/Journals/> on 30th April 2023.
<https://doi.org/10.35759/JABs.184.8>

RÉSUMÉ

Objectif : Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer l'incidence de la pourriture noire des cabosses sur la production cacaoyère et d'étudier sur la base des caractères morphologiques, la diversité des isolats de *Botryodiplodia theobromae*, l'agent responsable.

Méthodologie et Résultats : Des observations en champ ont été réalisées pendant deux années consécutives dans 18 plantations cacaoyères choisies dans trois régions de cacaoculture (Sud-Comoé, Guémon et Nawa). Le dispositif expérimental a été constitué de 100 cacaoyers sur lesquels, le nombre de cabosses atteintes par la pourriture noire est dénombré par intervalle de 15 jours. Dans ces parcelles, des cabosses atteintes naturellement de pourriture noire ont été prélevées pour l'isolement de différents isolats de *Botryodiplodia theobromae* en vue de l'étude de leurs caractères morphologiques. Les résultats de cette étude ont révélé pour les deux années d'observation, une différence significative entre les différentes régions. La région du Sud-Comoé a enregistré le plus fort taux de pertes (26,03%), tandis que les régions du Guémon et de la Nawa ont été caractérisées par des taux respectifs de 15,99% et 12,74% de pertes dues à la pourriture noire au cours de la première année d'observation. Au cours la seconde année d'observation, la région du Guémon a enregistré les plus fortes pertes (21.13%), contre des taux respectifs de 7,80% et 7,42% pour les régions du Sud-Comoé et de la Nawa. Quarante (40) isolats de *Botryodiplodia theobromae* ont été isolés à partir des cabosses de cacaoyer naturellement atteintes de pourriture noire. Les caractères morphologiques ont mis en évidence trois morphotypes sur milieu petit pois gélosé : cotonneux, clairsemé et duveteux, avec une coloration allant de blanchâtre à noirâtre et grisâtre. La vitesse moyenne de la croissance des colonies mycéliennes a varié de 46,4mm/j à 74,95mm/j et la densité sporale de 0,08.10⁵ conidies/ml à 16,92.10⁵ conidies/ml.

Conclusion et application des résultats Cette étude a permis de déterminer les pertes de récolte dues à la pourriture noire des cabosses dans ces régions de productions et de confirmer la variation morphologique des isolats de *Botryodiplodia theobromae*. A partir de ces résultats, il convient donc de recommander aux cacaoculteurs de considérer cette maladie comme une contrainte importante à la cacaoculture et de l'intégrer dans leurs stratégies de lutte.

Mots clés : pourriture noire, incidence, *Botryodiplodia theobromae*, caractérisation morphologique

Incidence of black pod rot of cocoa (*Theobroma cacao* L.) and characterization of *Botryodiplodia theobromae*, causal agent in Côte d'Ivoire

ABSTRACT

Objective: This study was conducted to assess the impact of black pod rot on cocoa production and to study the diversity of isolates of *Botryodiplodia theobromae*, the causal agent, based on morphological characteristics.

Methodology and results: Field observations were carried out during two consecutive years in 18 cocoa plantations selected in three cocoa growing regions (Sud-Comoe, Guemon and Nawa). The experimental set-up consisted of 100 cocoa trees on which the number of pods affected by black rot was counted at 15-day intervals. In these plots, pods naturally affected by black rot were collected for the isolation of different isolates of *Botryodiplodia theobromae* in order to study their morphological characteristics. The results of this study revealed for the two years of observation, a significant difference between the different regions. The Sud-Comoé region recorded the highest rate of losses (26.03%), while the Guemon and Nawa regions were characterized by respective rates of 15.99% and 12.74% of losses due to black rot during the first year of observation. In the second year of observation, the Guemon region recorded the highest losses (21.13%), compared to respective rates of 7.80% and 7.42% for the Sud-Comoe and Nawa regions. Forty (40) isolates of *Botryodiplodia theobromae* were isolated from cocoa pods naturally affected by black rot. Morphological characters revealed three morphotypes on agar pea medium: cottony, sparse and fluffy with whitish to blackish and grayish coloration. The average growth rate of mycelial colonies ranged from 46.4mm/d to 74.95mm/d and the spore density from 0.08.105 conidia/ml to 16.92.105 conidia/ml.

Conclusion and application of results : This study allowed to determine the crop losses due to black pod rot in these production regions and to confirm the morphological variation of *Botryodiplodia theobromae* isolates . Based on these results, it is recommended that cocoa farmers consider this disease as an important constraint to cocoa production and integrate it into their control strategies.

Keywords: black rot, incidence, *Botryodiplodia theobromae*, morphological characterization

INTRODUCTION

La Côte d'Ivoire est le premier producteur mondial de cacao depuis 1978. La production cacaoyère en Côte d'Ivoire au cours de la campagne 2020 a été de 2 200 000 tonnes, soit près de 42,22 % de la production mondiale (ICCO, 2020). Le cacao représente un produit agricole stratégique pour la Côte d'Ivoire. En effet, il joue un rôle primordial dans la

prospérité économique et sociale du pays. Au plan social, la cacaoculture occupe une population agricole de plus d'un million de planteurs et procure de nombreux emplois dans les secteurs secondaire et tertiaire (ICCO, 2015). Il est estimé qu'environ trois millions de personnes vivent des revenus du cacao en Côte d'Ivoire. Au plan économique, le cacao

procure environ 40% des recettes d'exportations et contribue à plus de 15% au Produit Intérieur Brut (Dufumier, 2016). Malgré toutes ces performances, la filière cacao reste confrontée à de nombreuses contraintes phytosanitaires susceptibles de compromettre la durabilité de la cacaoculture. En effet, les maladies à pourritures des cabosses causées par des agents fongiques du genre *Phytophthora*, *Botryodiplodia/Lasiodiplodia* et *Trachysphaera* sont considérées comme les plus importantes du verger cacaoyer de Côte d'Ivoire. En effet, depuis l'introduction du cacaoyer (*Theobroma cacao*) en Côte d'Ivoire en 1886, la principale maladie est la pourriture brune des cabosses. Cependant, depuis la fin des années 1980, les vergers de cacao sont de plus en plus sujets aux attaques de la pourriture noire/molle considérée comme l'une des menaces les plus sérieuses dans toutes les régions productrices de cacao. La pourriture molle des cabosses est une maladie cryptogamique cosmopolite due à un champignon imparfait du genre *Botryodiplodia* (Roger, 1953). Bien qu'étant considéré comme parasite secondaire. Le genre *Botryodiplodia* sur le cacaoyer peut

engendrer des pertes de l'ordre de 50% (Mossu, 1990). Les symptômes de la maladie se traduisent par des brunissements des feuilles, le dessèchement des rameaux et des branches, des craquelures des écorces et les plus caractéristiques sont observés sur les cabosses. Ils se caractérisent sur les vieilles attaques par la présence de pycnides qui laissent échapper une poudre noire-charbon de conidies en quelques semaines, les cabosses se momifient puis restent attachées aux arbres. La pourriture progresse à l'intérieur de la cabosse et atteint les fèves (Figure 1). Celles-ci brunissent, se dessèchent puis noircissent. Son impact sur la production se traduit par une dépréciation de la qualité des fèves qui les rend impropres à la commercialisation. En Côte d'Ivoire, malgré que cette maladie ait été mentionnée dans les travaux de Coulibaly *et al.* (2014) et Koua *et al.* (2018); aucune étude approfondie n'a encore été réalisée sur cette affection. Le présent travail a pour but de contribuer à une meilleure connaissance de cette maladie afin de favoriser des possibilités de lutte dans la perspective d'une réduction considérable des dégâts dans les plantations cacaoyères.



Figure 1. Symptômes de la pourriture noire des cabosses du cacaoyer, **A** : Taches brunes sur cabosse mûre; **B** : Cabosses recouvertes de conidies fongiques noires charbonneuses; **C** : Lot de cabosses momifiées ; **D** : Brunissement des fèves.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Zone d'étude : Les prospections ont été réalisées en milieu paysan, dans les cacaoyères situées dans trois régions productrices de cacao en Côte d'Ivoire. Il s'agit de la région du Sud Comoé, de la région du Guémon et celle de la Nawa. Ainsi, les prospections ont été effectuées dans des parcelles situées dans les localités d'Aboisso, d'Adaou, et d'Ayamé dans le Sud-Comoé, les localités de Duékoué, de Guéheby et de Dibobly dans le Guémon et les localités de Soubré, de Gabeadji et de Méagui dans la Nawa (**Error! Reference source not found.**2). Toutes ces régions sont caractérisées par un climat de type subéquatorial rythmé par 4 saisons de durée

inégal. De type bimodal, le régime pluviométrique est marqué par deux saisons pluvieuses, intercalées par de faibles pluviométries ou saisons sèches : une grande saison de pluies de mars à juillet ; une petite saison de pluies de septembre à novembre ; une grande saison sèche qui couvre les mois de décembre à février et une petite saison sèche d'août à septembre (Coulibaly *et al.*, 2014). La moyenne de la pluviométrie annuelle est comprise entre 1300 à 1500 mm. La température moyenne annuelle minimale est de 26°C. L'humidité relative de l'air durant tous les mois de l'année a une moyenne de 80 %.

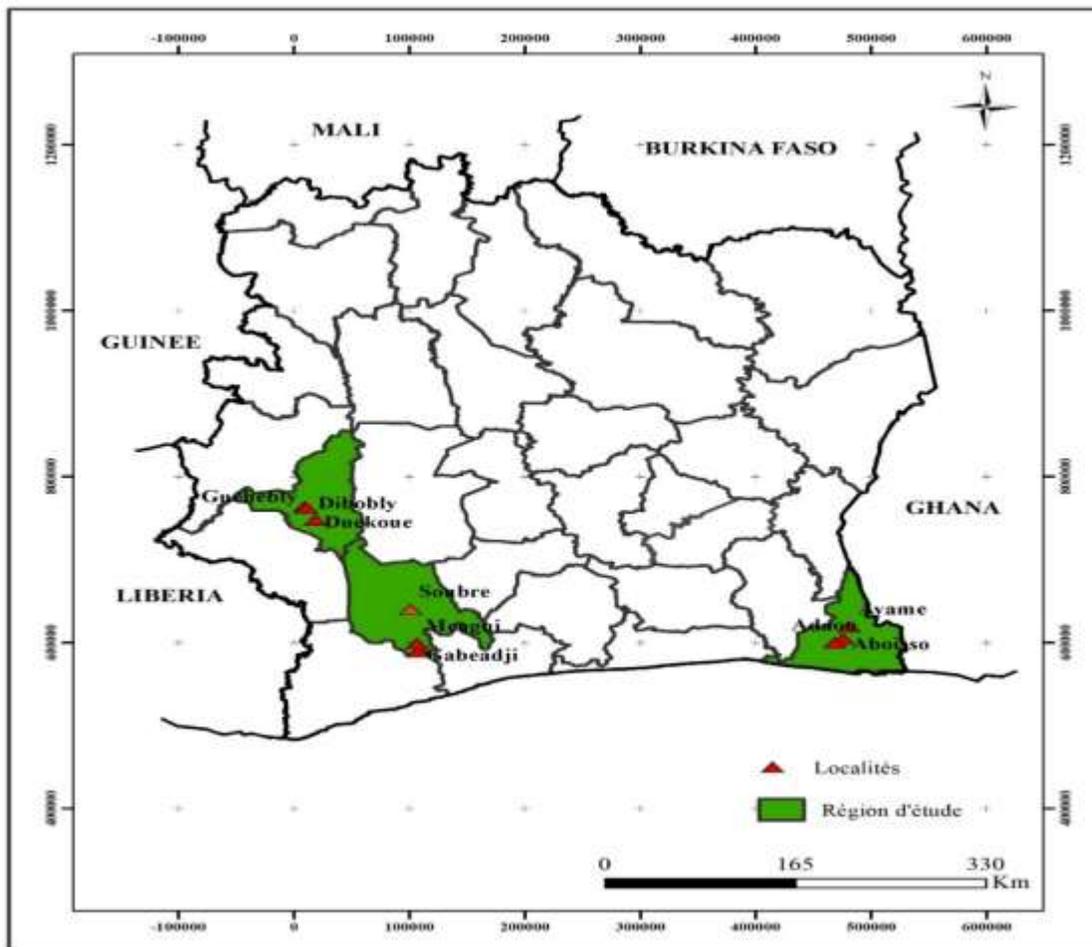


Figure 2 : Localités de prospections et de collectes des échantillons de cabosses atteintes de pourriture noire

Matériel végétal et fongique : Le matériel végétal a été constitué de cabosses de cacaoyer présentant les symptômes de pourriture noire. Ces cabosses proviennent des parcelles situées dans les localités d'Aboisso, d'Adaou, et d'Ayamé dans le Sud-Comoé, les localités de Duékoué, de Guéhéby et de Dibobly dans le Guémon et les localités de Soubré, de Gabeadji

et de Méagui dans la Nawa (Tableau I). Dans chaque localité huit cabosses de cacaoyer présentant les symptômes de pourriture noire ont été prélevées. Quant au matériel fongique, il est composé de 40 isolats de *Botryodiplodia theobromae*. Ces isolats ont été isolés à partir de cabosses atteintes de pourriture noire.

Tableau 1 : Origine géographique des isolats de *Botryodiplodia theobromae* étudiés

N° Isolat	Code des isolats	Localité géographique	N° Isolat	Code des isolats	Localité géographique
1	A ₂₁ .5.1	Aboisso	21	E ₁₄ .1.2	Dibobli
2	A ₂₁ .6.2	Aboisso	22	E ₁₄ .3.1	Dibobli
3	D' ₉₂ .2.1	Aboisso	23	E ₁₄ .4.1	Dibobli
4	D' ₉₂ .4.1	Aboisso	24	E _{6/4} .2.1	Dibobli
5	D' ₉₄ .1.1	Aboisso	25	E _{6/4} .4.1	Guéhéby
6	D' ₉₄ .2.1	Adaou	26	E _{6/4} .6.1	Guéhéby
7	D' ₉₄ .2.2	Adaou	27	E _{6/5} .1.1	Guéhéby
8	D' ₉₄ .4.1	Adaou	28	E _{6/5} .4.1	Guéhéby
9	D ₉ .1.2	Adaou	29	E _{8/2} .1.2	Guéhéby
10	D ₉ .10.1	Adaou	30	E _{8/2} .7.1	Gabeadji
11	D ₉ .20.1	Ayamé	31	ES.1.2	Gabeadji
12	D ₉ .5.1	Ayamé	32	ES.3.1	Gabeadji
13	E _{10/1} .1.1	Ayamé	33	ES.4.3	Gabeadji
14	E _{10/1} .2.1	Ayamé	34	ES.6.2	Méagui
15	E _{10/1} .3.1	Ayamé	35	ES.7.1	Méagui
16	E _{10/1} .3.2	Duékoué	36	G ₁₅ .1.1	Méagui
17	E _{10/1} .7.1	Duékoué	37	Jc.2.1	Méagui
18	E _{10/1} .9.4	Duékoué	38	PB.2.1	Soubré
19	E _{10/4} .5.1	Duékoué	39	PB.3.1	Soubré
20	E ₁₄ .1.1	Duékoué	40	PB.5.2	Soubré

Méthodes

Évaluation de l'incidence de la pourriture noire

Choix des parcelles expérimentales : Pour évaluer l'incidence de la maladie, les parcelles ont été choisies sur la base des critères suivants : un accès facile ; une superficie d'au moins 1,5 ha ; une densité d'au moins 1000 cacaoyers avec un ombrage homogène ; un état d'entretien correct ; disponibilité et participation des producteurs à la mise en œuvre de l'essai. Au total, 18 plantations paysannes ont été identifiées dont six par région et trois par localité. Les plantations ont été choisies dans chaque localité sur des axes

différents à distance minimale de 5 Km dans l'optique de couvrir au maximum les diverses conditions agro-écologiques de culture de cacaoyers.

Dispositif expérimental : Le dispositif expérimental a été constitué de 100 cacaoyers choisis de façon aléatoire et marqués à l'aide de pancartes numérotées de 1 à 100. La méthode des cibles aléatoires (Coulibaly *et al.*, 2014) a été utilisée pour estimer les pertes dues à la pourriture noire des cabosses. Cette méthode a été retenue pour minimiser le caractère hétérogène des cacaoyers, tant au niveau des arbres que du sol, de l'ombrage et de la variabilité de la pression infectieuse dans

l'espace. Cette méthode a consisté à suivre l'évolution de la maladie sur un groupe de 100 cacaoyers. Au cours de cette étude, les comptages ont été effectués tous les 15 jours. Ce choix arbitraire est justifié par la nécessité d'avoir entre deux périodes d'observation un nombre de cabosses pourries suffisant sur les arbres, surtout dans les parcelles où l'incidence est moindre. Elle a consisté à dénombrer toutes les cabosses mûres saines, atteintes de pourriture brune, de pourriture noire, ainsi que les cabosses rongées. A l'exception des cabosses atteintes de pourriture noire, toutes les cabosses comptabilisées ont été éliminées après le comptage. Pour ne pas perturber le développement de l'épidémie, toutes les cabosses atteintes de pourriture noire n'ont pas été récoltées. Elles ont été sectionnées (marquage) à la pointe de la cabosse (apex) à l'aide d'un sécateur pour éviter d'être comptées plusieurs fois. Les comptages ont été effectués tous les 15 jours sur les différents sites d'observation. Les données ainsi collectées ont permis de calculer un taux final de pourriture noire/molle au cours des deux années d'observation. Les pertes dues à la pourriture noire/molle des cabosses ont été estimées par rapport à la production potentielle selon la formule de Coulibaly *et al.* (2014) :

$$TF = \frac{\sum CPN \times 100}{\sum CMS + \sum CPB + \sum CPN + \sum CR}$$

Où : TF représente le taux final de cabosses atteintes de pourriture noire ; $\sum CPB$ représente le nombre cumulé des cabosses atteintes de pourriture brune ; $\sum CPN$ représente le nombre cumulé des cabosses atteintes de pourriture noire ; $\sum CMS$ représente le nombre cumulé de cabosses mûres saines ; $\sum CR$ représente le nombre cumulé de cabosses rongées

Prospection et collecte des échantillons de cabosses : Les prospections ont été effectuées dans trois régions de production cacaoyères de la Côte d'Ivoire (Sud-Comoé, Guémon et Nawa). Dans chaque région, la collecte à raison de quatre cabosses par parcelle a été effectuée dans chacune des plantations retenues pour l'évaluation de l'incidence de la

pourriture noire sur la production. Ainsi, les cabosses naturellement atteintes de pourriture noire ont été collectées sur différents arbres dans chaque parcelle. Les cabosses prélevées ont été conservées dans des sachets plastiques portant les coordonnées de prélèvement (date, code de la parcelle et numéro de la cabosse). Les cabosses ainsi récoltées ont été ramenées au laboratoire pour isolement.

Isolement et purification : L'isolement a consisté à prélever des fragments de cortex sur des cabosses atteintes de pourriture noire dont les nécroses sont en cours d'évolution. Les parties nécrosées ont été lavées avec de l'alcool à 96% et flambées sous une hotte à la flamme d'un bec-Bunsen. La zone de prélèvement a été choisie et les tissus superficiels ont été décapés à l'aide d'un scalpel stérile. Des fragments ont été prélevés dans les tissus sous-corticaux avec une aiguille stérile au niveau des nécroses. Ces fragments ont alors été déposés sur un milieu de culture eau gélosée (EG) à 2% dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. L'incubation a été faite pendant 3 jours à l'obscurité à la température ambiante du laboratoire à $27 \pm 1^\circ\text{C}$.

Après trois (3) jours d'incubation, les isolats retenus ont été purifiés par repiquages successifs sur milieu EG à 2 % puis sur milieu Petit Pois (PP) gélosée à 2 % contenu dans des boîtes de Pétri de diamètre 90 mm. La purification des isolats s'est faite par prélèvement au niveau du front de croissance d'un fragment de gélose, contenant de très fins filaments mycéliens.

Caractérisation morphologique des isolats : Au total 40 isolats représentatifs des zones d'échantillonnages ont été retenus pour évaluer les paramètres morphologiques. Cette étude morphologique a donc été réalisée sur un milieu petit pois (PP) gélosé à 2 %. Pour chaque isolat, un fragment de gélose de 5 mm de diamètre contenant de fins filaments mycéliens a été prélevé à l'aide d'un emporte-pièce stérile, sur le front de croissance et déposé au centre de chaque boîte de Pétri.

Chaque isolat a été repiqué dans quatre boîtes de Pétri (répétition). Les caractères morphoculturels des isolats ont été déterminés à travers la croissance du mycélium, sa couleur et sa texture. La détermination de la croissance mycélienne a consisté à tracer deux droites perpendiculaires (X et Y) sur le verso de chaque boîte de Pétri et passant par le centre de l'explant mycélien. Les mesures des croissances mycéliennes ont été effectuées de façon journalière à l'aide d'une règle transparente graduée suivant les deux axes (X et Y) jusqu'à l'occupation totale de chaque boîte de Pétri. L'évolution du mycélium dans chaque boîte est obtenue en faisant la moyenne des deux diamètres $D = (d1 + d2)/2$; où D : diamètre moyen de l'isolat dans une boîte, d1 et d2 : les mesures des deux droites perpendiculaires (Dianda, 2019). La moyenne de la croissance mycélienne de chaque isolat a été calculée à partir des diamètres moyens provenant des quatre boîtes. Pour la caractérisation microscopique des isolats ; la taille, la couleur, la présence ou l'absence des cloisons et la densité sporale ont été les paramètres microscopiques des conidies évaluées après 10 jours de mise en incubation. Pour la mesure des dimensions des conidies, les données ont été collectées sur un échantillon de 30 conidies par isolat à l'aide d'un microscope muni d'un micromètre. Pour estimer la concentration conidienne, le

mycélium de chaque isolat de *Botryodiplodia theobromae*, âgé de dix jours sur un milieu petit pois (PP) gélosé à 2 % a été grattée superficiellement à l'aide d'une spatule stérile. L'amas mycélien obtenu a été inondé avec 10 ml d'eau distillée stérile afin de détacher les conidies. Le nombre de conidies par millilitre de suspension pour chaque isolat a été estimé au microscope optique (40X) sur une cellule de Malassez. Le nombre moyen de conidies a été déterminé selon la formule suivante : $N = \frac{1}{25 \sum(n_i)} \times 10^5$; avec N : nombre moyen de conidies par carré ; n_i : nombre de conidies dans le carré ; 25 : nombre de carrés pris en compte et 10^5 : le facteur qui ramène le volume d'un carré ($0,01 \text{ mm}^3$) au millilitre de solution.

Analyses statistiques : Le logiciel STATISTICA version 7.1 a été utilisé pour les analyses statistiques. Pour évaluer l'incidence de la maladie, l'analyse de variance a permis de comparer le taux moyen de cabosses atteintes de pourriture noire. L'analyse de la variance à un facteur (isolat) a été utilisée pour comparer les isolats de *Botryodiplodia theobromae*, selon leur caractère morphologique (morpho-cultural et microscopique). Cette analyse a porté sur la croissance mycélienne, la taille des conidies, ainsi que la concentration en conidies des isolats. Le test ANOVA (Newman-Keuls) a été utilisé pour déterminer les différents groupes d'homogénéité au seuil de probabilité 5%.

RÉSULTATS

Pertes de récolte dues à la pourriture noire/molle des cabosses : L'incidence de la pourriture noire sur la production a été estimée par les pertes des cabosses atteintes naturellement de pourriture noire. L'incidence obtenue sur les 2 années d'étude, a montré que les taux de cabosses pourries enregistrés au cours de l'année 1 (2020) ont été relativement plus importants que ceux de l'année 2 (2021). En effet, l'analyse de variance avec le test de Newman Keuls au seuil de 5% a montré une

différence significative entre les trois régions d'étude. Ainsi, les pertes enregistrées au cours de la première année d'observation ont varié de 26,03%, 15,99 % et 12, 74% respectivement dans la région du Sud-Comoé, du Guémon et de la Nawa comparées aux pertes observées au cours de la seconde année d'étude avec les plus importantes pertes enregistrées dans le Guémon (21.13%) contre 7,80% et 7,42% respectivement observées dans les régions du Sud-Comoé et de la Nawa (Figure 3).

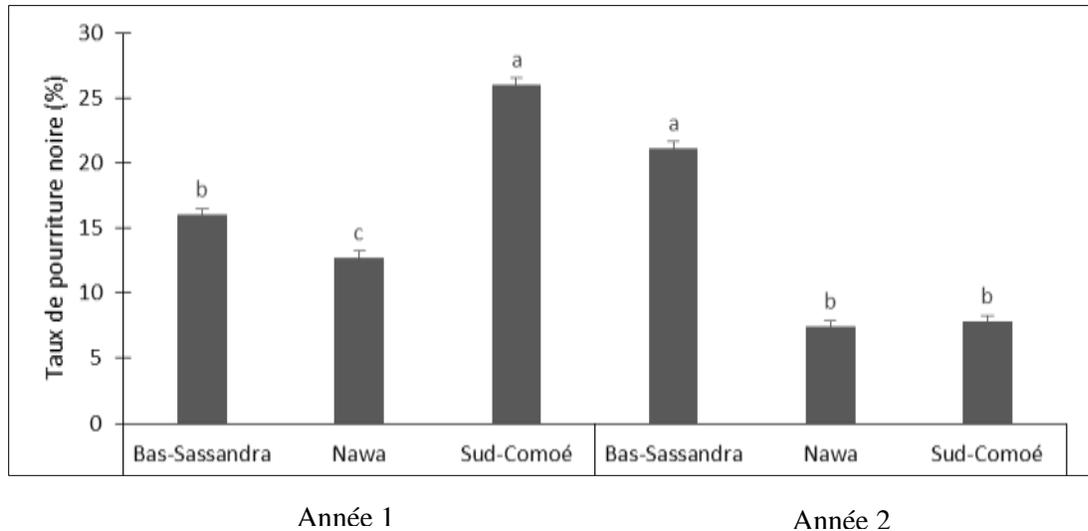


Figure 3: Taux de cabosses atteintes de pourriture noire en fonction des régions de cacao-culture. Dans une même année les valeurs affectées d'une même lettre sont identiques selon le test de Newman-Keuls au seuil de probabilité de 5%.

Caractérisation morphologique des isolats de *Botryodiplodia theobromae*

Aspects morpho-culturels : L'étude morpho-culturelle réalisée au troisième et au dixième jour après repiquage a révélé la présence de trois morphotypes au sein des isolats de *Botryodiplodia theobromae* étudiés. Les différents morphotypes observés sont illustrés par les **Error! Reference source not found.**

found.5. En effet, au troisième jour, les isolats ont été caractérisés par un mycélium de couleur blanchâtre, clairsemé ou cotonneux sur la face frontale de la boîte de Pétri. Ce faciès mycélien a évolué au fur et à mesure pour atteindre le couvercle de la boîte de pétri. À partir du dixième jour, la coloration initiale a viré progressivement en grisâtre ou noirâtre avec un aspect cotonneux et une structure duveteuse.



Faciès blanchâtre, cotonneux

Faciès blanchâtre, clairsemé

Faciès blanchâtre, duveteux

Figure 4 : Faciès mycéliens des isolats observés sur milieu de culture Petit Pois (PP) à 3 jours après inoculation



Figure 5 : Faciès mycéliens des isolats observés sur milieu de culture Petit Pois (PP) à 10 jours après inoculation

Croissance mycélienne des isolats de *Botryodiplodia theobromae* : Le **Error! Reference source not found.** indique la croissance mycélienne moyenne des isolats. Pour l'ensemble des isolats observés, la vitesse de croissance moyenne a varié de 46,4mm/j à 74,95mm/j. L'analyse de variance n'a montré aucune différence significative entre les

croissances mycéliennes moyennes des isolats ($F=0,354$ et $P > 0,05$). Toutefois, la vitesse de croissance moyenne de l'isolat D'94.4.1 a été la plus petite (46,4mm/j) par contre, celle de l'isolat ES.6.2 a été la plus grande (74,95 mm/j). Les autres isolats ont présenté des croissances mycéliennes moyennes.

Tableau 2 : Croissance mycélienne des isolats de *Botryodiplodia theobromae*

Isolats	Croissance mycélienne (mm/j)	Isolats	Croissance mycélienne (mm/j)
D'94.4.1	46,4	ES.3.1	70,65
PB.3.1	48,45	E10/1.3.2	70,85
E6/4.6.1	55,55	ES.7.1	70,9
G15.1.1	55,8	D9.10.1	71,2
E8/2.1.2	57,05	E14.1.1	71,2
D9.5.1	57,85	E10/1.7.1	71,6
D'94.1.1	58	E8/2.7.1	71,8
E6/4.4.1	58	E6/5.1.1	71,8
E10/4.5.1	59,25	D9.20.1	71,95
E10/1.1.1	63,3	E14.4.1	72,1
D'92.2.1	64,75	PB.5.2	72,4
A21.5.1	67,3	Jc.2.1	72,45
A21.6.2	67,7	E6/4.2.1	72,5
D'94.2.1	68,25	E14.3.1	72,85
E10/1.3.1	68,6	PB.2.1	74
D'92.4.1	70,25	E10/1.9.4	74,05
E14.1.2	70,25	ES.4.3	74,3
D'94.2.2	70,4	D9.1.2	74,65
E6/5.4.1	70,6	ES.6.2	74,95

Aspects microscopiques : La **Error! Reference source not found.**6 renferme les caractères microscopiques des isolats de *Botryodiplodia theobromae*, étudiés. Observé au microscope, les conidies sont apparues très variables d'un isolat à l'autre. Elles ont présenté dans leur ensemble deux couleurs dont la couleur brune et hyaline. Il a été constaté une prédominance de conidies brunâtres (80%) et hyalines (20%). Sur la base de la forme des conidies, les observations ont permis de distinguer des conidies ovoïdes, oblongues et ellipsoïdes. Des conidies ont présenté parfois des stries longitudinales irrégulières et des anneaux au niveau des

cloisons. Au niveau du nombre de cellules par conidie, des conidies bicellulaires (61%), unicellulaires (35%) et tricellulaires (4%) ont été observées (**Error! Reference source not found.**). L'analyse statistique a montré une différence significative entre les nombres moyens de cellules par conidie ($F=18,29$ et $p<0,05$). Le tableau 3 montre que le nombre moyen de cellules par conidie a varié de 1,03 à 2,53. Ainsi, le plus petit nombre moyen de cellules par conidie (1,03) a été obtenu chez l'isolat A_{21.6.2}, tandis que l'isolat E_{8/2.7.1} a présenté le plus grand nombre moyen de cellules par conidie (2,53).

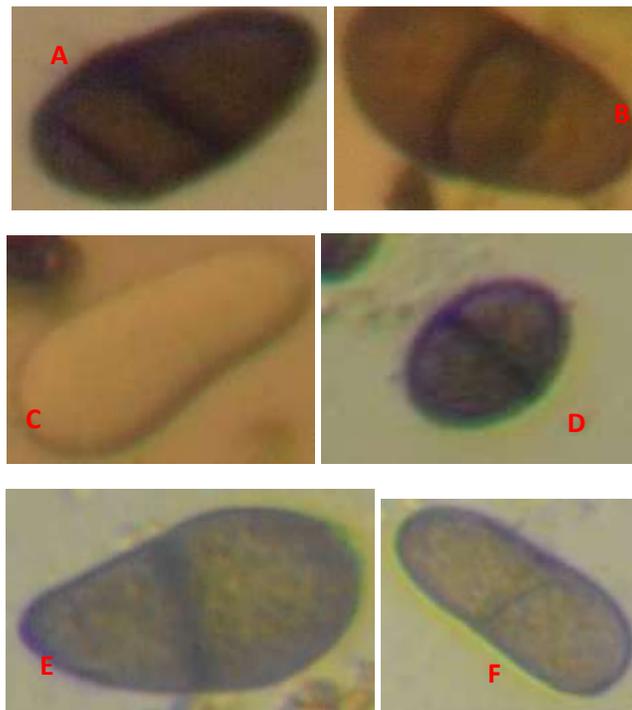


Figure 6 : Aspects microscopiques des conidies (G X 40)

A-Ellipsoïde, brunâtre, tricellulaire ; **B** -Oblongue, brunâtre, tricellulaire ; **C** – Ellipsoïde, hyaline, unicellulaire ; **D**-Ovoïde, brunâtre, bicellulaire, **E**- Oblongue, brunâtre, bicellulaire ; **F**- Ellipsoïde, brunâtre, bicellulaire

Tableau 3 : Nombre moyen de cellules par conidie

Isolats	Nombre moyen de cellules par conidie	Isolats	Nombre moyen de cellules par conidie
A _{21.6.2}	1,03 ^a	D' _{94.4.1}	1,77 ^{efgh}
E _{10/1.9.4}	1,07 ^{ab}	ES.1.2	1,80 ^{efgh}
D _{9.1.2}	1,17 ^{bc}	E _{6/4.6.1}	1,80 ^{efgh}
D _{9.20.1}	1,17 ^{bc}	E _{6/4.2.1}	1,83 ^{efgh}
E _{8/2.1.2}	1,23 ^{cd}	D' _{92.4.1}	1,90 ^{fghi}
D' _{94.2.2}	1,27 ^{cd}	E _{14.4.1}	1,90 ^{fghi}
E _{10/1.7.1}	1,27 ^{cd}	ES.4.3	1,90 ^{fghi}
D _{9.10.1}	1,37 ^{de}	D' _{94.1.1}	1,93 ^{fghi}
E _{10/1.2.1}	1,37 ^{de}	E _{10/4.5.1}	1,93 ^{fghi}
A _{21.5.1}	1,43 ^{def}	ES.7.1	1,93 ^{fghi}
D' _{92.2.1}	1,43 ^{def}	PB.3.1	1,97 ^{fghi}
E _{6/5.1.1}	1,43 ^{def}	D' _{94.2.1}	1,97 ^{fghi}
E _{6/4.4.1}	1,50 ^{defg}	E _{14.3.1}	1,97 ^{fghi}
PB.5.2	1,53 ^{defg}	ES.3.1	2,00 ^{hi}
E _{14.1.2}	1,53 ^{defg}	G _{15.1}	2,00 ^{hi}
E _{6/5.4.1}	1,67 ^{efgh}	E _{10/1.1.1}	2,00 ^{hi}
E _{14.1.1}	1,70 ^{efgh}	E _{10/1.3.2}	2,00 ^{hi}
D _{9.5.1}	1,73 ^{efgh}	ES.6.2	2,17 ⁱ
E _{10/1.3.1}	1,77 ^{efgh}	E _{8/2.7.1}	2,53 ^j

Dans une même colonne, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas statistiquement différentes selon le test de Newman-Keuls au seuil de probabilité de 5%.

Longueur et largeur des conidies : La longueur moyenne des conidies des isolats de *Botryodiplodia theobromae* étudiés a varié de 14,87±2,87 µm à 26,33±10,33 µm (**Error! Reference source not found.**). L'analyse statistique a montré une différence significative entre les longueurs moyennes des conidies. La plus petite longueur moyenne (14,87±2,87 µm) a été observée chez l'isolat

PB.5.2, tandis que la plus grande (26,33±10,33 µm) a été observée chez l'isolat D'_{94.2.1}. Au niveau de la largeur, les valeurs moyennes ont varié de 4,13±1,13 µm à 11,33±1,33 µm (**Error! Reference source not found.**). La plus petite largeur moyenne (4,13±1,13 µm) a été enregistrée chez l'isolat A_{21.6.2}, tandis que la plus grande largeur (11,33±1,33 µm) a été observée chez l'isolat Jc.2.1.

Tableau4 : Longueur et largeur des conidies des isolats de *Botryodiplodia theobromae*.

Isolats	Longueur moyenne (µm) ± sd	Isolats	Largeur moyenne (µm) ± sd
PB.5.2	14,87±2,87 ^a	A _{21.6.2}	4,13±2,07 ^a
A _{21.5.1}	15,20±9,20 ^{ab}	D' _{94.1.1}	6,60±2,47 ^b
A _{21.6.2}	15,60±3,60 ^{ab}	E _{8/2.7.1}	6,60±0,60 ^b
E _{6/4.4.1}	15,87±5,87 ^{ab}	E _{10/1.7.1}	6,87±4,87 ^{bc}
D' _{94.1.1}	16,13±4,13 ^{abc}	A _{21.5.1}	7,47±2,47 ^{bc}
D _{9.10.1}	16,13±4,13 ^{abc}	E _{14.4.1}	7,87±1,87 ^{bcd}
ES.1.2	16,13±4,13 ^{abc}	PB.5.2	8,07±2,07 ^{bcd}
G _{15.1.1}	16,20±4,20 ^{abc}	E _{6/5.1.1}	8,13±2,13 ^{bcd}

E ₁₄ .3.1	16,47±4,47 ^{abcd}	ES.6.1	8,13±2,13 ^{bcd}
D ₉ .20.1	16,50±9,50 ^{abcd}	ES.1.2	8,20±2,20 ^{bcd}
D' ₉₄ .2.2	16,67±2,67 ^{abcd}	G ₁₅ .1.1	8,20±2,20 ^{bcd}
E _{10/4} .5.1	16,87±2,87 ^{abcde}	E _{10/1} .2.1	8,20±2,20 ^{bcd}
E _{8/2} .7.1	16,87±4,87 ^{abcde}	ES.7.1	8,27±2,27 ^{bcd}
D' ₉₄ .4.1	16,93±4,93 ^{abcde}	D ₉ .20.1	8,33±3,33 ^{bcd}
E ₁₄ 1.2	16,93±8,93 ^{abcde}	E _{10/4} .5.1	8,33±0,33 ^{bcd}
E _{6/5} .1.1	16,97±4,97 ^{abcde}	E _{6/4} .4.1	8,40±2,40 ^{bcd}
E _{6/5} .4.1	17,00±7,00 ^{abcdef}	D' ₉₄ .2.2	8,40±0,40 ^{bcd}
D' ₉₂ .4.1	17,07±5,07 ^{bcdef}	PB.2.1	8,53±0,53 ^{bcd}
E _{10/1} .3.1	17,07±3,07 ^{bcdef}	D' ₉₂ .2.1	8,53±2,53 ^{bcd}
ES.3.1	17,13±3,13 ^{bcdef}	D ₉ .10.1	8,60±2,60 ^{bcd}
E _{10/1} .2.1	17,20±3,20 ^{bcdef}	E ₁₄ .3.1	8,60±0,60 ^{bcd}
ES.7.1	17,27±3,27 ^{bcdef}	D' ₉₄ .4.1	8,60±2,60 ^{bcd}
ES.6.1	17,33±1,33 ^{bcdef}	D' ₉₂ .4.1	8,60±2,60 ^{bcd}
PB.2.1	17,40±3,40 ^{bcdef}	D ₉ .5.1	8,67±0,67 ^{bcd}
D' ₉₂ .2.1	17,53±5,53 ^{bcdef}	ES.3.1	8,73±0,73 ^{bcd}
E _{10/1} .7.1	17,53±3,53 ^{bcdef}	D' ₉₄ .2.1	8,80±2,80 ^{bcd}
D ₉ .1.2	17,87±7,87 ^{bcdef}	D ₉ .1.2	8,87±2,87 ^{bcd}
E _{10/1} .1.1	17,87±7,87 ^{bcdef}	E _{6/4} .6.1	8,87±2,87 ^{bcd}
E _{6/4} .6.1	17,93±3,93 ^{abcdef}	E _{6/5} .4.1	9,00±3,00 ^{cd}
D ₉ .5.1	18,33±4,33 ^{bcdefg}	E _{10/1} .1.1	9,00±1,00 ^{cd}
ES.4.3	18,47±6,47 ^{bcdefg}	PB.3.1	9,13±1,13 ^{cd}
PB.3.1	18,87±4,87 ^{bcdefg}	E ₁₄ .1.1	9,40±3,40 ^{cd}
E ₁₄ .4.1	19,00±7,00 ^{bcdefg}	ES.6.2	9,40±4,40 ^{cd}
E ₁₄ .1.1	19,20±5,20 ^{bcdefg}	E ₁₄ 1.2	9,53±3,53 ^{cd}
Jc.2.1	19,87±3,87 ^{cdefgh}	E _{10/1} .9.4	9,73±1,13 ^{defgh}
E _{8/2} .1.2	20,60±6,60 ^{cdefgh}	E _{10/1} .3.2	10,00±4,00 ^{defgh}
E _{10/1} .9.4	21,67±1,67 ^{cdefgh}	E _{8/2} .1.2	10,07±4,07 ^{defgh}
E _{6/4} .2.1	22,13±4,13 ^{cdefgh}	E _{10/1} .3.1	10,20±2,20 ^{efghi}
ES.6.2	23,00±9,50 ^{efgh}	E _{6/4} .2.1	10,53±0,53 ^{efghi}
E _{10/1} .3.2	23,53±11,53 ^{gh}	ES.4.3	10,73±2,73 ^{fghi}
D' ₉₄ .2.1	26,33±10,33 ^h	Jc.2.1	11,33±1,33 ^{ghi}

Dans une même colonne, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas statistiquement différentes selon le test de Newman-Keuls au seuil de probabilité de 5%.

Densité sporale : Le **Error! Reference source not found.**5 présente les densités sporales moyennes des isolats de *Botryodiplodia theobromae*. Les résultats ont indiqué une variation des concentrations conidiennes des isolats allant de 0,08.10⁵ conidies/ml à 16,92.10⁵ conidies/ml. L'analyse statistique a montré une différence

significative entre les isolats (F=75,269 et p< 0,05). En effet, les isolats D₉.1.2 et E_{8/2}.7.1 ont présenté les plus faibles densités sporales moyennes (0,08.10⁵ conidies/ml), tandis que la plus grande densité sporale moyenne (16,92.10⁵ conidies/ml) a été obtenue chez l'isolat PB.2.1.

Tableau 5 : Densité sporale des isolats de *Botryodiplodia theobromae*

Isolats	Densité sporale moyenne (10 ⁵ conidies/ml)	Isolats	Densité sporale moyenne (10 ⁵ conidies/ml)
D ₉ .1.2	0,08 ^a	E _{10/1} .3.2	1,28 ^{ac}
E _{8/2} .7.1	0,08 ^a	E _{10/1} .2.1	1,36 ^{ac}
D' ₉₄ .2.2	0,12 ^a	E _{6/5} .4.1	1,8 ^{ac}
D ₉ .5.1	0,24 ^{ab}	E _{10/1} .3.1	1,88 ^{ac}
E _{10/1} .9.4	0,24 ^{ab}	E ₁₄ .3.1	2,04 ^{ac}
E _{10/1} .7.1	0,28 ^{ab}	E _{6/5} .1.1	2,32 ^{ac}
D' ₉₂ .2.1	0,36 ^{ab}	D' ₉₂ .4.1	2,4 ^{ac}
E ₁₄ .1.2	0,36 ^{ab}	D' ₉₄ .4.1	2,64 ^{ac}
E ₁₄ .1.1	0,4 ^{ab}	E _{6/4} .2.1	2,8 ^{bc}
ES.1.2	0,48 ^{ab}	A ₂₁ 5.1	3,04 ^c
E _{8/2} .1.2	0,56 ^{ac}	ES.4.3	4,84 ^d
PB.5.2	0,68 ^{ac}	D ₉ .10.1	5,12 ^d
E _{6/4} .4.1	0,68 ^{ac}	ES.7.1	5,48 ^{de}
G ₁₅ .1.1	0,72 ^{ac}	D' ₉₄ 1.1	5,68 ^{de}
E _{6/4} .6.1	0,8 ^{ac}	Jc.2.1	5,72 ^{de}
A ₂₁ .6.2	1,08 ^{ac}	ES.3.1	7,04 ^{ef}
D ₉ .20.1	1,08 ^{ac}	D' ₉₄ .2.1	8,12 ^f
E ₁₄ .4.1	1,08 ^{ac}	PB.3.1	8,4 ^f
ES.6.2	1,24 ^{ac}	E _{10/1} .1.1	15,12 ^g

Dans une même colonne, les valeurs moyennes suivies de la même lettre ne sont pas statistiquement différentes selon le test de Newman-Keuls au seuil de probabilité de 5%.

DISCUSSION

Les pertes moyennes dues à la pourriture noire ont été de 15,18 % au cours de cette étude. Nos résultats ne corroborent pas ceux obtenus par Coulibaly (2018) qui a montré que la pourriture noire des cabosses peut engendrer des pertes de l'ordre de 10 %. Cette différence de résultats serait sans doute liée aux conditions agro-climatiques, mais également au polyphytisme de l'agent pathogène. En effet, le polyphytisme énorme du *Botryodiplodia theobromae* résulterait de l'existence de plusieurs souches possédant des pouvoirs pathogènes différents. Toutefois, l'analyse des pertes dues à la pourriture noire par région a présenté une différence significative. En effet, les pertes dues à la pourriture noire ont varié de 18,25% pendant la première année d'étude à 12,11% au cours

de la seconde année. En effet, selon les auteurs Naqvi et Perven (2015) ; Paolinelli-Alfonso *et al.* (2016) ; cette variation pourrait s'expliquer par une mauvaise gestion des vergers et certaines contraintes abiotiques telles que : la sécheresse, les fortes températures, l'ensoleillement, les stress hydriques, la salinité et les carences nutritionnelles qui contribueraient au développement et à la progression de la maladie. Les résultats des caractérisations morphoculturelles et microscopiques des isolats de *Botryodiplodia theobromae* ont montré une variation significative des caractères étudiés. Les isolats étudiés ont présenté sur milieu Petit pois trois morphotypes (cotonneux, clairsemé et duveteux) avec une coloration allant de blanchâtre de grisâtre à noirâtre. La vitesse

moyenne de la croissance des colonies mycéliennes a varié de 46,4 mm/j à 74,95 mm/j. Ces résultats obtenus sont similaires à des études antérieures qui ont montré que les colonies mycéliennes des isolats de *Botryodiplodia* passent progressivement de blanchâtre, 3 jours après repiquage à grisâtre-noirâtre, une à deux semaines après repiquage (Norhayati *et al.*, 2015 ; Dianda *et al.*, 2020). Néanmoins, il a été noté la présence de cristaux sur le faciès du mycélium de certains isolats. Cette différence serait due à la grande diversité de l'espèce *Botryodiplodia theobromae*., mais également à la nature du substrat utilisé comme milieu de culture (Roger, 1953). En outre, l'analyse des caractères microscopiques a montré que le conidiophore des isolats de *Botryodiplodia theobromae* est cloisonné, ramifié, parfois toruleux de couleur brun-noirâtre. Cette étude a également permis de montrer que les conidies sont unicellulaires, bicellulaires et parfois tricellulaires, hyaline à brunâtre avec des formes ovoïdes, oblongues et ellipsoïdes. La longueur et la largeur moyennes des conidies se sont situées entre

14,87-26,33×4,13-11,33 μm . Ces caractères microscopiques observés ont été rapportés par plusieurs auteurs (Pavlic *et al.*, 2004 ; Alves *et al.*, 2008, Norhayati *et al.*, 2015 et Dianda *et al.*, 2020). Selon Alemu *et al.* (2004), les conidies de *B. theobromae* sont initialement hyalines, unicellulaires, ellipsoïdes à oblongues, à parois épaisses et à contenu granuleux et à maturité, elles deviendraient bicellulaires, brun foncé, avec des tailles généralement comprises entre 19-30 x 12,5-15 μm et des bandes longitudinales pigmentées. Cette variation pourrait s'expliquer par le type de cultures, l'âge du milieu de culture, mais également les variations des conditions environnementales. Toutefois, certaines conidies ont présenté des anneaux au niveau du septa et des stries longitudinales sur leur surface. Phillips *et al.* (2008) ont signalé que les principales caractéristiques qui distinguent *Lasiodiplodia/ Botryodiplodia* des autres genres étroitement apparentés sont la présence de paraphyses pycnidiales et de stries longitudinales sur les conidies matures.

CONCLUSION ET APPLICATION DES RÉSULTATS

Cette étude menée sur deux années consécutives dans trois régions productrices de cacao en Côte d'Ivoire a permis d'évaluer l'incidence de la pourriture noire des cabosses en champ. Les résultats obtenus ont révélé une différence significative entre les régions d'étude. Ainsi, les pertes de récoltes les plus importantes ont été enregistrées dans les régions du Sud-Comoé et du Guémon. Les caractères morphologiques ont mis en évidence diverses caractéristiques entre les isolats de *Botryodiplodia theobromae*. Elles ont révélé d'une part, trois morphotypes ; clairsemé, duveteux et cotonneux avec une coloration blanchâtre, grisâtre à noirâtre et d'autre part, des conidies ovoïdes, oblongues et ellipsoïdes de teinte brunâtre à hyaline. Les

conidies ont également présenté une taille équivalente à 14,87-26,33×4,13-11,33 μm avec un mycélium cloisonné, ramifié, rectiligne, parfois toruleux et de couleur brun-noirâtre. Cette étude a permis de déterminer les pertes de récolte dues à la pourriture noire des cabosses dans les 03 régions de productions et de confirmer la variation morphologique des isolats de *Botryodiplodia theobromae*. La connaissance de la répartition de l'incidence de la pourriture noire dans ces principales zones de cacaoculture laisse entrevoir la possibilité d'une meilleure compréhension de la distribution et de l'importance de ce champignon, afin d'établir des stratégies de lutte efficace pour son contrôle.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent qu'il n'y a aucun conflit d'intérêt.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alemu G., Abraham Y., and Habtemaria K., 2004. First report of *Lasiodyplodia theobromae* causing canker on tapped *Boswellia papyrifera* trees in Ethiopia. *New Disease Reports* (2014) 29, 11. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.029.011>.
- Alves, A., Crous, P.W., Correia, A. and Phillips, A.J.L. 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodyplodia theobromae*. *Fungal Diversity* 28: 1-13.
- Coulibaly, K., Kébé, I.B., Mpika J., Kassin E., Romain A.A., N'Guessan W.P., Tahi M.G., Guiraud S.B., Assi M., Koné B., N'Guessan K. F., Koné D. 2018. Incidence of black pod disease in the cocoa orchard of Côte d'Ivoire. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*. Vol:04, ISSN: 2455-6939.
- Coulibaly, K. 2014. Etude de la structure des populations de *Phytophthora* spp, agent de la pourriture brune des cabosses de cacaoyers (*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat Unique de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire, p.190.
- Coulibaly K., Kebe I., Koffi N., Mpika,J., & Koné, D., 2013. Caractérisation des isolats de *Phytophthora* spp du verger cacaoyers de Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.* 70: 5567-5579.
- Dianda Z. O., Wonni I., Fernandez D., Zombré T. C., Ouédraogo S. L., Sankara P. 2020. Caractérisation de *Lasiodyplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. Agent pathogène associé au dessèchement du manguier au Burkina Faso. *Science de la vie, de la terre et agronomie*. Vol.08, Num.02., ISSN 2424-7235.
- Dianda ZO. 2019. Caractérisation des agents pathogènes associés au dessèchement du manguier et essai de méthode de lutte contre la maladie au Burkina Faso. Thèse de doctorat Unique de l'Université Joseph KIZERBO, Ouagadougou, p.246.
- Dufumier M. 2016. L'adaptation de la cacaoculture ivoirienne au dérèglement climatique : L'agroécologie pourrait-elle être une solution ? Plate-Forme pour le Commerce Equitable. 16p.
- ICCO. 2020. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics Vol. XLV, No.3, Cocoa year 2018/19. 1p
- Koua S. H., Coulibaly N. A. M-D. & Alloueboraud WAM, 2018. Caractérisation vergers et des maladies de cacao de la Côte d'Ivoire : cas des départements d'Abengourou, Divo et Soubré. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2018. Vol.35, Issue 3: 5706-5714.
- Mossu, G. 1990. Le cacaoyer. Le technicien d'agriculture tropicale. N° 14, pp: 9-109.
- Muhammad A. K., Abdul M. L., and Saleem S. 2004. Mango dieback and gummosis in Sindh, Pakistan caused by *Lasiodyplodia theobromae*. *Plant Health Progress*. Doi:10.1094/PHP-2004-0302-01-DG.
- Naqvi, A.H.S., Perven, R., 2015. Mango quick decline manifestation on various cultivars at plants of particular age in the Vicinity of district Multan. *Pak. J. Phytopathol.* 27, 31–39.
- Norhayati, M., Erneeza, M.H., And, Kamaruzaman, S., 2015. Morphological, Pathogenic and Molecular Characterisation of

- Lasiodiplodia theobromae : A Causal Pathogen of Black Rot Disease on Kenaf Seeds in Malaysia Morphological , A Causal Path. *Int. J. Agric. Biol.* 7 p. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0065>
- Paolinelli-Alfonso, M., Villalobos-Escobedo, J M Rolshausen, P., Herrera-Estrella, A., Galindo-Sánchez, C., López-Hernández, J F Hernandez-Martinez, R., 2016. Global transcriptional analysis suggests *Lasiodiplodia theobromae* pathogenicity factors involved in modulation of grapevine defensive response. *BMC Genom* 17, 615.
- Pavlic, D.; Slippers, B.; Coutinho, T. A.; Gryzenhout, M.; Wingfield, M. J. 2004. *Lasiodiplodia gonubiensis* sp. a new Botryosphaeria anamorph from native *Syzygium cordatum* in South Africa. *Studies in Mycology*, n. 50, p. 313–322.
- Phillips, A., Alves, A., Pennycook, S., Johnston, P., Ramaley, A., Akulov, A., And, Crous, P., 2008. Resolving the phylogenetic and taxonomic status of dark-spored teleomorph genera in the *Botryosphaeriaceae*. *Persoonia* 21, 29–55.
- Roger, L. 1953. *Encyclopedie mycologique: Phytophatologie des pays chauds*. Paris: Paul Lechevalier, 1953. 2256p.