



Centre Africain de Recherches sur Bananiers et Plantains

**ETUDE SUR LES CONDITIONS DE REINTRODUCTION DES
FONGICIDES SYSTEMIQUES DANS LES PROGRAMMES DE LUTTE
CONTRE LA MALADIE DES RAIES NOIRES AU CAMEROUN DANS
LA ZONE DE PRODUCTION DE LA BANANE DESSERT
D'EXPORTATION**

RAPPORT NARRATIF INTERMEDIAIRE N°2
Rapport des activités spécifiques 1, 3, 4 et 5 de mars 2009 à septembre 2009

Contrat de service N°146 – 762/786/798/801(Cris)

Financement : ATF 2002



**Luc de Lapeyre de Bellaire , Josué Essoh Ngando, Adrien Rieux, Jean
Carlier, Virginie Ravigné, Marie Françoise Zapater, Françoise Careel**

**Avec la collaboration technique de F. Tchipe, J. Essome, S. Kana, C.
Essoh et H. Mpouli, Robert Dongmo, Oscar Nguidjo, Luc Pignolet**

Njombé, septembre 2009

Document CARBAP

404/CARBAP/2009

1. Description

1.1. Nom du bénéficiaire du contrat de subvention:

Centre Africain de Recherches sur bananiers et Plantains (CARBAP)

1.2. Nom et fonction de la personne de contact :

Kodjo Tomekpe, Directeur du centre

1.3. Nom des partenaires de l'Action:

CIRAD (Centre International de Recherches Agronomiques pour le Développement) et Bayer CropScience

1.4. Intitulé de l'Action:

Etude sur les conditions de réintroduction des fongicides systémiques dans les programmes de lutte contre la Maladie des Raies Noires au Cameroun

1.5. Numéro du contrat:

N° 146 6 762/786/798/801 (Cris)

1.6. Date de début et date de fin de la période de reporting:

1^{er} avril 2009 au 15 septembre 2009

1.7. Pays cible:

Cameroun

1.8. Bénéficiaires finaux:

Plantations agro Industrielles de bananes destinées à l'export

2. Evaluation de la mise en œuvre des activités de l'Action

2.1. Rappel du contexte de l'étude

La maladie des raies noires (MRN) est la principale contrainte parasitaire des plantations agro-industrielles de bananes dessert. Cette maladie foliaire, présente dans la majeure partie des zones de production de bananes dans le monde, est provoquée par le champignon ascomycète et aérien *Mycosphaerella fijiensis*. Les attaques de ce champignon peuvent entraîner une réduction de l'activité photosynthétique et des pertes de rendement variant de 10 à 100%. Toutefois, l'effet le plus important de la maladie est indirect car les régimes récoltés sur les plants fortement affectés ont une durée de conservation fortement réduite et ne

peuvent donc pas être exportés. En l'absence de variétés résistantes (non disponibles à ce jour), la culture intensive de la banane dessert pour l'export n'est donc réalisable qu'au moyen d'un contrôle chimique rigoureux de cette maladie. Au Cameroun, *M. fijiensis* a été signalé pour la première fois en 1981. A la fin des années 80, une méthode d'avertissement utilisant des descripteurs biologiques a été mise au point et appliquée avec succès, limitant ainsi le nombre d'applications à 12-14 par an. Cette lutte raisonnée par avertissement reposait fortement sur l'emploi de fongicides systémiques ayant un fort effet curatif. Malheureusement, depuis 1996, l'apparition de souches résistantes aux fongicides systémiques a entraîné l'abandon de cette stratégie au détriment d'une méthode de lutte plus systématique reposant majoritairement sur l'emploi de fongicides de contact. Les fongicides de contact ne provoquent pas l'apparition de souches résistantes, mais ils n'ont pas d'effet curatif sur la maladie, et sont donc utilisés préventivement. Ainsi, en 2006, malgré un souci constant de continuer à piloter la lutte chimique par l'observation de descripteurs biologiques, environ 40 traitements ont été effectués sur la majorité des plantations. Cette augmentation du nombre de traitements a entraîné une augmentation du coût de la lutte, mais également des risques environnementaux. En effet, en plus de l'augmentation des quantités de matière active liées à l'accroissement du nombre de traitements, les fongicides de contact sont épandus à des doses plus importantes que les fongicides systémiques. De nouvelles stratégies de traitement doivent être aujourd'hui redéfinies pour retrouver une situation plus durable sur les plans économiques et environnementaux

2.2. Rappel des objectifs de l'étude et de la méthodologie

2.2.1. Objectifs

Les observations récentes des derniers monitoring montrent qu'il y a une baisse des niveaux de résistance dans certaines plantations commerciales du Cameroun, plus particulièrement depuis que les fongicides systémiques ne sont plus ou peu employés. Cette évolution permet de penser que les phénomènes de résistance aux fongicides sont peut être réversibles.

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de cette évolution récente des niveaux de résistance :

- des flux de gènes provenant des zones non traitées (effectifs élevés de populations sensibles aux fongicides), vers les plantations commerciales (effectifs faibles de populations résistantes) qui pourraient entraîner une « dilution » progressive du phénomène de résistance
- une perte de compétitivité des souches résistantes qui seraient alors progressivement éliminées lorsque la pression de sélection fongicide est arrêtée (plus de traitements avec des fongicides systémiques)

L'objectif de cette étude est ainsi de :

- Mesurer l'évolution dans le temps du niveau de résistance aux fongicides systémiques dans les populations pathogènes de *M. fijiensis* des plantations industrielles du Cameroun.
- Définir les conditions d'un réemploi éventuel des fongicides systémiques dans le cadre des différentes stratégies de traitement utilisées au Cameroun. Plus particulièrement est visée la possibilité de réutiliser des stratégies de traitement basées sur un système d'avertissement.

2.2.2. Méthodologie

Le programme de travail de cette étude a été regroupé en 5 activités spécifiques qui permettront de répondre aux objectifs de l'étude :

Activité spécifique 1. Améliorer les méthodes d'évaluation de la résistance aux fongicides.

Activité spécifique 2. Evaluer les niveaux de résistance dans les différentes plantations commerciales du Cameroun.

Activité spécifique 3. Mesurer les flux de gènes entre les plantations non traitées et les plantations commerciales.

Activité spécifique 4. Mesurer l'impact de stratégies de traitement sur la résistance aux fongicides

Activité spécifique 5. Evaluer la compétitivité des souches résistantes par rapport aux souches sensibles

2.3. Résumé de l'Action

Au cours de cette période, les activités ont concerné :

- (i) une mission d'un mois de Josué Ngando au Cirad à Montpellier (4 mai au 7 juin 2009) qui a permis de définir les grands axes des différentes activités du projet de recherche sur les activités spécifiques 1, 4 et 5. Cette réflexion a été confortée par une recherche bibliographique.
- (ii) Le début d'utilisation d'une méthode d'évaluation des niveaux de résistance à partir de la germination des conidies (activité spécifique 1).
- (iii) L'installation d'épidémies artificielles dans les parcelles installées en forêt, pour l'activité spécifique 4
- (iv) Dans le cadre de l'activité spécifique 5, la constitution d'une collection de souches résistantes aux strobilurines et aux triazoles et la caractérisation de cette collection par J. Ngando au laboratoire de Bayer CropScience (Monheim), lors de son séjour en Europe.

2.4. Activités et résultats

2.4.1. Activité spécifique 1 : Améliorer les méthodes d'évaluation de la résistance aux fongicides.

Traditionnellement, l'étude de la résistance en laboratoire a souvent été réalisée à l'aide d'une méthode reposant sur l'évaluation de la croissance des tubes germinatifs d'ascospores (structures sexuées) des populations pathogènes. Cependant, avec cette méthode il subsiste un

questionnement permanent sur la représentativité des populations analysées, se traduisant notamment par des différences surprenantes de la sensibilité observée sur un même échantillon pour des fongicides ayant un même mode d'action (strobilurines). Enfin, avec cette technique il n'est pas possible de mettre en œuvre un suivi continu des populations pathogènes au cours des saisons (nombreux échecs de la méthode liés à une faible sporulation ascosporee), et par ailleurs il est impossible de définir à l'avance un plan d'échantillonnage du fait d'une dépendance méthodologique de stades nécrotiques de la maladie.

2.4.1.1. Développement d'une méthode basée sur la germination des conidies

La méthode conidie est une nouvelle technique d'évaluation de la résistance récemment mise en place au CARBAP. Elle est essentiellement basée sur la sporulation de conidies (structures végétatives du champignon) à partir de jeunes lésions de stades 3 à 4 de la maladie : toutes les conidies d'une même lésion sont considérées comme identiques et représentatives d'une même souche. Ainsi, cette technique pourrait apporter plusieurs solutions à certains problèmes techniques posés par la méthode ascospore usuelle.

En effet, la méthode conidie est compatible à la réalisation d'un échantillonnage rationnel sur le terrain car l'utilisation de jeunes lésions offre l'opportunité de maîtriser un plan d'échantillonnage préétabli. Par ailleurs, dans cette méthode, une même souche peut être comparée à la fois sur un témoin sans fongicide et un L'échantillonnage est une étape préalable aux analyses de laboratoire.

En rappel, des travaux préliminaires réalisés au cours du premier trimestre de l'année ont permis de faire une première évaluation de la méthode conidie sur quelques parcelles (55 analyses réparties sur 15 sites de prélèvement), et de se faire une idée plus précise des contraintes de la méthode. En général, on enregistre en moyenne 70% de succès des analyses, c'est-à-dire 50 réponses positives sur un total de 70 souches mises en culture sur chaque fongicide testé (tableau 1, 2, 3 et 4). Au minimum, 40 % des échantillons mis en culture ont pu être lus, 93% au mieux.

Tableau 1 : évaluation de la méthode conidie avec le Tilt

TILT				
Secteurs	nb en culture	nb succès	nb échecs	% succès
phyto 2 Carbap	70	59	11	84
phyto 4 Carbap	70	54	16	77
Plantain Mbome1	70	39	31	56
Plantain Mbome 2	70	45	25	64
Phyto 1	70	61	9	93
singa	70	58	12	87
lala	70	54	16	83
penja est	70	36	34	61
loum 2	70	32	38	51
boubou plantain	70	28	42	40
penja ouest	70	35	35	54
kumbe	70	48	22	74
mantem2	70	54	16	77
bonandam	70	57	13	81
djoungo plantain	70	48	22	69
Echantillon paysan	70	40	30	57
moyenne				69

Tableau 2 : évaluation de la méthode conidie avec le Bankit

BANKIT				
Secteurs	nb en culture	nb succès	nb échecs	% succès
phyto 2 Carbap	70	67	3	96
phyto 4 Carbap	70	32	38	46
Plantain Mbome1	70	35	35	50
Plantain Mbome 2	70	46	24	66
Phyto 1	70	62	8	89
singa	70	58	12	83
lala	70	61	9	87
penja est	70	45	25	64
loum 2	70	32	38	46
boubou plantain	70	32	38	46
penja ouest	70	43	27	61
kumbe	70	53	17	76
mantem2	70	59	11	84
bonandam	70	48	22	69
djoungo plantain	70	34	36	49
Echantillon paysan	70	44	26	63
moyenne				67

Tableau 3 : évaluation de la méthode conidie avec le Tega

TEGA				
Secteurs	nb en culture	nb succès	nb échecs	% succès
phyto 2 Carbap	70	66	4	94
phyto 4 Carbap	70	54	16	77
Plantain Mbome1	70	30	40	43
Plantain Mbome 2	70	37	33	53
Phyto 1	70	64	6	91
singa	70	63	17	90
lala	70	64	6	91
penja est	70	51	19	73
loum 2	70	46	24	66
Boubou plantain	70	33	37	47
Echantillon paysan	70	46	24	66
moyenne				79

Tableau 4 : évaluation de la méthode conidie avec le Callis

Callis				
Secteurs	nb en culture	nb succès	nb échecs	% succès
phyto 2 Carbap	70	61	9	87
phyto 4 Carbap	70	54	16	77
Plantain Mbome1	70	44	26	63
Plantain Mbome 2	70	45	25	64
Phyto 1	70	56	14	80
singa	70	55	15	79
lala	70	62	8	89
penja est	70	48	22	69
loum 2	70	27	43	39
boubou plantain	70	41	29	59
penja ouest	70	30	20	43
kumbe	70	57	13	81
mantem2	70	61	9	87
bonandam	70	49	21	70

djoungo plantain	70	33	37	47
Echantillon paysan	70	52	18	74
moyenne				69

2.4.1.2. Comparaison des méthodes ascospore et conidie

En marge de la première campagne de monitorings effectuée dans les plantations au cours de la période avril-juillet 2009, un protocole détaillé pour la comparaison des deux méthodes de monitoring (ascospore et conidie) a été défini (annexe 1). Le dispositif d'essai a été mis en place depuis le début du mois d'août, et les activités se déroulent suivant le chronogramme ci dessous.

Tableau 5 : Chronogramme d'activités de comparaison de méthodes de monitoring

Dates	Activités
07-août	préparation des milieux et dosage Tilt
10-août	prélèvements des échantillons foliaires à Lala
	mise en culture méthode conidie, mise en incubation méthode ascospore
12-août	mise en culture méthode ascospore, lecture méthode conidie
13-août	préparation des milieux et dosage Callis
14-août	Lecture méthode ascospore
17-août	prélèvements des échantillons foliaires à Lala
	mise en culture méthode conidie, mise en incubation méthode ascospore
19-août	mise en culture méthode ascospore, lecture méthode conidie
20-août	préparation des milieux et dosage Bankit
21-août	Lecture méthode ascospore
24-août	prélèvements des échantillons foliaires à Lala,
	mise en culture méthode conidie, mise en incubation méthode ascospore
26-août	mise en culture méthode ascospore, lecture méthode conidie
28-août	Lecture méthode ascospore

Le but de cette comparaison vise à tester de façon expérimentale les différentes méthodes, dans l'optique de proposer la nouvelle technique conidie qui pourrait permettre de mieux traduire la situation de la résistance au champ et de réduire les biais méthodologiques. En d'autres termes, la technique conidie doit être validée par une étude comparée avec la méthode ascospore afin de déterminer parmi ces deux méthodes biologiques la plus fiable en termes de précision et de répétitivité de la mesure effectuée.

Dans cette expérimentation, trois fongicides Tilt 250 EC, Callis 400 OL et Bankit 75 SC représentant respectivement les trois différents modes d'action (triazoles, benzimidazoles, strobilurines) ont été comparés. Pour un même fongicide, chaque technique est répétée trois fois sur un même échantillon.

Pour les triazoles (Tilt), et les strobilurines (Bankit), les indicateurs retenus ont été :

- le % moyen d'inhibition observé sur l'ensemble de la population
- le % de phénotypes non présents dans les échantillons paysans (souches ayant moins de 50% d'inhibition de croissance)

Pour les benzimidazoles (Callis) les indicateurs ont été les suivants :

- % de phénotypes résistants (germination normale en présence du fongicide)
- % de phénotypes sensibles (germination déformée ou absence de germination)

Le phénotypes avec un tube germinatif plus court n'ont pas été considérés.

Pour les triazoles (tableau 6), les deux méthodes ont donné des résultats peu variables, avec un coefficient de variation supérieur pour la méthode conidienne, mais qui reste inférieur à 20%. L'erreur standard est également plus élevée pour la méthode conidienne. Les valeurs moyennes obtenues par les deux méthodes sont comparables.

Pour les strobilurines (tableau 7), les deux méthodes ont également donné des résultats peu variables, avec un coefficient de variation comparable pour les deux méthodes et qui reste inférieur à 20%. En fonction des paramètres ; l'erreur standard est plus élevée pour l'une ou l'autre des deux méthodes. Toutefois, les résultats obtenus avec les deux méthodes semblent diverger : l'inhibition obtenue sur les ascospores est plus faible, et le % de phénotypes absents dans les échantillons paysans (qui pourrait être assimilé à des souches résistantes) est plus important pour les ascospores que pour les conidies.

Pour les benzimidazoles (tableau 8), la comparaison a été réalisée dans deux sites. Les résultats obtenus avec la méthode ascospore sont plus variables pour les deux sites analysés. Les coefficients de variation sont nettement plus élevés avec cette méthode et il en va de même pour l'erreur standard.

Tableau 6 : comparaison des méthodes conidies et ascospores pour le Tilt

TILT	% inhibition de croissance		% spores dans classe < 50 %	
	Méthode conidies	Méthode ascospores	Méthode conidies	Méthode ascospores
Secteurs				
Lala (répétition 1)	36	30	72	88
lala (répétition 2)	25	30	85	94
lala (répétition 3)	34	32	64	86
Ecart type	5,9	1,2	10,6	4,2
Moyenne	31,7	30,7	73,7	89,3
Coefficient de variation	18,5	3,8	14,4	4,7
Erreur standard	4,1	0,8	7,5	2,9

Tableau 7 : comparaison des méthodes conidies et ascospores pour le Bankit

BANKIT	% inhibition de croissance		% spores dans classe < 50 %	
	Méthode conidies	Méthode ascospores	Méthode conidies	Méthode ascospores
Secteurs				
Lala (répétition 1)	93	71	6	28
lala (répétition 2)	86	71	9	24
lala (répétition 3)	90	67	8	36
Ecart type	3,5	2,3	1,5	6,1
Moyenne	89,7	69,7	7,7	29,3
Coefficient de variation	3,9	3,3	19,9	20,8
Erreur standard	2,5	1,6	1,1	4,3

Tableau 8 : comparaison des méthodes conidies et ascospores pour le Callis

CALLIS	% souches résistants		% souches sensibles	
	Méthode conidies	Méthode ascospores	Méthode conidies	Méthode ascospores
Lala (répétition 1)	4	13	96	84
lala (répétition 2)	6	11	94	87
lala (répétition 3)	2	0	98	100
Ecart type	2,0	7,0	2,0	8,5
Moyenne	4,0	8,0	96,0	90,3
Coefficient de variation	50,0	87,5	2,1	9,4
Erreur standard	1,4	4,9	1,4	6,0

Singa (répétition 1)	29	52	71	44
Singa (répétition 2)	25	22	76	78
Singa (répétition 3)	27	34	73	66
Ecart type	2,0	15,1	2,5	17,2
Moyenne	27,0	36,0	73,3	62,7
Coefficient de variation	7,4	41,9	3,4	27,5
Erreur standard	1,4	10,7	1,8	12,2

La comparaison des deux méthodes va se poursuivre afin de disposer de plus de données comparatives.

2.4.1.3. Amélioration des méthodologies d'échantillonnage

L'objectif de ce travail est de mettre en place une procédure d'échantillonnage foliaire au champ permettant d'apporter des réponses claires sur la représentativité de la population de souches résistantes de *Mycosphaerella fijiensis* à analyser au laboratoire par rapport à la population totale présente sur le terrain. En d'autres termes, la question est de savoir si la population de souches analysée en laboratoire intègre toutes les composantes de la population réelle du champ. En effet, il est question de déterminer la structuration spatiale des populations pathogènes à différentes échelles, afin de mieux localiser les sites de prélèvements d'échantillons au champ. Le protocole de cette activité est en cours de consolidation, mais plus particulièrement, les différents niveaux d'échelles spatiales qui seront analysées seront les suivants :

- l'âge de la feuille : en effet, nous faisons l'hypothèse que différentes « vagues d'inoculum incident » se succèdent sur les différents étages foliaires du bananier. Ainsi, l'âge de la feuille est susceptible d'influencer le niveau de résistance qui sera propre à la constitution de ces différentes vagues d'inoculum incident.
- l'emplacement du bananier au sein d'une même parcelle qui sera étudié dans un deuxième temps, à partir des résultats de la première étude sur l'influence de l'âge de la feuille

Cette étude spatiale doit permettre de répondre à deux principaux impératifs :

- (i) définir des outils méthodologiques permettant d'effectuer des mesures assez précises et un suivi continu de la fréquence de résistance dans les dispositifs de pression de sélection et de contre sélection dont la superficie ne dépasse pas 1 ha.
- (ii) Apporter des informations permettant de rationaliser les échantillonnages dans le cadre des monitorings de routine à l'échelle d'une plantation (40-100ha).

2.4.2. Activité spécifique 4 : Mesurer l'impact de stratégies de traitement sur la résistance aux fongicides

L'objectif de cette étude est de quantifier l'effet de la sélection exercée par les fongicides systémiques et plus particulièrement pour deux groupes de fongicides à mode d'action différent :

- les inhibiteurs de la biosynthèse des stérols, appartenant généralement à la famille des triazoles, dont le représentant sera le propiconazole (Tilt) qui a été le produit de cette famille le plus utilisé au Cameroun. Dans le cas de ces fongicides, le niveau de résistance est mesuré par un caractère quantitatif : la CI50 ou concentration qui inhibe 50% de la germination ; ou le % d'inhibition à une concentration donnée (souvent 0.1 ppm) par rapport à un milieu sans fongicide.
- les inhibiteurs quinones de la respiration, appartenant à la famille des strobilurines, dont le représentant sera la trifloxystrobine (Tega). Dans le cas de ce fongicide, la résistance peut être évaluée par la détection d'une mutation dans le génome mitochondrial du champignon. Il s'agit donc d'un descripteur qualitatif car la mutation peut être détectée par des techniques d'analyse moléculaire : extraction ADN à partir de lésions, amplification de la zone portant la mutation par PCR, pyro-séquençage de la zone amplifiée permettant la détection de la mutation. Cette technique est possible à partir de méthodes développées au Cirad (extraction d'ADN à partir de jeunes lésions) et à Bayer Cropscience (pyroséquençage).

L'effet de la sélection sera quantifié sur des parcelles expérimentales sur lesquelles des épidémies artificielles auront été installées à partir de sources d'inoculum préalablement choisies et présentant un faible niveau de résistance au fongicide qui sera par la suite appliqué sur la parcelle. Une fois l'épidémie installée, l'application régulière de fongicides permettra de mesurer l'intensité de la sélection qui sera proportionnelle à l'augmentation du niveau de résistance aux fongicides.

Enfin, une fois que des niveaux de résistance importants auront été obtenus, les traitements fongicides seront interrompus afin de mesurer une éventuelle contre-sélection du fait d'une éventuelle moindre compétitivité des souches résistantes. Cette contre-sélection sera proportionnelle à la diminution du niveau de résistance.

2.4.2.1. Mise en place des dispositifs expérimentaux

Afin de s'affranchir des sources d'inoculum externes à la parcelle (flux de gènes), condition nécessaire à la mesure exclusive de l'effet de la sélection, ces parcelles expérimentales ont été installées dans une zone où il n'y a pas de bananiers. La zone choisie

est située à l'intérieur d'une grande région cultivée en palmier à huile comprise entre Maleke (Site 1) et Mbondjo/Souza (Site 2) (photos 1 et 2). Dans cette zone, la présence de bananiers est rare, et les bananiers repérés dans l'environnement des deux parcelles choisies ont été détruits.

Les parcelles de Maleke et de Mbonjo ont été respectivement plantées du 23 au 28 avril et du 5 au 9 mai. Chaque parcelle a été établie sur une superficie d'environ 1 ha dans les différents sites (figure 1 et 2). Les plantings ont été réalisés à partir de souches à rejets attenants (rejets baïonnettes sans feuilles donc non susceptibles de transporter le champignon) prélevées dans la plantation industrielle de la PHP, secteurs Djoungo parcelle T03 ; SAR parcelle A3 et Boubou parcelle P4. A Mbonjo, la viabilisation du site a été très difficile et a nécessité la destruction des bananiers se trouvant dans les bas fonds qui jouxtent la parcelle.



Photo 1 : planting de Mbonjo (Site 2)



Photo 2 : planting de Maleke (Site 1)

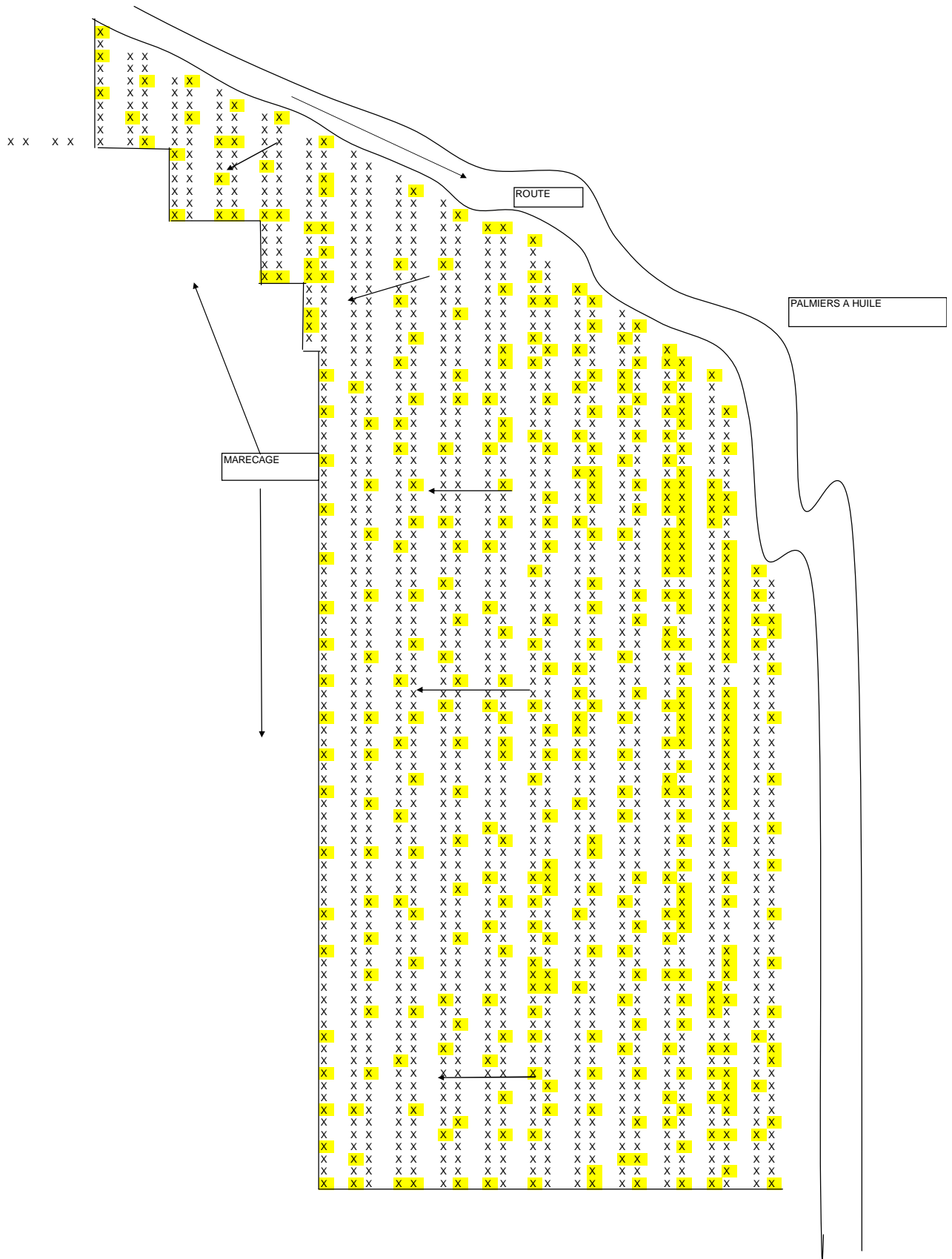


Figure 1 : Plan de la parcelle de Maleke

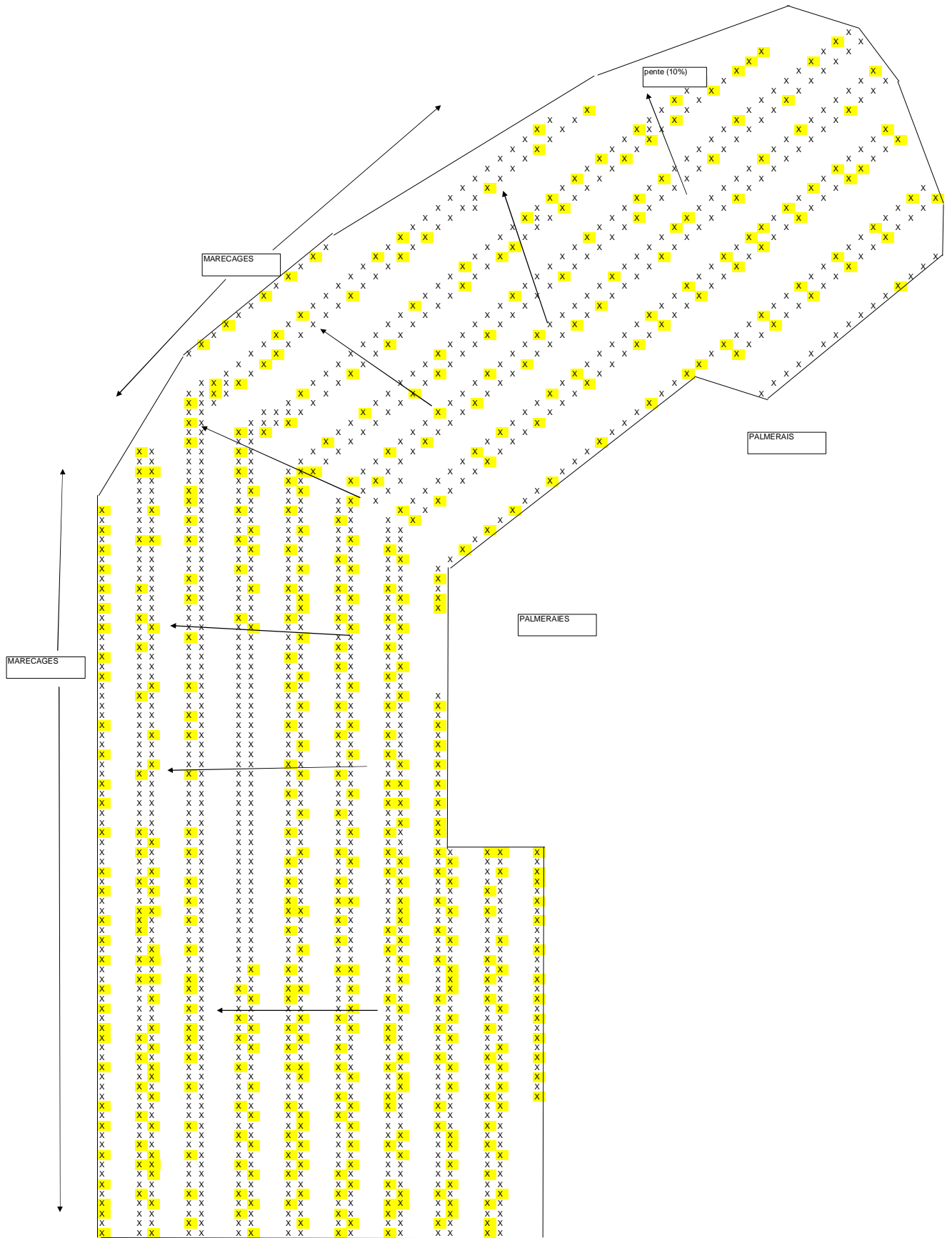


Figure 2 : Plan de la parcelle de Mbonjo

2.4.2.2. Installation des épidémies

L'objectif de cette activité est d'installer des épidémies contrôlées à l'aide d'un inoculum suffisamment abondant pour rapidement envahir les lieux et minimiser la migration résiduelle observée sur les différents sites. En effet, le stade de développement des bananiers avant l'installation des épidémies variait entre 5 à 10 feuilles sur les deux sites, et une observation sur les jeunes feuilles des bananiers, effectuée avant l'installation des épidémies, a montré l'existence de symptômes de la maladie, provenant probablement d'un inoculum endogène sur les sites respectifs (tableau 9).

Tableau 9: Quantification des symptômes de la MRN avant installation des épidémies

Maleke	stades de la maladie							Mbondjo	stades de la maladie						
N° bananier	1	2	3	4	5	6	Somme	N° bananier	1	2	3	4	5	6	Somme
1	42	191	119	6	1	0	359	1	46	107	0	0	0	0	153
2	74	12	5	0	0	0	91	2	114	167	9	0	0	0	290
3	225	189	107	6	1	0	528	3	25	23	0	0	0	0	48
4	96	172	18	0	0	0	286	4	17	66	14	1	0	0	98
5	34	28	22	0	0	0	84	5	18	51	23	0	0	0	92
6	82	116	15	0	0	0	213	6	34	56	9	0	0	0	99
7	88	54	9	0	0	0	151	7	20	38	3	0	0	0	61
8	65	52	3	0	0	0	120	8	10	41	0	0	0	0	51
9	98	180	27	7	2	0	314	9	19	25	1	0	0	0	45
10	100	52	0	0	0	0	152	10	29	115	7	0	0	0	151
Moyenne	89,3	110	36,1	2,1	0,4	0	237,9	Moyenne	33,2	68,9	6,6	0,1	0	0	108,8

Avant l'installation des épidémies, il a fallu identifier (pour les deux parcelles) une source d'inoculum qui soit à la fois abondante (suffisamment de nécroses pour installer une épidémie sur 1 ha) et dans laquelle on observait un faible niveau de résistance afin d'observer plus rapidement des changements dans le niveau de résistance de la population lorsqu'elle sera soumise aux traitements fongicides.

De telles sources d'inoculum ont été recherchées dans des parcelles de plantain voisines de parcelles commerciales, là où la résistance vis-à-vis de certains fongicides est avérée. En général, l'inoculum sur plantain est très abondant et se traduit par un nombre de symptômes très important sur les feuilles. Les plantains qui jouxtent les plantations traitées reçoivent des dérives de traitements et constituent la première zone de flux de gènes avec les plantations traitées. Dans ces situations, il est donc possible de retrouver des niveaux d'inoculum abondants avec un niveau de résistance aux fongicides qui est variable. Ainsi, nous avons dans un premier temps évalué certains sites potentiels pour leur aptitude à fournir un inoculum présentant soit (i) un faible pourcentage de souches résistantes aux strobilurines ; soit (ii) une dérive de sensibilité sensible aux triazoles. Le choix des sites candidats pour les sources d'inoculum a surtout été orienté par l'analyse de la distribution des populations présentes sur plusieurs parcelles de plantain (tableau 10 et 11). En effet, les populations dans lesquelles on retrouve des individus répartis dans les plus faibles classes d'inhibition de croissance ont été préférentiellement sélectionnées (les sites plantain Mbome 1, et plantain Mbome 2 pour le Tilt et le site Irad pour le Bankit). Les souches résistantes aux strobilurines sont celles qui ont une inhibition de croissance inférieure à 70% à la concentration de 10 ppm. Pour les triazoles on considèrera le % moyen d'inhibition de la population et le % de spores dans des classes inférieures à 50% d'inhibition, pour une concentration de 0.1 ppm.

Compte tenu des résultats obtenus, nous avons choisi :

- Le site de plantain de Mbome comme source d'inoculum pour initier les épidémies sur la parcelle de Maleke où le propiconazole (Tilt) sera appliqué. En effet, c'est sur ce site que les souches dans les classes non présentes dans l'échantillon paysan (classes d'inhibition < 50%) sont les plus nombreuses, notamment dans les classes entre 0 et 30% (tableau 10). Les résultats obtenus pour les deux prélèvements sur cette zone sont également convergents.
- Le site plantain Irad comme source d'inoculum pour initier les épidémies sur la parcelle de Mbonjo où la trifloxystrobine (Tega) sera appliquée. Il a été particulièrement difficile de trouver une source d'inoculum abondante (plantain) présentant un faible niveau de résistance à ce fongicide (tableau 11). Le site Irad était celui qui semblait présenter les meilleures caractéristiques, mais des résultats très divergents ont été obtenus avec les deux strobilurines testées. Par ailleurs, des analyses moléculaires (pyroséquençage) récentes de la population de cette parcelle n'ont pas permis de confirmer la présence de mutation G143A qui confère la résistance aux strobilurines. Il a ainsi été décidé de réintroduire, dans un deuxième temps, des feuilles nécrosées (nécroses moins abondantes) d'une plantation traitée (Lala,) pour laquelle des souches résistantes ont été détectées.

Tableau 10 : Sources d'inoculum potentiel pour le dispositif de Maleke qui sera traitée au propiconazole (Tilt)

TILT	Nb souche	% inhibition de croissance	Classes d'inhibition de croissance						% spores dans classe < 50 %
			0-10	11-30	31-50	51-70	71-90	91-100	
Plantain Mbome1 (conidies)	39	65	5	5	15	28	26	21	25
Plantain Mbome 2 (conidies)	45	59	4	16	18	20	22	20	38
boubou plantain (conidies)	28	66	7	0	0	50	32	11	7
djounjo plantain (conidies)	47	89	2	4	2	6	11	74	8
Irada plantain (ascospores)	50	62	0	0	18	54	28	0	18
Echantillon paysan/Tanguy (conidies)	40	83	0	0	0	25	40	35	0

Tableau 11 : Sources d'inoculum potentiel pour le dispositif de Mbondjo qui sera traité à la trifloxystrobine (Tega)

BANKIT	Nb souche	% inhibition de croissance	Classes d'inhibition de croissance						% spores dans classe < 50 %
			0-10	11-30	31-50	51-70	71-90	91-100	
Plantain Mbome1 (conidies)	35	95	0	0	0	6	9	86	0
Plantain Mbome 2 (conidies)	46	84	0	2	4	15	28	50	6
boubou plantain (conidies)	32	94	0	0	0	0	28	72	0
djounjo plantain (conidies)	34	92	0	3	0	6	18	74	3
Irada plantain (ascospores)	50	71	6	18	4	0	16	56	28
Echantillon paysan/Tanguy (conidies)	44	98	0	0	0	2	9	89	0

TEGA	Nb souche	% inhibition de croissance	Classes d'inhibition de croissance						% spores dans classe < 50 %
Secteurs			0-10	11-30	31-50	51-70	71-90	91-100	
Plantain Mbome1 (conidies)	30	95	0	0	0	7	13	80	0
Plantain Mbome 2 (conidies)	37	96	0	0	0	3	11	86	0
boubou plantain (conidies)	33	98	0	0	0	0	9	91	0
djoungo plantain (conidies)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Irad plantain (ascospores)	50	80	0	2	34	24	40	0	36
Echantillon paysan/Tanguy (conidies)	46	98	0	0	0	2	7	91	0

Avant l'installation des épidémies, on a procédé à une suppression systématique des feuilles déjà infectées présentant des symptômes évolués (stades de la maladie supérieurs à 2). L'éffeuillage systématique a consisté à ne laisser que 2 à 3 feuilles sur chaque bananier. L'initiation des épidémies a consisté à couper un nombre maximum de feuilles nécrosées, les transporter et les introduire dans la parcelle d'essai. Le principe d'introduction est d'attacher au moins une feuille nécrosée sur le pseudo-tronc de chaque bananier, la face supérieure tournée vers le haut (photo 3). La quantité de feuilles n'étant pas toujours suffisante pour infecter chaque bananier, la pose de feuilles infectées a été réalisée de façon aussi homogène que possible tous les 3 à 4 bananiers. Après introduction des feuilles, on a constaté de très sévères infestations sur les bananiers des deux parcelles, ce qui montre bien l'efficacité de ces introductions (photo 4).

- Sur la parcelle de Maleke 402 feuilles provenant de la parcelle de Mbome ont été introduites lors de la première installation (points jaunes sur la figure 1). Lors de la deuxième installation, de nouvelles feuilles ont été introduites, toujours en provenance de la parcelle de Mbome.
- Sur la parcelle de Mbonjo, 533 feuilles provenant de la parcelle de l'Irad ont été introduites lors de la première installation (points jaunes sur les figures 2). Compte tenu du faible niveau de résistance dans la parcelle de l'Irad, tout le processus (assainissement et installation des épidémies) a été repris une seconde fois à partir d'une parcelle de plantain jouxtant la plantation de Lala. Il s'agit de la parcelle échantillonnée précédemment pour l'étude des flux de gènes entre plantation traitée et non traitée (cf figure 4, rapport intermédiaire n°1); 513 feuilles ont alors été introduites.



Photo 3 : feuille infectée attachée sur un bananier



Photo 4 : infection d'un bananier porteur de feuilles infectées

L'installation des épidémies s'est déroulée selon le programme ci-dessous :

Tableau 12 : Chronogramme d'activité pour l'installation des épidémies

dates	activités
20-juil	effeuillage complet et extraction de feuilles touchées de la zone de maleke
24-juil	récolte de feuilles de plantain sur Mbome - transport sur le site de maleke - installation des épidémies
27-juil	effeuillage complet et extraction de feuilles touchées de la zone de mbonjo
27-juil	n ^{ième} ratissage de la zone de marécageuse de mbonjo pour destruction de bananiers par injection d'herbicide
31-juil	récolte de feuilles de plantain sur l'Irad - transport sur le site de mbonjo - installation des épidémies
03-sept	récolte de feuilles de plantain sur Mbome - transport sur le site de maleke - renforcement des épidémies
17-sept	Re-assainissement complet par effeuillage très sévère et extraction de feuilles touchées de la zone de Mbonjo.
22-sept	Changement de site de prélèvement de feuilles infectées, récolte de feuilles de plantain sur Lala - transport sur le site de Mbonjo - installation de nouvelles épidémies
20 - oct	Renforcement des épidémies

Avant le démarrage des traitements fongicides une évaluation des niveaux de résistance devra être réalisée. Cette évaluation est tributaire de trois facteurs :

- la mise au point d'une méthode d'évaluation de la résistance (cf AS1). En effet, si pour les strobilurines il paraît envisageable d'utiliser les outils moléculaires disponibles en extrayant l'ADN à partir de lésions isolées, il en va autrement pour les triazoles. Pour ces derniers il faut développer une méthode spécifique à partir de conidies prélevées sur de jeunes lésions. Plusieurs méthodes sont envisageables : (i) culture monoclonales à partir de conidies, production de conidies sur milieu V8, mesure de CI50 à partir des conidies produites ; (ii) mélange de lésions de stades 3 et décrochage des conidies par vortex ; étalement des conidies après centrifugation sur différentes concentrations pour évaluer une CI50 ; (iii) mélange de lésions de stades 6 et projection des ascospores dans de l'eau ; étalement des ascospores après centrifugation sur différentes concentrations pour évaluer une CI50
- la mise au point d'une méthode d'échantillonnage qui soit adaptée aux méthodes d'analyse qui seront utilisées pour la mesure de l'effet de la sélection.
- La définition claire des paramètres permettant de mesurer l'effet de la sélection et de la contre-sélection. Pour y parvenir, il sera nécessaire d'effectuer des recherches bibliographiques et une formation complémentaire en génétique quantitative à l'école doctorale Sibaghe de l'université de Montpellier II de J Ngando (prévue lors d'un séjour à Montpellier en début d'année prochaine).

La prochaine étape va donc consister à :

- la mise au point de outils (jusqu'à mars-avril 2010)

- la définition d'une méthode d'échantillonnage (jusqu'à mars-avril 2010)
- l'observation des niveaux initiaux de résistance en mars-avril 2010
- le démarrage des traitements fongicides sur les deux parcelles en avril-mai 2010

2.4.3 . Activité spécifique 5 : Evaluer la compétitivité des souches résistantes par rapport aux souches sensibles

Il s'agit ici de comparer les niveaux d'agressivité de souches sensibles et résistantes, dans le cadre d'inoculations contrôlées qui se feront au Cirad à Montpellier (germination, pénétration, incubation, vitesse de développement des lésions, taille des lésions, sporulation). Ce travail se fera lors de deux longs séjours de J. Ngando à Montpellier, car la lecture des inoculations s'étale sur 3 mois. La première étape du travail consistait toutefois à constituer une collection de souches résistantes à partir duquel s'effectuera le choix des souches utilisées.

Le choix de ces souches se fera en fonction du niveau de sensibilité aux différents fongicides qui déterminera trois catégories :

- 1) Souches sensibles aux fongicides.
- 2) Souches résistantes aux strobilurines. Ces souches sont porteuses de la mutation G143 qui confère la résistance à cette famille de fongicides
- 3) Souches à niveau de sensibilité variable aux triazoles. Dans cette catégorie, plusieurs sous-catégories sont possibles en fonction du facteur de résistance observé pour une gamme de fongicides de cette famille

Par ailleurs, le nombre de souches étudiées pour chaque catégorie devra être fixé, tout en sachant que ce nombre sera contraint par les limites expérimentales : nombre maximum de souches pouvant être intégrées dans une même étude d'agressivité en conditions d'inoculations artificielles.

2.4.3.1. Collection et caractérisation de souches résistantes aux strobilurines

Une collection d'isolats résistants à différents fongicides ayant ce mode d'action a été réalisée. Pour cela, des conidies ou des ascospores provenant de différentes plantations commerciales ont été mises à germer sur des milieux amendés avec 10 ppm de fongicide. Les spores germant correctement sur ce milieu ont ensuite été transférées sur milieu PDA et transférées au Cirad à Montpellier. Au total, on a collecté 69 isolats sur le milieu enrichi en azoxystrobine (Bankit) et 8 sur le milieu enrichi en trifloxystrobine (Tega) (annexe 2).

Ces différents isolats ont été par la suite mis en culture d'abord sur milieu V8 300 solide pour la croissance du mycélium. A partir de cette culture, chaque isolat a été mis en collection dans du glycérol liquide, en double exemplaire dans deux congélateurs à -80°C (Stock routine : CIT4R6 ; stock sécurité : C8T2R4).

Afin de confirmer la présence de la mutation G143 dans le génome mitochondrial de ces isolats, une extraction d'ADN a été réalisée début juin à partir des cultures sur milieu V8 solide. Il était initialement prévu que la recherche de la mutation G143 se fasse entièrement à Bayer CropScience à partir des ADN extraits au Cirad à Montpellier. En effet,

BayerCropscience possède un automate pour effectuer ces analyses qui a été proposé pour cette étude. Toutefois, en raison du grand nombre d'échantillons à analyser (plus de 1000 autres échantillons sont à analyser dans le cadre de l'AS3), il a été convenu de séparer le travail entre le Cirad (amplification par PCR de la zone contenant la mutation G143) et BCS (repérage de la mutation par pyroséquençage). Compte tenu de cette répartition des tâches, des mises au point techniques ont été nécessaires et ce travail est encore en cours. Seules les souches pour lesquelles la présence de la mutation G143 sera confirmée feront partie du panel à partir duquel se fera le choix final pour l'étude de l'agressivité en conditions contrôlées.

2.4.3.2. Collection et caractérisation de souches résistantes aux triazoles

Une collection d'isolats résistants à différents fongicides ayant ce mode d'action a été réalisée. Pour cela, des conidies ou des ascospores provenant de différentes plantations commerciales ont été mises à germer sur des milieux amendés avec 0.1 ppm de fongicide. Les spores germant correctement sur ce milieu ont ensuite été transférées sur milieu PDA et transférées au Cirad à Montpellier. Au total, on a collecté 110 isolats sur le milieu enrichi en propiconazole (Tilt) et 10 sur le milieu enrichi en difénoconazole (Sico) (annexe 3). A cette collection réalisée dans les différentes plantations commerciales du Cameroun, certains isolats disponibles dans la collection du Cirad et caractérisés antérieurement pour leur résistance à des triazoles ont été ajoutés (annexe 4):

- 16 isolats provenant du Costa Rica
- 9 isolats provenant du Belize, pays où le niveau de sensibilité aux triazoles est faible.

Enfin, une collection de 12 isolats sensibles récoltés en 2005 en milieu paysan au Cameroun, a été intégrée dans cette étude. Ces isolats ont été collectés dans une zone allant de Loum à Etam, de Kumba à Wone et autour du Mont Coupé dans un quadrillage Loum -Tombel ó Ebonji ó Basseng - Manjo).

A Montpellier, ces différents isolats ont été mis en culture d'abord sur le milieu V8 300 solide pour la croissance du mycélium. A partir de cette culture, chaque isolat a été mis en collection dans du glycérol liquide, en double exemplaire dans deux congélateurs à ó 80°C (Stock routine : CIT4R6 ; stock sécurité : C8T2R4).

La caractérisation (phénotypage) de cette collection de souches se fait à partir du Facteur de Résistance (RF) mesuré pour une gamme de 8 triazoles :

- epoxiconazole
- difénoconazole
- propiconazole
- tebuconazole
- triadimenol
- bitertanol
- prochloraz
- triflumizole

Les 6 premiers triazoles sont couramment utilisés pour la lutte contre la MRN, tandis que le prochloraz et le triflumizole pourraient permettre (selon les résultats obtenus chez *Mycosphaerella graminicola*) de mieux caractériser les différents phénotypes possibles.

Ce phénotypage a été réalisé dans les laboratoires de Bayer CropScience (BCS) à Monheim en Allemagne, lors du séjour de J. Ngando en début juin. En effet, il a été proposé par BCS d'adapter pour *Mycosphaerella fijiensis* une technique utilisée en routine pour *Mycosphaerella graminicola* (agent de la septoriose du blé). Ainsi, 157 isolats (110 isolats isolés au Cameroun sur Tilt ; 10 isolats isolés au Cameroun sur Sico ; 16 isolats du Costa Rica ; 9 isolats du Belize ; 12 isolats sensibles) ont été transférés dans des cultures liquides de milieu V8 (2 tubes de 10 ml par souche) et emmenées par J. Ngando au laboratoire de BCS pour le phénotypage. Ces 144 souches ont été mises en culture en 2 séries à deux dates différentes (Série 1 âgée de 15 j et série 2 âgée de 5 jours).

Pour chaque souche (r), le FR est mesuré comme le rapport de la concentration qui inhibe 50% de la croissance mycélienne (CI50) de cette souche, (CI50)_r, sur la CI50 moyenne des souches sensibles, (CI50)_s : $FR(r) = (CI50)_r / (CI50)_s$.

Méthodologie d'évaluation de la CI50 utilisée chez Bayer :

La CI50 est évaluée à partir de la croissance mycélienne mesurée sur une gamme de concentration croissante en fongicide : 0 ; 0,00192 ; 0,0096 ; 0,048 ; 0,24 ; 1,2 ; 6 ; 30 ppm. Dans cette technique, les différentes concentrations de fongicides sont maintenues en solution dans du méthanol, et distribuées dans des microplaques de 8 x 12 puits. Chaque solution mère d'un même fongicide est distribuée (1ml/puit) sur une même ligne à partir de la ligne H de la microplaque (figure 3). Les 8 concentrations sont ainsi déposées des lignes H à A, et 12 isolats différents peuvent être analysés sur une même plaque (une souche/colonne).

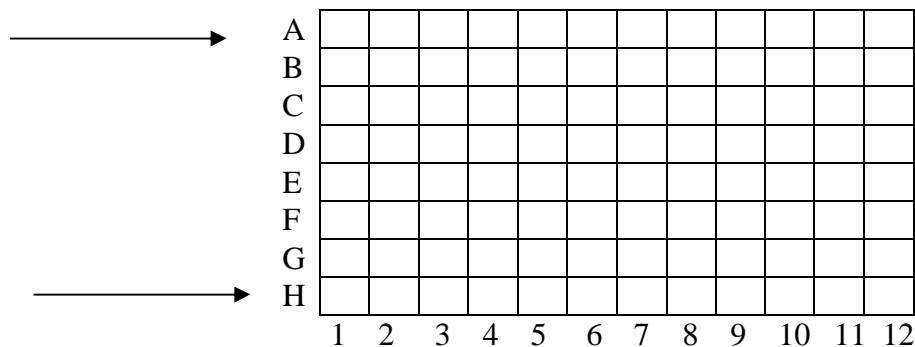


Figure 3 : schéma de distribution de concentrations de fongicides sur la microplaque de base

Dès la fin de la distribution des différentes concentrations d'un même fongicide sur la microplaque, un automate procède à sa réplication sur une dizaine d'autres microplaques. Les échantillons sont ensuite conservés au réfrigérateur pour favoriser l'évaporation du méthanol. Les fongicides sont remis en solutions après addition automatique de 10µl d'eau distillée par puits.

Le mycélium des différents isolats de champignon, cultivé en culture liquide dans des tubes de 50ml, est broyé pendant 5 à 10 minutes sur un vortex à vitesse maximum en présence d'une vingtaine de 20 perles en verre stérilisées de 5mm de diamètre jouant le rôle d'abrasif et introduits dans chaque tube. Après broyage, la suspension de chaque isolat a été filtrée à travers 4 couches de compresse médicale stérile. Le volume de la suspension mycélienne est alors ajusté à 25 ml avec du milieu Malt liquide. Cette fragmentation du mycélium est nécessaire afin d'initier des cultures liquides dans des microplaques à raison de 100µl de suspension de mycélium par puits. Pour chaque souche, les 8 puits d'une microplaque

correspondent à une des concentrations de la gamme pour un des fongicides donnés. Chaque isolat est mis en culture sur une microplaque control sans fongicide et sur les 6 microplaques amendées aux différents fongicides. Par microplaque 6 isolats sont répétés deux fois. La mise en culture s'est déroulée selon l'ordre suivant : control sans fongicide ó propiconazole ó epoxyconazole ó tébuconazole ó triadimenol ó difenoconazole ó prochloraz.

144 souches ont été déposées en trois dates, selon le calendrier indiqué sur le tableau 13.

Tableau 13 : Ordre de mise en culture des isolats

N° de plaque	Dates	Isolats					
		B1	B2	B3	B4	B5	B6
1	03-juin	B1	B2	B3	B4	B5	B6
2	03-juin	B7	B8	B9	CR339	CR340	CR341
3	03-juin	CR342	CR343	CR344	CR345	CR346	CR347
4	03-juin	CR348	CR349	CR350	CR351	CR352	CR353
5	03-juin	TNY3	TNY2	TBB12	N08-01	TNY5	TNY6
6	03-juin	TNY7	Z01-01	TFO1	TFO2	TFO3	TFO4
7	03-juin	TBB1	TBB6	TBB5	TBB4	TBB3	TBB2
8	04-juin	TBB7	TBB8	TBB9	TBB10	TBB11	TNY4
9	04-juin	N33-01	N01-01	TSE1	TSE2	TSE3	TSE4
10	04-juin	TSE5	TSE6	TSE7	TSE8	TSC1	TSC3
11	04-juin	TSA1	TSA2	TSA3	TSA4	TSA5	TSA6
12	04-juin	TSA7	TMi11	TMi12	TMi15	TMi16	TMi17
13	04-juin	TiR1	TiR2	TiR3	TiR4	TiR5	TiR6
14	04-juin	TRi7	TRi8	TRi9	TSi1	TSi2	TSi3
15	04-juin	TSi9	TSi10	TSi11	TDi1	TDi2	TDi3
16	04-juin	TMi1	TMi2	TMi4	TMi6	TMi7	TMi8
17	05-juin	TiR1	TiR2	TiR3	TiR4	TiR5	TiR6
18	05-juin	TiR7	TiR8	TiR9	TiR10	TDi4	TDi5
19	05-juin	TDi6	TDi7	TDi8	TSi4	TSi6	TSi7
20	05-juin	TSi8	TSi9	TPO1	TPO2	TBO3	TBO4
21	05-juin	TLA1	TLA2	TLA3	TMG1	TMG2	TMG4
22	05-juin	TMG5	TMG6	TMG7	TMG9	TMG10	TMG11
23	05-juin	TMG12	TMG13	TMG14	SMG1	SMG2	SMG3
24	05-juin	SMG4	SMG5	SMG6	SMG7	TBO1	TBO2

La croissance mycélienne de la souche a été par la suite mesurée par une lecture de densité optique (D.O.) par spectrophotométrie. Les étapes de dilution pour la préparation des solutions fongicides et le remplissage des puits, ainsi que la lecture des D.O. sont entièrement automatisées chez BCS, ce qui permet de pouvoir traiter un grand nombre d'échantillons.

Un certain nombre de problèmes ont perturbé cette étude qui n'est pas achevée à ce jour :

- le bitertanol et le triflumizole n'étaient pas disponibles lors du passage de J. Ngando à BCS, et le travail a concerné seulement 6 fongicides

- de nombreuses contaminations ont été observées dans les cultures liquides (17%), puis dans les puits de lecture (2%), ce qui n'a pas permis la caractérisation complète des souches (tableau 14). Les contaminations ont été plus importantes lors de la deuxième date de mise en culture.
- Par ailleurs, certaines lectures n'ont pas été possibles à cause d'une mauvaise croissance des souches. Ce phénomène a été plus marqué pour le prochloraz, pour la première série de souches et à la première date de mise en culture.
- les souches sensibles n'ont pas pu être caractérisées complètement, donc les Fr ne peuvent être calculés que sur une base étroite de souches sensibles (tableau 14)
- des incohérences ont été observées dans les résultats. En effet, certains isolats ont été dupliqués et des valeurs de CI50 différentes ont été observées pour les 2 répétitions (tableau 15). L'analyse de ces CI50, indique des valeurs très différentes de l'ordre du centième dans la plupart des cas entre les deux répétitions chez tous les isolats avec l'époxyconazole. Des situations similaires (différences de l'ordre du dixième) sont observées chez le propiconazole (TRi5 et TSi9), le tébuconazole (TRi1 et TRi2), le triadiméol (TRi1 et TRi5) et le prochloraz (TRi1 et TRi5).
- certains isolats transférés à BCS n'ont pas été analysés (13 isolats)
- certains isolats encore en collection à Montpellier n'ont pas été transférés à BCS

Tableau 14 : Facteurs de résistance des isolats de la collection pour lesquels la lecture a été complète

Code de la souche	FR epox	FR difé	FR prop	FR tebu	FR trial	FR Proc
B1	7	12	11	28	1	22
B2	7	24	11	69	9	104
B3	-	-	-	-	-	-
B4	-	-	-	-	-	-
B5	8	31	23	94	8	178
B6	-	-	-	-	-	-
B7	-	-	-	-	-	-
B8	-	-	-	-	-	-
B9	-	-	-	-	-	-
CR339	-	-	-	-	-	-
CR340	-	-	-	-	-	-
CR341	-	-	-	-	-	-
CR342	-	-	-	-	-	-
CR343	-	-	-	-	-	-
CR344	-	-	-	-	-	-
CR345	-	-	-	-	-	-
CR346	-	-	-	-	-	-
CR347	-	-	-	-	-	-
CR348	2	1	2	3	27	3
CR349	-	-	-	-	-	-
CR350	-	-	-	-	-	-
CR351	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
CR352	-	-	-	-	-	-

CR353	-	-	-	-	-	-
TBB1	12	20	1	22	0	260
TBB2	9	25	13	30	1	176
TBB3	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TBB4	4	18	6	16	3	94
TBB5	-	-	-	-	-	-
TBB6	31	19	17	58	15	121
TBB7	-	-	-	-	-	-
TBB8	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TBB9	-	-	-	-	-	-
TBB10	-	-	-	-	-	-
TBB11	-	-	-	-	-	-
TBB12	1	63	14	64	16	166
TBO1	16	26	42	91	22	121
TBO2	3	4	10	19	4	51
TBO3	-	-	-	-	-	-
TBO4	-	-	-	-	-	-
TDi1	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TDi2	8	8	134	1	5	28
TDi3	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TDi4	-	-	-	-	-	-
TDi5	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TDi6	2	10	15	7	3	29
TDi7	-	-	-	-	-	-
TDi8	-	-	-	-	-	-
TFO1	3	11	4	23	2	429
TFO2	6	14	7	0	2	174
TFO3	-	-	-	-	-	-
TFO4	17	15	13	29	4	160
TiR10	1	2	6	4	3	10
TLA1	10	31	41	71	14	48
TLA2	12	30	46	89	18	130
TLA3	4	22	20	28	4	60
TMG1	12	26	34	63	13	129
TMG2	12	21	36	75	25	105
TMG4	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TMG5	11	22	33	56	17	31
TMG6	10	25	35	88	27	109
TMG7	13	15	28	61	18	108
TMG9	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TMG10	19	13	133	74	16	112
TMG11	17	25	48	84	20	115
TMG12	10	37	33	51	17	40
TMG13	11	31	38	54	17	91
TMG14	12	20	33	56	19	110
TMi1	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont

TMi2	15	27	19	39	11	24
TMi4	-	-	-	-	-	-
TMi6	-	-	-	-	-	-
TMi7	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TMi8	-	-	-	-	-	-
TMi11	7	13	59	15	2	14
TMi12	2	2	62	11	1	9
TMi15	8	13	96	46	5	58
TMi16	7	22	43	30	3	27
TMi17	10	79	48	62	13	61
TNY2	4	114	33	102	22	131
TNY3	3	19	18	104	9	298
TNY4	-	-	-	-	-	-
TNY5	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TNY6	2	20	14	0	11	214
TNY7	7	9	5	12	2	103
TPO1	-	-	-	-	-	-
TPO2	-	-	-	-	-	-
TSA1	2	5	13	10	2	10
TSA2	22	42	72	60	9	43
TSA3	1	0	0	3	1	1
TSA4	13	13	80	26	5	47
TSA5	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSA6	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSA7	9	14	28	37	2	24
TSC1	-	-	-	-	-	-
TSC3	2	4	26	13	2	13
TSE1	-	-	-	-	-	-
TSE2	4	10	88	13	5	14
TSE3	13	24	41	30	15	34
TSE4	7	46	57	59	14	50
TSE5	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSE6	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSE7	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSE8	-	-	-	-	-	-
TSi1	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSi2	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSi3	22	91	42	21	1	26
TSi4	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSi6	15	46	80	136	19	219
TSi7	2	14	26	91	59	128
TSi8	37	53	45	105	19	89
TSi10	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
TSi11	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont	Cont
SMG1	11	24	28	22	7	92
SMG2	9	13	22	30	7	85
SMG3	5	8	14	18	3	88

SMG4	4	19	17	28	8	30
SMG5	4	10	13	21	6	74
SMG6	15	28	37	105	20	112
SMG7	19	24	34	93	15	126

Cont = souche contaminée

(-) = lecture incomplète

Tableau 15 : vérification de la répétitivité des mesures de CI50

Code de la souche	Répétition	CI50 epox	CI50 difé	CI50 prop	CI50 tebu	CI50 trial	CI50 Proc
TiR1	1	0,0171	0,0226	0,1431	0,0825	0,8727	0,0903
TiR1	2	2,9503	0,0225	0,1962	0,1794	1,0712	0,9954
TiR2	1	0,1130	0,1567	1,1796	1,0383	7,5103	0,6031
TiR2	2	2,0426	0,3469	1,9235	0,6954	9,8802	0,8734
TiR4	1	0,0495	0,0614	0,9044	0,3372	1,7870	0,2621
TiR4	2	5,3257	0,0338	0,1626	0,1238	1,5890	0,6347
TiR5	1	0,0117	0,0130	2,1092	0,1748	0,6206	0,1038
TiR5	2	7,1798	0,0304	0,1887	0,2002	2,8581	2,2548
TiR6	1	0,0285	0,0593	12,2646	0,3430	3,6869	0,2250
TRi6	2	-	-	-	-	-	-
TiR7	1	0,0059	0,0151	0,1123	0,0590	0,4617	0,8506
TRi7	2	-	-	-	-	-	-
TRi8	1	-	-	-	-	-	-
TRi8	2	-	-	-	-	-	-
TRi9	1	-	-	-	-	-	-
TRi9	2	-	-	-	-	-	-
TSi9	1	0,0322	0,0773	0,2400	0,2807	2,7456	0,2208
TSi9	2	0,0040	0,0424	1,0763	0,4203	5,4522	0,2668

Nous avons pensé que le transfert des méthodes appliquées sur *M. graminicola* au cas de *M. fijiensis* serait plus immédiat. Les incohérences dans les résultats entre répétitions d'une même souche montrent que des ajustements techniques doivent être faits, sur un petit nombre d'isolats, avant de phénotyper l'ensemble de la collection.

Les perspectives de ce travail sont donc maintenant :

- faire des ajustements techniques sur une collection réduite d'isolats représentatifs (à partir des résultats de la première étude)
- une fois que la méthodologie est validée en terme de répétabilité des résultats, phénotypage de la collection complète
- une fois le phénotypage achevé, il est envisagé de génotyper les souches par la détection de mutations dans la zone codant pour le gène CYP51. Cette description finale permettra de rationaliser le choix définitif des catégories de souches présentant un niveau de résistance aux triazoles

2.4.3.3. Nouvelle collection de souches sensibles

La collection d'isolats utilisés dans cette étude se situe toutefois en dehors de la zone des plantations commerciales et il a été décidé de reconstituer une nouvelle collection d'isolats sensibles à partir des plantains présents dans l'environnement rapproché des plantations industrielles. Ce serait alors cette nouvelle collection qui serait utilisée pour les études comparées d'agressivité entre souches résistantes et sensibles.

2.4.3.4. Suite de l'étude

Comme cela a été discuté dans les parties précédentes, différentes étapes restent à accomplir avant de pouvoir réaliser les études en conditions contrôlées :

- nouvelle collection d'isolats sensibles
- génotypage des souches résistantes aux strobilurines
- fin du phénotypage et génotypage des souches résistantes aux triazoles

Une fois ces étapes accomplies, les études d'agressivité comparée en inoculations contrôlées pourront être réalisées. Si les techniques sont maîtrisées pour ces études, les protocoles doivent encore être discutés en fonction des caractères d'agressivité qui seront mesurés.

2.3 Mise en œuvre des activités

En général, le déroulement des activités est relativement conforme au chronogramme d'activités prévisionnel. Toutefois, il a connu quelques modifications en fonction de l'état d'avancement des travaux (cf plan d'action).

2.4. Plan d'action

	2011																																																		
	J				F				M				A				M				J				J				A				S				O				N				D						
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3
Activité spécifique 1																																																			
1 - comparaison méthode conidies et ascospores																																																			
2 - travail sur méthode d'échantillonnage																																																			
3 - comparaison PCR et autres méthodes																																																			
Activité spécifique 2																																																			
monitoring DMC																																																			
monitoring PHP																																																			
monitoring SPM																																																			
Activité spécifique 3																																																			
Echantillonnage n°1 pour étude de la structure génétique des populations (zone traitée et traitement échantillons structure génétique n°1)																																																			
Echantillonnage n°2 pour étude de la structure génétique des populations (zone traitée et traitement échantillons structure génétique n°2)																																																			
Echantillonnage n°1 sur dispositif continu entre zone traitée et non traitée																																																			
Traitement échantillons première campagne de prélèvements																																																			
Echantillonnage n°2 sur dispositif continu entre zone traitée et non traitée																																																			
Traitement échantillons deuxième campagne																																																			
Traitements fongicides sur dispositif continu entre zone traitée et non traitée																																																			
Echantillonnage n°3 sur dispositif continu entre zone traitée et non traitée																																																			
Traitement échantillons troisième campagne																																																			
Mise en place essai mesure directe de la dispersion n°1																																																			
Traitement échantillons mesure directe de la dispersion n°1																																																			
Mise en place essai mesure directe de la dispersion n°2																																																			
Traitement échantillons mesure directe de la dispersion n°2																																																			
Préparation parcelle pour flux de gènes forcés																																																			
Installation épidémie 'vague 1' pour flux de gènes forcés																																																			
Préparation parcelle pour flux de gènes forcés																																																			
Installation épidémie 'vague 2' pour flux de gènes forcés																																																			
suivi niveaux de résistance pour flux de gènes forcés																																																			
Activité spécifique 4																																																			
prospection / location de 2ha en forêt																																																			
preparation du terrain (desherbage, andainage, piquettage, trouaison)																																																			
arrachage et transport de souches																																																			
planting																																																			
installation des epidemies																																																			
traitements fongicides pour pression de selection																																																			
interruption pression de selection																																																			
analyse de la resistance sur les sites d'essais																																																			

Annexes 1

Protocole de comparaison de la méthode de monitoring ascospore avec la méthode conidie

Traditionnellement, l'étude de la résistance en laboratoire a souvent été réalisée à l'aide d'une méthode reposant sur l'évaluation de la croissance des tubes germinatifs d'ascospores (structures sexuées) des populations pathogènes. Cependant, avec cette méthode il subsiste un questionnement permanent sur la représentativité des populations analysées en fonction du nombre d'échantillons mise en culture, une sérieuse difficulté à mettre en œuvre un suivi continu des populations pathogènes au cours des saisons, une variation curieuse de la sensibilité pour des fongicides (strobilurines) présentant des résistances croisées positives et une dépendance méthodologique de stades nécrotiques de la maladie.

La méthode conidie est une nouvelle technique d'évaluation de la résistance récemment mise en place au CARBAP. Elle est essentiellement basée sur la sporulation de conidies (structures végétatives du champignon) à partir de lésions de jeunes stades de la maladie, et elle semble apporter plusieurs solutions à certains problèmes techniques posés par la méthode ascospore usuelle.

Le but du présent travail vise à proposer cette nouvelle technique qui pourrait permettre de mieux traduire la situation de la résistance au champ et de réduire les biais méthodologiques. Pour cela, elle doit être validée par une étude comparée avec la méthode ascospore afin de déterminer parmi ces deux méthodes biologiques la plus fiable en terme de précision et de répétitivité de la mesure effectuée.

Le principe de comparaison consiste à faire pour chaque méthode des mesures sur les mêmes échantillons et vérifier que le niveau de résistance se maintient d'une série de mesure à l'autre. Concrètement, la comparaison va se faire le même jour et en fonction du fongicide testé. Ainsi, chaque test fongicide fera l'objet d'un essai, avec 3 répétitions.

A- Méthode 1 (ascospore)

Echantillonnage et mise en culture

Prélever les nécroses foliaires sur 20 à 25 bananiers sélectionnés de façon aléatoire dans la parcelle étudiée. Les échantillons sont mis en incubation pendant 48h. Les fragments de nécroses sont ensuite découpés en pièces de 2 cm² et mélangés dans un sac plastic pour constituer un échantillon composite (bulk). Pour chaque répétition, 48 pièces sont tirées de façon aléatoire du bulk à raison de 24 pour le fongicide et 24 pour le témoin. Les pièces de feuilles nécrosées sont agrafées sur 6 disques (90 mm) de papier filtre (4 à 5 pièces par disque) respectivement pour une concentration fongicide et pour le témoin.

Les disques sont plongés pendant 10 mn dans de l'eau stérile afin de stimuler la décharge des ascospores. Ils sont ensuite placés au fond du couvercle des boîtes de Petri, au dessous d'un milieu gélosé (agar-agar) amendé avec le fongicide à tester ; la phase de sporulation dure 3 heures, après laquelle les échantillons foliaires sont retirés des boîtes puis on procède à 48 heures d'incubation en salle de culture. Pour chaque fongicide, les spores sont également mise en culture sur milieu non amendé au fongicide (référence sensible) pour vérifier la capacité de germination des échantillons.

Fongicides

Dans cette expérimentation, les fongicides qui seront utilisés appartiennent aux différentes classes de triazole (Tilt), des benzimidazoles (Callis) et une strobilurine (Téga). Des doses standards discriminantes de fongicides seront utilisées : dose de 0.1 ppm pour les triazoles (Tilt 250 EC), dose de 10 ppm pour les strobilurines (Tega 75 SC) et dose de 5 ppm pour les benzimidazoles (Callis 400 OL)

Observations

Après incubation, les spores sont observées au microscope optique en fonction du type de fongicides. Pour les benzimidazoles, 100 spores sont évaluées en fonction de la forme de leurs tubes germinatifs. Les formes tordus et non germées indiquent une action du fongicide (sensibilité), les formes normales indiquent une inefficacité du fongicide (souches résistantes) et les formes courtes sont indiquent des phénotypes indéterminés. Pour les triazoles et strobilurines, la longueur de tubes germinatifs de 50 spores est mesurée.

B- Méthode 2 (conidie)

Echantillonnage :

Les 35 bananiers doivent être localisés de telle façon qu'ils représentent au mieux la parcelle analysée. Deux fragments d'échantillon sont prélevés sur une même feuille d'un même bananier et sont conservés dans une enveloppe étiquetée et disposés dans une glacière. Chaque fragment doit comporter de grosses lésions isolées de stade 3 ou 4 de sorte que chaque lésion puisse être séparée en 2 parties pour une lecture sur le témoin sans fongicide et une lecture sur le fongicide. Au total pour une répétition, 70 isolats doivent être mis en culture.

Manipulations au laboratoire

Préparation de milieu et boîte de petri

Les conidies et ascospores sont mis en culture sur un milieu gélosé (agar agar à 2%) amendé d'un fongicide dont la concentration varie en fonction du type de fongicide.

Quadrillage des boîtes de petri

Traçage des boîtes de pétri : les boîtes sont quadrillées de sorte que chaque case corresponde à une lésion (chaque case doit être numérotée et chaque n° correspond à un n° de lésion mise en culture (1 à 70))

Mise en culture :

Découpe de lésions : les lésions sont découpées de façon individuelle et chaque fragment est numéroté (1 à 70 : 1 et 2 sur bananier 1 ; 3 et 4 sur bananier 2 ; 5 à 69 et 70 sur bananier 3).

Lectures et mensurations :

(i) pour les triazoles on considère la longueur du tube germinatif sur les 70 lésions mises en culture. Pour chaque lésion on a une lecture que sur le fongicide. La lecture doit se faire par un balayage de toute la zone mise en culture afin d'avoir une meilleure représentativité de toute la population de conidies qui ont toutes le même génotype (sauf en cas de mélange de lésions) mais peuvent avoir un phénotype variable en fonction de leur état physiologique. En particulier certaines conidies peuvent ne plus germer ou

germer difficilement, on ne les considèrera pas dans les lectures. On recherchera le phénotype pour les conidies de chaque lésion (un seul phénotype par lésion, même si toutes les conidies ne germent pas de la même façon) :

On mesure le tube germinatif le plus représentatif situé à l'une des extrémités polaire de la conidie. Ces mesures sont faites sur 2 ou 3 conidies isolées représentatives de toutes les autres et non en touffes, et on considère la moyenne. On va calculer le % d'inhibition de croissance en comparant la germination de chaque spore sur le fongicide avec la germination de la spore correspondant au même numéro de souche sur le témoin. Il faut donc une lecture sur le témoin et le fongicide pour que la lecture soit valide. Différents cas de figure peuvent se présenter comme le montre le tableau suivant :

N° souche	Témoin	Tilt	IC
1	16	4	75
2	18	15	16.7
3	15	16	0
4	-	16	-
5	20	-	-
6	-	-	-
7			
8			
9			

(ii) pour les strobilurines, on considère la longueur du tube germinatif sur les 70 lésions mises en culture. Pour chaque lésion on a une lecture que sur le fongicide. La lecture doit se faire par un balayage de toute la zone mise en culture afin d'avoir une meilleure représentativité de toute la population de conidies qui ont toutes le même génotype (sauf en cas de mélange de lésions) mais peuvent avoir un phénotype variable en fonction de leur état physiologique. En particulier certaines conidies peuvent ne plus germer ou germer difficilement, on ne les considèrera pas dans les lectures. On recherchera le phénotype pour les conidies de chaque lésion (un seul phénotype par lésion, même si toutes les conidies ne germent pas de la même façon) :

On mesure le tube germinatif le plus représentatif situé à l'une des extrémités polaire de la conidie. Ces mesures sont faites sur 2 ou 3 conidies isolées représentatives de toutes les autres et non en touffes, et on considère la moyenne. On va calculer le % d'inhibition de croissance en comparant la germination de chaque spore à la moyenne des tubes germinatifs mesurés sur le témoin des triazoles.

(iii) pour les benzimidazoles, on considère la forme du tube germinatif sur les 70 lésions mises en culture. Pour chaque lésion on a une lecture sur le fongicide. Une lecture est aussi effectuée sur chaque lésion du témoin. La lecture doit se faire par un balayage de toute la zone mise en culture afin d'avoir une meilleure représentativité de toute la population de conidies qui ont toutes le même génotype (sauf en cas de mélange de lésions) mais peuvent avoir un phénotype variable en fonction de leur état physiologique. En particulier certaines conidies peuvent ne plus germer ou germer difficilement, on ne les considèrera pas dans les lectures. On recherchera le phénotype pour les conidies de

chaque lésion (un seul phénotype par lésion, même si toutes les conidies ne germent pas de la même façon) :

- sur le témoin : non germé (NG) = toutes les conidies observées ne germent pas ; germination normale (N) = certaines conidies germent normalement, même si d'autres ne germent pas ou ont des tubes germinatifs courts ; tubes germinatifs courts (C) = certaines conidies germent avec un tube germinatif court même si d'autres ne germent pas et il n'y a pas de germination normale
- Sur le fongicide : des formes tordues (T) = certaines conidies ont des tubes germinatifs déformés, même si d'autres ne germent pas (dans ces cas là il ne doit pas y avoir de germination normale. Attention à ne pas confondre avec des tubes germinatifs courts) et non germée (NG) pour les phénotypes sensibles, et les formes normales (N) ou courtes (C) pour les résistants.

La comparaison des phénotypes sur le témoin et le fongicide permettra de conclure ou pas sur le génotype de la souche analysée. Les différents cas de figure possibles sont présentés dans le tableau suivant :

N° souche	Témoin	Callis	Génotype
1	N	N	R
2	C	NG	S
3	NG	T	S
4	N	N	R
5	N	T	S
6	N	C	-
7	N	NG	S
8	NG	NG	-
9	NG	N	R
10	C	C	R
11	-	C	-
12	-	-	-
13	-	N	R
14	-	T	S
15	-	NG	-
16	NG	-	-
17	C	-	-
18	N	-	-
-	NG	C	?
-			
-			
67			
68			
69			
70			

Annexe 2. Catalogue des souches collectées au Cameroun pour leur résistance aux strobilurines

Pays	Zone	Fongicide (pour lequel la souche est considérée comme résistante par test de germination de spore)	Type de spore	Code de la souche	Mise en collection à - 80°C	Confirmation du génotype par pyrosequençage
Cameroun	lala	Tega	Conidie	Gla1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Tega	Conidie	GLa2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Tega	Conidie	Gla3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Tega	Conidie	Gla5	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Tega	Conidie	Gla6	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Tega	Conidie	Gla9	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja Ouest	Tega	Conidie	GPo1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Plantain boubou	Tega	Conidie	GPb1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Mantem	Bankit	Conidie	BMa2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Mantem	Bankit	Conidie	BMa3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Mantem	Bankit	Conidie	BMa4	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Mantem	Bankit	Conidie	BMa5	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Mantem	Bankit	Conidie	BMa6	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Bankit	Conidie	BLa1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Bankit	Conidie	BLa2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Bankit	Conidie	BLa3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Bankit	Conidie	BLa4	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	kumbe	Bankit	Conidie	BKu1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	kumbe	Bankit	Conidie	BKu2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	kumbe	Bankit	Conidie	BKu3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	kumbe	Bankit	Conidie	BKu4	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	kumbe	Bankit	Conidie	BKu5	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	kumbe	Bankit	Conidie	BKu6	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg4	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg5	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg6	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg7	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg8	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg9	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg10	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg11	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg12	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg13	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg14	CIT4R6/ C8T2R4	En cours

Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg15	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg16	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg17	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg18	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg19	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg20	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg21	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg22	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Manengoteng	Bankit	ascospores	BMg23	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi4	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi5	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi6	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi7	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi8	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi9	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi10	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi11	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi12	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi13	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi14	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Bankit	Conidie	BSi15	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja Ouest	Bankit	Conidie	BPo1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja Ouest	Bankit	Conidie	BPo2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja Ouest	Bankit	Conidie	BPo3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja Ouest	Bankit	Conidie	BPo4	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja est	Bankit	Conidie	BPe1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja est	Bankit	Conidie	BPe2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja est	Bankit	Conidie	BPe3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja est	Bankit	Conidie	BPe5	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	penja est	Bankit	Conidie	BPe6	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	siège	Bankit	Conidie	BSe1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	siège	Bankit	Conidie	BSe2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	siège	Bankit	Conidie	BSe3	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	phyto 1	Bankit	Conidie	BPh1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	phyto 2	Bankit	Conidie	BPh2	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Bonandam	Bankit	Conidie	BBo1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	plantain boubou	Bankit	Conidie	BPb1	CIT4R6/ C8T2R4	En cours

Annexe 3. Catalogue des souches collectées au Cameroun pour leur résistance aux triazoles

Pays	Zone	Fongicide (pour lequel la souche est considérée comme résistante par test de germination de spore)	Type de spore	Code de la souche	Phénotype / BCS	Mise en collection à -80°C
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi1	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi3	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi4	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi5	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi6	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi7	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi8	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi10	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi11	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi12	oui	?
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi15	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi16	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Mideviv	Tilt	ascospores	TMi17	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb3	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb4	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb5	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb6	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb7	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb8	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb9	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb10	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb11	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	boubou	Tilt	conidie	TBb12	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg3	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg4	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg5	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg6	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg7	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg9	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg10	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg11	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg12	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg13	oui	CIT4R6/ C8T2R4

Cameroun	manengoteng	Tilt	ascospores	TMg14	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	kumbe	Tilt	conidie	TKu6	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	kumbe	Tilt	conidie	TKu7	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	kumbe	Tilt	conidie	TKu9	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	kumbe	Tilt	conidie	TKu10	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	kumbe	Tilt	conidie	TKu11	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	njombe	Tilt	ascospores	TNy2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	njombe	Tilt	ascospores	TNy3	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	njombe	Tilt	ascospores	TNy4	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	njombe	Tilt	ascospores	TNy5	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	njombe	Tilt	ascospores	TNy6	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	njombe	Tilt	ascospores	TNy7	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi1	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi2	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi3	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi4	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi6	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi7	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi8	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi9	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi10	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	singa	Tilt	conidie	TSi11	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe1	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe3	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe4	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe5	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe6	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe7	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Siège	Tilt	ascospores	TSe8	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi1	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi3	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi4	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi5	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi6	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi7	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	diadia	Tilt	ascospores	TDi8	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sclm	Tilt	ascospores	TSc1	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sclm	Tilt	ascospores	TSc3	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sclm	Tilt	ascospores	TSc4	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	TIr1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	TIr2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	TIr3	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	TIr4	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	TIr5	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	TIr6	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	TIr7	oui	CIT4R6/ C8T2R4

Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	Tlr8	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	Tlr9	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	Tlr10	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Irada	Tilt	ascospores	Tlr12	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sar	Tilt	ascospores	TSa1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sar	Tilt	ascospores	TSa2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sar	Tilt	ascospores	TSa3	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sar	Tilt	ascospores	TSa4	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sar	Tilt	ascospores	TSa5	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sar	Tilt	ascospores	TSa6	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Sar	Tilt	ascospores	TSa7	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Foyet	Tilt	ascospores	TFo1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Foyet	Tilt	ascospores	TFo2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Foyet	Tilt	ascospores	TFo3	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Foyet	Tilt	ascospores	TFo4	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Penja ouest	Tilt	conidie	TPo1	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Penja ouest	Tilt	conidie	TPO2	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Lala	Tilt	conidie	TLa1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Lala	Tilt	conidie	TLa2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Lala	Tilt	conidie	TLa3	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	mantem	Tilt	conidie	TMa1	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	bonandam	Tilt	conidie	TBo1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	bonandam	Tilt	conidie	TBo2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	bonandam	Tilt	conidie	TBo3	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	bonandam	Tilt	conidie	TBo4	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Sico	ascospores	SMg1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Sico	ascospores	SMg2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Sico	ascospores	SMg3	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Sico	ascospores	SMg4	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Sico	ascospores	SMg5	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Sico	ascospores	SMg6	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	manengoteng	Sico	ascospores	SMg7	oui	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Singa	Sico	conidie	SSi2	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Singa	Sico	conidie	SSi3	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Singa	Sico	conidie	SSi4	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4

Annexe 4. Catalogue des souches en collection à Montpellier et intégrées dans l'étude pour leur résistance aux triazoles

Pays	Fongicide (pour lequel la souche est considérée comme résistante par test de germination de spore)	Type de spore	Code de la souche	Phenotypage triazoles/Bayer	Mise en collection à -80°C
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR339	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR340	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR341	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR342	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR343	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR344	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR345	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR346	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR347	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR348	oui	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR349	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR350	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR351	contaminé	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR352	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR353	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
costa rica	Fluzilazole (1ppm)	ascospore	CR354	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B1	oui	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B2	oui	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B3	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B4	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B5	oui	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B6	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B7	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B8	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
belize	Non évalué	ascospore	B9	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4

Annexe 5. Catalogue des souches en collection à Montpellier et provenant de zones non traitées

Pays	Zone	Type de spore	Code de la souche	Phenotypage triazoles/Bayer	Mise en collection à -80°C
Cameroun	Témoin	ascospores	N01-01	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	N08-01	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	N23-01	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	Z01-01	incomplet	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	Z18.01	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	Z33.01	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	A01.01	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	A02.02	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	A41.01	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	K01.01	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	K27.01	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4
Cameroun	Témoin	ascospores	K14.01	non analysé	CIT4R6/ C8T2R4

Annexe 6. Catalogue des souches en collection à Montpellier pour leur résistance aux benzimidazoles

Pays	Zone	Fongicide (pour lequel la souche est considérée comme résistante par test de germination de spore)	Type de spore	Code de la souche	Phenot ypage	Mise en collection à -80°C	Confirmation du génotyp e par pyroseq uençage
Cameroun	mantem	Callis	Conidie	CMa1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	mantem	Callis	Conidie	CMa2		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	mantem	Callis	Conidie	CMa3		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	mantem	Callis	Conidie	CMa4		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	mantem	Callis	Conidie	CMa5		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	mantem	Callis	Conidie	CMa6		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Callis	Conidie	CSi1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Callis	Conidie	CSi2		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Callis	Conidie	CSi3		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	singa	Callis	Conidie	CSi4		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb2		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb3		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb4		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb5		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb6		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb7		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	boubou	Callis	Conidie	CBb8		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	siège	Callis	ascospores	CSe1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	siège	Callis	ascospores	CSe2		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	siège	Callis	ascospores	CSe3		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Njombé	Callis	ascospores	CNy1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Njombé	Callis	ascospores	CNy2		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Njombé	Callis	ascospores	CNy3		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Kumbe	Callis	conidie	CKu1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Kumbe	Callis	conidie	CKu2		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Kumbe	Callis	conidie	CKu3		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Kumbe	Callis	conidie	CKu5		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Kumbe	Callis	conidie	CKu6		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	Kumbe	Callis	conidie	CKu7		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	midéviv	Callis	ascospores	CMi1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	midéviv	Callis	ascospores	CMi2		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	midéviv	Callis	ascospores	CMi3		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	lala	Callis	conidie	Clal		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	SCLM	Callis	ascospores	CSc1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours
Cameroun	foyet	Callis	ascospores	CFo1		CIT4R6/ C8T2R4	En cours