



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°3
Première campagne de monitoring à la PHP mai 2009**

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

Financement : ATF 2001



Josué Essoh Ngando, Luc de Lapeyre de Bellaire

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

Njombé, septembre 2009

Document CARBAP

405/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 épanchés 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 l'évaluation des niveaux de résistance à la PHP. Il s'agit de la première campagne d'évaluation qui a été réalisée en mai 2009, pour la méthode ascospores sur les 17 secteurs choisis pour cette plantation. Trois fongicides ont été proposés par la PHP et ont été analysés au cours de cette campagne : deux produits de la famille des triazoles (SICO 250 EC et OPAL 75 EC) et le pyrimethanil (SIGANEX 60 SC).

2.4. Activités et résultats

2.4.1. Introduction

La maladie des raies noires (MRN) est la principale contrainte parasitaire des plantations agro-industrielles de bananes dessert. 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. La culture intensive de la banane dessert pour l'export n'est réalisable qu'au moyen d'un contrôle chimique rigoureux de cette maladie. A la fin des années 80, une méthode d'avertissement utilisant des descripteurs biologiques a été mise au point et appliquée avec succès au Cameroun, 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.

Afin de réévaluer la possibilité de réutiliser des stratégies de traitement basées sur un système d'avertissement reposant sur l'emploi de fongicides systématiques, il est important 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.

Dans le cadre de ce projet, un suivi de l'évolution des populations de *Mycosphaerella fijiensis* sera réalisé régulièrement par le CARBAP sur plusieurs secteurs des plantations de la PHP. Ainsi, 120 analyses sont prévues par année sur cette plantation. Une partie de ces analyses sera réalisée avec la méthode habituelle (méthode ascospore) sur un certain nombre de secteurs et de fongicides qui ont été définis avec les responsables de la plantation. Une seconde partie des analyses sera consacrée à la comparaison de deux méthodes d'analyses (conidies et ascospores) sur 4 secteurs de plantation pour tous les groupes de fongicides systémiques (benzimidazoles, triazoles et strobilurines). La répartition se fera de la façon suivante qui a été discutée et approuvée par la plantation :

a. Pour la comparaison des deux méthodes conidies et ascospores - 24 analyses

Secteurs retenus	Nb d'analyses (deux méthodes)	Fongicides
Tiko	3 + 3	Bankit, Tilt, Callis
Mantem	3 + 3	
Loum	3 + 3	
Nyombé	3 + 3	

b. Pour les autres analyses avec la méthode ascospore : 96 analyses

Secteurs retenus	Nb d'analyses	Fongicides
Bouba	6	Opal, Sico, Bankit, Siganax, Impulse, Volley
Boubou	6	
Diadia	6	
Sir	6	
Penja-est	6	
Sclm	6	
Mbomé	6	
Bonandam	6	
Php Bas	6	
Php Haut	6	
Mpoula	6	
Nassif bas	5	Opal, Sico, Bankit, Siganax, Impulse
Nassif Haut	5	
Loum	5	Opal, Sico, Siganax, Impulse, Volley
Mantem	5	
Tiko	5	
Nyombé	5	

Dans ce rapport nous présentons les résultats de la première campagne d'évaluation qui a été réalisée en mai 2009, pour la méthode ascospores sur les 17 secteurs choisis. Trois fongicides

ont été proposés par la PHP et ont été analysés au cours de cette campagne : deux produits de la famille des triazoles (SICO 250 EC et OPAL 75 EC) et le pyrimethanil (SIGANEX 60 SC).

2.4.2. PROTOCOLE DE LA METHODE ASCOSPORE

2.4.2.1 Prélèvement des échantillons foliaires

Le protocole d'échantillonnage du matériel foliaire a consisté à prélever des fragments de feuilles nécrosées sur au moins 25 pieds par parcelle étudiée. Les échantillons foliaires ont été incubés dans une atmosphère humide à 25 °C pendant au moins 48 h afin de permettre la maturation des périthèces (structures porteuses des spores). Les prélèvements des échantillons foliaires ont été réalisés en mai 2009.

Ce monitoring a concerné les secteurs et les produits suivants :

Secteur	Année de plantation	Fongicides analysés
Bouba 05	2005	S + O + Si
Boubou 03	2003	S + O + Si
Dia dia 05	2005	S + O + Si
Penja est 03	2003	S + O + Si
PHP bas 99	1999	S + O + Si
PHP haut 04	2004	S + O + Si
Mpoula 05	2005	S + O + Si
nassif haut 03	2003	S + O + Si
nassif bas 04	2004	S + O + Si
Tiko 05	2005	S + O + Si
Nyombe 02	2002	S + O + Si
Bonandam 99	1999	S + O + Si
Mantem 2 07	2007	S + O + Si
Loum 1/2 05	2005	S + O + Si
Sir	2004	S + O + Si
Mbome	2005	S + O
SCLM		S + O

S : Sico 250 EC
O : Opal 75 EC
Si : Siganex 60 SC

2.4.2.2. Mise en culture

Après l'incubation des échantillons foliaires, ceux-ci sont découpés en morceaux d'environ 1 cm², 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 Pétri, au dessus d'un milieu gélosé (agar-agar) amendé avec les fongicides à tester ; la phase de sporulation dure 3 heures, après quoi les échantillons foliaires sont retirés des boîtes puis on procède à 48 heures d'incubation en salle de culture. Cette méthode permet ainsi d'isoler des ascospores de *Mycosphaerella fijiensis*, agent de la MRN.

Pour chaque secteur de plantation analysé, des souches sont isolées de la même manière sur un milieu sans fongicide (témoin) afin de vérifier les bonnes capacités de germination de ces souches.

Les doses de fongicide employées sont fonction du type de fongicide testé :

- 0.1 ppm pour les triazoles (Sico et Opal)
- 30 ppm pour le pyrimethanil (Siganex).

2.4.2.3. Lectures

Quarante huit heures après la mise en culture, les lectures consistent à observer dans les boîtes de pétri à travers un microscope, les tubes germinatifs en croissance des ascospores isolées. Dans le cas des triazoles et le pyrimethanil, cinquante tubes germinatifs sont observés pour une concentration donnée ainsi que pour les témoins.

Les méthodes de lecture sont fonction du mode d'action des fongicides. La longueur de ces tubes est mesurée pour les triazoles, et les pyrimethanil.

2.4.3. RESULTATS

2.4.3.1. Triazoles

2.4.3.1.1. SICO (Difénoconazole) - Tableau 1 ; figure 1 et 2

Pour ce fongicide, le % moyen d'inhibition des différents secteurs (71 %) est légèrement proche de celui de l'échantillon paysan (77%). Une très faible proportion de souches (11%) a un niveau d'inhibition inférieur à 50%, phénotype qui n'est pas rencontré dans les échantillons paysans (100 % de souches ayant une inhibition > 50%). Toutefois, trois secteurs se démarquent de cette situation moyenne et montrent une dérive de sensibilité à ce fongicide : PHP haut (IC = 58 ; 30 % de souches inhibées à moins de 50%) ; Mantem 2 (IC = 60 ; 31 % des souches inhibées à moins de 50%) ; Mbomé (IC = 58 ; 30 % de souches inhibées à moins de 50%). Les résultats de cette campagne sont proches de ceux obtenus au cours de la dernière campagne en 2004.

2.4.3.1.2. OPAL (epoxyconazole) ó Tableau 2 ; figures 3 et 4

Pour ce fongicide, le % moyen d'inhibition des différents secteurs (68 %) est légèrement proche de celui de l'échantillon paysan (76%). Une faible proportion de souches (18%) a un niveau d'inhibition inférieur à 50%, phénotype qui n'est pas rencontré dans les échantillons paysans (100 % de souches ayant une inhibition > 50%). Toutefois, trois secteurs se démarquent de cette situation moyenne et montrent une dérive de sensibilité à ce fongicide : PHP haut (IC = 48 ; 50 % de souches inhibées à moins de 50%) ; Mantem 2 (IC = 50 ; 66 % des souches inhibées à moins de 50%) ; PHP bas (IC = 58 ; 36 % de souches inhibées à moins de 50%).

La situation générale des triazoles testés sur la PHP se situe à un niveau proche de la sensibilité de l'échantillon paysan non traité. L'analyse détaillée montre toutefois qu'une dérive de sensibilité est plus ou moins marquée, pour les deux fongicides testés, sur les secteurs de Mantem 2 et de PHP haut.

2.4.3.2. Anilinopyrimidine, SIGANEX (pyrimethanil) - Tableau 3 ; figure 5 et 6

Pour ce fongicide, le % moyen d'inhibition des différents secteurs (54 %) est proche de celui de l'échantillon paysan (50 %). Une faible proportion de souches (9 %) a un niveau d'inhibition inférieur à 30%, phénotype qui n'est pas rencontré dans les échantillons paysans (100 % de souches ayant une inhibition > 30%). Toutefois, 4 secteurs se démarquent de cette situation moyenne et montrent une légère dérive de sensibilité à ce fongicide : PHP haut (IC = 40 ; 32 % de souches inhibées à moins de 30%) ; Mpoula (IC = 35 ; 40 % des souches inhibées à moins de 30%) ; Nassif haut (IC = 40 ; 14 % de souches inhibées à moins de 30%) ; Tiko (IC = 38 ; 34 % de souches inhibées à moins de 30%).

On peut toutefois s'interroger sur la pertinence de la concentration testée (30 ppm), compte tenu du fait que la moyenne d'IC pour l'échantillon paysan n'est que de 50%, et nous suggérons d'employer une concentration plus élevée (50 à 60 ppm) pour de prochains monitorings. Il faut savoir que le Frac n'a pas encore donné d'indications claires sur cette concentration (30 ppm était la dernière recommandation).

La sensibilité générale au pyriméthanil est comparable à celle de l'échantillon paysan. Une évaluation avec une concentration supérieure à 30 ppm permettrait de confirmer les légères dérives observées sur certains secteurs.

2.4.4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

A l'issue de ce monitoring, les résultats sont les suivants :

2.4.4.1. Triazoles

La sensibilité des souches de *M. fijiensis* aux triazoles est stable et proche de celle de l'échantillon paysan non traité. La sensibilité au difenoconazole et à l'époxyconazole sur

certaines secteurs est toutefois beaucoup plus faible que sur l'échantillon paysan. Il faut ici souligner le cas particulier de Mantem 2 et PHP haut pour lesquels des dérives de sensibilité ont été observées avec les deux fongicides testés. Il serait intéressant d'évaluer ultérieurement les niveaux de sensibilité aux propiconazole, triazole qui a été le plus employé dans les plantations, afin de confirmer la tendance observée avec ces deux triazoles.

Si la tendance observée avec ces deux triazoles se confirme avec les autres produits de cette famille, il pourrait être à nouveau envisagé de les employer dans le cadre d'une stratégie raisonnée. Nous recommandons donc d'inclure le propiconazole dans la prochaine étude. Afin de préserver au mieux cette possibilité, nous recommandons également de réduire au plus possible l'emploi des fongicides de cette famille (pas plus de 2 applications), et dans ce cas, de réaliser des applications en mélange à pleine dose avec des fongicides du groupe IBS II tels que les spiroxamines ou les morpholines. Sur Mantem 2 et PHP haut, cette restriction est plus particulièrement recommandée.

2.4.4.2. Pyriméthanil

La sensibilité au pyriméthanil est élevée et comparable à celle de l'échantillon paysan.

**Les dérives observées au cours de cette étude à la concentration de 30 ppm sont à confirmer avec une concentration plus élevée.
En attendant ces nouveaux éléments, nous recommandons de respecter les recommandations du FRAC : pas plus de 6 applications/an de pyriméthanil.**

Tableau 1 : Récapitulatif des résultats obtenus avec le Difénoconazole (SICO 250 EC à 0,1 ppm)

SICO	% inhibition de croissance	longueur des filaments germinatifs (µm)	Classes d'inhibition de croissance						% spores dans classe < 50 %
			0-10	11-30	31-50	51-70	71-90	91-100	
Bouba	87	39	0	0	0	8	58	34	0
Boubou	76	55	2	4	0	8	86	0	6
Dia dia	77	61	0	2	2	0	92	4	4
Penja est	86	38	0	0	0	2	70	28	0
PHP bas	71	71	0	0	6	32	62	0	6
PHP haut	58	116	0	12	18	35	35	0	30
Mpoula	69	76	0	0	18	26	56	0	18
nassif haut	75	59	0	0	0	26	74	0	0
nassif bas	70	70	0	0	6	32	62	0	6
Tiko	67	80	0	0	2	64	34	0	2
Nyombe	65	85	0	4	14	28	54	0	18
Bonandam	64	95	0	2	10	50	38	0	12
Mantem 2	60	115	0	8	23	38	31	0	31
Loum 1/2	75	68	0	0	4	26	66	4	4
Sir	77	54	0	0	8	8	84	0	8
Mbomé	58	108	0	14	16	42	28	0	30
SCLM	71	79	0	0	6	32	62	0	6
Moyenne	71	75	0	3	8	26	58	4	11
Ech.paysan	77	62	0	0	0	2	98	0	0

Historique									
Moy juil-01	63	-	-	-	-	-	-	-	-
Moy jan-02	78	-	0	0	0	24	70	6	0
Moy mai-04	80	50	0	0	3	18	55	24	3
Moy déc-04	67	67	0	2	11	41	44	3	13
Moy mai-09	71	75	0	3	8	26	58	4	11

Figure 1: Pourcentage d'inhibition de croissance dans quelques secteurs de plantation de la PHP (difenoconazole à 0,1 ppm)

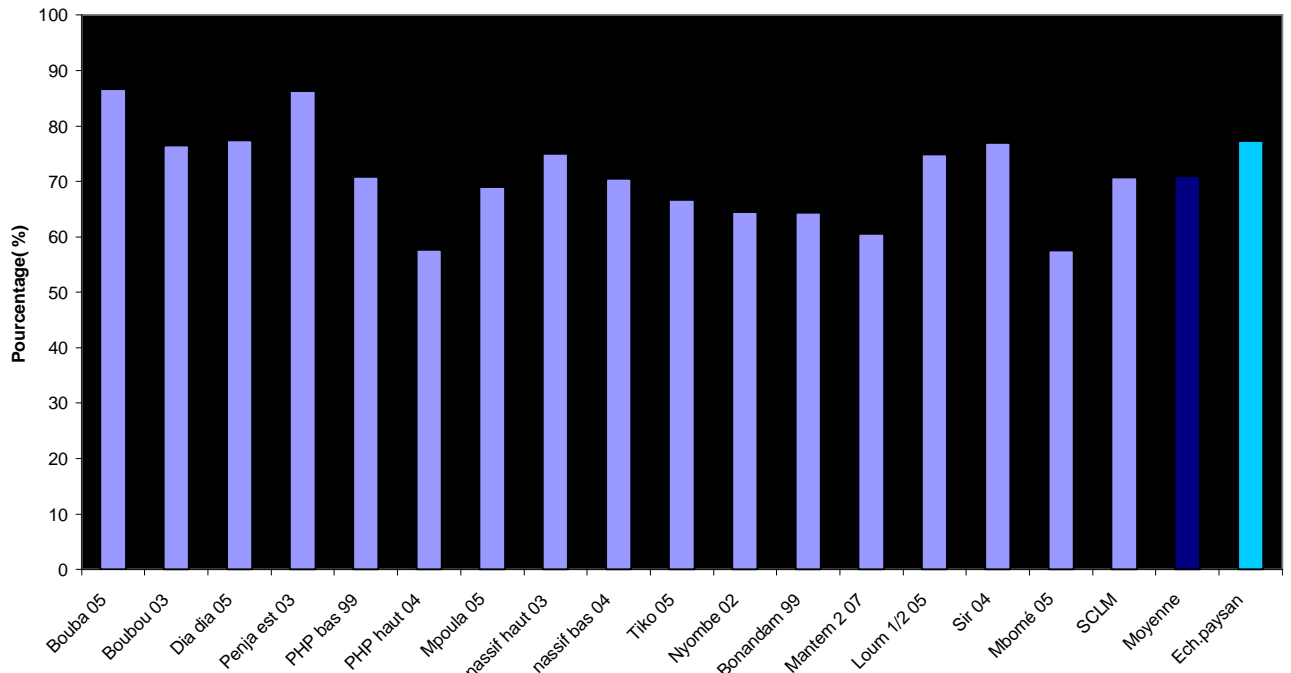


Figure 2: Répartition des ascospores dans les classes d'inhibition de croissance à la PHP (difenoconazole à 0,1 ppm)

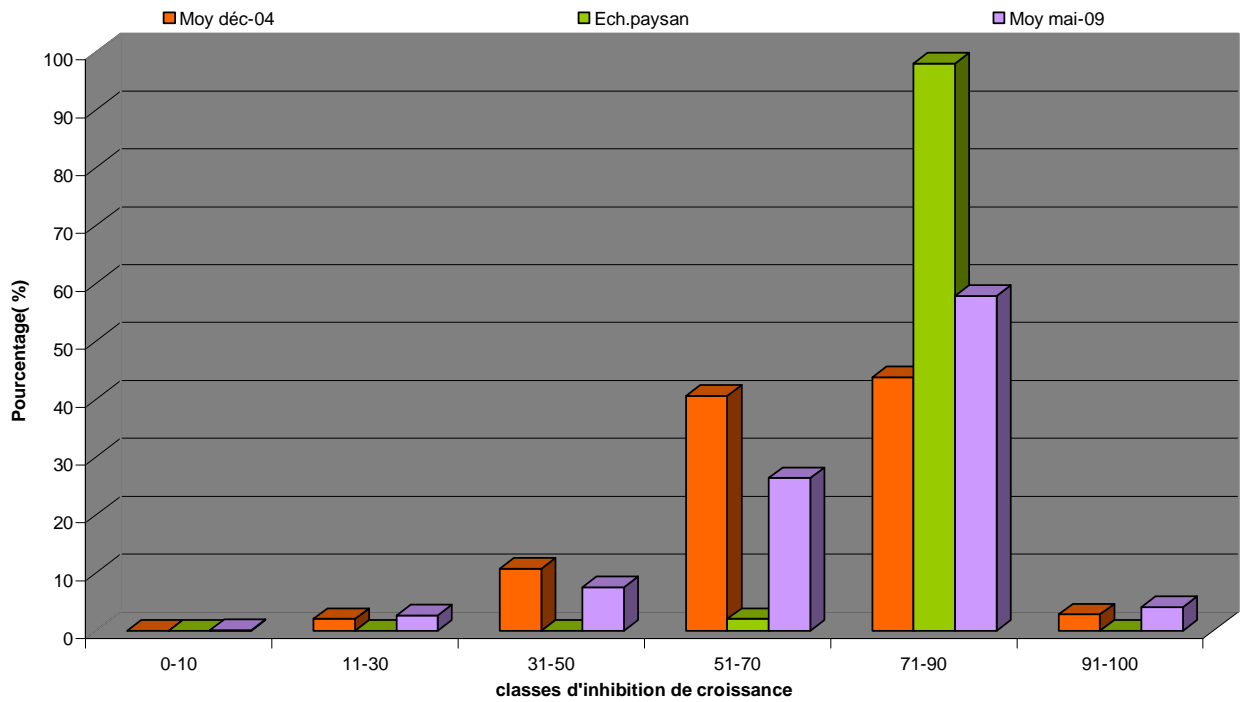


Tableau 2 : Récapitulatif des résultats obtenus avec l'époxiconazole (Opal 75 EC à 0,1 ppm)

Opal	% inhibition de croissance	longueur des filaments germinatifs (µm)	Classes d'inhibition de croissance						% spores dans classe < 50 %
			0-10	11-30	31-50	51-70	71-90	91-100	
Bouba	75	72	0	4	4	20	70	2	8
Boubou	82	42	0	0	0	4	96	0	0
Dia dia	84	44	0	0	0	8	86	6	0
Penja est	77	65	0	2	4	20	66	8	6
PHP bas	58	102	0	2	34	42	22	0	36
PHP haut	48	142	4	20	26	32	18	0	50
Mpoula	62	93	0	6	18	28	48	0	24
nassif haut	57	102	0	2	33	27	39	0	35
nassif bas	65	83	0	0	24	30	46	0	24
Tiko	76	59	0	0	2	16	82	0	2
Nyombe	68	77	0	8	10	12	70	0	18
Bonandam	63	98	0	2	14	54	30	0	16
Mantem 2	50	145	0	15	51	27	7	0	66
Loum 1/2	76	66	0	0	10	18	62	10	10
Sir	69	73	0	0	8	48	44	0	8
Mbomé	67	85	0	2	10	30	58	0	12
SCLM	73	74	0	0	4	30	66	0	4
Moyenne	68	84	0	4	14	26	54	2	19
Ech.paysan	76	64	0	0	0	6	94	0	0
historique									
mai-09	68	84	0	4	14	26	53	2	81

Figure 3: Pourcentage d'inhibition de croissance dans quelques secteurs de plantation de la PHP (époxyconazole à 0,1 ppm)

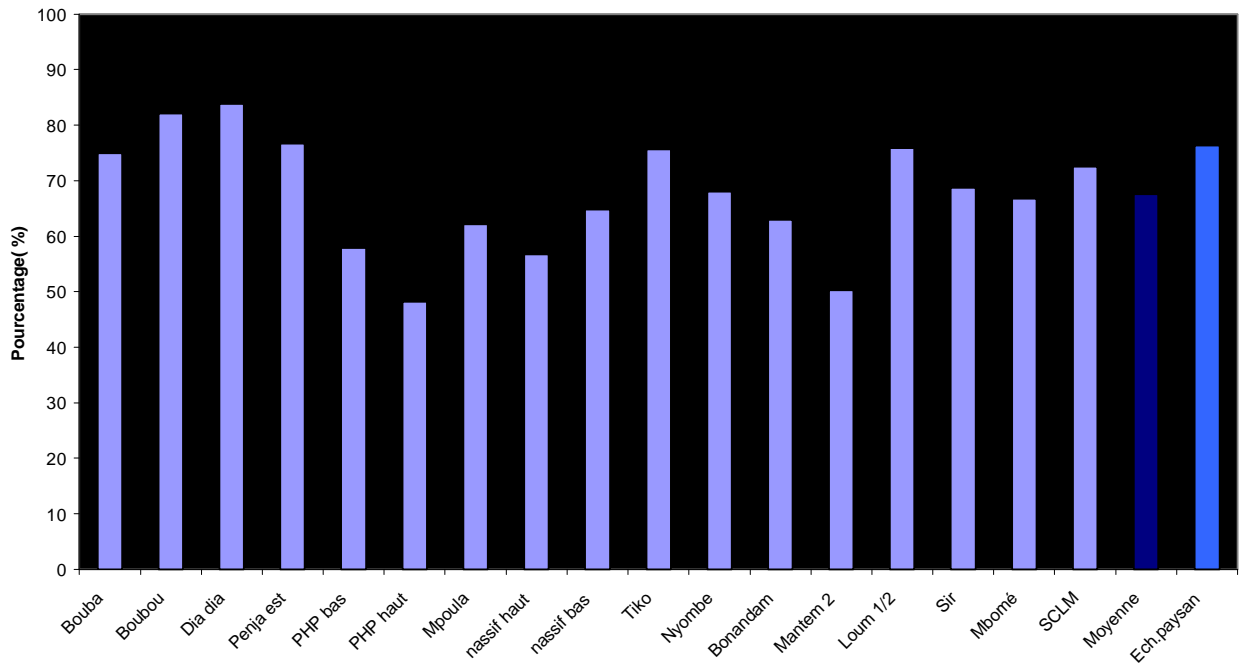


Figure 4: Répartition des ascospores dans les classes d'inhibition de croissance à la PHP (epoxiconazole à 0,1 ppm)

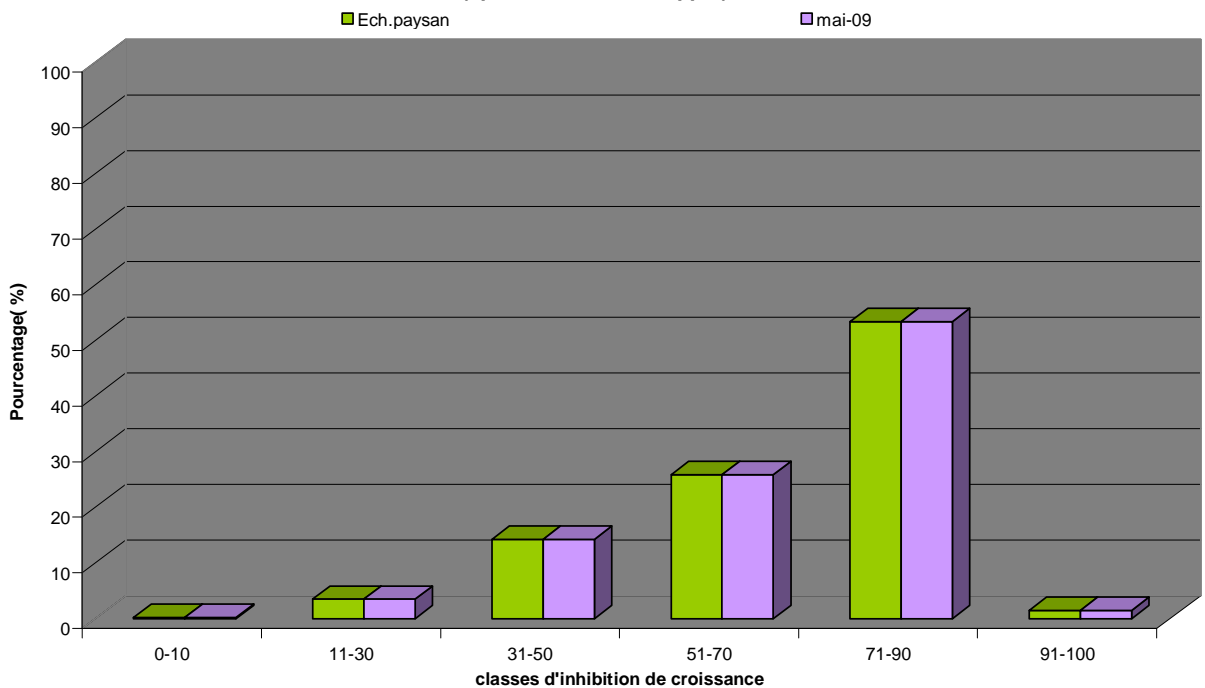


Tableau 3 : Récapitulatif des résultats obtenus avec le pyriméthanil (Siganex 60 SC à 30 ppm)

Siganex	% inhibition de croissance	longueur des filaments germinatifs (µm)	Classes d'inhibition de croissance						% spores dans classe < 30 %
			0-10	11-30	31-50	51-70	71-90	91-100	
Bouba	76	71	0	2	12	26	26	34	2
Boubou	65	83	0	6	18	44	14	18	6
Dia dia	62	104	0	0	8	48	44	0	0
Penja est	67	92	0	0	6	58	30	6	0
PHP bas	52	115	0	0	54	42	4	0	0
PHP haut	40	164	0	32	32	34	2	0	32
Mpoula	35	161	6	34	56	2	2	0	40
nassif haut	40	142	4	10	72	14	0	0	14
nassif bas	48	123	0	0	64	36	0	0	0
Tiko	38	149	2	32	46	20	0	0	34
Nyombe	50	121	2	2	54	40	2	0	4
Bonandam	54	123	0	2	34	56	8	0	2
Mantem 2	48	153	0	6	52	42	0	0	6
Loum 1/2	73	74	0	0	4	36	60	0	0
Sir	57	100	0	0	20	68	12	0	0
Moyenne	54	118	1	8	35	38	14	4	9
Ech.paysan	50	131	0	0	46	54	0	0	0
historique									
mai-09	54	118	1	8	35	38	14	4	55

Figure 5: Pourcentage d'inhibition de croissance dans quelques secteurs de plantation de la PHP (pyrimethanil à 30 ppm)

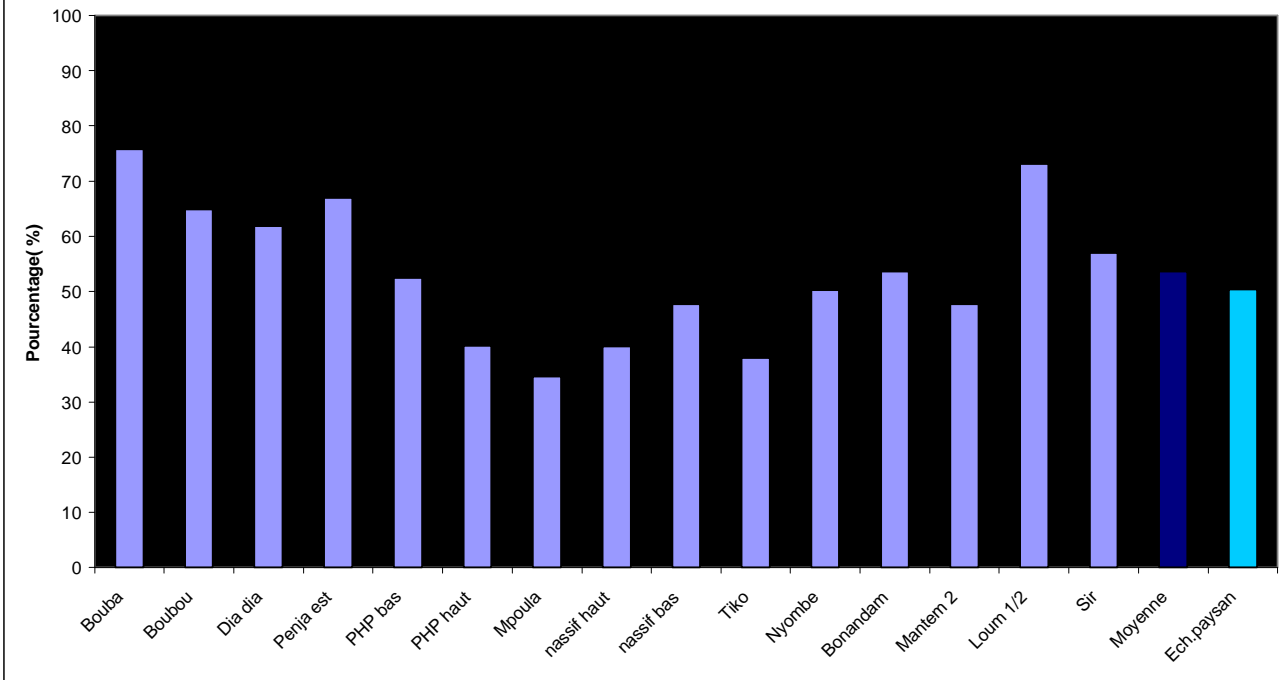


Figure 6: Répartition des ascospores dans les classes d'inhibition de croissance à la PHP (pyriméthanal à 30 ppm)

