



ASSOCIATION FRANÇAISE DE PROTECTION DES PLANTES

COMMISSION DES ESSAIS BIOLOGIQUES

MÉTHODE D'ÉTUDE DE L'EFFICACITÉ PRATIQUE DES PRÉPARATIONS FONGICIDES DESTINÉES À LUTTER CONTRE LES MALADIES DE CONSERVATION DES BANANES

MÉTHODE N° 233

1^{ère} édition : Octobre 2004

La méthode ci-après a été établie par les membres de la Commission des Essais Biologiques de l'Association Française de Protection des Plantes.

Cette Commission est composée de spécialistes du Ministère de l'Agriculture (I.N.R.A., Service de la Protection des Végétaux), de l'Industrie des Produits Phytopharmaceutiques et des Organismes professionnels de l'Agriculture.

Cette méthode peut être révisée par la Commission, compte tenu de l'évolution des méthodes d'expérimentation et des techniques agricoles.

Dans son état actuel, elle doit être considérée comme une méthode recommandée pour étudier les propriétés d'un produit.

Si l'étude entreprise est destinée à la constitution d'un dossier biologique d'homologation, cette méthode doit impérativement être appliquée (décision de la Commission des produits antiparasitaires à usage agricole et des produits assimilés du 14.06.1989). L'absence de réalisation de certaines études de cette méthode doit être techniquement justifiée.

Pour sa bonne compréhension et sa mise en oeuvre, il convient de se reporter aux méthodes générales et divers documents techniques, en particulier à la dernière édition du document sur les produits de référence, publiés par la Commission des Essais Biologiques (CEB).

Rapporteur : **M. GARBAY, L. de LAPEYRE de BELLAIRE**

Texte élaboré avec le concours de : **M. CHILLET, J.J. HELLER, A. HORELLOU**

SOMMAIRE

AVANT PROPOS	1
1. OBJET DE LA MÉTHODE	2
1.1. <i>Étude de l'efficacité</i>	2
1.2. <i>Étude de la sensibilité de la culture</i>	2
1.3. <i>Étude de la valeur pratique</i>	2
2. BIOLOGIE ET CONTEXTE CULTURAL	3
2.1. <i>L'antracnose des fruits</i>	3
2.2. <i>La pourriture de couronnes</i>	4
2.3. <i>Sensibilité des fruits</i>	5
A. ESSAI D' EFFICACITÉ	5
A.3. CONDITIONS EXPÉRIMENTALES	5
A.3.1. <i>Choix de la région</i>	5
A.3.2. <i>Choix de la culture et des variétés</i>	5
A.3.3. <i>Choix du lieu d'implantation</i>	7
A.3.4. <i>Témoin non traité</i>	7
A.3.5. <i>Dispositif expérimental</i>	7
A.3.6. <i>Dimensions des parcelles</i>	7
A.3.7. <i>Disposition des parcelles</i>	8
A.4. TRAITEMENTS	8
A.4.1. <i>Préparation de référence</i>	8
A.4.2. <i>Doses à expérimenter</i>	8
A.4.3. <i>Époques de traitement et d'inoculation</i>	8
A.4.4. <i>Réalisation des traitements</i>	9
A.4.5. <i>Traitements d'entretien de la culture</i>	9
A.4.6. <i>Conditions d'entreposage des fruits</i>	9
A.5. OBSERVATIONS ET NOTATIONS	9
A.5.1. <i>Observations préalables</i>	10
A.5.2. <i>Observations principales</i>	10
A.5.3. <i>Observations complémentaires</i>	11
A.5.4. <i>Méthodes d'observation</i>	12
A.6. ANALYSE STATISTIQUE DES VARIABLES ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	12
A.6.1. <i>Élaboration des variables</i>	12
A.6.2. <i>Analyses statistiques</i>	12
A.6.2.1. Pour un essai individuel	12
A.6.2.2. Pour un regroupement d'essais	13
A.6.3. <i>Interprétation des résultats</i>	13
A.7. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS	13
A.7.1. <i>Pour un essai individuel</i>	13
A.7.2. <i>Pour un regroupement d'essais</i>	13
B. ESSAI DE SENSIBILITÉ DE LA CULTURE	14
B.3. CONDITIONS EXPÉRIMENTALES	14
B.3.1. <i>Choix de la région</i>	14
B.3.2. <i>Choix de la culture et des variétés</i>	14
B.3.3. <i>Choix du lieu d'implantation</i>	14
B.3.4. <i>Témoin non traité</i>	14
B.3.5. <i>Dispositif expérimental</i>	14

<i>B.3.6. Dimensions des parcelles</i>	14
<i>B.3.7 Disposition des parcelles</i>	15
B.4. TRAITEMENTS	15
<i>B.4.1. Préparation de référence</i>	15
<i>B.4.2. Doses à expérimenter</i>	15
<i>B.4.3. Époques de traitement</i>	15
<i>B.4.4. Réalisation des traitements</i>	15
<i>B.4.5. Traitements d'entretien de la culture</i>	15
B.5. OBSERVATIONS ET NOTATIONS	15
<i>B.5.1. Observations préalables</i>	15
<i>B.5.2. Observations principales</i>	16
<i>B.5.3. Organes observés</i>	16
B.5.3.1. Époques d'observation	16
B.5.3.2. Variables observées	16
B.6. ANALYSES STATISTIQUES DES VARIABLES ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	16
<i>B.6.1. Élaboration des variables</i>	16
<i>B.6.2. Analyses statistiques</i>	16
B.6.2.1. Pour un essai individuel	16
B.6.2.2. Pour un regroupement d'essais	17
<i>B.6.3. Interprétation des résultats</i>	17
B.7. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS	17
<i>B.7.1. Pour un essai individuel</i>	17
<i>B.7.2. Pour un regroupement d'essais</i>	17
C. ESSAI DE VALEUR PRATIQUE	18
C.3 CONDITIONS EXPÉRIMENTALES	18
<i>C.3.1. Choix de la région</i>	18
<i>C.3.2. Choix de la culture et des variétés</i>	18
<i>C.3.3. Choix du lieu d'implantation</i>	18
<i>C.3.4. Témoin non traité</i>	18
<i>C.3.5. Dispositif expérimental</i>	18
<i>C.3.6. Dimensions et disposition des parcelles</i>	18
C.4. TRAITEMENTS	18
<i>C.4.1. Terme de comparaison</i>	18
<i>C.4.2. Doses à expérimenter</i>	19
<i>C.4.3. Époques de traitement</i>	19
<i>C.4.4. Réalisation des traitements</i>	19
<i>C.4.5. Traitements d'entretien de la culture</i>	19
<i>C.4.6. Conditions d'entreposage des fruits</i>	19
C.5. OBSERVATIONS ET NOTATIONS	19
<i>C.5.1. Observations préalables</i>	19
<i>C.5.2. Observations principales</i>	19
<i>C.5.3. Observations complémentaires</i>	19
C.6. ANALYSES STATISTIQUES DES VARIABLES ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS	20
<i>C.6.1. Élaboration des variables</i>	20
<i>C.6.2. Analyses statistiques</i>	20
C.6.2.1. Pour un essai individuel	20
C.6.2.2. Pour un regroupement d'essais	20

C.7. PRÉSENTATION DES RÉSULTATS	20
<i>C.7.1. Pour un essai individuel</i>	20
<i>C.7.2. Pour un regroupement d'essais</i>	21
ANNEXE 1	22
ANNEXE 2	24
ANNEXE 3	25
ANNEXE 4	26

AVANT PROPOS

Pour la bonne compréhension et la mise en œuvre de cette méthode, il convient de se reporter aux documents techniques suivants :

CEB : Rôle et implantation des témoins sans traitements dans les essais de produits phytosanitaires: AFPP N° DT 4.

CEB : Les unités expérimentales. AFPP N° DT 10.

CEB : Principes d'appréciation des effets des produits phytosanitaires dans les essais de plein champ. AFPP N° DT 5.

CEB : Utilisation des tests statistiques dans l'interprétation des essais de produits phytosanitaires. AFPP N° DT 6.

CEB : Les réseaux d'essais. AFPP N° DT 9.

L'évaluation des effets non intentionnels, incluant les effets sur les organismes non cibles ainsi que l'incidence des préparations phytopharmaceutiques sur la qualité des végétaux ou produits végétaux et sur les processus de transformation, font l'objet de méthodologies spécifiques (voir liste des méthodes CEB régulièrement mises à jour), même si les observations relatives à ces effets peuvent être réalisées, par exemple dans le cadre d'essais d'efficacité décrits dans les méthodes particulières.

1. OBJET DE LA MÉTHODE

Cette méthode a pour objet l'étude de l'efficacité des fongicides destinés à lutter contre l'antracnose de quiescence, l'antracnose de blessure (ou chancre) et les pourritures de couronnes qui se développent sur les bananes au cours du transport dans les containers réfrigérés, du stockage avant le mûrissage artificiel, du mûrissage et de la mise en marché. Trois types d'études peuvent concourir à l'évaluation complète de l'efficacité pratique d'un fongicide :

- l'étude de l'activité fongicide,
- l'étude de la sensibilité de la culture,
- l'étude de la valeur pratique de l'activité fongicide.

1.1. Étude de l'efficacité

Elle est réalisée dans les ESSAIS D'EFFICACITÉ. Les fongicides sont toujours employés en traitement de post-récolte. Les essais sont conduits en conditions de contamination artificielle afin d'améliorer leur précision.

1.2. Étude de la sensibilité de la culture

Une première approche de la sensibilité des fruits aux préparations phytopharmaceutiques est obtenue à partir des observations complémentaires réalisées dans les essais d'efficacité. Elle doit être complétée par des essais spécifiques de SENSIBILITÉ DE LA CULTURE.

1.3. Étude de la valeur pratique

Elle est réalisée dans les ESSAIS DE VALEUR PRATIQUE.

Ces essais prennent en compte toutes les implications techniques et économiques de la préparation utilisée dans les conditions proches de ses futures applications agronomiques.

Un essai de valeur pratique est conçu en tenant compte des connaissances antérieures obtenues sur la préparation et la culture, en particulier au moyen des essais d'efficacité et des essais de sensibilité de la culture.

Dans ce type d'essai, les objectifs poursuivis sont principalement l'étude du mode d'utilisation de la préparation :

- matériel d'application (différents systèmes de pulvérisation avec bouillie recyclée ou non),
- doses pratiques d'emploi,
- mélanges, etc..

Ces essais peuvent aussi permettre :

- l'étude de l'intérêt technico-économique de la protection fongicide,
- l'étude de la nuisibilité de la maladie étudiée.

Les essais de valeur pratique sont à réaliser s'ils sont nécessaires pour démontrer la validité d'une recommandation d'emploi, notamment dans le cadre de la mise en application du document VI/7600/95 de la Commission Européenne.

" Lignes directrices et critères pour la préparation et la présentation des données relatives à l'efficacité visées à l'annexe III, parties A et B, section 6, de la directive 91-414-CEE concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (dossier d'évaluation biologique) ".

En règle générale, la méthodologie est proche de celle des essais d'efficacité en tenant compte d'ajustements décrits au paragraphe C.3.

En pratique les préparations fongicides visent souvent à protéger les fruits d'un complexe parasitaire.

2. BIOLOGIE ET CONTEXTE CULTURAL

L'inflorescence du bananier, appelée régime, est une grappe complexe composée d'une hampe robuste de 1 à 1.5 m de long sur laquelle des grappes de fleurs, appelées les mains, sont arrangées selon trois hélices ([Figure 1](#)). Les mains prennent naissance à l'aisselle de bractées déhiscentes sur un renflement appelé "coussinet". Elles sont constituées de 10 à 30 fleurs réparties sur deux rangées. L'inflorescence du bananier est indéfinie. Elle est d'abord composée de 6 à 14 mains de fleurs femelles à ovaire infère, puis les suivantes sont constituées par des fleurs mâles. Dans la pratique, l'inflorescence est décapitée lorsque toutes les fleurs femelles ont été émises. L'ovaire de chaque fleur femelle connaît un développement parthénocarpique pour donner un fruit appelé doigt.

Les fruits sont récoltés encore verts. La banane est un fruit préclimactérique qui mûrit après la récolte. Le stade de récolte optimal est un compromis entre une durée de conservation qui permette aux fruits de supporter un transport maritime de 10 à 15 jours et le niveau de remplissage qui conditionne le rendement. A la récolte, la hampe du régime est coupée à la base et les régimes sont transportés à la station de conditionnement, où ils sont suspendus sur une penderie. Les pièces florales, qui sont indéhiscentes, sont éliminées manuellement, puis les différentes mains du régime sont séparées de la hampe (dépattage) et plongées dans un bac d'eau pour permettre l'écoulement du latex. Ce latex est floculé par des agents acidifiants comme le sulfate d'aluminium. Dans le bac, les mains sont découpées en bouquets de 4 à 8 doigts ([Figure 1](#)) reliés entre eux par une 'couronne' constituée par le coussinet et un fragment de la hampe. Un tri est effectué à cette étape pour éliminer les fruits mal formés ou blessés. Les fruits sont ensuite traités avec un fongicide avant d'être emballés dans des cartons à l'intérieur desquels ils sont empilés soigneusement selon un arrangement bien précis. Les bananes sont regroupées selon leur taille et leur calibre pour composer des cartons homogènes correspondant à une norme de qualité donnée.

Après conditionnement, les fruits sont stockés en container réfrigéré à 13°C, avec ou sans atmosphère modifiée (obtenue au moyen d'un emballage plastique non perforé), pendant les 10 à 15 jours que dure le transport maritime. Selon l'activité du marché, les fruits peuvent faire l'objet d'un stockage supplémentaire pouvant aller jusqu'à 15 jours avant d'être mûris artificiellement par un traitement à l'éthylène effectué en mûrisserie. Durant toute la période de stockage, les fruits sont susceptibles d'être attaqués par des maladies d'origine fongique.

Ces maladies dites de conservation sont décrites ci-après :

2.1. L'antracnose des fruits

Colletotrichum musae est à l'origine de deux formes d'antracnose :

- la première forme concerne des nécroses qui se développent sur les fruits meurtris lors de la récolte ou au cours de l'emballage. On parle alors d'antracnose de blessure ou chancre. Dans ce cas, il se forme de larges nécroses brunes et allongées qui apparaissent sur les fruits encore verts. Ces nécroses se développent au cours du transport maritime et sont observées avant le mûrissage, notamment lors des contrôles effectués au moment du dépotage. La précocité des symptômes affecte beaucoup la valeur commerciale des fruits.
- la deuxième concerne le développement de nécroses, au cours de la maturation des fruits, à partir d'infections quiescentes. Le premier symptôme observable est alors une petite tache brune à contour non défini et en dépression sur la peau du fruit. Les taches d'antracnose s'élargissent et peuvent devenir coalescentes, formant ainsi de grandes plages nécrotiques. Les lésions sont d'abord localisées à la peau, mais la pourriture gagne progressivement la pulpe. Les symptômes apparaissent après le mûrissage : en sortie de mûrisserie, chez les distributeurs ou chez les consommateurs. Cette manifestation tardive pénalise généralement peu la valeur commerciale des fruits. Toutefois, lorsque les fruits sont fortement contaminés, les taches peuvent fusionner et former rapidement de grandes plages nécrotiques.

Dans tous les cas, la contamination des fruits a lieu au champ, principalement dans le premier mois qui suit la floraison, et essentiellement à partir du ruissellement de l'eau de pluie sur les fruits. Les conidies germent et forment un *appressorium* qui reste dans un état quiescent jusqu'à la maturation du fruit. La lutte, telle qu'elle est pratiquée, est essentiellement chimique (thiabendazole, bitertanol), au travers d'applications post-récolte effectuées par trempage ou par pulvérisation. Des souches résistantes aux benzimidazoles ont été mises en évidence. Cette résistance est le fait de traitements aériens, effectués avec des fongicides ayant le même mode d'action, pour lutter contre une maladie foliaire du bananier, la cercosporiose. Certaines méthodes culturales permettent, par ailleurs, de limiter considérablement la contamination des fruits par le *Colletotrichum musae* :

- le gainage des fruits avec une poche plastique. Cette technique est couramment utilisée en plantations pour accélérer la croissance des fruits, pour les protéger des grattages et de certaines attaques d'insectes. La gaine entrave considérablement le ruissellement de l'eau de pluie sur les fruits,
- l'ablation mécanique des pièces florales, principale source d'inoculum, dès la floraison (épistillage au champ)

2.2. La pourriture de couronnes

La pourriture de couronnes est une maladie de conservation qui se développe sur la base (couronne) des bouquets qui ont été confectionnés dans les stations d'emballage, pour la mise en carton des fruits. La pourriture se manifeste souvent d'abord par l'apparition d'une couche de moisissure en surface. D'abord superficielle, elle entraîne par la suite un brunissement et un ramollissement de la couronne qui traduisent la progression de la nécrose à l'intérieur des tissus. Cette progression peut aller au-delà de la couronne, envahir les pédoncules et ultérieurement gagner les fruits.

L'étiologie de cette infection est complexe car elle met en jeu un grand nombre d'espèces, fréquemment isolées et capables de provoquer des nécroses sur les couronnes. Toutefois, les parasites les plus fréquemment retrouvés et dont le pouvoir pathogène est le moins remis en cause sont *Colletotrichum musae* et plusieurs espèces de *Fusarium* dont *F. pallidoroseum*

semble la plus importante. Les pourritures de couronnes affectent la valeur commerciale des fruits, notamment lors des évaluations de score qualité réalisées au port d'arrivée ou en mûrissier. Leur évolution se poursuit au cours du mûrissage et les effets s'amplifient au cours de la mise en marché. S'il y a trop de bouquets atteints, les cartons devront être triés en sortie mûrissier : ces bouquets seront écartés avant la commercialisation. Les pourritures de couronnes altèrent aussi la cohésion des bouquets, ce qui diminue aussi leur durée de vie commerciale et gonfle les taux de réfaction appliqués par les distributeurs à leurs fournisseurs (importateurs, mûrisseurs). Les méthodes de lutte sont les mêmes que contre l'antracnose.

2.3. Sensibilité des fruits

Il y a un très faible nombre de variétés de bananes cultivées et elles ont toutes une même base génétique. Toutes les variétés exportées sont sensibles aux maladies de conservation. Les fruits d'une même variété ont toutefois un niveau de sensibilité variable aux maladies de conservation. La sensibilité des fruits augmente avec l'âge physiologique. Cet âge physiologique s'exprime en somme thermique au dessus de 14°C. Il est recommandé que les fruits soient récoltés lorsqu'ils ont accumulé 900 degrés x jours pour avoir une durée de vie pré-climactérique (durée de vie verte) optimale. Lorsque les bananiers sont soumis à des stress, le remplissage des fruits est ralenti, et à 900 degrés x jours, leur calibre peut être faible. En général, les producteurs ont tendance à attendre que les fruits aient atteint un calibre optimal (32 mm mesurés sur la dernière main du régime de bananes) pour récolter les fruits. Dans ce cas, la récolte se fait à un âge physiologique avancé : les fruits ont alors un potentiel de conservation réduit et un niveau de sensibilité accru aux maladies de conservation.

A. ESSAI D' EFFICACITÉ

A.3. CONDITIONS EXPERIMENTALES

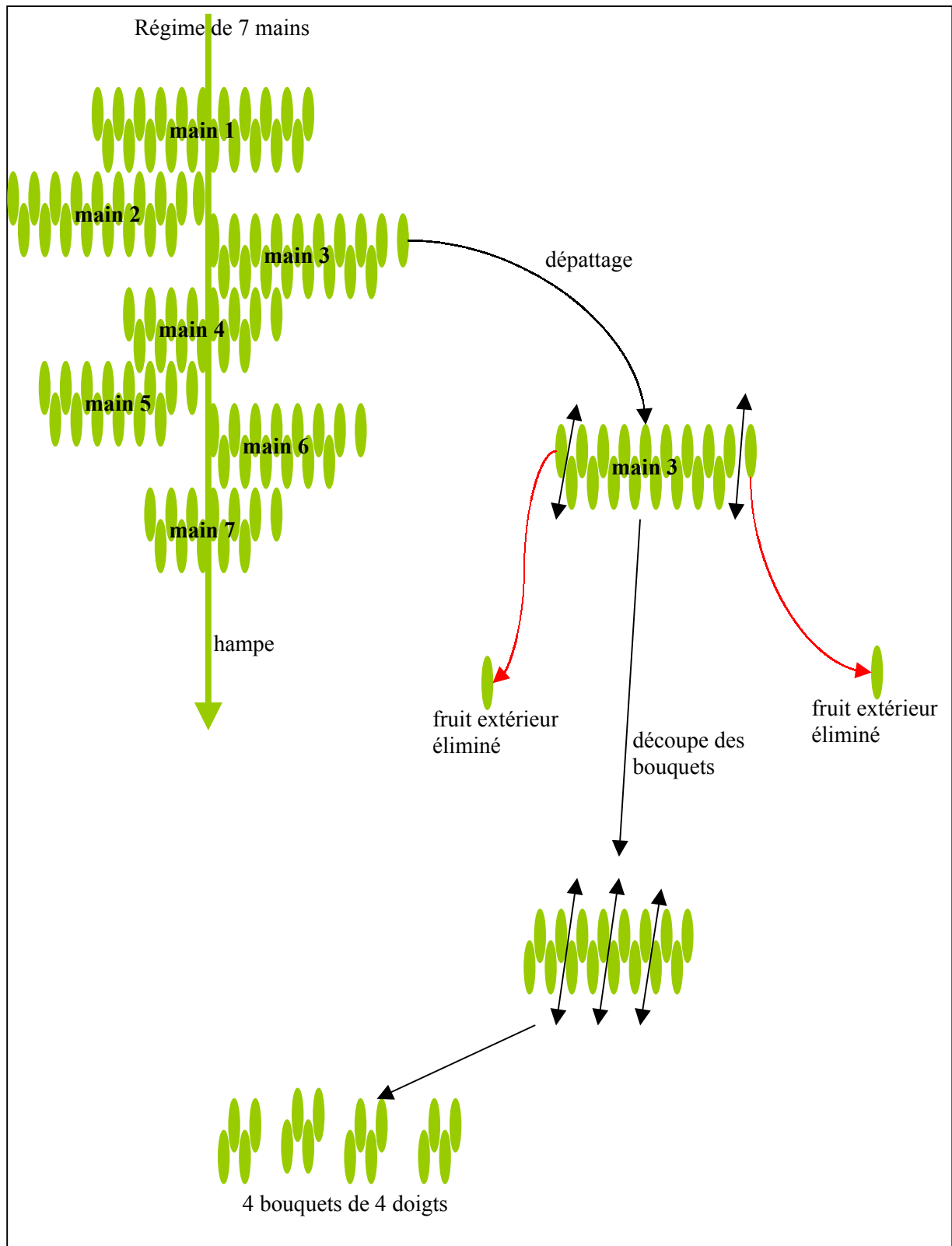
A.3.1. Choix de la région

Dans le contexte des Antilles françaises, et notamment celui de la Guadeloupe, les fruits de basse altitude pour lesquels la croissance des fruits est rapide (intervalle floraison-récolte court : 60 à 80 jours) sont plus sensibles aux maladies de conservation que ceux produits en zone d'altitude pour lesquels la croissance est lente (intervalle floraison-récolte élevé : 90 à 120 jours). La contamination naturelle des fruits dépend des paramètres climatiques : elle augmente en saison pluvieuse, dans les zones où les températures sont les plus proches de 30°C. Elle dépend aussi de paramètres culturels (gainage, épistillage au champ). Pour ces essais réalisés au moyen d'inoculation artificielle, on recherchera des fruits très sensibles et peu contaminés : on préférera donc des fruits produits en basse ou moyenne altitude, gainés à la floraison et idéalement épistillés au champ, bien que cela ne soit pas indispensable.

A.3.2. Choix de la culture et des variétés

Peu de variétés sont cultivées, toutes sont sensibles. Des fruits de la variété Grande Naine (*Musa acuminata*, sous groupe Cavendish) seront utilisés. La date de floraison de chaque régime est identifiée par un ruban de marquage, et les fruits sont récoltés lorsqu'ils ont atteint une somme thermique de 900 degrés x jours.

Figure 1 : schéma de découpe des régimes de bananes en bouquets de fruits



A.3.3. Choix du lieu d'implantation

Les fruits seront prélevés dans une plantation dans laquelle les bonnes pratiques culturales sont mises en œuvre pour une production de qualité (fertilisation, soins aux régimes, contrôle des parasites et ravageurs).

A.3.4. Témoin non traité

Le témoin est essentiellement caractérisé par l'absence des interventions qui constituent le but de l'essai. Cependant, il reçoit toutes les interventions qui sont appliquées de façon uniforme sur l'ensemble de l'essai, en particulier les façons culturales et les traitements de protection contre les ennemis non étudiés.

Son rôle consiste à :

- vérifier la présence de l'infection, sa nature, son niveau et son évolution,
- permettre d'exprimer et représenter les résultats de l'analyse et aider ainsi à leur interprétation et à leur compréhension,
- éventuellement, constituer un terme de comparaison pour les traitements.

En fonction de la taille du bloc (nombre de bouquets disponibles sur les mains 2 et 3) et du nombre de modalités, un témoin non contaminé pourra être utilisé afin de vérifier la réussite des contaminations artificielles et de déceler une éventuelle contamination naturelle.

A.3.5. Dispositif expérimental

Le dispositif est en blocs de FISHER comportant 20 blocs, chacun étant issu d'un régime différent. Les régimes proviennent de la même bananeraie et sont sélectionnés à une même date de floraison. Ils sont récoltés à une même date, lorsqu'ils ont accumulé 900 degrés x jours.

Les fruits de la même main d'un régime constituent un lot homogène car ces fruits ont un développement synchrone et sont situés dans le même espace ([Figure 1](#)). Ils ont un développement physiologique uniforme. Une main (éventuellement deux) constitue donc un bloc. Les différentes modalités de l'essai sont réparties sur cette main qui sera toujours la main N° 3 à partir du haut (18 à 20 fruits). Si le nombre de modalités à tester est trop important et que ces fruits ne suffisent pas, alors les fruits de la main N° 4 peuvent être utilisés. Les fruits situés en bordure des mains ne sont jamais utilisés, ce qui permet de confectionner 3 à 4 bouquets de 4 fruits par main, chaque bouquet représentant l'unité parcellaire. Les bouquets de chaque régime (bloc) sont répartis aléatoirement entre les différentes modalités.

Chaque couple pathogène/maladie fera l'objet d'un essai séparé.

A.3.6. Dimensions des parcelles

Chaque parcelle est constituée d'un bouquet de 4 fruits.

Champignons parasites/Maladie	Contamination	Nombre fruits inoculés/ parcelle
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de quiescence	Artificielle sans blessure	2 (bouquets de 4 fruits dont 2 sont inoculés)
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de blessure (chancre)	Artificielle avec blessure	2 (bouquets de 4 fruits dont 2 sont inoculés)
➤ <i>C.musae</i> /pourriture de couronne	Artificielle avec blessure	1 bouquet inoculé

A.3.7. Disposition des parcelles

Toutes les parcelles d'une même modalité (20 bouquets) sont réunies dans un même carton d'emballage (18,5 kg) bien identifié.

A.4. TRAITEMENTS

A.4.1. Préparation de référence

Une préparation de référence est incluse dans le dispositif.

Elle sert de terme de comparaison pour les autres parcelles traitées. Elle permet, en outre, de s'interroger sur la validité de l'essai au cas où cette référence montre des résultats inattendus.

Les fruits sont traités par trempage dans la solution fongicide de référence : MERTECT 20 S (220 g/l de thiabendazole) à la dose de 0,2 l/hl.

Pour le choix de ces préparations, se référer à la dernière édition du document technique CEB - Les préparations de référence utilisables dans le cadre de l'expérimentation de produits phytopharmaceutiques AFPP N° DT 3.

La même préparation de référence doit figurer dans tous les essais d'un même réseau et si possible pendant toute la durée de l'étude d'une même préparation.

A.4.2. Doses à expérimenter

Dans un certain nombre d'essais, il est impératif d'étudier plusieurs doses ou concentrations de la préparation à expérimenter, incluant la dose supposée efficace.

A.4.3. Époques de traitement et d'inoculation

Le tableau ci-dessous précise la place des traitements par rapport aux inoculations ainsi que la réalisation de blessures des fruits avant celle-ci :

Champignons parasites	Blessure du fruit	Place du traitement / trempage
➤ <i>C. musae</i> /anthracnose de quiescence	Non	24 h après l'inoculation (1)
➤ <i>C. musae</i> /anthracnose de blessure (chancre)	Oui	24 h après l'inoculation (2)
➤ <i>C. musae</i> /pourriture de couronne	Oui	4 h après l'inoculation (3)

- (1) La séquence se compose des opérations : contamination, traitement ([annexe 2](#))
- (2) La séquence se compose des opérations : contamination, blessure, traitement ([annexe 3](#)).
- (3) La séquence se compose des opérations : blessure, contamination, traitement ([annexe 4](#)).

A.4.4. Réalisation des traitements

Les traitements fongicides sont effectués par un trempage d'une minute dans la bouillie contenant les préparations fongicides aux doses retenues. On s'assurera que l'intégralité des bouquets est correctement immergée dans la bouillie au cours du trempage.

Les fruits témoin sont trempés dans l'eau pure. Le tableau du paragraphe A.4.3. indique la place des traitements par rapport aux inoculations.

A.4.5. Traitements d'entretien de la culture

Les opérations culturales et les traitements phytosanitaires autres que ceux en étude, appliqués séparément, sont effectués sur l'ensemble de l'essai, de manière à ce qu'il n'en résulte aucune perturbation non contrôlée pour le développement des maladies et de la culture.

A.4.6. Conditions d'entreposage des fruits

Après traitement, les fruits sont stockés dans des cartons de commercialisation classiques et placés dans un local frigorifique. Ne pas utiliser d'emballage plastique permettant d'obtenir une atmosphère modifiée (sacs plastiques non perforés), car des contrôles périodiques doivent être réalisés et l'atmosphère modifiée pourrait perturber le développement des maladies de conservation.

Le tableau ci-après indique les conditions et les durées d'entreposage.

Champignons parasites/Maladies	Entreposage
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de quiescence	24 h à 25°C après l'inoculation. Après traitement, les fruits sont placés à 13°C, dans un sac plastique perforé placé dans le carton
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de blessure (chancre)	24 h à 25°C après l'inoculation. Après traitement, les fruits sont placés à 13°C, dans un sac plastique perforé placé dans le carton
➤ <i>C.musae</i> /pourriture de couronne	Après traitement, les fruits sont placés à 13°C, dans un sac plastique perforé placé dans le carton pendant 10 jours. Les fruits sont ensuite traités à l'éthylène (1000 ppm) pendant 24 h à 20°C, puis conservés 2 jours à 20 °C.

A.5. OBSERVATIONS ET NOTATIONS

Elles doivent permettre de rendre compte, sans ambiguïté et avec précision, des effets de la préparation sur la maladie étudiée ou sur les effets qu'elle provoque.

On distingue 3 types d'observations.

A.5.1. Observations préalables

On s'assure de la qualité et de l'état sanitaire des fruits.

A.5.2. Observations principales

Ces observations, réalisées en cours d'essai, après l'application de la préparation, ont pour objet d'en apprécier l'efficacité sur chacune des maladies visées.

Le tableau ci-dessous indique les modalités d'observation en fonction des espèces et de la maladie visée.

Champignons/Maladies	Taille d'une modalité	Époques d'observation	Variables observées – méthode d'observation
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de quiescence	40 (20 bouquets de 4 fruits dont 2 inoculés)	Observation tous les 2-3 jours à partir du moment où les fruits mûrissent (la coloration évolue du vert au jaune)	SN = surface des nécroses (longueur x largeur x $\pi/4$)
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de blessure (chancre)	40 (20 bouquets de 4 fruits dont 2 inoculés)	Observation à 10 jours, puis tous les 2-3 jours jusqu'à la maturité du témoin inoculé non traité	SN = surface des nécroses (longueur x largeur x $\pi/4$)
➤ <i>C.musae</i> /pourriture de couronne	20 bouquets de 4 fruits	- Une observation après 10 jours à 13°C - Une observation 3 jours après le début du traitement à l'éthylène	Indice de surface externe des lésions (SEL): 0 : pas de lésion 1 : moins de 25 % de la surface de la couronne est nécrosée 2 : 25-50 % de la surface de la couronne est nécrosée 3 : 50-75 % de la surface de la couronne est nécrosée 4 : plus de 75 % de la surface de la couronne est nécrosée Progression interne de la lésion (PIL). Après avoir séparé le bouquet en 2 au niveau de la couronne, on mesure la surface interne de la couronne (longueur x largeur d'un rectangle), la surface de la couronne qui est nécrosée (longueur x largeur d'un rectangle), et on calcule le % de la surface de la couronne qui est nécrosée

A.5.3. Observations complémentaires

Tout effet de la préparation sur les fruits est observé et décrit. On se contente d'observations visuelles.

A.5.4. Méthodes d'observation

Les maladies sont identifiées visuellement d'après leurs symptômes. L'expérimentateur peut se référer aux fiches et documents cités en annexe qui décrivent les différentes maladies.

A.6. ANALYSE STATISTIQUE DES VARIABLES ET INTERPRETATION DES RESULTATS

A.6.1. Élaboration des variables

Type d'observation	Variable analysée	Nature de la transformation éventuelle des données
SN = Surface des nécroses / parcelle	Surface moyenne des nécroses (mm ²) / fruit	Aucune
SEL = Indice de surface externe des lésions / parcelle	Indice de surface externe des lésions (moyenne des notes) / fruit	Aucune
PIL = Progression interne des lésions / parcelle	Progression interne des lésions (%) / fruit	Arc sinus racine carrée

A.6.2. Analyses statistiques

A.6.2.1. Pour un essai individuel

La séquence de l'analyse se déroule comme suit :

- L'essai est-il réaliste, c'est-à-dire capable de fournir des données utiles ?
Pour cela, il faut que le développement des maladies dans le témoin non traité atteigne un niveau suffisant. Les seuils d'infestation souhaités sont indiqués dans le tableau ci-après :

Champignons parasites/Maladie	Type de contamination	% de fruits attaqués dans le témoin ou surfaces de nécroses à la dernière observation
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de quiescence	Artificielle	> 85 % de nécroses sur les sites de contamination
➤ <i>C.musae</i> /anthracnose de blessure (chancre)	Artificielle	Surface de nécrose > 200 mm ²
➤ <i>C.musae</i> /pourriture de couronne	Artificielle	PIL : % de surface de couronne nécrosée > 40 %

- Les résultats sont-ils cohérents ?
Pour cela, il faut que par comparaison au témoin non traité, la préparation de référence donne des résultats attendus.

Si ces 2 conditions sont remplies, et après une transformation éventuelle, les variables qui résultent d'une mesure ou d'une estimation visuelle sont soumises à une analyse de variance. Cette analyse peut être suivie d'un test de DUNNETT pour comparer les préparations étudiées à la préparation de référence ou suivie d'un test de NEWMAN et KEULS pour comparer les préparations entre elles.

A.6.2.2. Pour un regroupement d'essais

Le regroupement porte sur une même variable.

Des regroupements d'essais sont possibles car les critères expérimentaux restent comparables : niveau d'infection, type de souche du champignon pathogène, stade et mode d'application.

Après une transformation éventuelle, les variables qui résultent d'une mesure ou d'une estimation visuelle sont soumises à une analyse de variance. Cette analyse peut être suivie d'un test de DUNNETT pour comparer les préparations étudiées à la préparation de référence et d'un test de NEWMAN et KEULS pour comparer les préparations entre elles.

A.6.3. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés en fonction de la dynamique d'évolution de la population du parasite et éventuellement à l'aide de données météorologiques voire édaphiques.

A.7. PRESENTATION DES RESULTATS

A.7.1. Pour un essai individuel

Dans tous les cas, il convient de préciser le stade et le niveau d'infection de la culture par les maladies dans le témoin non traité au moment de la première application et lors de chacune des observations.

Les résultats du témoin non traité sont présentés en valeur absolue.

Les résultats des parcelles traitées sont présentés en valeur relative (pourcentage d'efficacité) ou en valeur absolue.

Dans le cas où des observations sont réalisées à plusieurs dates, une représentation graphique montrant l'évolution des populations ou des dégâts est souhaitable.

A.7.2. Pour un regroupement d'essais

Les résultats du témoin non traité sont présentés en valeur absolue. Les résultats des parcelles traitées sont présentés en valeur relative (pourcentage d'efficacité) ou en valeur absolue moyenne en indiquant :

- le nombre d'essais,
- le nombre d'essais ou d'observations retenus,
- la moyenne ou la médiane (distribution non symétrique),
- la dispersion.

Les résultats peuvent être présentés dans un tableau inspiré du modèle ci-dessous :

Maladie :									
	Intensité moyenne					Fréquence moyenne			
Organe observé	Org. 1		Org. 2			Org. 1		Org. 2	
ÉPOQUE D' OBSERVATION (en relatif)	EP. 1	EP. 2				EP. 1	EP. 2		
Nombre d'essais									
Témoin non traité									
Préparation de référence									
Préparation étudiée 1	Résultats								
Ecart type résiduel									

B. ESSAI DE SENSIBILITE DE LA CULTURE

Ces essais complètent les observations qui auront pu être réalisées au cours des essais d'efficacité.

B.3. CONDITIONS EXPERIMENTALES

B.3.1. Choix de la région

Tous les bassins de production sont concernés, il n'y a aucune restriction.

B.3.2. Choix de la culture et des variétés

La variété retenue est la variété Grande Naine.

B.3.3. Choix du lieu d'implantation

Il n'y a pas d'exigence particulière.

B.3.4. Témoin non traité

Les parcelles témoin constituent un terme de comparaison pour les traitements et sont incluses dans le dispositif.

B.3.5. Dispositif expérimental

Le dispositif retenu est celui des blocs de FISHER comportant 4 blocs.

B.3.6. Dimensions des parcelles

On constituera des lots de 100 fruits constituant chacun une parcelle élémentaire.

B.3.7 Disposition des parcelles

Les lots de fruits représentatifs d'une parcelle sont emballés séparément dans un carton bien identifié et emballés dans un sac plastique perforé.

B.4. TRAITEMENTS

B.4.1. Préparation de référence

Une préparation de référence est incluse dans le dispositif.
Se reporter au paragraphe A.4.1.

B.4.2. Doses à expérimenter

La préparation, ainsi que la préparation de référence, sont étudiées à la dose présumée efficace (N) et à la dose double (2N).

B.4.3. Époques de traitement

Les fruits sont traités après la récolte des fruits à la somme thermique de 900 degrés x jours.

B.4.4. Réalisation des traitements

Cf. essais d'efficacité, paragraphe A.4.4

B.4.5. Traitements d'entretien de la culture

L'ensemble de la bananeraie devant fournir les fruits pour l'essai doit rester aussi sain que possible. Les opérations culturales et les traitements phytosanitaires sont effectués sur l'ensemble la bananeraie.

B.5. OBSERVATIONS ET NOTATIONS

Les observations doivent permettre de rendre compte, sans ambiguïté et avec précision, des effets de la préparation sur la culture.
On distingue deux types d'observations.

B.5.1. Observations préalables

Ces observations, réalisées avant la mise en place de l'essai, ont pour objet de s'assurer de l'absence de symptôme de maladie et de vérifier l'homogénéité de la culture et des échantillons de fruits.

B.5.2. Observations principales

Des observations échelonnées sont réalisées en cours d'essai. Elles consistent à suivre l'apparition et le développement des réactions de la culture. La nature des observations est indiquée au paragraphe suivant.

B.5.3. Organes observés

Les observations portent sur l'échantillon de 100 fruits.

B.5.3.1. Époques d'observation

Des observations échelonnées après séchage de l'application T permettent de suivre l'apparition et le développement des symptômes à T+2 heures, T+2 jours, T+7jours, T+14 jours.

B.5.3.2. Variables observées

Type d'observation	Méthode d'observation	Variable observée
Altération de la couleur	Estimation visuelle sur un échantillon de 100 fruits	Nombre de fruits touchés et type de symptôme décrit
Nécroses, brûlures	Estimation visuelle sur un échantillon de 100 fruits	Nombre de fruits touchés et type de symptôme décrit

B.6. ANALYSES STATISTIQUES DES VARIABLES ET INTERPRETATION DES RESULTATS

B.6.1. Élaboration des variables

La liste des variables analysées pour chacune des variables observées est indiquée dans le tableau suivant :

Variable observée	Variable analysée	Nature de la transformation
Altération de la couleur	% de fruits atteints	Arc sinus racine carrée
Nécroses, brûlures nombre d'organes atteints	% de fruits atteints	Arc sinus racine carrée

B.6.2. Analyses statistiques

B.6.2.1. Pour un essai individuel

La séquence de l'analyse se déroule comme suit :

- L'essai est-il réaliste, c'est-à-dire capable de fournir des données utiles ?
Pour cela, il faut que le développement des maladies dans le témoin non traité soit nul ou très faible.
- Les résultats sont-ils cohérents ?
Pour cela, il faut que par comparaison au témoin non traité, la préparation de référence donne des résultats attendus.

Si ces 2 conditions sont remplies, et après une transformation éventuelle, les variables qui résultent d'une mesure ou d'une estimation visuelle sont soumises à une analyse de variance. Cette analyse peut être suivie de trois tests :

- test de STUDENT pour comparer la référence au témoin,
- test de DUNNETT pour comparer les préparations testées à la référence appliquée à la dose normale N,
- test de NEWMAN et KEULS pour comparer les préparations entre elles.

B.6.2.2. Pour un regroupement d'essais

Le regroupement porte sur une même variable. Il est effectué en fonction de critères comparables : climat, date de traitement, région, etc...

Après une transformation éventuelle, les variables qui résultent d'une mesure ou d'une estimation visuelle sont soumises à une analyse de variance.

Cette analyse peut être suivie de trois tests :

- test de STUDENT pour comparer la référence au témoin,
- test de DUNNETT pour comparer les préparations testées à la référence appliquée à la dose normale N,
- test de NEWMAN et KEULS pour comparer les préparations entre elles.

B.6.3. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés en tenant compte notamment des données météorologiques voire édaphiques.

B.7. PRESENTATION DES RESULTATS

B.7.1. Pour un essai individuel

On exprime les résultats en % de fruits atteints.

B.7.2. Pour un regroupement d'essais

On exprime les résultats en % de fruits atteints, en précisant :

- le nombre total d'essais,
- le nombre d'essais et d'observations retenus,
- la moyenne ou la médiane (distribution non symétrique),
- la dispersion.

C. ESSAI DE VALEUR PRATIQUE

Ce type d'essai peut être réalisé pour valider l'usage de la préparation avec différents modes d'application autres que le trempage (différents systèmes de pulvérisation avec bouillie recyclée ou pas), ou en mélange avec d'autres préparations, ou éventuellement d'autres doses d'utilisation. Pour s'affranchir du caractère aléatoire de la manifestation des maladies de conservation, il est recommandé de travailler en conditions de contamination artificielle.

C.3 CONDITIONS EXPERIMENTALES

C.3.1. Choix de la région

Se reporter au paragraphe A.3.1.

C.3.2. Choix de la culture et des variétés

Se reporter au paragraphe A.3.2.

C.3.3. Choix du lieu d'implantation

Ces essais seront mis en place dans des stations de conditionnement de producteurs privés. Ces stations de conditionnement seront choisies pour leur caractéristiques concernant le mode d'application de la préparation fongicide : pulvérisation, recyclage de la bouillie ou pas.

C.3.4. Témoin non traité

Se reporter au paragraphe A.3.4.

C.3.5. Dispositif expérimental

Se reporter au paragraphe A.3.5.

C.3.6. Dimensions et disposition des parcelles

Se reporter au paragraphe A.3.6.

C.4. TRAITEMENTS

C.4.1. Terme de comparaison

Selon l'objectif de l'étude, le terme de comparaison retenu est :

- une préparation de référence (voir AFPP, N° DT 3) utilisée en trempage,
- la préparation étudiée utilisée en trempage à la dose présumée efficace,
- un mélange de préparations utilisé localement et présentant des qualités notoirement reconnues.

La préparation de référence utilisée en trempage et la préparation étudiée utilisée en trempage à la dose présumée efficace sont communs à tous les essais et permettent ainsi de les comparer.

C.4.2. Doses à expérimenter

En fonction de l'objectif recherché, la préparation est étudiée à la dose présumée efficace ou autorisée, ou à une ou plusieurs doses inférieures.

C.4.3. Époques de traitement

Les préparations peuvent être appliquées en mélange, mais toujours en accord avec les bonnes pratiques agricoles.

Se reporter au paragraphe A.4.3.

C.4.4. Réalisation des traitements

Les applications sont réalisées avec le matériel des stations de conditionnement, à l'exception des trempages qui sont réalisés avec le matériel d'expérimentation.

Se reporter au paragraphe A.4.4.

C.4.5. Traitements d'entretien de la culture

Se reporter au paragraphe A.4.5.

C.4.6. Conditions d'entreposage des fruits

Se reporter au paragraphe A.4.6.

C.5. OBSERVATIONS ET NOTATIONS

C.5.1. Observations préalables

Se reporter au paragraphe A.5.1.

C.5.2. Observations principales

Se reporter au paragraphe A.5.2.

C.5.3. Observations complémentaires

Se reporter au paragraphe A.5.3 et B.5.3.

C.6. ANALYSES STATISTIQUES DES VARIABLES ET INTERPRETATION DES RESULTATS.

C.6.1. Élaboration des variables

Se reporter au paragraphe A.6.1.

C.6.2. Analyses statistiques

C.6.2.1. Pour un essai individuel

La séquence de l'analyse se déroule comme suit :

- L'essai est-il réaliste, c'est-à-dire capable de fournir des données utiles ?
Pour cela, il faut que l'infection en maladies soit représentative des conditions de la pratique agricole étudiée.
- Les résultats sont-ils cohérents ?
Pour cela, il faut que par comparaison au témoin non traité, la préparation ou la modalité de référence donne des résultats attendus.

Si ces 2 conditions sont remplies, la proportion de fruits atteints par maladie est soumise à une analyse de variance.

Cette analyse peut être suivie de deux tests :

- test de DUNNETT pour comparer les modalités testées à la modalité de référence,
- test de NEWMAN et KEULS pour comparer les modalités entre elles.

C.6.2.2. Pour un regroupement d'essais

Le regroupement porte sur une même variable. Il peut être intéressant d'effectuer un regroupement en fonction de critères comparables : modes d'application, dose d'utilisation, type de mélange.

Le type d'analyse statistique à réaliser est le même que pour un essai individuel.

C.7. PRESENTATION DES RESULTATS

C.7.1. Pour un essai individuel

Elle est adaptée aux observations principales réalisées. Pour les observations concernant l'efficacité se reporter au chapitre A.7. Pour les observations concernant la sensibilité de la culture se reporter au chapitre B.7.

Dans tous les cas, il convient de caractériser l'infestation.

Les résultats du témoin sont présentés en valeur absolue et les résultats des parcelles traitées sont présentés en valeur relative (pourcentage d'efficacité).

Dans le cas où plusieurs dates d'observations sont réalisées, une représentation graphique montrant l'évolution des dégâts est souhaitable.

C.7.2. Pour un regroupement d'essais

Les résultats peuvent être présentés sous forme de tableaux ou graphiques en mentionnant : l'espèce, le niveau d'infestation, l'époque d'observation, le nombre d'essais.

Les résultats du témoin sont présentés en valeur absolue.

Les résultats des modalités sont présentés en valeur relative (pourcentage d'efficacité) ou en valeur absolue moyenne en indiquant la dispersion.

ANNEXE 1

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Anonyme. (1980).

La qualité de la banane. La réglementation française et son interprétation. GERDAT-IRFA. Paris. 74 p.

Anonyme. (2003).

Manuel du planteur de bananes de la Guadeloupe. CIRAD éditions. Montpellier.

Chillet M., de Lapeyre de Bellaire L., Dorel M., Joas J., Dubois C., Marchal J. and Perrier X. (2000).

Evidence for the variation in susceptibility of bananas to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae* and influence of edaphic conditions. *Scientia Horticulturae*, **86**, 33-47.

de Lapeyre de Bellaire L., Chillet M., Dubois C. and Mourichon X. (2000).

Importance of different sources of inoculum and dispersal methods of conidia of *Colletotrichum musae*, the causal agent of banana anthracnose, for fruit contamination. *Plant Pathology*, **49**, 782-790.

de Lapeyre de Bellaire L. and Dubois C. (1997).

Distribution of thiabendazole-resistant *Colletotrichum* isolates from Guadeloupe banana plantations. *Plant Disease*, **81**, 1378-1383.

de Lapeyre de Bellaire L. and Mourichon X. (1997).

The pattern of fungal contamination of the banana bunch during its development and potential influence on incidence of crown-rot and anthracnose diseases. *Plant Pathology*, **46**, 481-489.

de Lapeyre de Bellaire L. and Nolin J. (1994).

Amélioration du contrôle du chancre sur les bananes d'exportation et traitements post-récolte. *Fruits*, **49**, 179-185.

Finlay A.R. and Brown A.E. (1993).

The relative importance of *Colletotrichum musae* as a crown-rot pathogen on Windward Island bananas. *Plant Pathology*, **42**, 67-74.

Frossard P. (1969).

Action du thiabendazole et du benlate sur l'anthracnose des bananes et son champignon pathogène *Colletotrichum musae*. *Fruits*, **24**, 365-379.

Johanson A. and Blasquez B. (1992).

Fungi associated with banana crown-rot on field-packed fruit from the Windward Islands and assessment of their sensitivity to the fungicides thiabendazole, prochloraz, and imazalil. *Crop Protection*, **11**, 79-83.

Laville E. (1994).

La protection des fruits tropicaux après récolte. Editeur CIRAD-COLEAP

Marin D.H., Sutton T.B., Blankenship S.M. and Swallow W.H. (1996).

Pathogenicity of fungi associated with crown rot of bananas in Latin America on Grande Naine and disease-resistant hybrid bananas. *Plant Disease*, **80**, 525-528.

Meredith D.S. (1960).

Studies on *Gloeosporium musarum* Cke and Masee causing storage rots of Jamaican bananas. I. Anthracnose and its chemical control. *Annals of Applied Biology*, **48**, 279-290.

Muirhead I.F. and Deverall B.J. (1981).

Role of appressoria in latent infection of banana fruits by *Colletotrichum musae*. *Physiological Plant Pathology*, **19**, 77-84.

Swinburne T.R. (1983).

Quiescent infections in post-harvest diseases. *In* : Post-harvest Pathology of Fruits and Vegetables, Dennis C. (ed.) London, Academic Press, 1-21.

ANNEXE 2

PROTOCOLE D' INOCULATION ET DE CONSERVATION DES FRUITS POUR L' ANTHRACNOSE DE QUIESCENCE

Les 20 bouquets d'une même modalité feront l'objet d'une inoculation selon le mode suivant :

Les inoculations sont réalisées avec une souche de *Colletotrichum musae* sensible au thiabendazole (46-12) à partir d'une suspension de conidies récupérée sur une culture sporulante âgée de 7-10 jours :

- une gouttelette de 25 µl d'une suspension calibrée à 10⁶ conidies/ml est déposée au centre d'une zone identifiée sur la face latérale de deux fruits (un interne et un externe) situés sur le bord du bouquet. Une pastille de papier WHATMAN de 5 mm est déposée sur la gouttelette. Un coton humide (eau distillée stérile), puis une bande de " cello-frais " sont déposés sur la pastille et autour du fruit. Les fruits sont disposés dans une enceinte régulée à 25°C.,
- les fruits sont traités 24 heures après l'inoculation,
- les fruits sont conservés à 13°C. Une mesure de taille de nécrose (longueur-largeur) est réalisée à partir du moment où les fruits commencent à devenir jaunes (stade 5 de l'échelle colorimétrique), et la surface de nécrose est calculée à chaque observation,
- d'autres mesures sont réalisées à 2-3 jours d'intervalle, jusqu'au stade de maturité complète du fruit (tigrage important du fruit, stade 7 de l'échelle colorimétrique).

ANNEXE 3

PROTOCOLE D' INOCULATION ET DE CONSERVATION DES FRUITS POUR L' ANTHRACNOSE DE BLESSURE (CHANCRE)

Les 20 bouquets d'une même modalité feront l'objet d'une inoculation selon le mode suivant :

Les inoculations sont réalisées avec une souche de *Colletotrichum musae* sensible au thiabendazole (46-12) à partir d'une suspension de conidies récupérée sur une culture sporulante âgée de 7-10 jours :

- une gouttelette de 25 µl d'une suspension calibrée à 10⁶ conidies/ml est déposée au centre d'une zone identifiée sur la face latérale de deux fruits (un interne et un externe) situés sur le bord du bouquet. Une pastille de papier Whatman de 5 mm est déposée sur la gouttelette. Un coton humide (eau distillée stérile), puis une bande de " cellofrais " sont déposés sur la pastille et autour du fruit. Les fruits sont disposés dans une enceinte réglée à 25°C.,
- au terme de 24 heures, la zone d'inoculation est légèrement meurtrie en effectuant une compression standardisée. Cette dernière est réalisée avec un piston à bout arrondi, de 1 cm de diamètre, qui exerce, durant 4 secondes et avec une vitesse de 5 mm/s, une déformation de 5 mm. Le piston est piloté par un analyseur de texture TA-XT2 couplé au logiciel X-TRAD,
- les fruits sont traités après la blessure,
- les fruits sont conservés 10 jours à 13°C. Une mesure de taille de nécrose est alors réalisée (longueur-largeur) et la surface de nécrose est calculée,
- d'autres mesures sont réalisées à 2-3 jours d'intervalle, jusqu'au stade 4 de l'échelle colorimétrique (Anonyme, 1980).

ANNEXE 4

PROTOCOLE D' INOCULATION ET DE CONSERVATION DES FRUITS POUR LES POURRITURES DE COURONNES

Les 20 bouquets d'une même modalité feront l'objet d'une inoculation selon le mode suivant :

Les inoculations sont réalisées avec une souche de *Colletotrichum musae* sensible au thiabendazole (46-12) à partir d'une suspension de conidies récupérée sur une culture sporulante âgée de 7-10 jours :

- la couronne est rafraîchie et stérilisée à l'alcool 50 %. Une gouttelette de 50 µl d'une suspension calibrée à 10⁴ conidies/ml est déposée au sommet de la couronne. Une pastille de papier WHATMAN de 5 mm est déposée sur la gouttelette. Les fruits sont disposés à température ambiante pendant 3 heures,
- les fruits sont alors traités,
- les fruits sont conservés 10 jours à 13°C. Une mesure de surface externe des lésions (SEL) est alors réalisée (échelle de 0-4). Cette observation correspond aux évaluations effectuées en entrée de mûrisserie,
- les fruits sont traités à l'éthylène (1000 ppm 24 h à 20°C),
- Vingt quatre heures après traitement, les fruits sont ensuite aérés et remis à 20°C pendant deux jours, jusqu'au début de leur jaunissement (stade tournant) qui correspond à leur sortie de mûrisserie. Trois jours après le début du traitement à l'éthylène, une observation de la progression interne des lésions (PIL) est alors réalisée.