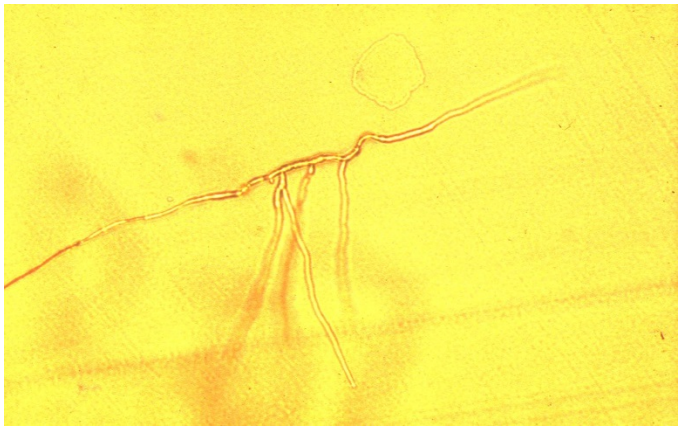
Rapport d'expertise

Evaluation de la sensibilité des souches de *Mycosphaerella fijiensis*, agent de la maladie des raies noires des bananiers, aux fongicides systémiques, dans les plantations du Groupe Mathys/Wanita en Côte d'Ivoire

L. de Lapeyre de Bellaire, Cirad, UR Geco, Montpellier, France

V. Roussel, M.F. Zapater, Cirad, UMR BGPI, Montpellier, France



Ce rapport a été élaboré dans le cadre d'une expertise à la demande de la société Wanita

Référence à citer :

de Lapeyre de Bellaire L., Roussel V., Zapater MF. 2017. Evaluation de la sensibilité des souches de Mycosphaerella fijiensis, agent de la maladie des raies noires des bananiers, aux fongicides systémiques, dans les plantations du Groupe Wanita/Mathys en Côte d'Ivoire. Montpellier (France), CIRAD, 14 p.

© Cirad, Persyst/ Geco / Montpellier, 2017.

SOMMAIRE

Rapport d'expertise 1

SOMMAIRE 2

I. Introduction 3

II. Méthodologie 4

1. Prélèvement des échantillons foliaires 4

2. Mises en culture 5

3. Lectures 6

III. Résultats 6

1. Généralités sur l'interprétation des résultats 6

1.1. Sensibilité aux Benzimidazoles (MBC) 6

1.2. Sensibilité aux triazoles (DMI) 7

1.3. Sensibilité aux strobilurines (QoI) 8

1.4. Sensibilité aux SDHI 8

2. Résultats 9

2.1. Sensibilité aux benzimidazoles (MBC) 9

2.2. Sensibilité aux triazoles 9

Sensibilité au propiconazole 9

Sensibilité au difénoconazole 10

2.3. Sensibilité aux strobilurines 11

2.4. Sensibilité initiale aux SDHI 12

IV. Conclusions et recommandations 13

I. INTRODUCTION

La Maladie des Raies Noires (MRN, provoquée par *Mycosphaerella fijiensis*) est une des principales contraintes parasitaires dans les plantations agro-industrielles de banane dessert. *Mycosphaerella fijiensis* a été décrit pour la première fois en Côte d'Ivoire en 1985. Après quelques années, l'ensemble de la bananeraie ivoirienne a été affectée par ce pathogène qui a progressivement remplacé *M. musicola*. Un système de lutte raisonnée par avertissement a été mis en place en Côte d'Ivoire afin de contrôler efficacement cette maladie tout en diminuant le nombre de traitements fongicides au minimum nécessaire (réduction des coûts, des nuisances environnementales, des risques d'apparition de souches résistantes).

Les stratégies de lutte raisonnée par avertissement reposent fortement sur l'emploi de fongicides systémiques qui ont un fort effet curatif. Contrairement aux fongicides de contact (qui n'ont pas d'effet curatif), ces fongicides ont un mode d'action unisite et leur efficacité peut être altérée par le développement de souches résistantes au sein des populations pathogènes. Le suivi périodique du niveau de sensibilité des souches aux différents fongicides (ou *monitoring)* est indispensable pour déterminer si les résistances éventuellement observées sont à l'origine de pertes d'efficacité des fongicides utilisés. Ces analyses permettent d'orienter les choix des fongicides dans les stratégies de lutte raisonnée, et éventuellement à déterminer les limites de leur mise en œuvre, dans le cas où les résistances sont généralisées à tous les groupes de fongicides.

La résistance aux fongicides à mode d'action unisite est très répandue chez les champignons pathogènes. Parmi les facteurs qui augmentent les risques d'apparition de souches résistantes, on peut signaler : le type de mode d'action (les risques sont très élevés dans certains groupes), l'application des fongicides sur des populations de grande taille (forte présence d'inoculum), une fréquence élevée d'utilisation de ces fongicides, des mauvaises pratiques d'utilisation des fongicides (sous-dosages, mauvaise qualité d'application et de préparation des bouillies).

Le groupe Wanita s'est rapproché du Cirad pour l'aider à orienter les stratégies de lutte contre la MRN. En préalable à une mission de terrain un premier travail a été réalisé pour évaluer le niveau de sensibilité des populations pathogènes vis-à-vis des produits de la famille des triazoles (propiconazole, difénoconazole), des benzimidazoles (thiabendazole), des strobilurines (azoxystrobine) et une toute première évaluation pour les SDHI (fluopyram). Les résultats de cette étude serviront de support pour orienter la stratégie de traitement à l'issue de la mission de terrain en Côte d'ivoire.

II. METHODOLOGIE

1. Prélèvement des échantillons foliaires

Le monitoring de résistance a été réalisé à partir d'échantillons prélevés sur les deux plantations du groupe en juin 2017 (Batia et Dabou, Figure 1). La zone non traitée prise en référence est celle qui avait été réalisée en 2012 dans une plantation de plantain à l'écart des plantations.

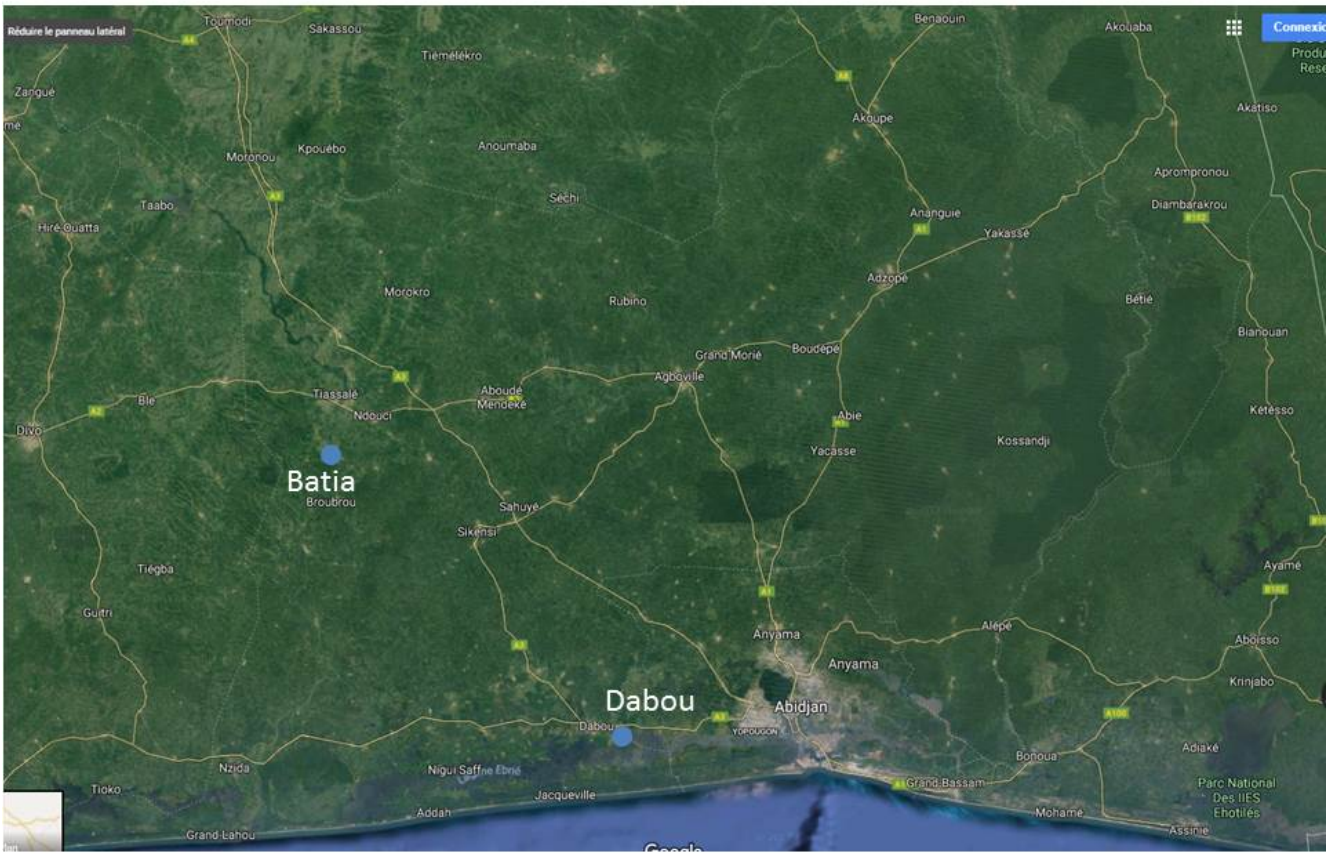


Figure 1. Plan de situation des plantations du groupe Wanita en Côte d'Ivoire

Figure 2. Méthodologie utilisée pour la mesure de la résistance

Les échantillons étaient des fragments de limbe (15x20 cm) portant des lésions de stades 2 et 3. Sur chaque parcelle 25 à 30 bananiers ont été échantillonnés et les fragments de feuilles ont été expédiés par courrier rapide au laboratoire du Cirad à Montpellier.

A partir de ces limbes de feuilles, des isolements mono-conidies ont été réalisés après étalement de lésions directement sur de l'agar (figure 2). Pour une lésion, une seule souche a été conservée dans la population finale (lors des isolements 3-8 conidies sont isolées par lésion car il y a des risques de contaminations fongiques ou bactériennes). En effet, on considère que toutes les conidies d'une même lésion sont identiques et **il ne faut donc pas dupliquer une même lésion dans la population analysée**. **Une population de 30 souches minimum a ainsi été constituée à partir de 30 lésions différentes** (dans la mesure du possible on a récolté une lésion différente par feuille pour répartir la population analysée sur toute la parcelle échantillonnée). Les conidies isolées ont été transférées 10-21 jours sur du PDA à 25°C, puis cultivées 10 jours à 20°C en lumière continue sur un milieu V8sp qui permet de stimuler la production de conidies qui serviront aux tests de germination en présence ou absence des fongicides.

2. Mises en culture

Pour chaque souche, 10 jours après avoir été transférée sur le milieu de sporulation, un fragment de colonie a été récupéré et transféré dans un microtube avec 1 ml d'eau distillée stérile. Après agitation au vortex, une microgoutte de 20 µl de la solution de conidies a été transférée sur les différents milieux au moyen d'une micropipette (figure 5).

Les différents milieux utilisés étaient de l'Agar amendé ou pas avec différentes concentrations de fongicides (tableau 1) :

Tableau 1. Différents milieux utilisés pour le monitoring de résistances

Famille	Matière active	Dose testée	Observation
Triazole/DMI	propiconazole	0.1 ppm	Longueur du tube germinatif
Triazole/DMI	difénoconazole	0.1 ppm	Longueur du tube germinatif
Benzimidazole/MBC	thiadendazole	5 ppm	Morphologie du tube germinatif
Strobilurine/QoI	azoxystrobine	10 ppm	Longueur du tube germinatif
SDHI	fluopyram	30 ppm	Longueur du tube germinatif
Témoin	néant	0	Longueur du tube germinatif

3. Lectures

Quarante huit heures après la mise en culture, les lectures ont consisté à observer au microscope les tubes germinatifs des conidies (tableau 1).

- Témoin, propiconazole, difénoconazole, azoxystrobine, fluopyram : pour chaque isolat on mesure la longueur du tube germinatif pour 3-4 conidies parmi les plus longues et les plus représentatives
- Thiabendazole : la forme du tube germinatif des conidies est observée selon qu'il est (i) normal (germination comparable à celle du témoin) ; (ii) tordu (déformation des tubes germinatifs qui sont courts) ; (iii) court (tubes germinatifs non déformés mais de taille sensiblement plus petite que pour le témoin) ou (iv) non germé

Les résultats des trois plantations ont été comparés avec ceux qui ont été obtenus sur la population isolée à partir des feuilles prélevées dans la plantation de bananiers non traités proche de Motobe (2012).

III. RESULTATS

1. Généralités sur l'interprétation des résultats

1.1. SENSIBILITE AUX BENZIMIDAZOLES (MBC)

En absence du fongicide : les tubes germinatifs ont généralement une croissance normale avec des tubes germinatifs de 205-350 µm (même si certaines conidies mortes ne germent pas).

En présence du fongicide :

- les souches **sensibles** (S) ont un **tube germinatif déformé et tordu** (T) ou ne germent pas (NG).

- les souches **résistantes** (R) ont un **tube germinatif ayant une croissance normale** (N) **ou des tubes germinatifs plus courts** (C), même si quelques rares conidies mortes ne germent pas (NG).

Point 1 :

On va calculer pour chaque population le % de souches résistantes (R) sur l'échantillon de souches analysé.

Point2 :

Le résultat de cette analyse traduira la possibilité d'utiliser des benzimidazoles (MBC) et plus particulièrement le Callis

1.2. SENSIBILITE AUX TRIAZOLES (DMI)

Plusieurs paramètres ont été calculés en comparant la croissance des conidies sur le milieu amendé en fongicide (Cf) et celle mesurée sur le témoin sans fongicide (Ct). Pour chaque souche on a ainsi calculé un % d'inhibition de croissance (IC) selon la formule suivante :

$$IC = (1-Cf/Ct) \times 100$$

Pour les triazoles la résistance est graduelle et on ne mesure pas de % de souches résistantes mais une perte de sensibilité par rapport aux populations non traitées. On va donc chercher à quantifier cette baisse de sensibilité.

Point 1 :

Pour l'ensemble de la population on comparera les deux indicateurs suivants avec les valeurs obtenues dans la population non traitée:

- le % moyen d'inhibition de croissance : cette valeur est généralement située entre 70 et 80% dans les zones non traitées

- le % de souches avec une inhibition de croissance inférieure à 50 % : dans les populations non traitées il n'y a pas d'individus dans ces classes de faible inhibition

Point 2 :

- Les résultats obtenus avec le propiconazole traduiront la possibilité d'utiliser les fongicides suivants : Tilt, Reference, Ecran, Perfect et Bumper

- Les résultats obtenus avec le difénoconazole traduiront la possibilité d'utiliser le Sico, le Difecor et le Psycho

- La synthèse des résultats propiconazole et difénoconazole traduira de manière générale la possibilité d'utiliser les fongicides de la famille des triazoles (DMI) c'est-à-dire aussi Folicur et Junior (tebuconazole), Mirage (prochloraze), Bayfidan (triadiménol), Opal (époxyconazole), Trical (triadiméfon) en plus des autres

1.3. SENSIBILITE AUX STROBILURINES (QOI)

Comme pour les triazoles, un % d'inhibition de croissance a été calculé en comparant la croissance des conidies sur le milieu amendé en fongicide (Cf) et celle mesurée sur le témoin sans fongicide (Ct). Pour chaque souche on a ainsi calculé un % d'inhibition de croissance (IC) selon la formule suivante :

$$IC = (1-Cf/Ct) \times 100$$

Pour ces fongicides, il est difficile de caractériser les souches résistantes (porteuses de la mutation G143A) par leur niveau de croissance sur le milieu enrichi en fongicide. En effet, le risque le plus important, au cours des tests de germination, est de considérer des souches comme résistantes alors qu'elles ne le sont pas : 'faux positifs'. Pour réduire les risques de 'faux positifs' lors des tests de germination, le FRAC a recommandé d'utiliser une dose de 10 ppm dans les tests de monitoring. C'est cette dose (à la différence de la dose de 1 ppm qui a souvent été employée lors des monitoring effectués en Côte d'ivoire) qui a été utilisée dans cette étude. Par ailleurs, le FRAC considère que les souches porteuses de la mutation G143A sont celles qui ont au moins une croissance de 150 µm sur le milieu enrichi en fongicide. Des études récentes nous ont montré que cette limite n'était pas fiable et que les tests de germination ne permettent pas avec certitude de caractériser toutes les souches. Les seules certitudes sont que **toutes les souches ayant moins de 40% d'inhibition de croissance portent la mutation G143A et sont donc résistantes et que toutes les souches ayant plus de 70% d'inhibition de croissance ne portent pas cette mutation et sont donc sensibles**. Il y a une zone d'incertitude entre ces deux limites. **Nous avons donc utilisé cette limite de moins de 40% d'inhibition de croissance pour comptabiliser les souches résistantes, tout en sachant que cette proportion pourrait être plus importante**.

Point 1 :

On va calculer pour chaque population le % de souches ayant moins de 40% d'inhibition de croissance sur l'échantillon de 50 souches analysé.

Point2 :

Le résultat de cette analyse traduira la possibilité d'utiliser les fongicides ayant ce mode d'action (QoI) comme le Bankit, le Tega et le Comet Plus

1.4. SENSIBILITE AUX SDHI

Comme pour les triazoles, un % d'inhibition de croissance a été calculé en comparant la croissance des conidies sur le milieu amendé en fongicide (Cf) et celle mesurée sur le témoin sans fongicide (Ct). Pour chaque souche on a ainsi calculé un % d'inhibition de croissance (IC) selon la formule suivante :

$$IC = (1-Cf/Ct) \times 100$$

Point 1 :

On va établir la courbe de sensibilité de base à ces fongicides dans les différentes plantations en répartissant la population de 30 individus dans des classes d'inhibition de croissance (tableau et courbe de répartition).

Point2 :

Le résultat des futures analyses (apparition d'individus dans des classes de faible inhibition de croissance) traduira l'apparition de souches résistantes et la possibilité d'utiliser le Verango, le Luna privilège, le Reflect et le Cumora

2. Résultats

2.1. SENSIBILITE AUX BENZIMIDAZOLES (MBC)

Il n'y a pas de souches résistantes aux benzimidazoles sur aucune des deux plantations de Batia et Dabou (Tableau 2).

Fongicides secteurs juin-17	% Resistants	% Sensibles	Nombre de souches
Méthyl-thiophanate			
Dabou	0	100	34
Batia	0	100	35
Plantain non traité	0	100	43

Tableau 2. Pourcentage de souches résistantes au thiabendazole (5ppm) sur les plantations du groupe Wanita

Ces résultats montrent que l'emploi de benzimidazoles peut se faire sur les deux plantations du groupe Wanita, dans la limite de ce qui est possible avec ce type de fongicide.

2.2. SENSIBILITE AUX TRIAZOLES

Sensibilité au propiconazole

Les résultats du tableau 3 et de la figure 3 montrent que **les populations isolées sur Batia et Dabou présentent une forte déviation de sensibilité au propiconazole** vis-à-vis des populations non traitées. En effet, le % moyen d'inhibition de croissance est très inférieur (27% pour Dabou et 25% pour Batia) à celui de la zone non traitée (82 %). De même une grande partie de la population a une faible inhibition de croissance (< 50 %) dans ces deux plantations (respectivement 91% et 100% pour Dabou et Batia) alors que seules 2% des souches sont présentes dans ces classes de faible inhibition sur la zone non traitée (figure 3).

Fongicides secteurs juin-17	% inhibition de croissance	longueur des filaments germinatifs (µm)	Classes d'inhibition de croissance										% spores dans classe < 50 %
			0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91-100	
Propiconazole													
Dabou	27	198	9	29	26	18	9	3	3	3	0	0	91
Batia	25	195	11	37	17	20	14	0	0	0	0	0	100
Plantain non traité	82	64	0	0	0	2	0	0	0	19	79	0	2

Tableau 3. Récapitulatif des résultats obtenus avec le propiconazole à 0,1 ppm sur les plantations du groupe Wanita

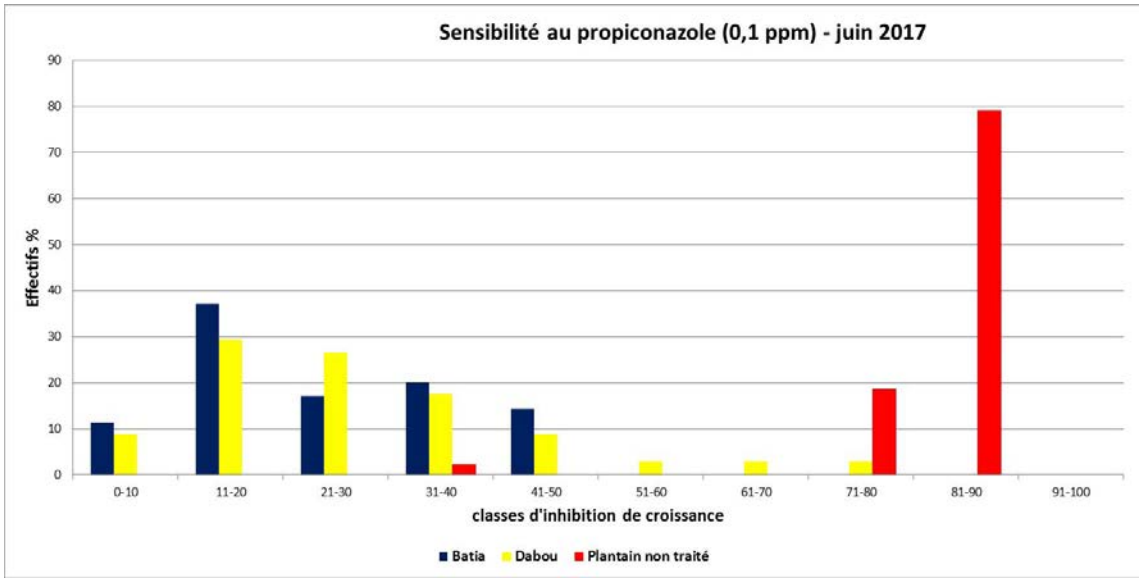


Figure 3. Distribution de la population dans les classes d'inhibition de croissance pour le propiconazole (0,1 ppm) sur les plantations du groupe Wanita

Ces résultats montrent que la sensibilité des souches au propiconazole est relativement faible sur Batia et Dabou.

Sensibilité au difénoconazole

Les résultats du tableau 4 et de la figure 4 montrent que **les populations isolées sur Dabou et Batia présentent une faible déviation de sensibilité au difénoconazole** vis-à-vis des populations non traitées. En effet, le % moyen d'inhibition de croissance est inférieur (72% sur Batia et 71% sur Dabou) mais relativement proche de celui de la zone non traitée (84 %). De même une faible partie de la population a une faible inhibition de croissance (< 50 %) dans ces deux plantations (6%) alors qu'il n'y a aucune souche présente dans ces classes de faible inhibition sur la zone non traitée (figure 4).

Fongicides secteurs juin-17	% inhibition de croissance	longueur des filaments germinatifs (µm)	Classes d'inhibition de croissance										% spores dans classe < 50 %
			0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91-100	
Difénoconazole													
Dabou	71	80	0	0	0	0	6	21	24	18	32	0	6
Batia	72	73	0	0	0	3	3	9	29	37	17	3	6
Plantain non traité	84	58	0	0	0	0	0	0	0	19	81	0	0

Tableau 4. Récapitulatif des résultats obtenus avec le difénoconazole à 0,1 ppm sur les plantations du groupe Wanita

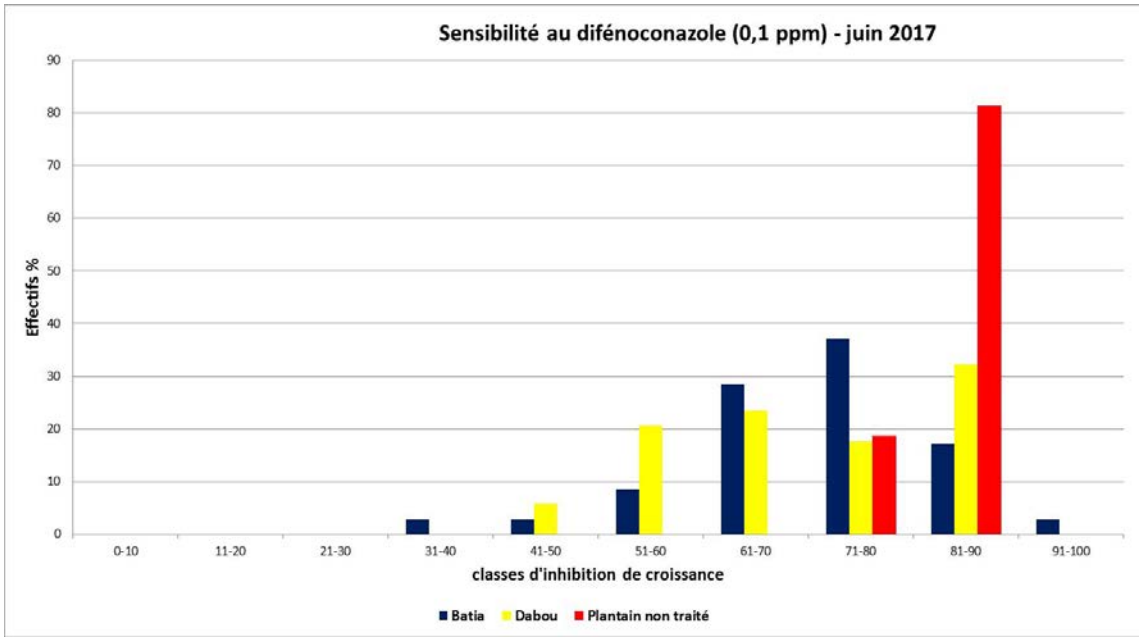


Figure 4. Distribution de la population dans les classes d'inhibition de croissance pour le difénoconazole (0,1 ppm) sur les plantations du groupe Wanita

Ces résultats montrent que la sensibilité des souches au difénoconazole reste relativement bonne sur Batia et Dabou contrairement au propiconazole.

2.3. SENSIBILITE AUX STROBILURINES

Il n'y a pas de souches résistantes aux strobilurines sur aucune des deux plantations de Dabou et Batia (Tableau 5). En dehors du fait qu'aucune souche ne soit présente dans les classes d'inhibition de croissance <40%, toutes les souches ont une inhibition > 70%.

Fongicides secteurs juin-17	% inhibition de croissance	longueur des filaments germinatifs (µm)	Classes d'inhibition de croissance										% spores dans classe < 40 %
			0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91-100	
Azoxystrobine													
Dabou	92	21	0	0	0	0	0	0	0	0	29	71	0
Batia	91	23	0	0	0	0	0	0	0	3	34	63	0
Plantain non traité	86	48	0	0	0	0	0	0	0	9	74	16	0

Tableau 5. Récapitulatif des résultats obtenus avec l'azoxystrobine à 10 ppm sur les plantations du groupe Wanita

Ces résultats montrent que l'emploi de strobilurines peut se faire sur les plantations du groupe Wanita, dans la limite de ce qui peut être réalisé avec ce type de fongicide.

2.4. SENSIBILITE INITIALE AUX SDHI

Les résultats des tableaux 6 et de la figure 5 montrent la sensibilité initiale des souches issues des plantations de Wanita aux SDHI, ces fongicides ayant été peu utilisés jusqu'à présent. Compte tenu de cette répartition il est probable que (comme pour les strobilurines), l'apparition de souches dans des classes d'IC<40% témoignera de l'apparition de souches résistantes, c'est ce qu'il faudra tenter de repérer dans les futurs monitorings.

Fongicides secteurs juin-17	% inhibition de croissance	longueur des filaments germinatifs (µm)	Classes d'inhibition de croissance										% spores dans classe < 50 %
			0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-90	91-100	
Fluopyram 30 ppm													
Dabou	76	67	0	0	0	0	0	3	24	47	24	3	0
Batia	77	59	0	0	0	0	0	3	14	63	20	0	0

Tableau 6. Récapitulatif des résultats obtenus avec le fluopyram à 30 ppm

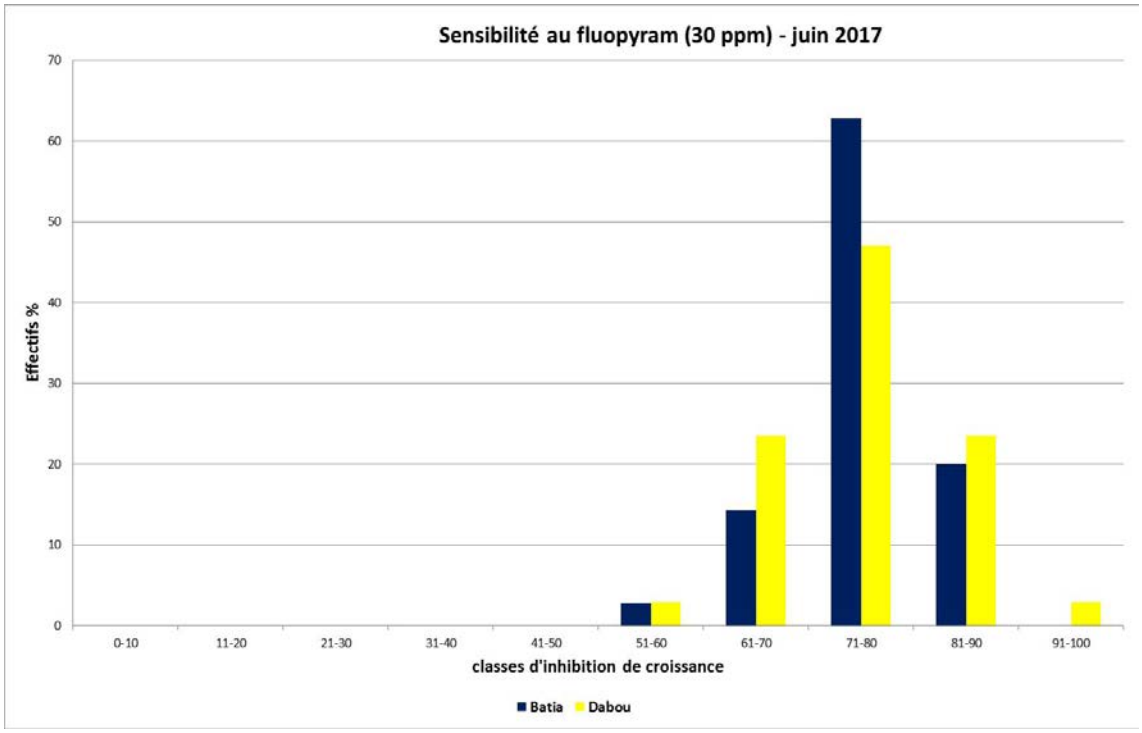


Figure 5. Distribution de la population dans les classes d'inhibition de croissance pour le fluopyram (30 ppm)

IV. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Les conclusions et recommandations par plantations sont synthétisées dans le tableau 7 suivant. Si la case est verte, l'emploi du groupe de fongicide peut se faire dans la limite des recommandations d'usage ; si la case est orangée, l'emploi du groupe de fongicide doit être restreint par rapport aux recommandations d'usage ; si la case est rouge, l'emploi du groupe de fongicides doit être stoppé

Plantation / groupe fongicides	MBC	QoI	DMI	IBS2	Pyrimidines	SDHI
Dabou	**Callis**, autres produits à base de methyl-thiophanate	Bankit, Tega, **Comet Plus**	Sico/Difecor/Psycho Opal	Volley Impulse	Siganex Pyrus	Cumora **Reflect** Luna/Verango
Batia	**Callis**, autres produits à base de methyl-thiophanate	Bankit, Tega, **Comet Plus**	Sico/Difecor/Psycho Opal	Volley Impulse	Siganex Pyrus	Cumora **Reflect** Luna/Verango

Tableau 7. Récapitulatif des produits pouvant être utilisés dans le cadre d'une lutte raisonnée, dans les différentes plantations du groupe Wanita

Compte tenu du fait que les résultats de monitoring sont identiques pour les deux sites, les recommandations seront les mêmes pour Dabou et Batia.

- Les benzimidazoles peuvent être utilisés car il n'y a pas de souches résistantes. Cet emploi pourrait se faire dans une limite de 3 traitements/an.

- Il n'a pas été détecté de souches résistantes aux strobilurines, l'utilisation de strobilurines (Bankit, Tega et Comet plus) peut se faire. Nous conseillons de limiter cet emploi à un maximum de deux traitements par an. Si deux strobilurines sont appliquées par an, alors nous conseillons d'utiliser seulement du Comet plus. Si un seul traitement est effectué alors le choix de produits peut être plus large (tableau 7).

- Pour ce qui est des triazoles, compte tenu de la forte dérive de sensibilité observée avec le propiconazole nous conseillons **de ne plus employer de produits à base de propiconazole (Tilt, Reference, Ecran, Perfect et Bumper)**. Parmi les triazoles il convient de **préférer les fongicides à base de difénoconazole (Sico, Difécor, Psycho)** qui est moins affecté par la dérive de sensibilité. Il a été observé dans d'autres contextes que l'epoxiconazole pouvait également être moins affecté par les dérives que le propiconazole **et les spécialités contenant de l'epoxyconazole (Opal)** peuvent probablement être également employées. Enfin, les résultats obtenus avec le propiconazole témoignent d'une perte d'efficacité potentielle avec tous les triazoles et il convient de chercher à réduire leur emploi afin de préserver durablement leur efficacité. Nous conseillons de **chercher à réduire leur emploi et de viser 4 traitements par an au maximum** avec ce type de fongicide. Il est également conseillé **d'associer les triazoles avec une morpholine** pour limiter la dégradation de la sensibilité.

- Pour les SDHI seul le Cumora est aujourd'hui homologué en Côte d'Ivoire, mais cette liste pourrait s'enrichir très prochainement avec l'homologation du Reflect (isopyrazam) et du

Verango/Luna privilège (fluopyram). La formulation du Reflect est celle qui est la plus compatible avec des mélanges huileux et devrait donc être favorisée. Il est conseillé de limiter l'emploi de ces fongicides à un traitement par an compte tenu du risque très important de développement de souches résistantes avec les SDHI.

- Pour les IBS2 et les pyrimidines il n'y a pas de restriction importante d'emploi. ainsi les IBS2 peuvent être employés sans de trop grandes restrictions (8 traitements par an ne poseraient pas de gros problèmes).

cirad

LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT

PERSYST, UPR Systèmes de culture bananiers, plantains et ananas

Adresse : Luc de Lapeyre

Boulevard de la Lironde, TA B-26/PS4, 34398 Montpellier Cedex 5

Tél. : + (33) 4 67 61 58 28 / secret. + (33) 4 67 61 71 52

e-mail : luc.de_lapeyre@cirad.fr

www.cirad.fr