

Evaluation de la résistance aux fongicides des populations de
Mycosphaerella fijiensis, agent de la Cercosporiose Noire des
bananiers, en Martinique – Campagne 2023

Novembre 2023

L. de Lapeyre de Bellaire
S. Gibert
M.O. Daribo
J. Sainte Rose
C. Pages
N. Lubin
J. Carlier

Ce rapport a été élaboré dans le cadre du projet FEADER-Martinique CAP

Référence à citer :

de Lapeyre de Bellaire L., Gibert S., Daribo MO., Sainte-Rose J. Pages C., Lubin N., Carlier J. 2023. Evaluation de la résistance aux fongicides des populations de *Mycosphaerella fijiensis*, agent de la Maladie des Raies Noires des bananiers, en Martinique – Campagne 2023. Projet FEADER CAP, Martinique. Rapport Cirad, novembre 2023, 12p.

© Cirad, Persyst/ Geco / Montpellier, 2023.

1. Contexte de l'évaluation

La stratégie de **lutte chimique raisonnée par avertissement** développée par le CIRAD repose **fortement sur l'emploi de fongicides systémiques ayant un fort effet curatif**. En effet, le principe de cette lutte est de faire peu d'applications mais que leur effet soit le plus long possible. Il est donc primordial d'évaluer régulièrement le statut de la résistance aux fongicides systémiques dans les populations fongiques afin de **pouvoir y définir les conditions de mise en œuvre** de cette lutte raisonnée, mais aussi de **prendre des mesures spécifiques pour éviter la diffusion de souches résistantes**.

A l'arrivée de la cercosporiose noire en Martinique en 2010 une première étude a permis de montrer que les souches du champignon qui se sont progressivement installées sur les peuplements de bananier étaient sensibles aux principaux groupes de fongicides (benzimidazoles, triazoles, strobilurines) ce qui autorisait une lutte raisonnée par avertissement. Depuis ce point initial, une campagne annuelle est organisée afin de détecter le plus rapidement possible des changements dans la sensibilité du champignon qui pourraient compromettre à terme la capacité de contrôler efficacement la maladie, d'autant plus que peu de fongicides sont disponibles pour la lutte contre cette maladie en France.

La méthodologie employée depuis 2018 ne repose plus sur des tests de germination conidienne effectués à une concentration discriminante. En effet, les tests de germination reposent sur des observations microscopiques, très lourdes en travail pénible (de ce fait une seule concentration était utilisée) mais aussi sujettes à des « effets observateurs ». L'objectif de la méthode développée a été de proposer une évaluation du statut des souches sur une plus grande gamme de concentrations qui permette de calculer une **C150, la concentration qui inhibe 50%** de la croissance du champignon, mais aussi de faire appel à une méthode moins pénible et surtout indépendante de l'observateur. L'objectif était donc de proposer des **résultats plus fiables, plus robustes et plus performants**.

En 2017, une légère perte de sensibilité aux triazoles avait été détectée, mais cette dérive restait très faible et peu préoccupante. Sur les strobilurines, même si aucune souche résistante n'avait été détectée, une alerte avait été émise sur leur utilisation compte tenu d'un risque potentiellement important et rapide d'apparition de résistances. L'objectif de cette campagne de mesure (la quatrième avec cette nouvelle méthode) était une nouvelle fois de rechercher d'éventuelles pertes de sensibilité dans les zones où l'emploi de fongicides a été le plus important. Cette nouvelle campagne s'inscrit également dans un **contexte de moins grande utilisation des triazoles** car aujourd'hui le nombre maximum d'intervention avec un triazole est **limité à 3 traitements au Sico contre 9 triazoles avant 2021**.

2. Méthodologie

2.1. Fongicides testés

Deux familles chimiques de fongicides ont été étudiées :

- les inhibiteurs de stérols du groupe 1 (DMI) ou triazoles

Ces fongicides sont un des piliers de la lutte car ce sont ceux qui ont l'effet curatif le plus important. Les DMI inhibent la biosynthèse de l'ergostérol, qui est un des composants essentiels des membranes fongiques. Les fongicides de ce groupe inhibent une 14- α déméthylase impliquée dans la voie de biosynthèse de l'ergostérol. Deux matières actives de ce groupe ont été testées, le propiconazole et le difénoconazole. **Le risque d'apparition de souches résistantes avec cette classe de fongicides est de 2 sur une échelle de 0 à 4.**

- les inhibiteurs de la respiration quinone (QoI) ou strobilurines

Les QoI sont des inhibiteurs de la respiration mitochondriale qui agissent comme inhibiteurs du site d'oxydation du coenzyme Q situé sur la face externe du cytochrome b. La matière active testée pour ce groupe est l'azoxystrobine. **Le risque d'apparition de souches résistantes avec cette classe de fongicides est de 4 sur une échelle de 0 à 4.**

Les analyses sur les antimétabolites (benzimidazoles) ont été arrêtées car elles ne sont plus pertinentes, cette famille n'étant plus autorisée et utilisée depuis de nombreuses années.

Les analyses sur les inhibiteurs de la respiration via la succinate déshydrogénase (SDHI, Luna Privilège, fluopyram) ont été abandonnées car la méthodologie actuelle n'a pas permis l'obtention de résultats exploitables.

2.2. Méthode d'évaluation et indicateurs

La nouvelle méthode repose sur des tests de croissance mycélienne en milieu liquide (ajout d'un broyat mycélien calibré) amendé ou non avec une gamme croissante de fongicides. Les cultures du champignon sont réalisées dans des plaques de 96 puits et la croissance mycélienne est évaluée par spectrométrie. La mesure de la densité optique renseigne alors sur le niveau de croissance du champignon en présence du fongicide (plus la densité optique est importante, plus la croissance est importante). La CI50 correspond à la concentration de fongicide pour laquelle la densité optique est réduite de 50% (0% correspondant à un milieu sans broyat mycélien et sans fongicide, et 100% à un milieu avec broyat mycélien sans fongicide).

Pour les triazoles (propiconazole et difénoconazole), la gamme de concentration testée est : 0.004 ; 0.016 ; 0.04 ; 0.1 ; 0.64 ; 2.56 ; 10.24 ppm ; pour les strobilurines : 0.01 ; 0.03 ; 0.1 ; 1 ; 3 ; 10, 100 ppm. Des échantillons foliaires portant de jeunes lésions (pour isoler des conidies) ont été prélevés dans 7 zones de la Martinique (Figure 1 & Tableau 1). Les 7 zones analysées ont été sélectionnées sur la base : i) d'un suivi durable dans le temps (plantations suivies lors des précédents monitorings), et/ou ii) d'un indice de fréquence de traitements fongicides (IFT) reconstitué élevé, calculé à partir de la quantité totale de produit délivrée à la plantation chaque année, divisé par sa superficie plantée en banane (Tableaux 2&3). En effet, des IFT particulièrement élevés, peuvent augmenter la sélection de souches résistantes, ce qui est particulièrement intéressant pour une détection précoce.

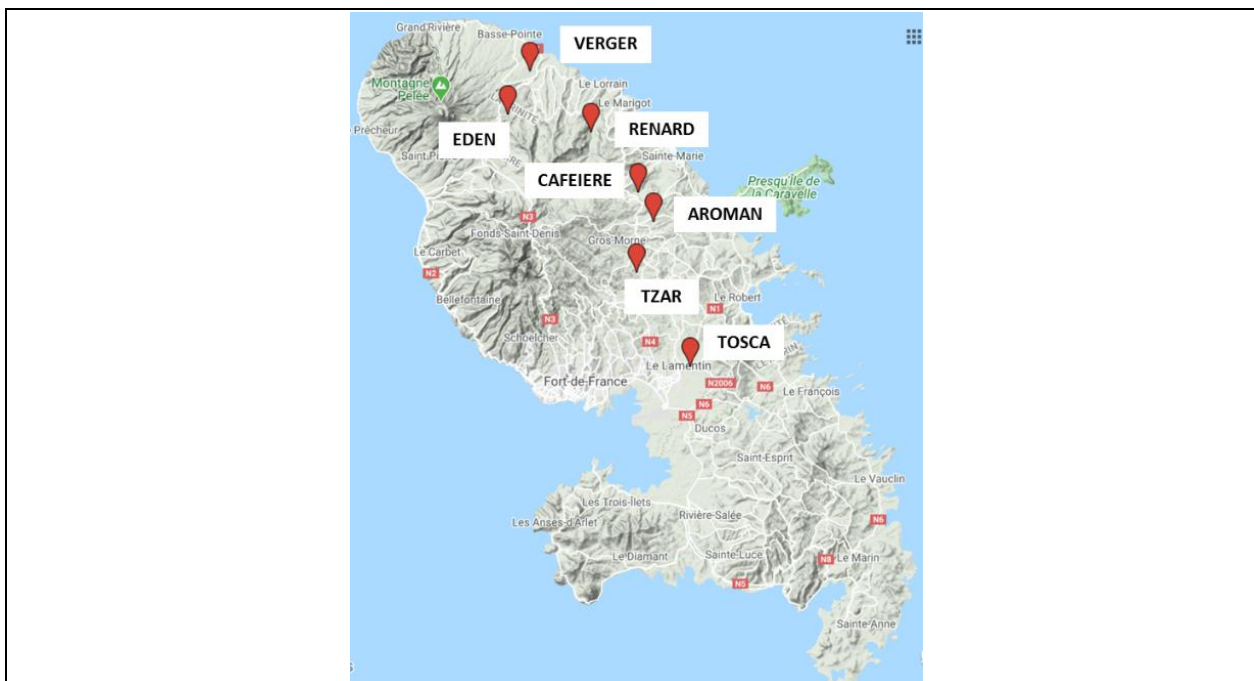


Figure 1. Carte représentant les 7 sites de prélèvements réalisés en 2023

Lieu/coordonnées GPS	Nom plantation	Date du prélèvement	Historique monitorings
Gros Morne 14°42'21.38"N 61° 0'35.69"O	Siban EURL (AROMAN)	13/11/2023	Depuis 2014
Ste Marie 14°45'10.87"N 61° 1'12.90"O	Caféière SAS (CAFEIERE)	15/01/2024	Depuis 2014
Lorrain 14°47'31.14"N 61° 2'59.48"O	Eric Renard (RENAD)	8/01/2024	Depuis 2016
Gros Morne 14°41'41.43"N 61° 1'11.34"O	Jean-Philippe Christian (TZAR)	20/11/2023	Depuis 2016
Ajoupa Bouillon 14°48'46.20"N 61° 7'1.74"O	Eden SARL (GLAM)	16/10 et 6/11/2023	Depuis 2014
Le Lamentin 14°37'37.7760"N 60°58'49.5840"O	Union SARL (TOSCA)	4/12/2023	Depuis 2018
Basse Pointe 14°50'25.1880"N 61°6'1.9440"O	Habitation Verger SARL (VERGER)	6/11/2023 et 8/01/2024	Depuis 2018

Tableau 1. Liste des zones échantillonnées en Martinique en 2023.

Les populations de souches (environ 30 souches par zone) de champignons clonés ont été réalisées au CAEC. Les populations d'isolats monospores ont ensuite été expédiées au Cirad à Montpellier pour réaliser les analyses de résistance aux différents fongicides. Les 7 populations d'isolats ont été comparées à la première population collectée en 2012 en Martinique (sensible et conservée à Montpellier) qui sert de référence.

Cette nouvelle méthode ayant été utilisée depuis 2018, on pourra évaluer des changements dans les populations qui seraient intervenus depuis cette date, et les mettre en relation avec les niveaux d'utilisation des fongicides dans ces zones (Tableaux 2&3).

	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
CM	IFT DMI	IFT DMI	IFT DMI	IFT DMI	IFT DMI	IFT DMI	IFT DMI	IFT DMI
GLAM	6,9	8,3	6,1	7,4	6,2	7,6	3,4	3,1
RENAD	15,6	8,5	7,3	7,4	5,5	6,6	3,9	3,1
AROMAN	5,8	4,4	4,6	4,1	5,5	4,5	3,2	3,1
CAFEIERE	3,6	6,7	7,8	10,7	3,1	4,8	3,1	3,1
TZAR	24,5	9,2	7,3	9,2	12,4	7,0	3,3	3,6
VERGER	8,5	11,5	6,8	7	4	5,5	2,9	2,8
TOSCA	9,8	7,5	5,5	5,5	3	4,4	3,1	2,8

Tableau 2. IFT triazoles (DMI) de 2016 à 2023 pour les différentes plantations échantillonnées. Ces données sont calculées sur la base des achats de produits

	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
CM	IFT QoI	IFT QoI	IFT QoI	IFT QoI	IFT QoI	IFT QoI	IFT QoI	IFT QoI
GLAM	1,7	2,2	1,1	1,3	0,9	1	1	1
RENAD	3,0	1,1	0	0	1	0	0	0
AROMAN	0,9	1,7	1	0,8	0,9	0,8	1	1
CAFEIERE	1,2	1,8	0,7	0,9	0,7	1	0	0
TZAR	0	1,3	1,1	1,4	0	0	0	0
VERGER	1,7	0,7	0,9	1	1	1,3	0,8	0
TOSCA	2,0	2,6	1,4	1,4	0,5	1	1	0

Tableau 3. IFT strobilurines (QoI) de 2016 à 2023 pour les différentes plantations échantillonnées. Ces données sont calculées sur la base des achats de produits

3. Résultats pour les triazoles

Dans les populations sensibles (Baseline Martinique 2012), les valeurs de CI50 ne sont jamais supérieures à 0,1 ppm pour le propiconazole (Moyenne 0.044 ppm). Pour le difénoconazole, la CI50 n'est jamais supérieure à 0.05 ppm (moyenne 0.021 ppm). Ces résultats sont cohérents avec ce qui a été décrit dans d'autres zones de production.

Pour évaluer la déviation de sensibilité on regardera particulièrement :

- La valeur moyenne de la population comparée à la baseline et le rapport 'CI50 moyenne plantation/CI50 Baseline' qui déterminera un facteur de résistance moyen dans la population
- Le % de souches présentes dans des classes de CI50 > 1 ppm qui correspondent à des facteurs de résistance élevés (>20-100). Les connaissances sur les mécanismes de résistance à ce groupe de fongicides montrent que les souches ayant une **CI50 supérieure à 1 présentent diverses mutations conférant au champignon une perte de sensibilité** importante
- La disjonction des courbes de répartition des effectifs dans les classes de CI50 par rapport à la baseline, car plus la courbe de la population analysée sera éloignée de celle de la baseline Martinique, plus la déviation de sensibilité sera forte.

3.1. Résultats pour le propiconazole

Même si ce triazole n'est plus employé aujourd'hui il reste intéressant d'évaluer la perte de sensibilité à cette matière active qui peut traduire l'évolution du champignon à un plus large spectre de molécules ayant une action sur la biosynthèse de l'ergostérol (IBS groupe 1 ou DMI).

Le tableau 4 montre une **sensibilité relativement bonne au propiconazole dans toutes les plantations testées** avec des facteurs de résistance faibles compris entre 2 et 8, même si les CI50 moyennes sont plus élevées que dans la population de référence de 2012. Pour juger de la situation actuelle il faut considérer que des facteurs de résistance >200 ont déjà été observés dans d'autres pays producteurs de banane. On constate toutefois, comme en 2021, la présence de 2 souches avec une CI50 > 1 ppm sur la **plantation Eden**, qui montre **l'apparition d'un fond de résistance sur cette plantation**.

Propiconazole	Classes de CI50															% spores dans classe avec CI50 > 1 ppm	Moyenne	RF		
	0-0,005	0,005-0,01	0,01-0,03	0,03-0,05	0,05-0,08	0,08-0,1	0,1-0,2	0,2-0,4	0,4-0,6	0,6-1	1-1,5	1,5-3	3-5	5-7	7-15				>15	
Aroman 2023	0	0	13	25	17	13	25	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,090	2
Caféière 2023	0	0	14	14	21	10	41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,084	2
Eden 2023	0	0	3	7	24	21	31	0	0	7	3	0	3	0	0	0	0	7	0,337	8
Renard 2023	0	0	7	23	33	3	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,080	2
Tosca 2023	0	0	0	4	32	16	44	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,114	3
Tzar 2023	0	0	32	44	12	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,072	2
Verger 2023	0	0	10	17	37	20	10	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,104	2
Baseline Martinique 2012	0	0	20	57	17	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,044	

Tableau 4. Sensibilité au propiconazole des souches de *P. fijiensis* isolées en Martinique en 2023

La figure 2 apporte un éclairage complémentaire sur la structure des populations et permet de visualiser une **déviaton de sensibilité pour toutes les plantations qui se disjoignent de la population de référence de 2012**. Ainsi, les populations d’Aroman, Eden, Renard, Tosca, Verger et Caféière ont des effectifs plus importants dans la classe de CI50 de 0,1-0,2 ppm alors que les souches de la population de référence sont majoritairement dans la classe 0,03-0,05 ppm. On voit également que des souches de Eden et de Tosca ont les valeurs de CI50 les plus élevées. **Deux souches du site d’Eden se situent dans la zone dite préoccupante > 1 ppm**. La CI50 de ces souches est de 1,4 et 4,2 ppm soit un facteur de résistance respectif de 35 et 100.

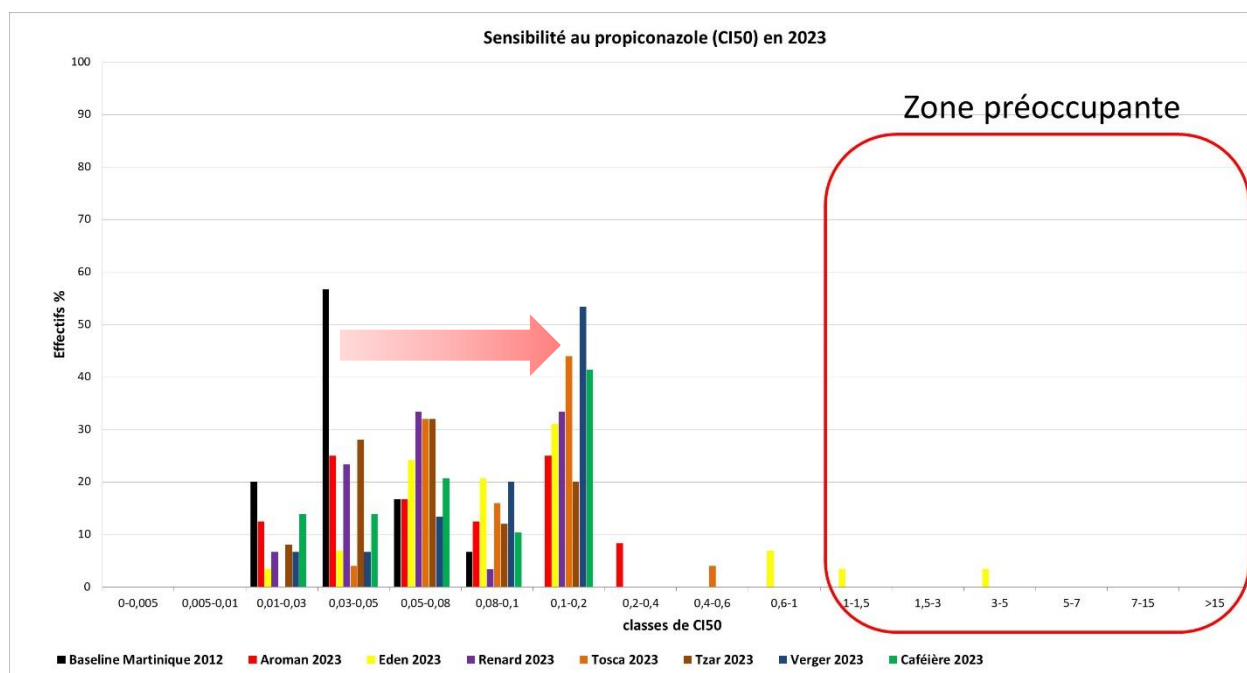


Figure 2. Distribution des populations constituées en Martinique dans les classes de CI50 pour le propiconazole en 2018

Remarque importante :

Pour la deuxième fois consécutive, on observe **2 souches avec une CI50 > 1ppm sur la plantation Eden**. Cela correspond à un niveau de résistance élevé et constitue **un avertissement important** quant à l'apparition de souches potentiellement faiblement contrôlées par le fongicide au champ **dans cette plantation**.

L'annexe 1 montre par ailleurs l'évolution des courbes pour chaque plantation de 2018 à 2023. Il est intéressant de constater que **pour la majorité des zones, la déviation de sensibilité au propiconazole semble moins importante en 2023 que les années antérieures** et tout particulièrement l'année 2019 (Aroman, Renard, Tosca, Tzar, Verger et Caféière). Pour la plupart des zones (sauf Eden), la courbe de 2023 est plus proche de la courbe de la Baseline de 2012. Cette évolution est probablement à rapprocher de l'arrêt de l'emploi du propiconazole depuis 2020, et également de la diminution générale d'emploi des triazoles depuis 2022 car les IFT triazoles sont maintenant limités à 3 (Tableau 2).

3.2. Résultats pour le difénoconazole

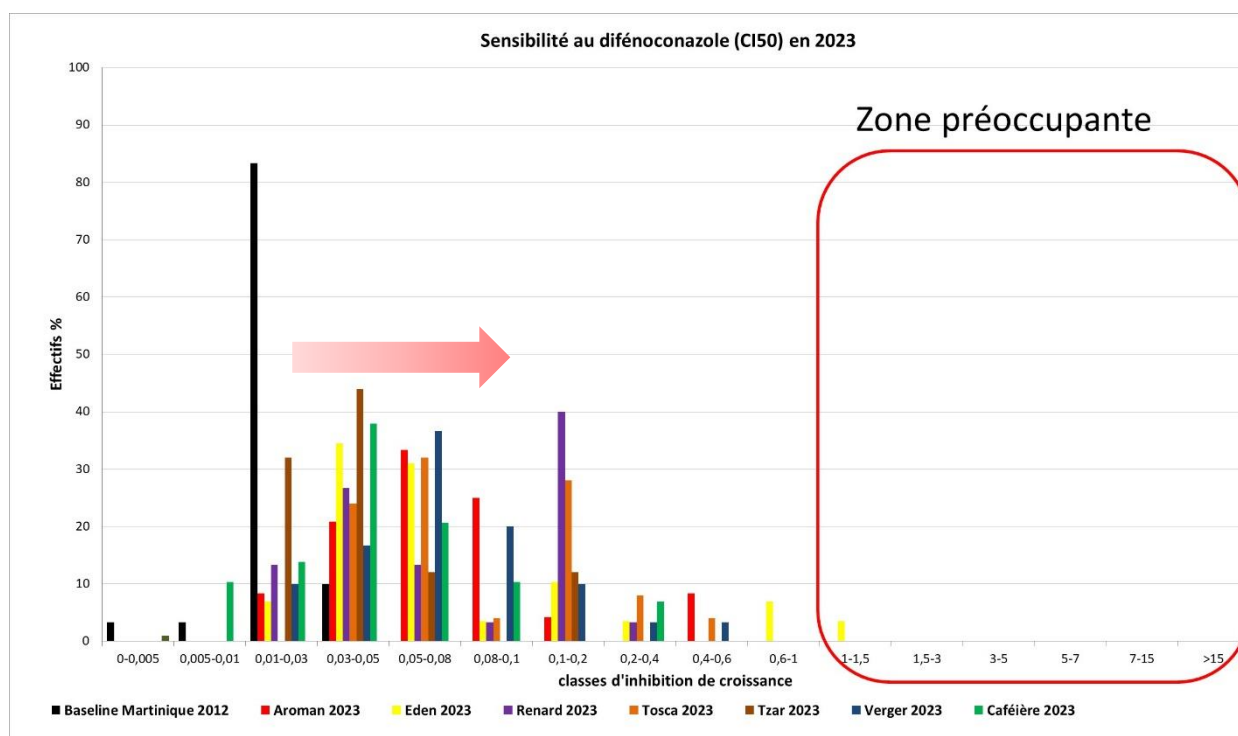
Le difénoconazole est le seul triazole employé dans la lutte à partir de 2020.

Le tableau 5 montre une **sensibilité relativement bonne au difénoconazole dans toutes les plantations testées** avec des facteurs de résistance faibles compris entre 2 et 8, même si les CI50 moyennes sont plus élevées que dans la population de référence de 2012. Pour juger de la situation actuelle il faut considérer que des facteurs de résistance >200 ont déjà été observés dans d'autres pays producteurs de banane. On constate toutefois, comme en 2021, la présence d'une souche avec une CI50 > 1 ppm sur la plantation **Eden**, qui montre **l'apparition d'un fond de résistance sur cette plantation**.

Difénoconazole	Classes de CI50																% spores dans classe avec CI50 > 1 ppm	Moyenne	RF
	0-0,005	0,005-0,01	0,01-0,03	0,03-0,05	0,05-0,08	0,08-0,1	0,1-0,2	0,2-0,4	0,4-0,6	0,6-1	1-1,5	1,5-3	3-5	5-7	7-15	>15			
Aroman 2023	0	0	8	21	33	25	4	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0,096	5
Caféière 2023	0	10	14	38	21	10	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,062	3
Eden 2023	0	0	7	34	31	3	10	3	0	7	3	0	0	0	0	0	3	0,163	8
Renard 2023	0	0	13	27	13	3	40	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,087	4
Tosca 2023	0	0	0	24	32	4	28	8	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0,106	5
Tzar 2023	0	0	32	44	12	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,047	2
Verger 2023	0	0	10	17	37	20	10	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0,086	4
Baseline Martinique 2012	3	3	83	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,021	1

Tableau 5. Sensibilité au difénoconazole des souches de *M. fijiensis* isolées en Martinique en 2023

La figure 3 apporte un éclairage complémentaire sur la structure des populations et permet de visualiser une **déviatio**n de sensibilité pour toutes les plantations qui se disjoignent de la population de référence de 2012. Ainsi, pour la plupart des plantations, les courbes de 2023 sont très étalées et ont des CI50 majoritairement supérieures à 0,05 ppm alors que les souches de la population de référence sont majoritairement dans la classe 0,01-0,03 ppm. On voit également que des souches de Eden, Tosca, Verger et Aroman ont les valeurs de CI50 les plus élevées, supérieures à 0,4 ppm. Une souche du site d'Eden se situe dans la zone dite préoccupante >1 ppm. **La CI50 de cette souche est de 1,1 ppm soit un facteur de résistance de 55.**



Remarque importante :

Pour la deuxième fois consécutive, on observe **1 souche avec une CI50 > 1ppm sur la plantation Eden**. Cela correspond à un niveau de résistance élevé et constitue **un avertissement important** quant à l'apparition de souches potentiellement faiblement contrôlées par le fongicide au champ **dans cette plantation**.

L'annexe 1 montre par ailleurs l'évolution des courbes pour chaque plantation de 2018 à 2023. On n'observe pas la tendance généralisée observée avec le propiconazole d'amélioration de la distribution des classes de CI50. **La déviation de sensibilité au difénoconazole semble moins importante en 2023 que les années antérieures** seulement sur Cafetière et Tzar. Pour la plupart des autres zones il n'y a toutefois pas d'aggravation de la dérive de sensibilité. Là encore cette évolution est probablement à rapprocher de la diminution générale d'emploi des triazoles depuis 2022 car les IFT triazoles sont maintenant limités à 3 (Tableau 2).

L'ensemble des résultats de cette campagne 2023 montre qu'il y a globalement une déviation de sensibilité aux triazoles dans les plantations de Martinique. Cette déviation de sensibilité ne compromet toutefois pas l'efficacité des triazoles car elle reste modérée. Il est toutefois à noter que des souches avec des facteurs de résistance élevés sont maintenant présentes, en faible proportion, sur le site d'Eden. Cette situation doit être surveillée.

4. Résultats pour les strobilurines

Avec ce type de fongicide, et avec la méthode d'évaluation de la résistance utilisée, les souches résistantes sont caractérisées par une croissance continue sur toute la gamme de concentration en fongicide utilisée : la résistance est totale, quelle que soit la dose de fongicide testée. Il se peut que dans certains cas il y ait quelques souches douteuses.

Lors de cette étude de 2023 nous n'avons observé aucune souche résistante sur les 7 plantations analysées (Tableau 6). En 2021 une faible proportion de souches résistantes (une souche sur 30) avait été observée à Eden, tandis que 2 souches avaient été observées en 2018 à Tosca.

% de souches résistantes à l'azoxystrobine	2018	2019	2021	2023
Aroman 2023	0	0	0	0
Caféière 2023	0	0	0	0
Eden 2023	0	0	3	0
Renard 2023	0	0	0	0
Tosca 2023	7	0	0	0
Tzar 2023	0	0	0	0
Verger 2023	0	0	0	0
Baseline Martinique	0	0	0	0

Tableau 6. Pourcentage de souches résistantes à l'azoxystrobine dans les plantations de Martinique de 2018 à 2023

Il est remarquable qu'aucune souche résistante aux strobilurines n'ait été détectée en 2023, contrairement à ce qui avait été observé par le passé à Eden et à Tosca. Cette évolution peut être rapprochée de la faible utilisation du Consist après 2017. L'emploi de ce fongicide a particulièrement décliné après 2021 : seules 2 plantations ont fait un traitement avec du Consist en 2023 sur les 7 analysées (tableau 3). Il est probable qu'à ce jour il y ait un fond de résistance dans certaines plantations (Eden, Tosca), mais les faibles effectifs des populations analysées ne permettent pas toujours de les mettre en évidence.

5. Conclusions de l'étude de 2023

Comme nous avons pu l'observer depuis 2018, les résultats de cette série d'analyses pour la Martinique montrent que **la sensibilité des populations de *M. fijiensis* aux fongicides a significativement évolué** par rapport à la population de référence de 2012. La pression de sélection exercée depuis l'arrivée de la maladie en 2010 a eu pour conséquence un début de sélection de souches moins sensibles voire résistantes aux principaux fongicides utilisés.

Les analyses montrent tout particulièrement une déviation **de sensibilité aux triazoles**, qui est établie depuis de nombreuses années maintenant. Le point positif est que **cette situation ne se dégrade pas** ce qui est probablement à rapprocher d'une **moindre utilisation des triazoles depuis 2022**. Le propiconazole ayant été retiré, la situation spécifique de cette matière active semble même meilleure. Il n'en reste pas moins que **la sensibilité aux triazoles reste globalement bonne**. Il faut toutefois considérer que **des souches présentant des facteurs de résistance élevés sont aussi présentes** sur un des 7 sites, Eden, même en faible proportion. **Cela doit interroger les stratégies de lutte contre la cercosporiose noire en Martinique et renforcer les mesures permettant de limiter les risques d'apparition de souches résistantes**. Il semble que la **forte diminution des IFT triazoles** liée à la réglementation (IFT Sico = 3 maximum) soit un élément important qui permette de préserver l'efficacité de ces fongicides. Par ailleurs, pour limiter l'apparition de souches résistantes aux triazoles il est important de **ne pas employer ces fongicides sur des populations trop importantes** du champignon, notamment **en fin d'année**. Alors que la tendance actuelle est de renforcer l'emploi des triazoles en période de fortes attaques de fin d'année, **nous recommandons fortement de ne pas employer les triazoles de manière importante durant cette période**, d'autant plus que leur effet n'y est pas le plus important. Enfin, pour limiter la dispersion entre plantations de souches résistantes, les pratiques d'effeuillage restent fortement recommandées car la dispersion à grande distance du champignon ne se fait qu'à partir des ascospores produites dans les stades nécrotiques. Une **attention particulière** doit être portée **sur la régularité et la qualité des effeuillages dans les zones où des souches présentant des facteurs de résistance élevés ont été mises en évidence comme c'est le cas à Eden**.

En ce qui concerne les **strobilurines**, **aucune souche résistante** n'a été observée au cours de cette campagne d'analyse alors que des souches résistantes (en faible proportion) avaient été mises en évidence par le passé à Eden et Tosca. Cette évolution est probablement liée à la diminution de l'emploi du Consist au cours des deux dernières années. En ce qui concerne ce fongicide **la recommandation reste de l'utiliser une fois par an au maximum**. Son emploi reste utile en complément du Sico.

Annexe 1

Sensibilité aux triazoles de 2018-2023 sur les différentes zones

