

# Caractérisation de la sensibilité des souches de *Pseudocercospora musae* aux fongicides utilisés dans la lutte contre la Cercosporiose jaune du bananier en Guadeloupe.

L. de LAPEYRE de BELLAIRE\*

CHARACTERISATION OF THE SENSITIVITY OF STRAINS OF *PSEUDOCERCOSPORA MUSAE* TO THE FUNGICIDES USED IN THE CONTROL OF YELLOW SIGATOKA DISEASE IN GUADELOUPE.

L. de LAPEYRE de BELLAIRE.

*Fruits*, May-Jun. 1990, vol. 45, n° 3, p. 209-212.

**ABSTRACT** - Following the appearance of benzimidazole-resistant strains of *Pseudocercospora musae* in banana plantations in Guadeloupe, a research programme was undertaken to investigate the sensitivity of the fungus to both benzimidazoles and other fungicides used (EBI inhibitors of cytochrome oxidase and EBI inhibitors of reductase and isomerase). The designing of a test based on studying the germination of conidia on different concentrations of fungicide showed the limits of use of benomyl. It can be used with alternation of active ingredients on weak inoculum. The initial sensitivity curves for propiconazole and tridemorph were also determined. Regular monitoring enable early detection of any change in the fungus population and modification of the treatment strategy.

CARACTERISATION DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES DE *PSEUDOCERCOSPORA MUSAE* AUX FONGICIDES UTILISES DANS LA LUTTE CONTRE LA CERCOSPORIOSE JAUNE DU BANANIER EN GUADELOUPE.

L. de LAPEYRE de BELLAIRE.

*Fruits*, May-Jun. 1990, vol. 45, n° 3, p. 209-212.

**RESUME** - Suite à l'apparition de souches de *Pseudocercospora musae* résistantes aux benzimidazoles dans les bananeraies de Guadeloupe, un programme d'étude de la sensibilité du champignon, à la fois aux benzimidazoles, mais aussi aux autres fongicides employés (IBE inhibiteurs de cytochrome oxydase, et IBE inhibiteurs de réductase et isomérase) a été entrepris. La mise au point d'un test basé sur l'étude de la germination des conidies du champignon sur différentes concentrations en fongicide, a permis de préciser les limites d'utilisation du benomyl : son emploi reste possible dans le cadre d'une stratégie d'alternance des matières actives, sur un inoculum peu important. On a aussi déterminé la courbe de sensibilité initiale pour le propiconazole et le tridemorphe. Des contrôles réguliers permettront alors de détecter précocement tout changement dans les populations du champignon, et d'adapter rapidement la stratégie de traitement.

## INTRODUCTION

L'utilisation de fongicides unisites dans la lutte contre la cercosporiose jaune du bananier en Guadeloupe remonte au début des années 70. Ainsi, l'emploi du Benlate (m.a. = benomyl) selon un programme d'avertissement biologique et climatique permettait un bon contrôle de la maladie avec 6 applications annuelles, en moyenne.

Dès 1973, FOURCADE et LAVILLE avaient montré que des mutants de *P. musae* résistants à de fortes concentrations de benomyl pouvaient être obtenu «*in vitro*». En 1981, en Guadeloupe, on commença à observer des pertes d'efficacité au champ après des traitements au Benlate. Des analyses foliaires, en laboratoire, permirent de mettre en évidence des souches de *P. musae* résistantes à 5 ppm de benomyl (BUREAU *et al.*, 1982).

En 1984, l'on commença à utiliser des inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol (IBE), ces produits s'étant révélés actifs sur les Cercosporioses lors des divers essais (BEUGNON *et al.*, 1982). Ainsi, le Tilt (m.a. = propiconazole) de la famille chimique des triazoles, et appartenant aux IBE du premier groupe (inhibiteurs de cytochrome p450 oxydase) se substitua en partie au Benlate dans un premier temps.

En 1987, la Calixine (m.a. = tridemorphe) de la famille chimique des morpholines et appartenant aux IBE du second groupe (inhibiteurs de réductase et d'isomérase) fut introduite dans la lutte, ce qui devait permettre de mener à bien une stratégie d'alternance basée sur trois produits ayant un site actif différent. Rappelons qu'il n'y a pas de résistances croisées positives entre les anti-mitotiques (tels que les benzimidazoles) et les IBE, ni entre les IBE du premier et du second groupe.

Ainsi, en 1987 débuta à la fois en Martinique et en Guadeloupe un programme d'étude de la sensibilité des

\* - Station IRFA de Neufchâteau - Sainte Marie - 97130 CAPESTERRE-BELLE-EAU - Guadeloupe

souches de *P. musae* aux différents fongicides utilisés dans la lutte, l'objectif étant triple :

- mise au point d'une méthodologie,
- évaluation des possibilités d'utilisation du bénomyl et des anti-mitotiques en général,
- évaluation de la sensibilité initiale des souches de *P. musae* aux IBE utilisés, et son suivi dans le temps.

Nous présentons ici un bilan de ces activités en Guadeloupe.

### METHODOLOGIE

La première technique utilisée était basée sur des projections d'ascospores en boîtes de Pétri à partir de nécroses foliaires. Cette méthode a donné peu de résultats en raison de la difficulté d'obtenir des ascospores de *Mycosphaerella musicola* à certaines périodes, ainsi que de la présence de nombreuses ascospores de champignons du même genre entraînant une confusion. L'on s'est alors orienté vers une technique basée sur des étalements de conidies sur boîtes de Pétri, telle celle décrite par CRONSHAW (1984).

L'on recherchera des feuilles présentant des symptômes au stade 4 selon BRUN (1963). Douze bananiers sont échantillonnés à raison d'une feuille par bananier. Sur ces feuilles prélevées on découpe les taches au stade 4, puis on les place en boîte de Pétri sur papier humide durant 24 à 48 h. Après l'incubation, sous la loupe binoculaire, on sélectionnera 5 taches par feuille parmi celles qui ont la plus forte production de conidies. On aura ainsi un échantillon de 60 souches par parcelle analysée. De chaque tache sélectionnée, seront transférées des conidies sur un secteur séparé et repéré de chacun des milieux à tester (gélose simple et enrichie avec différentes concentrations en fongicide). Les conidies sont prélevées au moyen d'un instrument fin, en verre et sec. L'observation de la germination des conidies sera effectuée après 48 h d'incubation à 25°C.

### LA RESISTANCE AUX BENZIMIDAZOLES

Il était particulièrement intéressant d'évaluer les possibilités d'utilisation des benzimidazoles, en raison du faible coût du Benlate. Les premières analyses ont été réalisées à une concentration en bénomyl de 5 ppm. Etaient considérées sensibles les conidies ayant une germination anormale (tubes germinatifs courts et déformés en crochet). Les conidies ayant des tubes germinatifs non déformés étaient considérées comme résistantes.

Nous avons par la suite utilisé une gamme de concentration plus large (0,1 - 1 - 10 - 25 - 50 ppm) et aussi mesuré la longueur des tubes germinatifs, afin de mieux caractériser la réponse des souches au bénomyl. Les résultats des analyses effectuées permettent les constats suivants :

- les taux de résistance mesurés sont partout relativement élevés (tableau 1), oscillant entre 10 et 90 p. 100 (à 10 ppm),
- pour un même échantillon, le pourcentage de résistance varie peu le long de la gamme de concentration (tableau 1). Une seule analyse réalisée à 100 ppm a permis d'obtenir une

inhibition totale de la germination. Ainsi, le crible à 5 ppm, précédemment utilisé est suffisant pour avoir une estimation du pourcentage de souches résistantes au bénomyl,

- l'allongement des tubes germinatifs des souches ayant une germination normale (résistantes) est peu affecté (tableau 2). L'observation de ce critère apporte donc peu d'information.

En conclusion, on a une action du type tout ou rien, ce qui semble en accord avec le mécanisme d'apparition de la résistance aux anti-mitotiques : mutation génique affectant le site actif du fongicide. On a ainsi deux types de populations du parasite : une population sauvage dont le seuil de sensibilité au bénomyl est de 0,1 ppm, ce qui est en accord avec les données de la bibliographie (FOURCADE, 1972), et une population résistante à plus de 50 ppm (la limite de sensibilité est sûrement à 100 ppm).

La présence de souches résistantes dans des proportions relativement importantes, révélée par les analyses, semblait compromettre l'utilisation du Benlate. D'autant plus qu'une étude sur vitroplants réalisée par MOURICHON (1988) à Montpellier indiquait que l'acquisition de la résistance ne s'accompagnait pas d'une perte de pouvoir pathogène, et qu'une autre étude réalisée en Martinique par A. VAN DEN BERG-LORIDAT (1989) a permis de constater la stabilité de ces souches même en absence de traitements avec le Benlate. Néanmoins, en Guadeloupe, dans le cadre d'une stratégie d'alternance des fongicides, on observe toujours des efficacités satisfaisantes lors des traitements avec du Benlate, dans le cas où l'inoculum n'est pas trop fort.

### EVALUATION DE LA SENSIBILITE INITIALE AUX I.B.E.

Il était important de réaliser rapidement une telle étude, de façon à pouvoir détecter ultérieurement d'éventuels changements de sensibilité dans les populations pathogènes.

Avec les I.B.E. le critère mesuré à 48 heures est la longueur des tubes germinatifs. On exprime ainsi le pourcentage de croissance par rapport au témoin. La relation entre le log(concentration en matière active) et le pourcentage de croissance par rapport au témoin est linéaire, ce qui nous permet de déterminer les concentrations en matière active entraînant 50 et 90 p. 100 de réduction de croissance par rapport au témoin, respectivement 150 et 190.

#### Le propiconazole.

Pour le propiconazole, nous avons utilisé d'abord une gamme de concentration de 0,05 - 0,1 - 1 - 10 - 25 - 50 - 100 ppm que nous avons par la suite réduite à 0,05 - 1 - 10 - 50 ppm. Les résultats des analyses ont été assez variables (tableau 3), mais il en ressort néanmoins que 150 est très inférieur à 0,05 ppm, et que 190 varie de 5 à 100 ppm. Le faible coefficient de corrélation entre le nombre de traitements effectués avec un triazole et la valeur de 190 (-0.424), nous incite à penser que cette variabilité est naturelle. La faible valeur de l'150 «in vitro» permet de comprendre l'excellente activité du produit en plein champ.

TABLEAU 1 - Pourcentages de souches isolées résistantes au bénomyl en fonction de différentes concentrations.

concentration plantation	0,1	1	5	10	25	50	100	n
Feneteau 14.10.88	16	14	-	11	11	9	-	57
Cambrefort 27.10.88	98	87	-	78	-	-	0	59
La Rose 8.9.88	60	53	-	49	46	-	-	68
La Regrettée 1.9.88	71	59	-	59	54	54	-	65
Neufchâteau 16.9.88	84	-	-	-	-	73	-	43
Monrepos 20.10.88	98	88	-	88	88	88	-	58
Routhiers 11.8.88	85	82	-	79	75	70	-	61
Matouba 1.88	-	-	35	-	-	-	-	240
Vernou 10.87	-	-	30	-	-	-	-	67
Bois sec 9.87	-	-	75	-	-	-	-	106
Routhiers 9.87	-	-	75	-	-	-	-	135
Grand Maison 9.87	-	-	10	-	-	-	-	233

n : nombre de taches observées.

TABLEAU 2 - Pourcentages de croissance des souches isolées par rapport au témoin, obtenus avec différentes concentrations en bénomyl.

concentration plantation	0,1	1	10	25	50	100	n
Feneteau 14.10.88	113	108	94	94	83	-	57
Cambrefort 27.10.88	98	99	91	-	-	0	59
La Rose 8.9.88	97	99	95	90	-	-	68
La Regrettée 1.9.88	98	98	97	95	93	-	65
Neufchâteau 16.9.88	98	-	-	-	90	-	43
Monrepos 20.10.88	93	90	88	83	68	-	58
Routhiers 11.8.88	85	84	88	83	85	-	61

n : nombre de taches observées

TABLEAU 3 - Pourcentages de croissance des souches isolées, par rapport au témoin, obtenus avec différentes concentrations en propiconazole.

concentration plantation	0,05	0,1	0,5	1	10	25	50	100	n	150	190	CORR
Feneteau 13.2.89 (27)	32,9	-	-	25,4	15,3	-	3,5	-	55	10 <sup>-3</sup>	21	.974
Champfleury 27.2.88 (0)	33,6	31,3	-	23,9	23,1*	16,4	11,9	9,7	64	2 10 <sup>-4</sup>	114	.996
Bonfils 13.5.88 (21)	18,4	-	-	14,3	10,8	-	-	4,3	24	2 10 <sup>-9</sup>	8	.983
Vernou 19.5.88 (0)	19,5	-	-	15,2	9	-	-	3,4	20	5 10 <sup>-8</sup>	6	.991
La Rose 21.4.88 (10)	-	-	18,4	-	13,3	-	-	5,6	59	10 <sup>-6</sup>	22	.981
Montbelley 1 2.3.89 (23)	37	-	-	31,3	20,4	-	5	-	55	6 10 <sup>-3</sup>	46	.945
Montbelley 2 2.3.89 (26)	38,9	-	-	23,2	14,7	-	2,3	-	10	6 10 <sup>-3</sup>	15	.993

n : nombre de taches observées

150 : concentration provoquant 50 p. 100 de réduction de croissance (ppm)

190 : concentration provoquant 90 p. 100 de réduction de croissance (ppm)

CORR : coefficient de corrélation entre log(conc. en propiconazole) et le pourcentage de croissance par rapport au témoin (négatif)

( ) : nombre de traitements au propiconazole ayant précédé l'analyse

\* : valeur éliminée.

TABLEAU 4 - Pourcentages de croissance des souches isolées par rapport au témoin, obtenus avec différentes concentrations de tridemorphe.

concentration plantation	0,5	1	5	10	50	n	150	190	CORR
Grand Marigot 23.9.88	81,1	73,6	-	18,3	3	55	2,9	26	.986
La Rose 22.4.88	-	-	48,7	13,7	0,5	48	2,9	24	.886
Feneteau 7.10.88	82,3	71,9	-	16	3,5	60	2,8	25	.982
La Rose 9.6.89	85	74,7	-	23,7	3,8	60	3,3	29	.994

n : nombre de taches observées

150 : concentration provoquant 50 p. 100 de réduction de croissance (ppm)

190 : concentration provoquant 90 p. 100 de réduction de croissance (ppm)

CORR : coefficient de corrélation entre log(conc. en tridemorphe) et le pourcentage de croissance par rapport au témoin (négatif).

### Le tridemorphe.

Ce produit est le plus récent à être employé dans la lutte contre la cercosporiose. Les résultats obtenus au cours d'analyses avec une gamme de concentration de 0,5 - 1 - 10 - 50 ppm, sont très réguliers (tableau 4), on a ainsi une 150 = 3 ppm, et 190 varie de 24 à 29 ppm.

### CONCLUSION

A la lueur des résultats obtenus, nous sommes en mesure de mieux orienter les actions entreprises :

- l'idée de piloter l'utilisation du Benlate en fonction des résultats des analyses de résistance effectuées au laboratoire, nous avait parue très séduisante. Cependant, les résultats obtenus indiquent qu'il faut abandonner résolument cette idée, et s'en tenir à une stratégie d'alternance des matières actives tout en évitant des applications répétées avec le Benlate, ainsi que des interventions sur un fort inoculum. Il faudra toutefois maintenir une surveillance particulière afin d'observer l'efficacité du Benlate au champ.

- en ce qui concerne les I.B.E., les sensibilités de base étant établies, on peut maintenant se limiter à un contrôle annuel ou bisannuel dans les zones les plus traitées.

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEUGNON (M.), BUREAU (E.), FOURE (E.), GANRY (J.), LACHENAUD (J.L.), MALLESSARD (R.), MELIN (Ph.), MOURICHON (X.), TEZENAS DU MONTECEL (H.) et LAVILLE (E.). 1982.  
Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Sélection de molécules fongicides nouvelles.  
*Fruits*, 37 (11), 673-697.
- BRUN (J.). 1963.  
La cercosporiose du bananier en Guinée. Etude de la phase ascosporee du *Mycosphaerella musicola* LEACH.  
*Thèse de doctorat, Université de Paris.*
- BUREAU (E.), GANRY (J.), ZAPATER (Marie-Françoise) et LAVILLE (E.). 1982.  
Les cercosporioses du bananier et leurs traitements. Evolution des populations pathogènes. Distribution géographique et évolution des populations de *Mycosphaerella musicola* résistantes aux benzimidazoles dans les zones bananières de Guadeloupe.  
*Fruits*, 37 (11), 665-672.
- CRONSHAW (D.K.). 1984.  
Monitoring of Sigatoka disease (*Mycosphaerella musicola* LEACH x MULDER) in the Windward Islands for Tolerance to fungicides.  
*Fruits*, 39 (3), 163-165.
- FOURCADE (I.). 1972.  
Effets d'un fongicide systémique : le bénomyl, sur le *Cercospora* du bananier.  
*Rapport de stage en vue de l'obtention du D.E.A. d'amélioration des plantes, option phytopathologie.*
- FOURCADE (I.) et LAVILLE (E.). 1973.  
Obtention *in vitro* de souches résistantes au bénomyl chez le *Cercospora musae* ZIMM.  
*Fruits*, 28 (2), 103-105.
- MOURICHON (X.). 1988.  
Etude du pouvoir pathogène de races de *Mycosphaerella musicola* résistantes aux benzimidazoles.  
*Document interne IRFA.*
- VAN DEN BERG-LORIDAT (A.). 1989.  
Compte rendu de l'essai «comparaison de stratégies d'application des fongicides dans la lutte contre la cercosporiose du bananier». BA-MR-CER-6.  
*IRFA Martinique.*

### CARACTERIZACION DE LA SENSIBILIDAD DE LAS POBLACIONES DE *PSEUDOCERCOSPORA MUSAE* A LOS FUNGICIDAS UTILIZADOS EN LA LUCHA CONTRA LA CERCOSPORIOSIS AMARILLA DEL BANANO EN GUADALUPE.

L. de LAPEYRE de BELLAIRE.

*Fruits*, May-Jun. 1990, vol. 45, n° 3, p. 209-212.

RESUMEN - Tras la aparición de poblaciones de *Pseudocercospora musae* resistentes a los benzimidazoles en las bananeras de Guadalupe, se ha emprendido un programa de estudio de la sensibilidad del

hongo, a la vez a los benzimidazoles, pero también a los demás fungicidas empleados (IBE inhibidores de citocromo oxidasa, e IBE inhibidores de reductasa e isomerasa). La puesta a punto de un test basado en el estudio de la germinación de las conidias del hongo sobre diferentes concentraciones de fungicida, ha permitido precisar los límites de utilización del bénomyl : su empleo es posible en el marco de una estrategia de alternancia de las materias activas, sobre un inoculum poco importante. Se ha determinado también la curva de sensibilidad inicial para el propiconazol y el tridemorfo. Controles regulares permitirán entonces detectar precozmente todo cambio en las poblaciones del hongo, y adaptar rápidamente la estrategia de lucha.