

## **Contribution à la détection des différentes races de Fusarium Wilt. dans les systèmes bananiers des tropiques de Cochabamba (Bolivie) et conseils de gestion**

**Auteur** : Lhoest, Clara

**Promoteur(s)** : Lassois, Ludivine; 17603

**Faculté** : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

**Diplôme** : Master en bioingénieur : sciences agronomiques, à finalité spécialisée

**Année académique** : 2021-2022

**URI/URL** : <http://hdl.handle.net/2268.2/15606>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

**CONTRIBUTION À LA DÉTECTION DES  
DIFFÉRENTES RACES DE *FUSARIUM WILT*. DANS  
LES SYSTÈMES BANANIERS DES TROPIQUES DE  
COCHABAMBA (BOLIVIE) ET CONSEILS DE  
GESTION**

**CLARA LHOEST**

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE  
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2021 – 2022**

**CO-PROMOTEUR.RICES : LUDIVINE LASSOIS ET JORGE ROJAS BELTRAN**





© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique<sup>1</sup> de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

---

<sup>1</sup>Dans ce cas, l'autorité académique est représentée par les promoteur.rices, membres du personnel enseignant de GxABT.

**CONTRIBUTION À LA DÉTECTION DES  
DIFFÉRENTES RACES DE *FUSARIUM WILT*. DANS  
LES SYSTÈMES BANANIERS DES TROPIQUES DE  
COCHABAMBA (BOLIVIE) ET CONSEILS DE  
GESTION**

**CLARA LHOEST**

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE  
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2021 – 2022**

**CO-PROMOTEUR.RICES : LUDIVINE LASSOIS ET JORGE ROJAS BELTRAN**

## **Avant-propos**

Ce travail de fin d'études a été rédigé en écriture inclusive suivant le dictionnaire de eninclusif.fr. Cette forme d'écriture inclut des attentions syntaxiques permettant d'assurer une égalité de représentation entre tous les genres.

Ce travail s'inscrivant dans une collaboration entre la Belgique et la Bolivie, il sera également traduit en espagnol afin qu'il puisse être lu dans les pays francophones et hispanophones. Dans la version hispanophone, l'écriture inclusive ne sera pas utilisée car elle n'est pas d'usage dans le pays cible (la Bolivie) et cela pourrait compliquer la compréhension du document.

Le but de ces démarches étant de rendre ce travail le plus inclusif et accessible possible.

## **Remerciements**

Merci à ma promotrice, Ludivine Lassois, pour son soutien tout au long de ce travail mais également pour toutes les valeurs humaines qu'elle m'a transmises.

Merci à mon promoteur, Jorge Rojas Beltran, et toute l'équipe du CByNAF (UMSS), c'est-à-dire Esther Rojas Vargas et Pablo Pacu Cabrera, pour leur accueil et leur bienveillance mais également de m'avoir intégrée aussi bien à leur équipe, et de m'avoir fait découvrir la Bolivie et la biologie moléculaire. Je n'oublierai jamais les moments passés ensemble et les histoires partagées.

Merci au personnel du laboratoire de Plant Genetics pour leur accueil, leur aide précieuse et tout particulièrement à Adrien Blum qui m'a accompagnée lors de mes manipulations et qui a passé beaucoup de temps à discuter avec moi et à m'apprendre les techniques de détection moléculaire.

Merci à toutes les personnes travaillant dans la filière bananière du Chapare que j'ai rencontrées, pour leur confiance, leur temps, et leur savoir infini.

Merci à la KU Leuven et particulièrement à Jasmine Zorilla pour l'approvisionnement en ADN.

Merci à toutes les personnes qui ont relu ce travail et qui y ont dès lors participé. Merci tout particulièrement à Georges et à ma mère pour leurs nombreuses relectures et leur soutien indispensable lors de cette rédaction.

Merci à mes ami.es d'avoir fait grandir l'agronome et l'humaine que je suis devenue mais également pour tous les échanges scientifiques qui ont nourri ce travail. Je suis très fière de tout ce que nous avons accompli et j'ai hâte de voir ce que nous allons devenir.

Merci à Justine, Emma et Laura de m'avoir accompagnée tout au long de ce voyage et d'avoir épaulée sur le terrain.

Merci Gaspard pour ton soutien et ton amour.

Merci à ma famille de m'avoir permis de réaliser ce parcours professionnel, mais également pour leur soutien, leur confiance, et leur amour inconditionnel.

Ce que toutes les personnes citées plus haut m'ont apporté a une valeur inestimable et j'en serai éternellement reconnaissante. Je leur souhaite à tou.tes le meilleur.

Le voyage réalisé dans le cadre du présent travail/stage a été rendu possible grâce au soutien financier de l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur de la Fédération Wallonie-Bruxelles, Belgique, dans le cadre de sa politique de coopération au développement.

## Résumé

La banane est une ressource importante au niveau mondial, principalement en termes de sécurité alimentaire et pour la prospérité économique et sociale de nombreuses économies. Pourtant, elle est menacée par la maladie de Panama causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Ce travail a pour but de réaliser un état des lieux de la présence de ce pathogène, des connaissances sur la maladie et sur sa gestion dans la région productrice de bananes du département de Cochabamba en Bolivie. L'étude a été réalisée via la détection PCR sur 27 échantillons provenant de prélèvements sur des pseudo-troncs de bananiers, ainsi que via la réalisation d'entretiens semi-directifs. Les résultats concluent, d'une part, que la race 1 et la race tropicale 4 n'ont pas pu être mises en évidence. D'autre part, que les connaissances des acteur.rices de la filière bananière ne sont pas suffisantes que pour réaliser des diagnostics de terrain fiables. Cependant, leurs connaissances ne sont pas nulles, au contraire, le potentiel pour la mise en place de mesures de prévention que les personnes cibles pourront intégrer rapidement est grand. Dans cette perspective, des conseils de gestion sont avancés.

**Mots-clés :** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, détection moléculaire, PCR, entretien semi-directif, conseil de gestion, prévention, gestion

## Abstract

Bananas are an important global resource, mainly in terms of food security and for the economic and social prosperity of many economies. However, it is threatened by Panama disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. The aim of this study is to assess the presence of this pathogen, the knowledge of the disease and its management in the banana-producing region of the department of Cochabamba in Bolivia. The study was carried out using PCR detection on 27 samples taken from banana pseudostems, as well as semi-structured interviews. The results conclude that, on one hand, race 1 and tropical race 4 could not be detected. On the other hand, the knowledge of the banana sector stakeholders is not sufficient to make reliable field diagnoses. However, their knowledge is not nil, on the contrary, the potential for the implementation of prevention measures that the stakeholders will be able to integrate quickly is great. In this perspective, management advice is put forward.

**Keywords :** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, molecular detection, PCR, semi-structured interview, management advice, prevention, management

## Resumen

El plátano y el banano son un importante recurso mundial, sobre todo en términos de seguridad alimentaria y para la prosperidad económica y social de muchas economías. Sin embargo, están amenazados por la enfermedad de Panamá causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. El objetivo del presente estudio es evaluar tanto la presencia de este patógeno como el conocimiento de la enfermedad y su manejo en la región productora de banano del departamento de Cochabamba en Bolivia. El estudio se llevó a cabo mediante la detección por PCR de 27 muestras tomadas de pseudotallos de plátano y banano, así como mediante entrevistas semiestructuradas. Los resultados concluyen que, por un lado, la raza 1 y la raza tropical 4 no pudieron ser detectadas. Por otra parte, los conocimientos actuales de los protagonistas del sector del plátano y del banano no son suficientes para permitirles realizar diagnósticos de campo fiables. Sin embargo, dichos conocimientos no son nulos, al contrario, el potencial de aplicación de medidas de prevención que los protagonistas podrán integrar rápidamente es grande. Desde esta perspectiva, se proponen consejos de gestión.

**Palabras claves :** *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, detección molecular, PCR, entrevista semiestructurada, consejos de gestión, prevención, gestión



## Abréviations

ADN	Acide DésoxyriboNucléique	PCR	Polymerase Chain Reaction = Réaction de polymérisation en chaîne
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool	PVP	Polyvinylpyrrolidone
CBS-KNAW	Centraalbureau voor Schimmelcultures = Centre de la biodiversité fongique d'Utrecht	qPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction = Réaction en chaîne par polymérase quantitative
COVID-19	Coronavirus disease 2019 = Maladie à coronavirus 2019	R1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> race 1
CTAB	Cetyltriméthylammoni um bromide = Bromure de cetyltriméthylammoni um	R2	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> race 2
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid = Acide éthylène diamine tétra-acétique	R4	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> race 4
FAO	Food and Agriculture Organization = Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture	RCF	Relative centrifugal force = Force centrifuge relative
Foc	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i>	SENASAG	Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad = Service national de santé et de sécurité agricole
FONADIN	Fondo Nacional de Desarrollo Integral = Fonds national pour le développement intégral	ST4	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i> cubense</i> subtropical race 4 = Foc race subtropicale 4

GxABT	Gembloux Agro Bio Tech	TR4	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> tropical race 4 = Foc race tropicale 4
IITA	International Institute of Tropical Agriculture = Institut International d'Agriculture Tropicale de Tanzanie	Uliège	Université de Liège
INIAF	Instituto Nacional de Innovación Agropecuaria y Forestal = Institut National pour l'Innovation Agricole et Forestière	UMSS	Universidad Mayor de San Simón = Université Majeure de San Simon
ITS	Internal Transcribed Spacer = Espaceur interne transcrit	UNIBAN	Unión de Bananeros = Union des travailleur.euses de la filière bananière
KUL	Katholieke Universiteit Leuven = Université Catholique de Louvain	USAID	U.S. Agency for International Development = Agence des États-Unis pour le Développement International
LAMP	Loop-mediated isothermal amplification = Amplification isotherme à médiation par boucle	USD	United States Dollar = Dollar des États-Unis
LOD	Limit Of Detection = Limite de détection	UV	Ultraviolet
NCBI	National Center for Biotechnology Information = Centre National d'Information sur les Biotechnologies	VCG	Vegetative Compatibility Groups = Groupes de Compatibilité Végétative



# Table des matières

<b>0. Introduction</b>	<b>15</b>
<b>1. Contexte</b>	<b>16</b>
1.1. L'importance de la banane dans le monde	16
1.2. <i>Fusarium Wilt</i>	17
1.2.1. Taxonomie et phylogénie	17
1.2.2. Biologie et cycle	18
1.2.3. Symptomatologie	19
1.2.4. Histoire et distribution géographique	20
1.2.5. Description des dégâts	20
1.2.6. Gestion et mesures de lutte	21
1.3. La banane en Bolivie et dans les Tropiques de Cochabamba	21
1.3.1. L'importance de la banane en Bolivie	21
1.3.2. La culture de banane dans les Tropiques de Cochabamba	22
<b>2. Objectifs</b>	<b>23</b>
<b>3. Matériel et méthode</b>	<b>23</b>
3.1. Matériel et méthode de terrain	23
3.1.1. Zone étudiée	23
3.1.2. Sélection des parcelles	23
3.1.3. Sélection des plants pour le prélèvement de matériel végétal	23
3.1.4. Prélèvement de matériel végétal	24
3.1.5. Entretien	26
3.1.5.1. Description de la méthode	26
3.1.5.2. Évolution du guide d'entretien et résultats attendus	27
3.2. Matériel et méthode de laboratoire	28
3.2.1. Conditions de réalisation	28
3.2.2. Extraction d'ADN	28
3.2.3. Détection moléculaire	29
3.2.3.1. Détection moléculaire de champignon via PCR conventionnelle	29
3.2.3.2. Détection moléculaire de Foc via PCR conventionnelle	29
3.2.3.2.1. Choix des amorces	29
3.2.3.2.2. Optimisation des conditions PCR : températures, temps, nombre de cycles et spécificité	30
3.2.3.2.3. Optimisation des conditions PCR : concentrations des échantillons et standardisation	31
3.2.3.2.4. Réalisation de la PCR	31
3.2.3.3. Électrophorèse sur gel d'agarose	32
3.2.4. Séquençage	32
3.2.4.1. Purification des produits PCR	32
3.2.4.2. Réalisation du séquençage	32
3.2.4.3. Lecture des résultats	32

3.2.5. Alignements	32
<b>4. Résultats et Discussions</b>	<b>33</b>
4.1. Détection moléculaire	33
4.1.1. Détection moléculaire de champignon	33
4.1.2. Optimisation des conditions PCR : températures, temps, nombre de cycles et spécificité	35
4.1.3. Optimisation des conditions PCR : concentrations des échantillons et standardisation	36
4.1.4. Détection moléculaire de Foc	38
4.1.5. Séquençage de P5V1	38
4.1.6 Alignements	40
4.2. Entretiens semi-directifs	40
4.2.1 Descriptif socio-démographique	40
4.2.2. Connaissances sur Foc	40
4.2.3. Gestion de Foc	42
4.2.4. État des lieux de Foc : avis des participant.es	44
4.2.5. Attentes et craintes	44
4.3 Discussions	45
4.3.1. Détection moléculaire	45
4.3.2. Entretiens	47
4.3.2.1. Freins	47
4.3.2.2. Leviers	48
4.3.2.3. Méthodologie	49
4.3.3. Discussion générale et conseils de gestion	49
<b>5. Conclusions et perspectives</b>	<b>50</b>
<b>6. Bibliographie</b>	<b>52</b>
<b>7. Annexes</b>	<b>57</b>

## Table des Figures

<b>Figure 1</b> – Symptômes de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> sur des plants du clone de bananier 'Manzano.	19
<b>Figure 2</b> – Distribution géographique des différentes races de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> .	20
<b>Figure 3</b> – Carte de classification climatique du département de Cochabamba selon Köppen	22
<b>Figure 4</b> – Carte d'utilisation actuelle du sol du département de Cochabamba	22
<b>Figure 5</b> – Parcelles visitées dans le cadre de l'investigation	22
<b>Figure 6</b> – Échantillonnage de plants malades avec une personne de contact	23
<b>Figure 7</b> – Échantillonnage de matériel végétal infecté sur le terrain	26
<b>Figure 8</b> – Poids moléculaire Fast DNA Ladder (Bio Labs) 1 kb	32
<b>Figure 9</b> – Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce R1/R2 - essai n°1	33
<b>Figure 10</b> – Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce R1/R2 - essai n°2	33
<b>Figure 11</b> – Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce R1	34
<b>Figure 12</b> – Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce R4	35
<b>Figure 13</b> – Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce TR4	35
<b>Figure 14</b> – Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - Concentrations [2 ng/μL] [10 ng/μL]	36
<b>Figure 15</b> – Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - Concentrations [10 ng/μL] [15 ng/μL] [20 ng/μL]	36
<b>Figure 16</b> – Électrophorèse - Détection de la race 1 de Foc - Échantillons de P1V1 à P6V1 - Amorces R1/R2	37
<b>Figure 17</b> – Électrophorèse - Détection de la race 1 de Foc - Échantillons de P1V1 à P6V1 - Amorces R1	37
<b>Figure 18</b> – Électrophorèse - Détection de la race tropicale 4 de Foc - Échantillons de P1V1 à P6V1 - Amorces TR4	38
<b>Figure 19</b> – Alignement de l'amorce FWB-TR4F avec la séquence P5V1 - Lecture sur SnapGene	39
<b>Figure 20</b> – État des connaissances de la maladie	40
<b>Figure 21</b> – État des lieux de la présence de Foc dans la zone d'étude : avis des participants	44

## Table des tableaux

<b>Tableau 1</b> – Caractéristiques de différentes races de Foc	17
<b>Tableau 2</b> – Description des amorces	29
<b>Tableau 3</b> – Optimisation des conditions PCR : températures et temps testés	30
<b>Tableau 4</b> – Concentrations des échantillons d'ADN extraits	36
<b>Tableau 5</b> – Résultats BLASTn pour la séquence P5V1	39
<b>Tableau 6</b> – Résumé des réponses concernant les méthodes de gestion de Foc	42
<b>Tableau 7</b> – Résumé des réponses des répondant.es sur leurs attentes concernant la production et la gestion des bananeraies	45





## 0. Introduction

Le blé, le riz, les légumineuses et les fruits, oléagineux ou non, constituent la majorité des ressources alimentaires végétales dans le monde. Parmi les fruits, la banane représente un aliment de base très largement distribué et consommé tant sous les tropiques que dans les pays du Nord.<sup>1-3</sup> Le bananier est une culture de rente essentielle et la banane, qu'elle soit de dessert, à cuire, voire à bière, est indispensable dans la diète de nombreuses populations.<sup>1,4,5</sup> Elle constitue également une des premières ressources nutritionnelles pour le jeune enfant après sa période d'allaitement.<sup>6</sup> Domesticqué en plantations ou à l'état sauvage, il est soumis à la pression de nombreux bio-agresseurs<sup>7</sup> tels que des maladies fongiques dont la maladie de Panama et des cercosporioses, des maladies bactériennes dont la maladie de Moko ou flétrissement bactérien et virales dont le banana bunchy top virus (BBTV) et des mosaïques.<sup>4,8,9</sup> Charançons et nématodes ainsi que les ennemis souterrains accentuent cette pression.<sup>8-10</sup> En outre, les fruits sont également susceptibles d'être dégradés après la récolte<sup>8-10</sup>. La « pression biologique » sur la banane est donc forte, complexe et surtout, multifactorielle.

Comme introduit ci-dessus, la maladie de Panama est causée par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (E.F.Sm.) W.C.Snyder & H.N.Hanser<sup>11</sup>, 1940 (Foc) dont les différentes races (1, 2 et 4) ont été identifiées (voir Tableau X).<sup>12-14</sup> Une fois atteint, le bananier présente des dégâts vasculaires pouvant aboutir à la mort du plant et à la perte totale de rendement au niveau de la bananeraie.<sup>9,15,16</sup> Durant le 20ème siècle, la race 1 (R1) du pathogène a causé la quasi disparition de la variété de banane la plus commercialisée de l'époque, la Gros Michel.<sup>4,17,18</sup> De nos jours, nous faisons face à une nouvelle menace, la race 4 (R4), qui s'attaque à 80% des cultivars du monde<sup>4,16</sup> et qui est reconnue comme l'un des champignons les plus agressifs et destructeurs de l'histoire de l'agriculture.<sup>16</sup> Les seules méthodes de prévention et de gestion actuelles et efficaces sont la détection précoce et la mise au point de variétés résistantes.<sup>19-21</sup>

La Bolivie est menacée par l'arrivée de la race tropicale 4 (TR4), depuis qu'elle a été détectée en 2021 de l'autre côté de ses frontières, au Pérou.<sup>22-24</sup> Et, bien que la présence de la race 1 dans le pays ait été mentionnée,<sup>25-27</sup> aucune détection moléculaire de Foc n'a encore été réalisée sur le territoire. De plus, le niveau de connaissance des acteur.rices de la filière bananière sur la maladie et sa gestion n'est pas connu. Le présent travail a vu le jour suite à la demande de l'union bananière (UNIBAN) du département de Cochabamba d'établir un état des lieux de la maladie dans la zone. Le but étant d'identifier les différentes races de Foc présentes sous les Tropiques de Cochabamba, avec des outils de détection accessibles, et d'évaluer les connaissances des acteur.rices sur cette maladie, afin de pouvoir proposer des conseils de gestion en adéquation avec la réalité sur place. À cette fin, des observations visuelles, des prélèvements et des entretiens sur le terrain ainsi que des outils de la biologie moléculaire ont été mis en œuvre.

En premier lieu, le contexte de la recherche, de même qu'une analyse bibliographique sont envisagés (Ch. 1) et les objectifs du travail sont précisés (Ch. 2). Ensuite, les outils nécessaires à la recherche sont décrits, optimisés (Ch. 3) puis appliqués.

Finalement, les résultats sont présentés (Ch. 4) et les procédures développées et appliquées sont discutées (Ch. 4). Il s'agit aussi d'évaluer les possibilités d'appliquer les techniques de diagnostic développées et les possibilités de mesures de prévention et de gestion à mettre en place en Bolivie. A ce sujet, les conclusions assorties de perspectives associées au présent travail sont intégrées au chapitre 5.

## 1. Contexte

### 1.1. L'importance de la banane dans le monde

Les bananiers sont des herbes géantes appartenant au genre *Musa* spp. dont le pseudo-tronc, nommé stipe, résulte de l'emboîtement des gaines foliaires.<sup>1</sup> Il en existe plus de 1200 variétés.<sup>1,15</sup> Les bananiers cultivés sont généralement des clones triploïdes qui produisent des fruits comestibles, stériles et parthénocarpiques.<sup>1</sup> Il faut différencier les bananes dessert et les bananes à cuire. Les bananes dessert sont habituellement mangées crues et représentent 57% de la production mondiale. Elles sont exportées à raison de 97%,<sup>1</sup> avec 99% de Cavendish (AAA) sur le marché international.<sup>4,21</sup> Les bananes à cuire sont habituellement cuisinées<sup>1</sup> et représentent le reste de la production mondiale (43%) et du marché international (3%). Elles prennent notamment en compte les plantains (AAB).

La banane est le cinquième produit agricole au monde après les céréales, le sucre, le café et le cacao<sup>28,29</sup> et le deuxième fruit le plus exporté après les agrumes, en termes de valeur et de quantité.<sup>28,30</sup> Les plus importants pays producteurs et consommateurs sont l'Inde, la Chine et l'Indonésie.<sup>2,3,31</sup> En 2015, environ 5,6 millions d'hectares étaient cultivés dans le monde,<sup>3</sup> répartis sur 5 continents et 135 pays.<sup>1,21</sup> En 2020, 117,9 millions de tonnes étaient produites,<sup>3</sup> avec un volume d'échange à l'international d'environ 20 millions de tonnes par an (entre 2015 et 2021).<sup>7</sup>

Près de 90% de la production de ce produit est issue de petits producteurs qui le vendent sur les marchés locaux ou l'utilisent pour leur consommation domestique.<sup>1,4,32</sup> Par ailleurs, des études menées dans dix pays producteurs ont montré que les revenus tirés de cette culture peuvent représenter environ trois quarts du revenu mensuel total des ménages des petits exploitants.<sup>21,33</sup> Ce sont donc environ 400 millions de personnes qui dépendent de la banane comme ressource alimentaire et financière,<sup>4,5,16</sup> principalement en Afrique, en Asie, en Amérique du Sud et Centrale,<sup>17</sup> avec une valeur de vente au détail estimée à 22,5 milliards de USD en 2016.<sup>5</sup>

La banane est donc une ressource importante au niveau mondial, principalement en termes de sécurité alimentaire et pour la prospérité économique et sociale de nombreuses économies. Pourtant, la production bananière est constamment menacée, notamment par des stress biotiques et abiotiques tels que des conditions météorologiques particulières<sup>7</sup> ou l'émergence de nouveaux pathogènes. Cela s'avère d'autant plus problématique que, en raison de sa faible diversité génétique, c'est une culture peu résiliente aux stress. En effet, le sous-groupe Cavendish représente 50% de la production mondiale<sup>16,34</sup> et la majorité des cultivars sont clonaux. De plus, la production à destination du marché international est souvent réalisée en monoculture intensive.<sup>1</sup>

La production peut également être affectée par des perturbations du commerce mondial, comme celles qui ont pu être observées pendant la pandémie du COVID-19 ou celles qui sont actuellement causées par l'invasion de l'Ukraine par la Russie. Ces événements ont conduit à des diminutions de la demande d'importation, des hausses des prix des matières premières des fertilisants, ou encore à une pénurie de conteneurs réfrigérés, parallèlement à une hausse substantielle des coûts de transport mondiaux.<sup>7</sup>

Continuer à soutenir et à améliorer des systèmes de culture, tels que la banane, afin de les rendre plus résilients face aux différentes menaces, est donc un enjeu de taille afin de pouvoir espérer assurer un revenu à de nombreux acteurs de cette filière et espérer nourrir l'ensemble de la population du globe, à une époque où encore 820 millions de personnes souffrent de la faim et où 2 milliards de personnes supplémentaires devraient être sous-alimentées d'ici 2050.<sup>16</sup>

## 1.2. *Fusarium Wilt*

### 1.2.1. Taxonomie et phylogénie

Domaine : *Eukaryota*

Règne : *Fungi*

Phylum : *Ascomycota*

Classe : Ascomycètes

Sous-classe: *Sordariomycetidae*

Ordre: *Hypocreales*

Famille: *Nectriaceae*

Genre: *Fusarium*.

Espèce: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

<sup>4,22</sup>

Le genre *Fusarium spp.* est différencié en plusieurs espèces par rapport à des caractéristiques morphologiques.<sup>14</sup>

L'espèce *Fusarium oxysporum* est divisée en groupes qui infectent des espèces végétales spécifiques, les formes spécialisées.<sup>4,13,14</sup> La *forma specialis* (f. sp.) "*cubense*" représente les populations de cette espèce qui sont pathogènes des *Musa spp.*<sup>14</sup>

Il existe 3 races de Foc, qui sont définies en fonction de leur pathogénicité par rapport à différents cultivars de bananes (Tableau 1).<sup>12,13,32</sup> C'est le seul critère qui permet de différencier les races, leur biologie et leur symptomatologie étant similaires (voir 1.2.3.). Les 3 races peuvent donc être rassemblées sous les termes Foc, maladie de Panama ou *Fusarium Wilt* dans le reste du travail.

**Tableau 1** : Caractéristiques des différentes races de Foc

Races		(Groupes de) Cultivars sensibles	(Groupe de) Cultivar résistants	Particularités
Foc race 1 (R1)		Gros Michel (AAA) Silk (AAB) Maqueno (AAB) Pome (AAB) Prata (AAB) Lady Finger (AAB) Pisang Awak (ABB) Bluggoe (ABB)	Cavendish	
Foc race 2 (R2)		Bluggoe (ABB)	Cavendish	
Foc race 4 (R4)	Foc race tropicale 4 (TR4)	Cavendish Gros Michel (AAA) Silk (AAB) Maqueno (AAB) Pome (AAB) Prata (AAB) Lady Finger (AAB) Pisang Awak (ABB) Bluggoe (ABB)		Affecte les cultivars en zone tropicale et subtropicale
	Foc race subtropicale 4			Est plus agressif que STR4  Affecte les cultivars en zone subtropicale  En conditions de stress

	(STR4)			abiotique comme : température basses, engorgements d'eau et sécheresses
--	--------	--	--	--

4,12,32,35,36

### 1.2.2. Biologie et cycle

En l'absence de tissus vivants de l'hôte, le pathogène Foc est capable de survivre sous forme de chlamydospores dans des tissus précédemment colonisés et jusqu'à 30 ans dans le sol,<sup>36</sup> à l'état latent ou comme endophyte des hôtes sauvages (ex : *Heliconia* spp.).<sup>4</sup> Sa longue période de latence induit souvent une détection tardive par rapport à son introduction.<sup>4</sup>

La dissémination peut se faire via du matériel végétal infecté de plantation ou de débris transportés sur la parcelle, via le sol et la dispersion de particules attachées à des outils agricoles, des chaussures, ou des animaux.<sup>4,15,32</sup> L'eau de drainage, d'irrigation ou de ruissellement; le vent, les orages,<sup>4,16</sup> ainsi que certains insectes comme *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1823)<sup>37,38</sup> sont également des vecteurs de propagation.

Lorsque la plante meurt, le champignon se retire du xylème et occupe d'autres tissus afin de former les chlamydospores qui retourneront au sol.<sup>15</sup>

### 1.2.3. Symptomatologie

La maladie de Panama est une maladie du système vasculaire, qui induit le pourrissement et le colmatage de celui-ci,<sup>16</sup> compliquant l'alimentation en eau et en nutriments de la plante.

Les symptômes externes (Figure 1a) se traduisent par une chlorose et un flétrissement des feuilles en partant des plus anciennes (bas) jusqu'aux plus jeunes (haut),<sup>4,9,15</sup> et qui débute généralement à partir des bordures.<sup>4,9</sup> Le flétrissement induit la déformation des feuilles, parfois le pétiole va jusqu'à se briser,<sup>4,9,15</sup> laissant les feuilles touchées pendantes, et créant une "jupe" de feuilles mortes autour du pseudo-tronc.<sup>4</sup> Un dernier symptôme externe qui peut être observé est le fendillement de la pseudo-tige à sa base.<sup>4</sup> Une identification de la maladie ne peut se réaliser que via l'observation des symptômes externes,<sup>9</sup> car ceux-ci ne sont pas spécifiques. De fait, ces symptômes peuvent également être exprimés suite à des stress biotiques (ex: flétrissement bactérien, *Cosmopolites sordidus*) et abiotiques (ex : engorgements d'eau, carence en nutriments),<sup>9</sup> L'identification doit également prendre en compte les symptômes internes<sup>9</sup> et une identification via isolement ou détection moléculaire.

Les symptômes internes (Figure 1b) sont plus caractéristiques et se manifestent dans le pseudo-tronc et le rhizome, quel que soit le cultivar infecté.<sup>9</sup> Les lésions dans le pseudo-tronc sont d'abord jaunâtres-rougeâtres et limitées au xylème, puis s'assombrissent avec le temps, évoluant continuellement vers l'apex.<sup>9</sup> La tige du régime sera cependant toujours épargnée de lésions et aucun symptôme n'est retrouvé sur les fruits.<sup>4,9</sup> Le rhizome quant à lui présente une décoloration jaune à rouge foncé, qui commence généralement sur les bords.<sup>9</sup>



(a)



(b)

**Figure 1** : Symptômes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* sur des plants du clone de bananier 'Manzano' (a) Les premiers symptômes externes du *Fusarium Wilt* sont la chlorose et la mort des feuilles les plus anciennes, qui se courbent et s'effondrent généralement contre la pseudo-tige. (b) Décoloration interne brune à rouge du système vasculaire.

Sources : Olivares et al.<sup>23</sup> [Photos de Gustavo Martínez]

#### 1.2.4. Histoire et distribution géographique

Avant que la Cavendish ne soit le groupe de cultivars le plus cultivé dans le monde, ce rôle revenait au groupe Gros Michel, jusqu'à ce qu'il soit éradiqué par le Foc race 1 entre 1935 et 1965.<sup>4,15,17</sup> Il devint alors urgent de trouver de nouveaux cultivars résistants,<sup>18</sup> menant à l'implantation de la Cavendish. Malheureusement, à partir de 1990 sont réapparus des symptômes inquiétants associés à Foc en Asie du Sud-Est,<sup>4,17,39</sup> annonçant l'arrivée de la race 4. Plus de 80% de la production mondiale de bananes serait basés sur du matériel génétique sensible à la TR4,<sup>4,16</sup> les Cavendish ne faisant pas exception. Par conséquent, la race 4 est considérée comme la plus menaçante pour la production mondiale de bananes<sup>35,39</sup> et donc, pour la sécurité alimentaire de millions de personnes.

Après sa première détection en Asie, la TR4 s'est dispersée jusqu'en Afrique en 2013 et puis est arrivée en Amérique Latine en 2019, d'où provient environ deux tiers du commerce mondial de bananes.<sup>16</sup> De nos jours, la TR4 a été détectée dans 17 pays producteurs (Figure 2).<sup>33</sup>

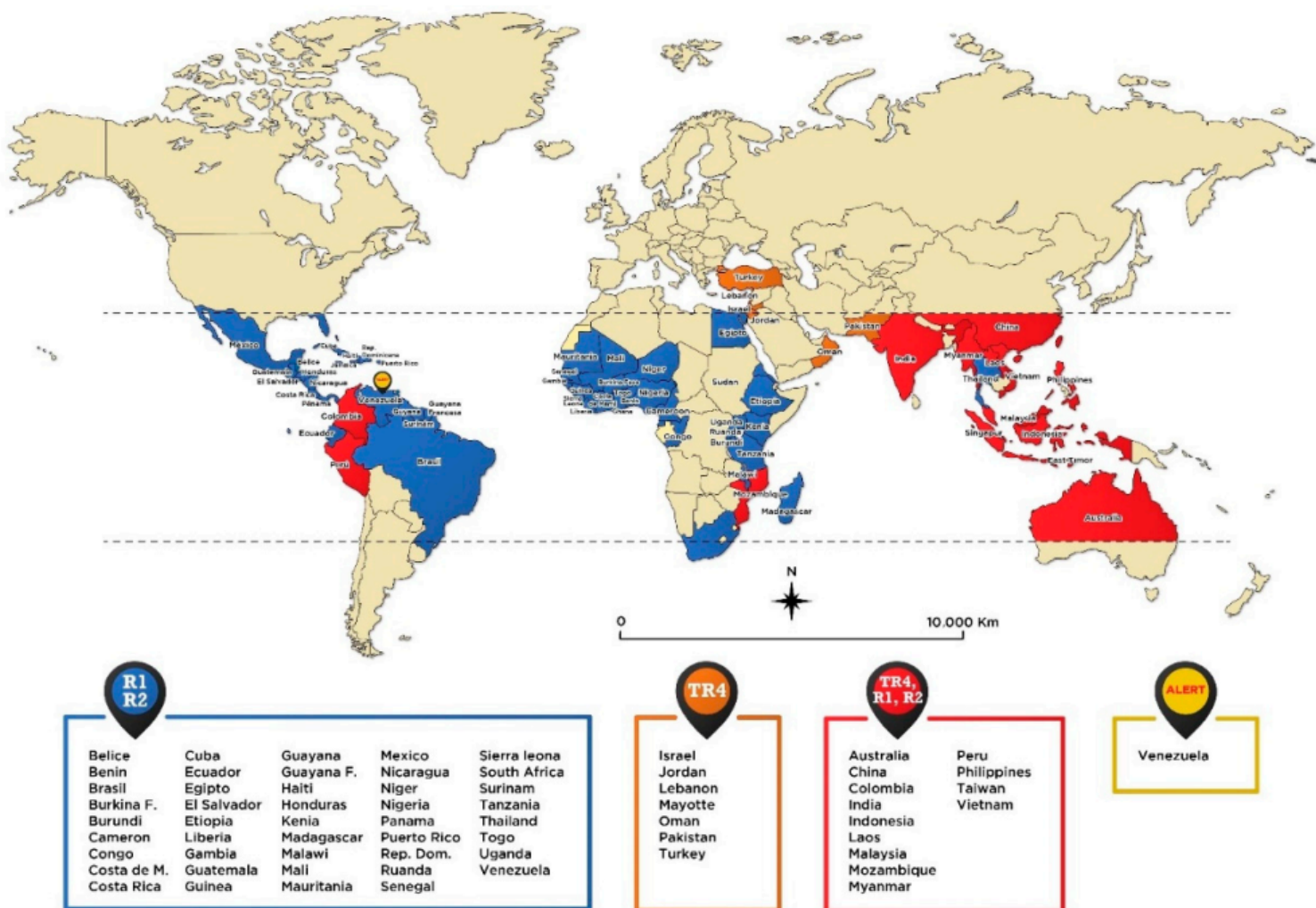


Figure 2 : Distribution géographique des différentes races de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Sources : Olivares et al. <sup>23</sup>

### 1.2.5. Description des dégâts

Lorsque la plante est malade, les fruits ne se développent pas entièrement et la plante va jusqu'à mourir.<sup>15</sup> Au niveau du champ, le Foc peut détruire l'ensemble de la culture et provoquer une perte totale de rendements.<sup>21,22</sup>

On estime que durant la première moitié du 20ème siècle, plus de 40 000 ha de Gros Michel ont été détruits par la race 1.<sup>4</sup> Les pertes engendrées, rien que pour les compagnies d'exportation commercialisant la Gros Michel, ont été estimées à 2,3 milliards de USD.<sup>4</sup>

En ce qui concerne la TR4, le coût annuel causé par cette race a été calculé pour certains pays qui ont connu des épidémies. En Malaisie par exemple, la perte annuelle a été calculée à 14,1 millions USD.<sup>22</sup> En Indonésie, la valeur estimée des pertes est de 21 millions USD <sup>22</sup> et à Taïwan de 253,3 millions USD.<sup>22</sup>

Finalement, il faut bien prendre en compte que, même si l'impact économique de la maladie sur l'industrie est bien connu, son impact sur l'agriculture de subsistance n'est que peu documenté.<sup>4</sup> Dès lors, les dégâts estimés sont sous-évalués, et les dégâts réels sont assurément plus importants.

### **1.2.6. Gestion et mesures de lutte**

Une fois que le pathogène est dans le sol, il n'existe pas de traitement phytosanitaire conventionnel efficace, car le champignon est dès lors inatteignable.<sup>21</sup>

Par conséquent, les méthodes de lutte utilisées sont : la diversification des cultures<sup>19</sup> et une meilleure utilisation des ressources génétiques disponibles afin d'établir une résilience sur le long terme.<sup>20,21</sup> L'application de mesures strictes de biosécurité ainsi que la détection précoce, la destruction rapide des bananiers infectés et les restrictions dans les exploitations, telles que la mise en quarantaine des zones infectées, sont les seuls moyens de gérer et de contenir la maladie.<sup>21</sup> Un soutien est nécessaire pour la gestion et le confinement de la maladie dans les pays touchés. Dans cette perspective, la collaboration internationale et l'action locale sont essentielles.<sup>21</sup>

## **1.3. La banane en Bolivie et dans les Tropiques de Cochabamba**

### **1.3.1. L'importance de la banane en Bolivie**

L'importance de la banane en Bolivie est d'ordre social et économique. La banane à cuire est la quatrième culture alimentaire la plus importante dans le pays, après le riz, le blé et le maïs.<sup>27</sup> Elle constitue l'aliment principal pour de nombreuses familles dans les communautés de Cochabamba, Santa Cruz et Beni.<sup>27</sup> Sa consommation annuelle par habitant est de 100 kg.<sup>27</sup> La culture de la banane dessert, quant à elle, se développe depuis une trentaine d'années sur le marché national et international, sa culture est principalement localisée dans le département de Cochabamba. En 2017, la superficie cultivée en bananes sur le territoire bolivien était de 60 298 ha, avec 19 837 ha de bananes dessert et 40 461 ha de bananes à cuire.<sup>41-43</sup>

### **1.3.2. La culture de banane dans les Tropiques de Cochabamba**

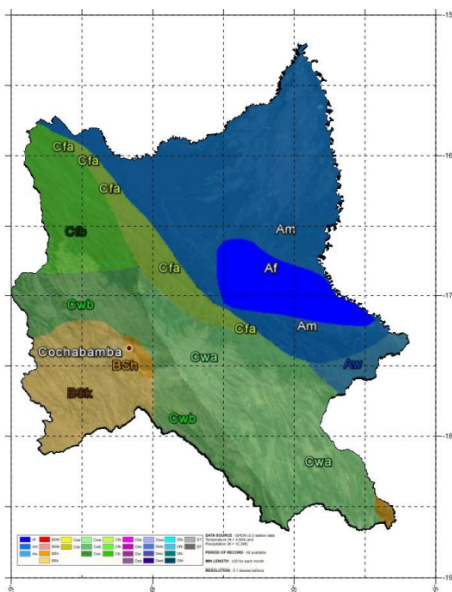
Le département de Cochabamba se trouve au centre du pays, et sa zone tropicale au Nord du département, entre les provinces du Chapare, Tiraque, Carrasco et Ayopaya.<sup>26</sup> Les précipitations annuelles sont comprises entre 2200 à 4000 mm et la température moyenne est de 24°C.<sup>26</sup> La région présente un climat tropical humide et tropical humide avec période sèche (Figure 3).

La culture de banane a pris de l'importance dans la région à partir de 1990 via l'intervention étatique du Programme de Développement Alternatif.<sup>6,44</sup> Celui-ci avait pour but de promouvoir des cultures alternatives à la production de coca, destinée à la production illégale de cocaïne, ce marché illicite représentant, à l'époque, plus de 600 millions de USD.<sup>45</sup> La promotion de la culture bananière a été réalisée, entre autres, via l'introduction de vitroplants de Grande Naine et Williams et via l'apport d'assistance technique et d'infrastructures telles que des empaqueteuses.<sup>6</sup>

Les principaux lieux de production de la région sont désormais : Entre Rios, Shinahota, Villa Tunari, Chimoré et Puerto Villarroel (Figure 4).<sup>6,27,44</sup> La superficie cultivée en bananes dessert est d'environ 16 210 hectares avec 6 210 hectares de bananes destinées à l'exportation<sup>44</sup> et 10 000 hectares destinées au marché national.<sup>46</sup> La superficie de bananes à cuire était de 10 825 hectares en 2013.<sup>47</sup> On peut donc supposer que la superficie totale cultivée en bananes dans la zone serait actuellement d'environ 26 000 hectares. Faisant des Tropiques de Cochabamba la principale zone productrice de

bananes d'exportation de la Bolivie,<sup>27</sup> avec un volume de 120 000 tonnes exportées et 6,5 millions USD de revenus par an.<sup>44,48</sup> Le marché externe se concentre à plus de 90% en Argentine.<sup>44</sup>

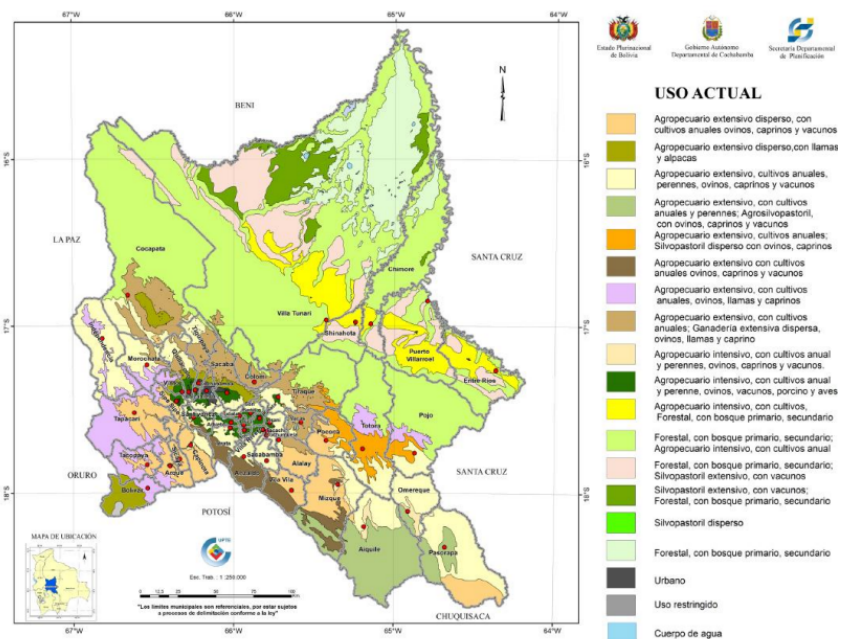
Il semble pertinent de signaler que le maintien de la production bananière dans la région de Cochabamba revêt une importance insoupçonnée. Si la TR4 venait à faire des ravages, la culture de banane pour l'exportation pourrait diminuer au profit d'un retour vers la production de coca, beaucoup plus lucrative. Cette dérive serait inévitablement liée à une augmentation du narcotrafic et donc de toutes les insécurités qui lui sont liées. La culture de la banane à cuire serait également à risque, limitant l'accès à cette ressource alimentaire pour de nombreuses familles boliviennes.



**Figure 3 :** Carte de classification climatique du département de Cochabamba selon Köppen

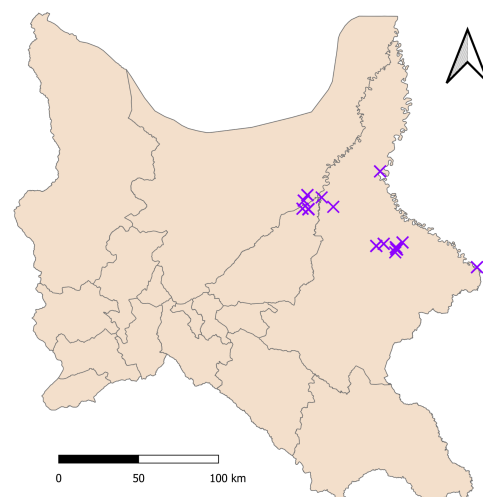
**Légende :** Tropical toujours humide (Af), tropical humide avec une courte sécheresse (Am), savane tropicale avec hiver sec (Aw), steppe avec hiver sec et froid (Bsk), steppe avec hiver sec et chaud (Bsh), subtropical sans saison sèche (Cfa), tempéré avec hiver chaud et sec (Cwa), tempéré avec hiver froid et sec (Cwb), tempéré avec hiver humide (Cfb)

**Sources :** Villarpando,<sup>49</sup>



**Figure 4 :** Carte d'utilisation actuelle du sol du département de Cochabamba

**Sources :** Villarpando,<sup>49</sup>



**Figure 5 :** Parcelles visitées dans le cadre de l'investigation



## **2. Objectifs**

L'objectif général de ce travail est de contribuer à la résilience des systèmes bananiers et plus particulièrement aux systèmes bananiers des tropiques de Cochabamba en Bolivie.

La banane est une ressource alimentaire importante et un secteur économique florissant pour la Bolivie. Et alors que la race TR4 gagne du terrain et pose de sérieux problèmes de biosécurité sur tout le globe, aucune étude n'a encore été réalisée sur ce pathogène dans ce pays. Ce travail répond à une demande des producteur.rices et exportateur.rices de banane de la zone et de l'UMSS de réaliser un premier état des lieux de la présence du pathogène dans la zone et également d'évaluer les connaissances des acteurs de la filière sur la maladie et sur sa gestion dans une optique de conseil de gestion.

## **3. Matériel et méthode**

### **3.1. Matériel et méthode de terrain**

#### **3.1.1. Zone étudiée**

La zone d'étude s'étend sur les tropiques du département de Cochabamba et plus particulièrement dans la partie agricole de la zone qui se trouve principalement le long de la route nationale 4 reliant les villes de Cochabamba et Santa Cruz (en jaune sur la Fig 4). La période de travail sur le terrain a été répartie entre les mois de mars et mai 2022.

#### **3.1.2. Sélection des parcelles**

Une prise de contact a été réalisée avec UNIBAN, l'union des entreprises exportatrices de bananes des tropiques de Cochabamba, afin de trouver des parcelles suspectées d'être infectées par Foc.

Les parcelles étaient principalement des terres cultivées en bananes dessert destinées à l'exportation, excepté la parcelle 10 qui représente 1 hectare de bananes à cuire. Les parcelles pouvaient présenter des modes de gestion et des typologies de sols différents.

Au total, 15 parcelles (environ 894 hectares) ont été visitées (Figure 5). Elles représentent 14,40% de la superficie bananière pour exportation et 3,44% de la superficie bananière totale de la zone. À l'issue des visites, seulement 10 d'entre elles (647 hectares) ont été sélectionnées pour effectuer un prélèvement (voir §3.1.3. et §3.1.4.), ce qui représente environ 10,42% de la superficie bananière pour exportation et 2,5% de la superficie bananière totale de la zone. Cinq parcelles ont été exclues du prélèvement, car elles ne présentaient aucun signe d'infection de Foc.

#### **3.1.3. Sélection des plants pour le prélèvement de matériel végétal**

Une première sélection des plants pour le prélèvement a été réalisée par les personnes de contact pour chaque parcelle en vue d'identifier les plantes malades (Figure 6).

Une deuxième sélection a été réalisée par l'expérimentatrice en vue de ne garder que les plantes présentant une symptomatologie externe et interne proche de celle de Foc.

Des plants ne présentant pas de symptômes pouvant également être infectés, le diagnostic exclusivement visuel peut s'avérer insuffisant.<sup>14,32</sup> Des plantes asymptomatiques ont donc également été sélectionnées si elles se trouvaient dans une zone où une symptomatologie proche de celle de Foc avait pu être observée récemment ou si elles se trouvaient dans une ancienne zone de culture de "Guineo", un cultivar dont la culture aurait fortement diminué dû à l'impact dévastateur de la race 1. Dans ces cas-là, l'expertise des personnes de contact sur les antécédents de leurs parcelles a été considérée comme le facteur primant pour le diagnostic.

L'observation des symptômes internes en vue de la sélection des plants étant destructive, l'accord des personnes de contact pour abattre la plante suspectée d'être infectée était nécessaire. Dans la majorité des cas, les plantes observées avaient été abandonnées par les techniciens agricoles, les jugeant trop malades que pour continuer à recevoir des soins en vue d'exploiter leurs fruits. Cet accord était donc acquis dans la majorité des cas. Malgré cela, cette condition a pu limiter le nombre de plantes sélectionnées, qui variait de 0 à 5 par parcelle.

#### 3.1.4. Prélèvement de matériel végétal

Les prélèvements de matériel végétal destinés à la détection de *Fusarium Wilt* proviennent d'une section horizontale (Figure 7A) du pseudo-tronc du bananier à la machette,<sup>9</sup> puis d'une section verticale (Figure 7B) d'environ 30 cm afin de permettre une meilleure observation des symptômes éventuellement présents. La section horizontale est réalisée aussi bas que possible, sans que le pourrissement soit trop avancé afin d'éviter les infections bactériologiques secondaires.<sup>4,9</sup>

Lorsque la symptomatologie de Foc est observée, 3 échantillons de brins vasculaires affectés d'environ 7 cm sur 2 cm sont prélevés verticalement avec un canif (Figure 7D) dans la continuité de la décoloration. L'échantillon est ensuite emballé dans du papier journal, puis placé dans une enveloppe en papier afin de lui permettre de sécher et donc d'améliorer sa conservation. Sur l'enveloppe, le code d'identification correspondant au numéro de la parcelle, la lettre d'identification de la variété (V=Valéry, W=William, P="Platano"=Variété à cuire, G="Guineo"), le numéro de prélèvement, les coordonnées géographiques (Figure 7C) et l'altitude du plant, sont inscrits.<sup>9,12</sup> Le numéro de la parcelle est choisi dans l'ordre de visite de chacune, tout comme pour le numéro de prélèvement, dans l'ordre de prélèvement des plants. En ce qui concerne la variété, celle-ci est identifiée par la personne de contact sur place. Finalement, les coordonnées géographiques et l'altitude sont enregistrées à l'endroit du prélèvement grâce à un GPS MAP 64 s Garmin. Les outils utilisés afin de découper le matériel végétal sont systématiquement désinfectés à l'alcool 70% entre chaque plante afin d'éviter toute contamination croisée entre les échantillons.<sup>9</sup> Des photos des symptômes ont été prises grâce à un smartphone Samsung Galaxy A52. Des photographies des feuilles, du pseudo-tronc, des sections du pseudo-tronc, et des échantillons de pseudo-tronc ont été réalisées.

Le même protocole de prélèvement est appliqué de façon aléatoire sur les plants asymptomatiques.

Les échantillons ont été conservés pendant maximum 4 jours après leur récolte à température ambiante puis à -20°C dans un congélateur.<sup>50,51</sup>

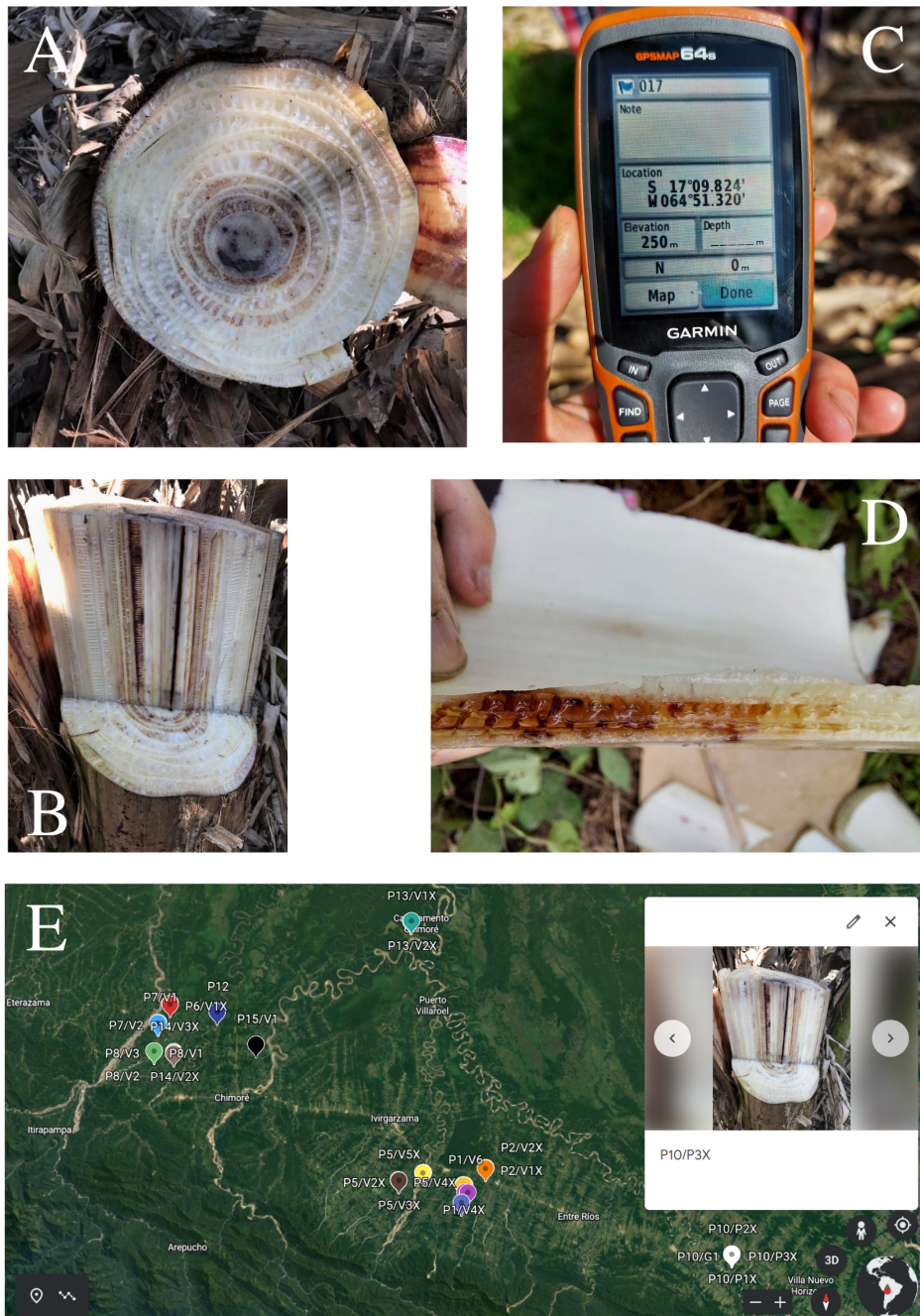


**Figure 6 :** Échantillonnage de plants malades avec une personne de contact  
**Source :** Photo de Clara Lhoest

Des photographies de certains plants malades observés, mais non soumis au prélèvement, ont également été prises afin de différencier la symptomatologie qui peut être confondue avec celle de Foc.

Ces photos, ainsi que les codes d'identification, les coordonnées géographiques, et l'occurrence des différentes races de Foc ont été transposées sur une carte Google Earth en open access : [Banano](#) (Figure 7E). Cette carte servira d'outil pour les acteur.rices de la filière bananière pour observer la répartition des prélèvements et des symptômes observés.

Au total, 27 échantillons ont été prélevés sur les 10 parcelles sélectionnées. Ceux-ci serviront de matériel de base à la détection moléculaire de Foc.



**Figure 7 :** Échantillonnage de matériel végétal infecté sur le terrain  
 (A) coupe horizontale (B) coupe verticale (C) enregistrement des coordonnées géographiques  
 (D) découpe d'un brin vasculaire décoloré (E) carte de répartition des échantillons  
 Sources : Photos de Clara Lhoest

### 3.1.5. Entretiens

#### 3.1.5.1. Description de la méthode

Des entretiens semi-directifs ont été réalisés en parallèle avec les prélèvements au champ. La méthodologie “semi-directive” ainsi appliquée permet un contact moins formel, instaurant un climat de confiance. Il permet aussi d’avoir des réponses qualitatives plus spontanées et complètes.

Neuf entretiens ont été réalisés individuellement et un entretien à été réalisé en groupe avec des représentant.es de UNIBAN. Les deux critères de choix des participant.es étaient : la zone géographique et la profession. Les 11 participant.es étaient tou.tes des acteur.rices de la filière bananière dans la zone des tropiques de Cochabamba. Les entretiens ont été menés sur le lieu de travail des interviewé.es.

Un guide d'entretien (voir [Encuesta es](#) [Questionnaire fr](#) ou Annexe 1 et 2) classifié par thèmes a été réalisé. L'entretien étant semi-directif, il peut également dévier vers d'autres questions et discussions susceptibles d'apporter des éléments complémentaires d'information.

Une phase exploratoire pour tester le guide d'entretien a été réalisée auprès d'un producteur et des membres de UNIBAN. Le guide a également été relu par des personnes natives et connaissant la production bananière afin de vérifier que l'utilisation des mots était adéquate.

Les entretiens ont duré en moyenne 1h par personne en fonction de leurs disponibilités. Ils ont été enregistrés avec l'accord des participant.es.

Les conversations ont ensuite été retranscrites puis encodées dans un tableau excel afin de résumer l'information et de faciliter la lecture des résultats (voir [Résultats entretiens](#) <sup>2</sup>).

### **3.1.5.2. Évolution du guide d'entretien et résultats attendus**

Dans un premier temps, l'objectif des entretiens était de comprendre la production et la gestion au sein des bananeraies de manière générale, afin d'avoir une vision globale de son fonctionnement et pouvoir ainsi aiguiller les entretiens et l'investigation.

De fait, pour pouvoir donner des conseils pertinents de gestion pour une maladie, il est nécessaire de comprendre le système agricole ainsi que les réalités (ex: socio-économiques, politiques, disponibilité des ressources) qui entourent cette culture.

Dans un second temps, l'objectif était d'approfondir la compréhension du système bananier en mettant Foc au centre du système. Cela a été réalisé en sondant les connaissances des acteur.rices de la filière bananière sur la maladie, en évaluant la présence de Foc selon elleux et en sondant leurs attentes et craintes quant au futur de la production bananière dans la zone. Ces dernières réalités pouvant être des freins ou des leviers à la prévention et à la gestion de la maladie étudiée.

Cette analyse du système bananier en mettant Foc au centre du système s'est articulée comme suit :

#### ***Symptômes, biologie, races, dispersion, méthodes de gestion***

La race 4 n'ayant pas encore été détectée sur le territoire bolivien, la phase de prévention de son entrée est en cours. Dans cette optique, il semblait pertinent de sonder les connaissances des acteur.rices de la filière afin de voir, tout d'abord, s'ils connaissent le danger qui les menace, mais plus encore de déterminer s'ils seraient capables de réaliser un diagnostic précoce de cette maladie en cas d'introduction dans leurs parcelles.

#### ***Méthodes de gestion***

Les connaissances sur les méthodes de gestion de Foc ont également été sondées, le but étant d'évaluer les connaissances générales sur la maladie et d'évaluer le travail à fournir pour

---

<sup>2</sup> L'excel de résultats des entretiens n'a pas été ajouté aux annexes car celui-ci est trop grand

l'implémentation de nouvelles pratiques dans la zone en cas d'introduction du bioagresseur. L'accent a été mis sur la manière dont les acteur.rices envisageraient l'introduction de cultivars résistants sur leurs parcelles car telle est, jusqu'à présent, la méthode de gestion la plus efficace mise en évidence. C'est via l'introduction des Cavendish que l'épidémie de la race 1 a pu être contenue.

### ***Évaluation de la présence de Foc dans la zone : avis des participant.es***

Établir l'état des lieux de Foc dans la zone d'étude selon les participant.es permet également de mettre en évidence d'éventuelles lacunes dans les connaissances. Si les acteur.rices sont sûr.es d'avoir du Foc dans leurs parcelles mais qu'en réalité il n'y en a pas, cela veut dire que leurs connaissances ne sont éventuellement pas suffisantes pour réaliser un diagnostic fiable. Cela signifie aussi qu'ils se battent contre une maladie qui n'est pas correctement diagnostiquée.

### ***Attentes, craintes, besoins***

Finalement, il a été demandé aux participant.es quelles étaient leurs attentes afin d'améliorer la production ou la gestion des bananeraies. Cette question semble importante lors de l'élaboration de méthodes de gestion afin que ces dernières concordent avec les attentes des acteur.rices principaux.ales et que leur implémentation réponde à des besoins réels, mais également qu'elles soient efficaces car entièrement assimilées par ces mêmes acteur.rices.

## **3.2. Matériel et méthode de laboratoire**

### **3.2.1. Conditions de réalisation**

Le processus de détection moléculaire a débuté dans les laboratoires du CByNAF de l'UMSS en mai 2022 avec la réalisation de l'extraction d'ADN à partir de pseudo-troncs de bananiers et une première phase de détection moléculaire via PCR afin de se familiariser avec ces techniques et de tester les conditions du laboratoire. La phase de détection moléculaire en Bolivie ne sera pas présentée ici vu qu'elle n'était qu'observatoire et préliminaire. L'étude a été finalisée au laboratoire de Biologie Moléculaire du département Plant Genetics de GxABT à l'Uliège en juin et juillet 2022 avec l'optimisation et la standardisation des conditions PCR, puis la détection moléculaire sur les échantillons d'ADN extraits au CByNAF.

### **3.2.2. Extraction d'ADN**

L'extraction d'ADN de Foc a été réalisée selon le protocole d'extraction CTAB de routine du CByNAF avec des adaptations selon Matthews *et al.*<sup>32</sup> et Brandfass *et Karlovsky*.<sup>52</sup> Les échantillons de pseudo-tronc ont d'abord été cryo-broyés dans de l'azote liquide en une fine poudre avec un mortier et un pilon. Une solution de 10 mL de tampon CTAB (0,2 g CTAB, 0,818 g NaCl 1,4 M, 2 mL EDTA 20 mM, 1 mL Tris-HCl 100 mM, 0,1 g PVP), pH fixé à 8, avec ajout de 0,1 g de SDS,<sup>52</sup> 20 µL de β-mercaptoéthanol<sup>52</sup> et de 2 mg de protéinase K<sup>52</sup> a été préparée. Ensuite, 700 µL de cette solution ont été ajoutés à 100 mg de chaque échantillon.<sup>32</sup> Deux incubations au bain-marie (Memmert - WNB 14) de 45 minutes se sont succédées, d'abord à 45°C puis à 65°C, en agitant toutes les 10 minutes grâce à un agitateur (Thermo Scientific - LP Vortex Mixer). Subséquemment, 700 µL d'un mélange chloroforme/alcool isoamylique (24:1 v/v) ont été ajoutés à chaque tube avant qu'ils soient vigoureusement mélangés pendant 3 minutes puis centrifugés (Labogene - Mini Micro Centrifuge) pendant 5 minutes à 6765 RCF. Cette étape a été répétée une deuxième fois. Après la centrifugation, le surnageant des tubes a été récupéré et transféré dans un autre tube. Un volume d'isopropanol égal au volume contenu dans chaque tube a été ajouté, puis ceux-ci ont été mélangés afin de précipiter l'ADN et centrifugés pendant 5 minutes à 6765 RCF. Le surnageant est éliminé sans perdre le

précipité. Celui-ci est lavé avec 200  $\mu$ L d'éthanol 75% à 10°C puis centrifugé à nouveau pendant 10 minutes à 6765 RCF. Par la suite, l'éthanol est éliminé et le précipité dissous dans 50  $\mu$ L d'eau distillée. Les échantillons d'ADN ainsi obtenus sont conservés à -20°C.

Une première extraction a été réalisée sur les 27 échantillons prélevés et une deuxième extraction a pu être réalisée sur 12 d'entre eux.

### 3.2.3. Détection moléculaire

#### 3.2.3.1. Détection moléculaire de champignon via PCR conventionnelle

Les produits d'extraction ont été soumis à des amplifications PCR afin de détecter la présence d'ADN de champignon pouvant confirmer que le protocole d'extraction développé dans le cadre de ce travail est efficace pour la mise en évidence d'ADN de *Fusarium* spp..

Les amplifications ont été réalisées dans le même thermocycleur et mélange réactionnel qu'en §3.2.3.2.4 Les paires d'amorces ITS1-F\_KYO2 et ITS4 ont été utilisées.<sup>53</sup> Les conditions d'amplification par PCR sont les conditions appliquées au laboratoire de Plant Genetics de GxABT : dénaturation initiale à 95°C pendant 5 min, 35 cycles de dénaturation à 95°C pendant 30 s, hybridation à 53°C pendant 45 s, extension à 72°C pendant 1 min et extension finale à 72°C pendant 10 min. La taille de l'amplicon attendu était de 586,5 bp.<sup>53</sup> Les tests positifs utilisés étaient constitués d'ADN d'*Aspergillus* spp.. Les blancs étaient constitués de 1  $\mu$ L d'eau.

#### 3.2.3.2. Détection moléculaire de Foc via PCR conventionnelle

##### 3.2.3.2.1. Choix des amorces

Les amorces utilisées (Tableau 2) dans cette expérimentation pour la détection de Foc ont été choisies parmi la littérature scientifique afin de correspondre aux critères suivants : permettre de reconnaître les différentes races de Foc infectant les variétés de bananes comestibles présentes en Bolivie (R1, R4 et TR4) et utilisables en PCR conventionnelle. Si cela était réalisable, plusieurs sets d'amorces ont été choisis pour chaque race afin d'avoir une certaine marge d'erreur dans le cas où un set s'avérerait non-spécifique et afin d'avoir une certaine répétition.

**Tableau 2** : Description des amorces

Nom des amorces	Séquences	Races identifiées	Technique d'analyse moléculaire de base	Conditions PCR conseillées	Taille de l'amplicon attendu en paires de bases	Source
RTLInVI_F3 FOCLInVI-R	GACATTTGACGACT TTCTGA GTGTCACCTGGTCC TCGTAT	R1 et R2 (Lineage VI)	qPCR	95°C~10 min 40 cycles 95°C~10s 66°C~15s 72°C~20s	98	Matthews et al. <sup>32</sup>
SIX6b_210_F SIX6b_210_R	ACGCTTCCCAATAC CGTCTGT AAGTTGGTGAGTAT CAATGC	R1	PCR	95°C~3 min 30 cycles 95°C~15s 55°C~15s 72°C~10s	210	Carvalhais et al. <sup>13</sup>
FocSc-1	CAGGGGATGTATGA	R4	qPCR	95°C~5 min	242	Lin et al. <sup>14</sup>

FocSc-2	GGAGGCTAGGCTA GTGACAGCGTCGTC TAGTTCCTTGGAG			40 cycles 95°C~10s 60°C~30 s		
FWB-TR4F	CGGTCTCGGCCAAA TCTGATT	TR4	qPCR	95°C~10 min 40 cycles 95°C~10s 60°C~45s	180	Aguayo et al. <sup>54</sup>
FWB-TR4R	ACGACTTATCTAGCG GTTGATGTG					

### 3.2.3.2.2 Optimisation des conditions PCR : températures, temps, nombre de cycles et spécificité

Les amorces ont été testées avec des adaptations des conditions d'amplification PCR fournies dans la littérature associée à chacune d'entre elles (Tableau 2). Cela a été réalisé dans le but d'optimiser les conditions PCR et d'augmenter la spécificité des amorces. Les nombres de cycles des protocoles créés pour des conditions de qPCR ont été descendus à 35 cycles. Un intervalle de 4 à 8 températures autour des températures d'hybridation citées dans les articles associés aux amorces a été testé afin d'évaluer la température d'hybridation optimale dans les conditions du laboratoire (Tableau 3). Les temps ont également pu être adaptés (Tableau 3).

Les témoins positifs et négatifs utilisés sont issus d'échantillons d'ADN fournis par la KU Leuven, avec de l'ADN de la race tropicale 4 (58,8 ng/μL) et pour la race 1, un mélange des échantillons 893 (0,14 ng/μL) appartenant aux VCG (Vegetative compatibility groups) 0128, 997 (0,26 ng/μL) appartenant au VCG 0124/5/8, et 124 (3,58 ng/μL) et 125 (8,96 ng/μL) appartenant tous les deux au VCG 0124/5. L'échantillons d'ADN de TR4 provient de la collection du centre de la biodiversité fongique d'Utrecht (CBS-KNAW) et ceux de R1 proviennent de l'institut international d'agriculture tropicale de Tanzanie (IITA) (124 et 125) et de l'université de Stellenbosch (Afrique du Sud) (893 et 997).

**Tableau 3** : Optimisation des conditions PCR : températures et temps testés

Nom des amorces	Races identifiées	Conditions PCR conseillées	Températures d'hybridation testées (°C)	Temps testés	
RTLInVI_F3 FOCLInVI-R	FOC Lineage VI (R1 et R2)	95°C~10 min 40 cycles 95°C~10s 66°C~15s 72°C~20s	67,6 - 67 - 66 - 65 - 64,9 - 63 - 61,1 - 58,8 - 56,9 - 55,7 - 55	dénaturation initiale	3 min
				hybridation	30s
				extension	20s (essai 1) 30s (essai 2)
				extension finale	5 min
SIX6b_210_F SIX6b_210_R	R1	95°C~3 min 30 cycles 95°C~15s 55°C~15s 72°C~10s	56,6 - 56 - 55,1 - 53,9	hybridation	20
				extension	1 min



				extension finale	5 min
FocSc-1 FocSc-2	R4	95°C~5 min 40 cycles 95°C~10s 60°C~30 s	60,5 - 59,8 - 59 - 58,3	dénaturation initiale	3 min
				extension	20s
				extension finale	5 min
FWB-TR4F FWB-TR4R	TR4	95°C~10 min 40 cycles 95°C~10s 60°C~45s	60,5 - 59,8 - 59 - 58,3	dénaturation initiale	3 min
				hybridation	30s
				extension	20s
				extension finale	5 min

### 3.2.3.2.3 Optimisation des conditions PCR : concentrations des échantillons et standardisation

Plusieurs concentrations d'ADN de Foc ont été testées afin d'évaluer la concentration minimale d'amplification permettant une détection (LOD, *limit of detection*)<sup>32</sup> et afin de définir la concentration optimale des échantillons pour réaliser les futures détections moléculaires. Les concentrations d'ADN testées sont : 2 ng/μL, 5 ng/μL, 10 ng/μL, 15 ng/μL, 20 ng/μL.

Le test a été réalisé avec les amorces amplifiant la race 1,<sup>13</sup> les ADN provenant de la KU Leuven, ainsi que certains échantillons d'ADN extraits en §3.2.2..

Les concentrations des échantillons d'ADN provenant de l'extraction à partir de pseudo-troncs ont été mesurées grâce à un fluorimètre (Promega - Quantus) selon le protocole du fabricant (Promega, 2018). Les échantillons ont ensuite été aliquotés et portés à la concentration optimale choisie afin de standardiser la PCR.

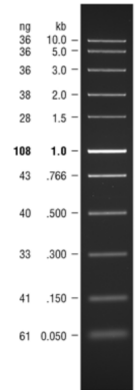
### 3.2.3.2.4. Réalisation de la PCR

En utilisant les jeux d'amorces présentés en §3.2.3.2.1, les conditions optimales PCR mises en évidence en §3.2.3.2.2 et la concentration optimale trouvée en §3.2.3.2.3, les amplifications par PCR ont été réalisées grâce à un thermocycleur Bio Rad (T100 Thermal Cycler) et ont été répétées au moins deux fois. Le mélange réactionnel présentait un volume de 10 μL et était composé de 1 μL d'ADN (10 ng/μL), 0,25 μL de primer reverse (10 pmol/μL), 0,25 μL de primer forward (10 pmol/μL), 5 μL de GoTaq® G2 Green Master Mix<sup>3</sup> (Promega) et 3,5 μL d'eau libre de nucléase. Les témoins positifs étaient issus des échantillons d'ADN de Foc fournis par la KU Leuven. Les blancs étaient constitués de 1 μL d'eau.

<sup>3</sup> L'ADN polymérase G2 est fournie dans le tampon de réaction 2X Green GoTaq® G2 (pH 8,5), 400μM dATP, 400μM dGTP, 400μM dCTP, 400μM dTTP and 3mM MgCl<sub>2</sub>

### 3.2.3.3. Électrophorèse sur gel d'agarose

Les résultats PCR ont été lus via une électrophorèse sur gel d'agarose (1 %) de 40 mL à 200 V pendant 20 minutes, et les bandes d'ADN ont été observées sur une boîte UV (Bio Rad Universal Hood 2 Gel Doc) équipé du logiciel Image Lab après coloration au bromure d'éthidium (GelRed® Biotium).<sup>14</sup> Un marqueur de poids moléculaire de 1 kb (BioLabs - Fast DNA Ladder) (Figure 8) a été utilisé pour pouvoir reconnaître l'emplacement de l'amplicon attendu.



**Figure 8** : Poids moléculaire Fast DNA Ladder (Bio Labs) 1kb  
Source : Bio Labs

### 3.2.4. Séquençage

Lorsque des amplicons ont été observés dans les produits PCR, ceux-ci ont subi un séquençage Sanger afin de confirmer leur nature.

#### 3.2.4.1. Purification des produits PCR

Une purification des produits PCR a été réalisée avant le séquençage avec le kit de purification d'acides nucléiques de BioLabs (Monarch PCR & DNA Cleanup Kit). D'abord 100 µL de tampon de liaison ainsi que 40 µL d'eau libre de nucléase et 300 µL d'éthanol pour le nettoyage de l'ADN ( $\geq 95$  %) ont été ajoutés au produit PCR amplifié. La solution a ensuite été passée dans une colonne et centrifugée. Les mêmes manipulations ont été réalisées avec 500 µL de tampon de lavage. Finalement, l'ADN a été récupéré dans un tube Eppendorf de 1,5 ml via l'ajout de 6 à 20 µL de tampon d'éluion au centre de la matrice de la colonne et sa centrifugation.

#### 3.2.4.2. Réalisation du séquençage

Le séquençage Mix2Seq a été réalisé via l'entreprise Eurofins Genomics. Les échantillons envoyés avaient un volume de 10 µL avec 1,5 µL de chacune des amorces utilisées et 7 µL des amplicons purifiés portés à 1 ng/µL.

#### 3.2.4.3. Lecture des résultats

Les séquences de nucléotides ont été lues grâce au logiciel *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (MEGA version 11.0.13) et comparées à la base de données *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) du *National Center of Biotechnology Information* (NCBI).

### 3.2.5. Alignements

Des alignements des séquences obtenues via le séquençage avec les séquences des amorces utilisées ont pu être réalisés grâce à BLAST ou le logiciel SnapGene. Cela a été réalisé afin d'observer comment les amorces se sont hybridées sur les séquences d'ADN et comment elles ont pu les amplifier.

## 4. Résultats et Discussions

### 4.1. Détection moléculaire

#### 4.1.1. Détection moléculaire de champignon

##### Résultats

La détection via des amorces visant les ITS (Internal Transcribed Spacer) du règne des champignons montre des résultats positifs pour tous les échantillons testés.

### Discussion

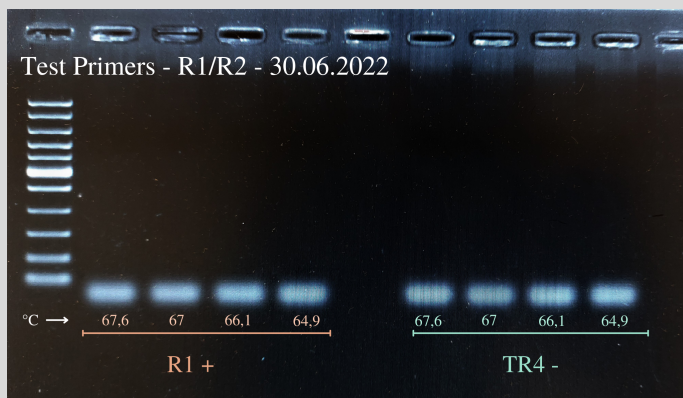
Ces résultats pourraient confirmer que le protocole d'extraction est adapté pour extraire de l'ADN de *Fusarium* spp. Cependant, ces résultats n'étant pas assez concluants, ils ne seront pas montrés dans le cadre de ce travail.

#### **4.1.2. Optimisation des conditions PCR : températures, temps, nombre de cycles et spécificité**

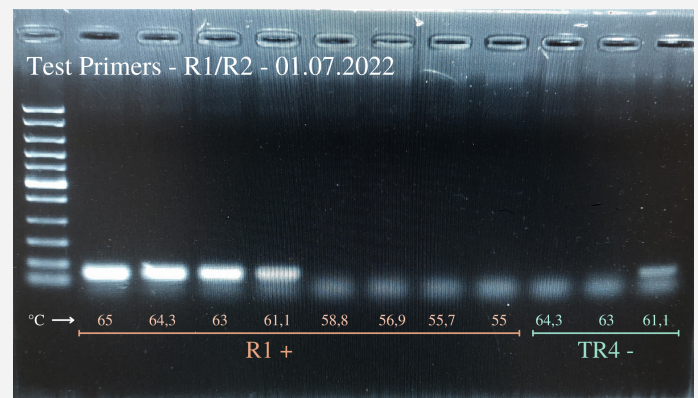
Les amorces ayant été créées pour des conditions qPCR (R1/R2, R4, TR4) donnent de bons amplicons lorsque 35 cycles sont appliqués, cette condition a dès lors été conservée.

L'optimisation des diverses conditions d'analyse est décrite et interprétée ci-dessous.

#### **Optimisation des conditions pour les amorces R1/R2<sup>32</sup>**



**Figure 9** : Électrophorèse<sup>4</sup> - Optimisation des conditions PCR - amorce R1/R2 - essai n°1



**Figure 10** : Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce R1/R2 - essai n°2

### Résultats

Aucun amplicon n'a été observé lors du premier essai (Figure 9). Un deuxième essai a donc été réalisé avec une plus large gamme de températures et un temps d'extension augmenté à 30 s. On observe des amplicons entre 61,1°C et 65°C pour l'ADN de R1 lors du deuxième essai (Figure 10). Il existe également un amplicon pour l'ADN de TR4 à la température de 61,1°C.

Suite aux divers tests, les conditions PCR optimales ont été définies comme suit : dénaturation initiale à 95°C pendant 3 min, 35 cycles de dénaturation à 95°C pendant 10 s, hybridation à 65°C pendant 30 s, extension à 72°C pendant 30 s et extension finale à 72°C pendant 5 min.

### Discussion

Le fait qu'aucun amplicon n'a été observé lors de l'essai 1 et bien lors de l'essai 2 à la température d'hybridation de 65°C est vraisemblablement lié à l'augmentation du temps d'extension à 30 s. Cependant, l'erreur accidentelle de manipulation lors de l'essai 1 ne peut pas être écartée. Une répétition du test pourrait être réalisée, afin de confirmer ou d'infirmer cela, mais n'est cependant pas nécessaire dans le cadre de ce travail.

La présence d'un amplicon pour l'ADN de TR4 lors du deuxième essai peut traduire le fait qu'à partir d'une certaine

<sup>4</sup> Les valeurs numériques sur les figures de X à X correspondent aux températures d'hybridation testées

température les amorces peuvent devenir non spécifiques. L'hypothèse d'une contamination ne peut cependant pas être écartée. Afin de pallier le problème d'une hybridation non spécifique, la température a été fixée à 65°C.

### Optimisation des conditions pour les amorces R1<sup>13</sup>

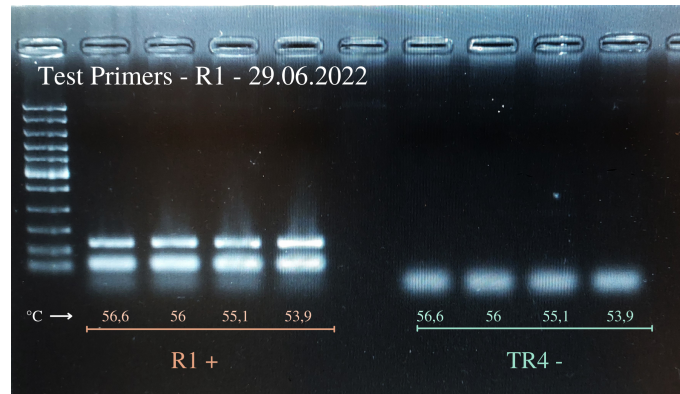


Figure 11 : Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce R1

#### Résultats

Des amplicons pour l'ADN de R1 ont été observés dès le premier essai pour toutes les températures testées (Figure 11). Il n'y a pas d'amplicon non spécifique. Malgré la réalisation de 3 répétitions, 2 amplicons sont observés pour l'ADN de R1, un premier entre 50 bp et 150 bp et un deuxième entre 150 bp et 300 bp. Le deuxième est celui de la taille attendue de 210 bp.

Les conditions PCR optimales sont les suivantes : dénaturation initiale à 95°C pendant 3 min, 30 cycles de dénaturation à 95°C pendant 15 s, hybridation à 55°C pendant 20 s, extension à 72°C pendant 1 min et extension finale à 72°C pendant 5 min.

#### Discussion

La présence de deux amplicons, dont un non spécifique, peut être expliquée par le fait que l'échantillon d'ADN utilisé comme témoin positif est composé de plusieurs fragments d'ADN différents provenant de plusieurs VCG de la race 1. Ainsi, il a pu y avoir des amplifications sur des fragments d'ADN de tailles différentes. Cela pourrait être dû à une dégradation de l'ADN ou à la présence de sites de délétion.

Des tests supplémentaires, en modifiant les conditions PCR afin d'augmenter la spécificité des amorces, auraient pu être réalisés. Un séquençage des 2 amplicons afin de connaître et de mieux comprendre leur nature et un alignement des séquences amplifiées avec les séquences des amorces via SnapGene pour observer d'éventuels sites de délétion aurait également été intéressant. Quoiqu'il en soit, les amorces permettent de mettre en évidence des positifs et n'amplifient pas l'ADN de TR4 dans ces conditions et elles seront dès lors gardées telles quelles.

### Optimisation des conditions pour les amorces R4<sup>14</sup>

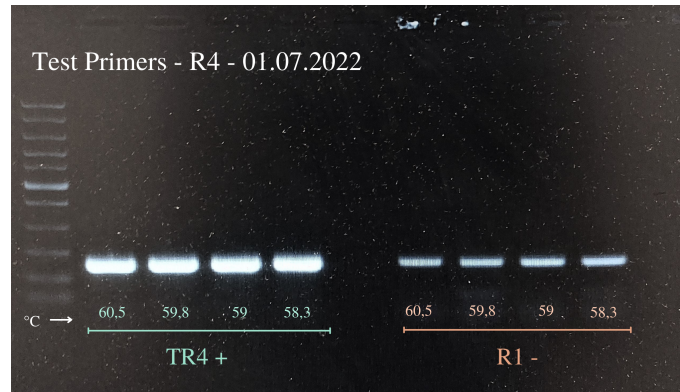


Figure 12 : Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce R4

#### Résultats

Des amplicons pour l'ADN de TR4 et de R1 ont pu être observés lors des deux répétitions (Figure 12) à toutes les températures testées.

#### Discussion

Une contamination de l'échantillon d'ADN de TR4 par de l'ADN de R1 aurait pu être possible lors du premier essai. Le deuxième essai a donc été réalisé avec beaucoup de précautions afin d'infirmer cette hypothèse. Les amorces s'avèrent donc non spécifiques dans ces conditions. Des tests supplémentaires dans des conditions différentes auraient pu être réalisés. Mais le temps d'expérimentation et les ressources du laboratoire étant limités, ainsi que l'existence d'une autre amorce fonctionnelle pour détecter la TR4 étant confirmée, cela n'a pas été réalisé et l'amorce R4 n'a pas été utilisée pour la détection.

### Optimisation des conditions pour les amorces TR4<sup>54</sup>

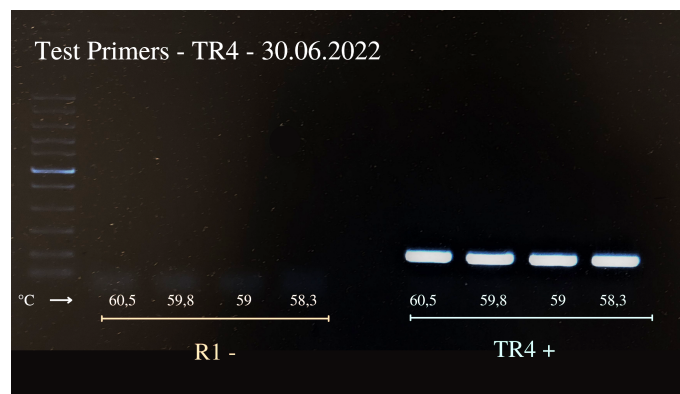


Figure 13 : Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - amorce TR4

#### Résultats

Des amplicons pour l'ADN de TR4 ont été observés dès le premier essai pour toutes les températures testées (Figure 13). Il n'y a pas d'amplicon non spécifique.

Les conditions PCR finales gardées sont les suivantes : dénaturation initiale à 95°C pendant 3 min, 35 cycles de dénaturation à 95°C pendant 10 s, hybridation à 60°C pendant 30 s, extension à 72°C pendant 20 s et extension finale à 72°C pendant 5 min.

### 4.1.3. Optimisation des conditions PCR : concentrations des échantillons et standardisation

#### Résultats

Les concentrations d'ADN des échantillons provenant de l'extraction de pseudo-troncs de bananiers vont jusqu'à 43 ng/uL (Tableau 4).

On obtient une hybridation à partir de 5 ng/uL d'ADN (Figure 14 et 15). La LOD pourrait donc se trouver entre 2 et 5 ng/uL.

Tableau 4 : Concentrations des échantillons d'ADN extraits

ID	[ng/μL]	ID	[ng/μL]	ID	[ng/μL]	ID	[ng/μL]	ID	[ng/μL]	ID	[ng/μL]	ID	[ng/μL]	ID	[ng/μL]
P1V1	10	P1V4	34	P3W1	7,2	P5V4	39	P9V3	5,9	P13V1	9	P14V1	19	P14P1	17
P1V1	10	P1V5	43	P3W2	11	P5V5	28	P10P1	34	P13V1	15	P14V2	12	P14P1	13
P1V3	14	P1V5	37	P5V1	43	P6V1	8,6	P10P1	27	P13V2	28	P14V2	13	P15V1	20
P1V3	14	<u>P2V1</u>	<u>10</u>	<u>P5V2</u>	<u>≤1</u>	P6V2	9,9	<u>P10P2</u>	<u>1,06</u>	P13V2	11	P14V3	3,64	P15V1	31
P1V4	36	P2V2	20	P5V3	25	<u>P9V2</u>	<u>≤1</u>	<u>P10P3</u>	<u>2,27</u>	P14V1	21	P14V3	6		

Légende : 1ère extraction- 2ème extraction- échantillons non utilisables pour la détection PCR

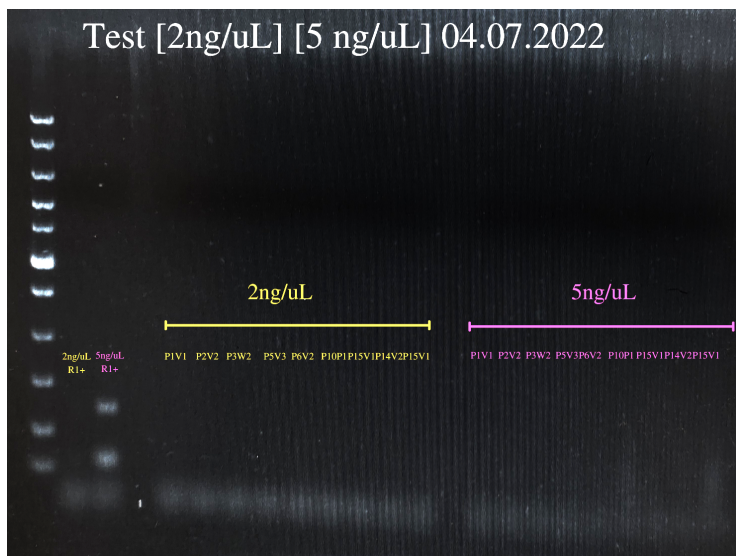


Figure 14 : Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - Concentrations [2 ng/μL] [10 ng/μL]

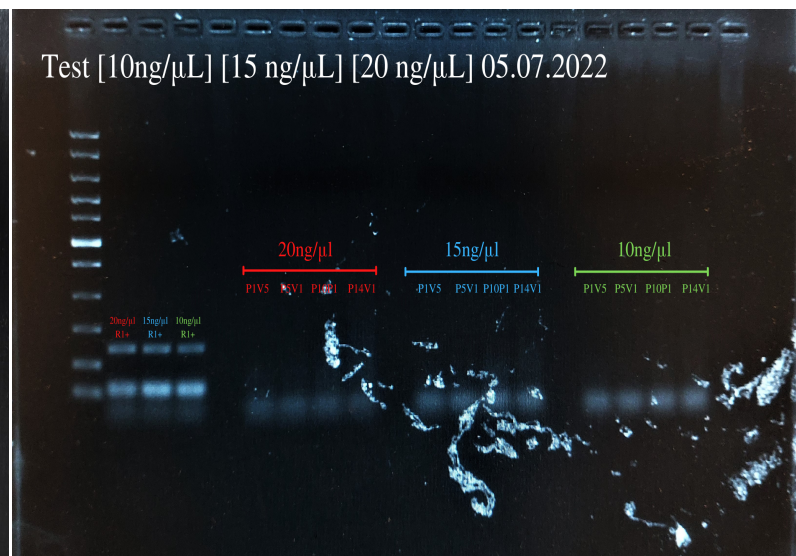


Figure 15 : Électrophorèse - Optimisation des conditions PCR - Concentrations [10 ng/μL] [15 ng/μL] [20 ng/μL]

#### Discussion

La concentration fixée pour la suite des manipulations est de 10 ng/uL, ce qui représente une valeur suffisante d'ADN compte tenu des quantités d'extraits disponibles.

On voit que la migration n'est pas homogène, l'ajout d'un marqueur de poids moléculaire à droite du gel aurait pu faciliter la lecture du gel.

#### 4.1.4. Détection moléculaire de Foc

##### Détection de la race 1 de FOC avec les amorces R1/R2<sup>32</sup>

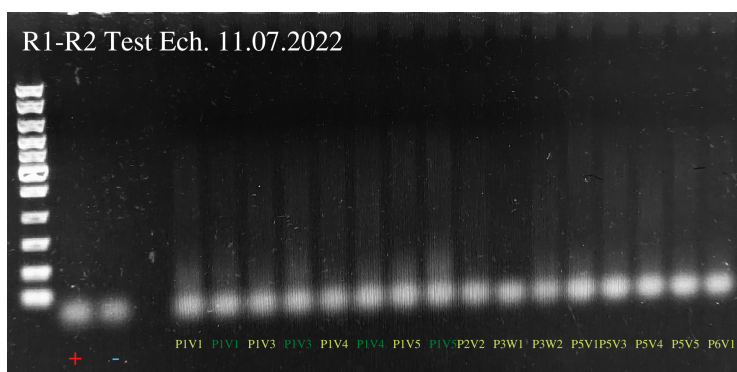


Figure 16 : Électrophorèse - Détection de la race 1 de Foc - Échantillons de P1V1 à P6V1 - Amorces R1/R2

##### **Résultats**

Lors des trois répétitions de la PCR, aucun amplicon n'a été détecté, même pas pour le contrôle positif (Figure 16). Cela peut résulter d'une erreur dans l'optimisation des conditions PCR. Il serait donc intéressant de recommencer le processus d'optimisation. Cependant, vu que d'autres amorces reconnaissant la race 1 étaient disponibles et fonctionnelles (voir point suivant), cela n'a pas été réalisé par manque de temps et de moyens. Le volume des échantillons d'ADN extraits étant limité.

##### Détection de la race 1 de FOC avec les amorces R1<sup>13</sup>

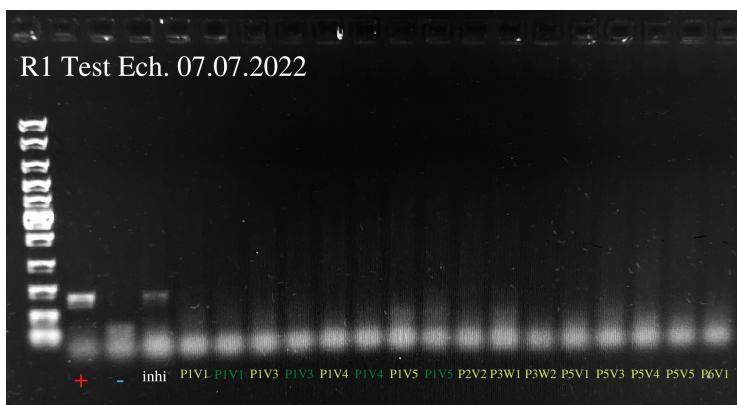


Figure 17 : Électrophorèse - Détection de la race 1 de Foc - Échantillons de P1V1 à P6V1 - Amorces R1

##### **Résultats**

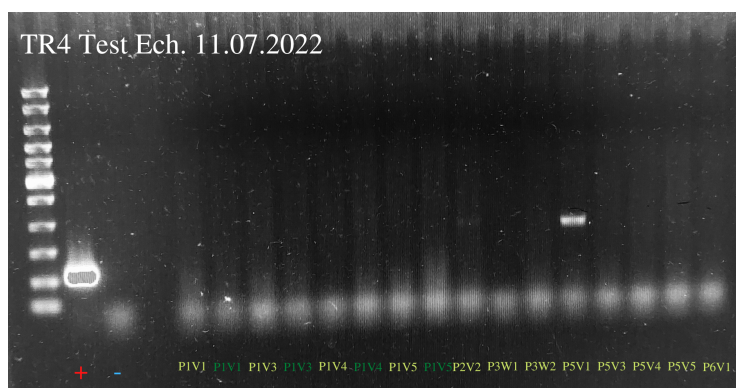
Aucun amplicon n'a été détecté sur les échantillons prélevés (Figure 17). Le test de "spiking" a montré un amplicon ("inhi" sur l'électrophorèse).

##### **Discussion**

La PCR n'ayant montré aucune amplification dans les échantillons extraits, la possibilité de présence d'inhibiteurs de PCR dans ceux-ci, vu qu'ils proviennent de l'extraction brut d'échantillons de pseudo-tronc, s'est présentée. Un ajout dosé ("spiking") a été réalisé en mélangeant de l'ADN de référence venant de la KUL à de l'ADN provenant des échantillons de pseudo-tronc. Dans ce cas, on observe bien un amplicon. Cela est la preuve que la présence d'inhibiteurs

peut être écartée. L'absence d'inhibition forte de l'amplification PCR par des substances chimiques éventuellement présentes dans le système vasculaire des bananiers a d'ailleurs été démontrée dans Matthews et al.<sup>32</sup>. Ce test permet également de démontrer l'absence d'ADN de Foc R1 dans les échantillons.

#### Détection de la race tropicale 4 de FOC avec les amorces TR4<sup>54</sup>



**Figure 18** : Électrophorèse - Détection de la race tropicale 4 de Foc - Échantillons de P1V1 à P6V1 - Amorces TR4

#### **Résultats**

Quatre répétitions ont confirmé l'occurrence de deux amplicons d'environ 500 bp pour les échantillons P2V2 et P5V1 (Figure 18). Ces amplicons ne sont pas à la taille attendue de 98 bp.

#### **Discussion**

L'amplicon de l'échantillon P5V1 a été envoyé au séquençage afin d'en apprendre plus sur sa nature. Par contre, l'amplicon P2V2, ne présentant pas une concentration d'ADN assez élevée, n'a pas pu être séquençé. Les discussions à ce sujet sont présentées au §4.1.5..

### 4.1.5. Séquençage de P5V1

#### **Résultats**

#### Séquence de P5V1 (PCR TR4)

```
GATCCACGAGCTGTTGGAAAGCAGCACCAAACCTGGATGTGCCGTTGTTGGTGAAGTCGGAAGCGGGCAAA
ACTGGGATCAAGCGCACTAAGTACTGGTCACATAAGCTTCTTTTTTTGTAAGTAAGCAACATAACCAGTACAT
TTTGTGACGATCATTTCATATCCCTATGTAAAGATTGAAAATAAACTACAAAAAGTGCTTTGTTGGTGACCGA
AAAGGGAGTAGAGTTAAACACGTAGGGTACAGAGGTAAGATGTTCTATCTTTCAGACCTTTTACTTCACGTAA
TCAGATTTGGCCGAGACC
```

La séquence provenant de l'amplicon de l'échantillon P5V1 résultant de la PCR avec les amorces TR4 comparée à la base de données de BLAST (NCBI) "nucléotides" montre une homologie avec le genre *Enterobacter* spp. et l'homologie la plus forte est obtenue avec l'espèce *Phytobacter ursingii* (Tableau 5). La séquence s'est donc révélée ne pas appartenir au règne des champignons et ne peut être associée à *Fusarium* spp.; aucune similitude n'ayant été démontrée avec ce genre.



**Tableau 5** : Résultats BLASTn pour la séquence P5V1

Description	Scientific Name	Max Score / Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Phytobacter ursingii strain CAV1151 chromosome, complete genome	Phytobacter ursingii	490	98	5e-134	95.72%	5529134	CP011602.1
Enterobacteriaceae bacterium ENNIH1 chromosome, complete genome	Enterobacteriaceae bacterium ENNIH1	468	98	2e-127	94.41%	5267614	CP026193.1
Phytobacter diazotrophicus strain UAEU22 chromosome, complete genome	Phytobacter diazotrophicus	451	98	2e-122	93.42%	5422265	CP051548.1
Enterobacteriaceae bacterium A-F18 chromosome, complete genome	Enterobacteriaceae bacterium A-F18	451	98	2e-122	93.42%	5676372	CP025982.1
Metakosakonia sp. MRY16-398 DNA, complete genome	Metakosakonia sp. MRY16-398	451	98	2e-122	93.42%	5919168	AP018756.1
Phytobacter sp. SCO41 chromosome, complete genome	Phytobacter sp. SCO41	451	98	2e-122	93.42%	5599325	CP027225.1

En effet, même lorsque comparée à la base de données correspondant au complexe d'espèces de *Fusarium oxysporum*, aucune homologie n'est trouvée (tableau non montré).

### **Discussions**

Il n'est pas étonnant que les amorces ou une des amorces ait pu amplifier un autre organisme au vu de la complexité des échantillons testés qui proviennent d'une extraction du système vasculaire de bananiers. De fait, aucun isolement de l'ADN de *Fusarium* spp. n'a été réalisé.

La présence d'Entérobactéries dans les échantillons n'est pas étonnante non plus car certaines d'entre elles sont décrites comme des phyto bactéries ou encore comme des bactéries endophytes fixatrices d'azote (ex: *Phytobacter ursingii* dans le riz sauvage).<sup>55-57</sup>

### **4.1.6 Alignements**

Un alignement entre la séquence P5V1 et les amorces utilisées a donc été réalisé sur le programme SnapGene afin d'évaluer le niveau correspondant entre ces séquences d'ADN (Figure 19).

```

5 '  GATCCACGAGCTGTTGGAAAGCAGCACCAAACTGGATGTGCCGTTGTTGGTGGAAAGTCGGAAGCGGGCAAAAACGGGATC      80
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
3 '  CTAGGTGCTCGACAACCTTTCGTCGTGGTTTGACCTACACGGCAACAACCACCTTCAGCCTTCGCCCCTTTTGACCCTAG

AAGCGCACTAAGTACTGGTACATAAGCTTCTTTTTTGTAAAGTAAAGCAACATAACCAGTACATTTTGTGACGATCATTCC      160
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TTGCGGTGATTCATGACCAGTGTATTGAAAGAAAAAACATTCATTCGTTGTATTGGTCATGTAACACTGCTAGTAAG

ATATTCCCTATGTAAGATTGAAAATAAACTACAAAAAGTGCTTTGTTGGTGACC GA AAAAGGGAGTAGAGTTAAACACGT      240
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TATAAGGGATACATTTCTAACTTTTATTTGATGTTTTTCAGAAACAACCACCTGGCTTTTCCCTCATCTCAATTTGTGCA

AGGGTACAGAGGTAAGATGTTCTATCTTTTTCAGACCTTTTACTTCACGTAATCAGATTTGGCCGAGACC      308
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
TCCCATGCTCCATTCTACAAGATAGAAAGTCTGGAAAATGAAAGTGCATTAGTCTAAACCGGCTCTGG      5 '
  
```

**TTAGTCTAAACCGGCTCTGG**  
FWB-TR4F

**Figure 19** : Alignement de l'amorce FWB-TR4F avec la séquence P5V1 - Lecture sur SnapGene

### Résultats

Seule l'amorce FWB-TR4F présente une bonne correspondance avec la séquence d'ADN trouvée (%GC=52%). L'alignement avec l'amorce reverse ne sera donc pas présenté dans ce travail.

## 4.2. Entretien semi-directifs<sup>5</sup>

### 4.2.1 Descriptif socio-démographique

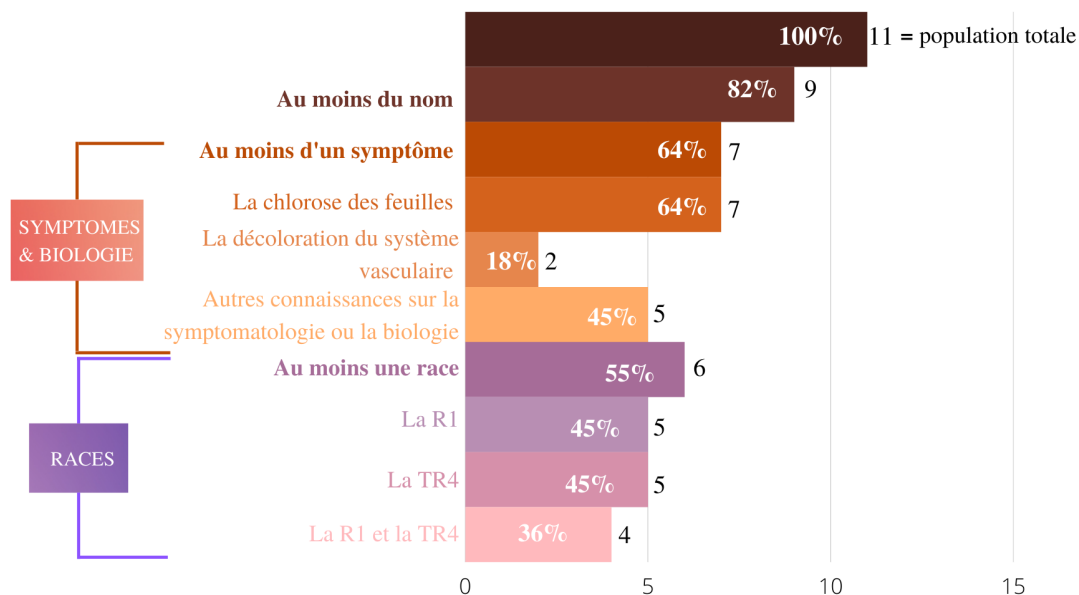
Les 11 participant.es à l'entretien semi-directif occupaient les fonctions suivantes :

- 3 ouvrier.ères agricoles
- 3 exploitant.es, propriétaires des parcelles et gestionnaires de la production bananière sur celles-ci
- 4 assistant.es techniques d'entreprises exportatrices de bananes

Le.la dernier.ère participant.e exerçait plusieurs professions à la fois : propriétaire de parcelles et gestionnaire de la production bananière, gérant.e d'un service de fumigation via avionnette et gérant.e d'une entreprise de fertilisants et produits agrochimiques.

La plupart d'entre elleux réalise des professions dans la filière bananière depuis 10 à 25 ans, ce qui correspond au début de la période d'essor de la banane dans la zone.

### 4.2.2. Connaissances sur Foc



**Figure 20** : État des connaissance de la maladie

Sur les 11 personnes interviewées, 82% disent connaître la maladie au moins de nom (Figure 20).

<sup>5</sup> Les participant.es de l'étude ont été recontacté.es avant la finalisation de ce travail afin de leur présenter les résultats et de s'assurer à nouveau de leur consentement concernant l'utilisation des données récoltées durant les entretiens.

64% connaissent également au moins un des symptômes de Foc et savent que la chlorose des feuilles est un symptôme de Foc. La chlorose des feuilles est donc le symptôme le mieux connu par les participant.es.

18% ont mentionné également la décoloration du système vasculaire et savent qu'il faut observer l'intérieur du pseudo-tronc afin de réaliser un diagnostic complet. La décoloration du système vasculaire est donc le symptôme le moins bien connu.

45% ont mentionné d'autres caractéristiques de la maladie telles que sa présence dans le sol, son mode de dispersion via les outils infectés, le fait que la plante dépérit suite à l'infection de Foc, le caractère virulent de la TR4 par rapport aux autres races, et des méthodes de lutte utilisées contre ce pathogène (voir 4.2.3.).

Il arrivait également que certains symptômes non mentionnés dans la bibliographie soient mentionnés comme correspondant à la maladie. Un.e des assistant.es techniques estimait que la race 1 produisait de l'éléphantiasis et considérait comme symptomatologie propre à Foc le fait que les rejets des bananiers se recroquevillent sur eux-mêmes au lieu de s'ouvrir comme ils devraient le faire normalement. Un.e autre assistant.e technique, connaissant l'apparence des symptômes internes de Foc, affirmait que ceux-ci ne peuvent s'observer que si les bananes ne sont pas récoltées. Si les bananes sont récoltées alors des symptômes ne peuvent s'observer qu'au niveau du feuillage. Enfin, trois des participant.es ont mentionné une différence de symptomatologie entre les différentes races. Les participant.es ayant mentionné des symptômes qui n'ont pas été décrits dans la littérature scientifique faisaient partie de ceux connaissant le mieux la maladie.

Ensuite, un.e des exploitant.es évoquait le fait que la symptomatologie proche de celle de Foc que les producteur.rices observent dans leurs champs est parfois confondue avec celle de *Cosmopolites sordidus*.

On peut également observer que dans la population de répondant.es, ceux qui semblent connaître le mieux la maladie et sa symptomatologie sont les assistant.es technique des entreprises d'exportation.

Seulement 55% des répondant.es connaissent et savent citer au moins une des races de Foc, 45% connaissent la race 1, 45% connaissent la race tropicale 4, et 36% d'entre elleux connaissent la R1 et la TR4.

### **4.2.3. Gestion de Foc**

Les pratiques de gestion de Foc appliquées, ainsi que les connaissances sur celles qui peuvent être appliquées, ont été sondées. Il a également été demandé aux participant.es s'ils seraient prêt.es à planter un nouveau cultivar résistant à la TR4 si celle-ci venait à arriver sur le territoire bolivien.

Seulement deux assistant.es techniques mettent en place des pratiques de gestion de Foc sur leurs parcelles. Tou.tes les deux abattent les plantes malades et dispersent de la chaux et de l'hypochlorite de sodium sur le sol afin que les plantes se décomposent et que les rejets ne reprennent pas, mais aussi pour "désinfecter le sol". Ensuite, des plantes saines provenant de la même parcelle sont replantées. Un.e des participant.es désinfecte également les outils utilisés pour tuer les plantes infectées par Foc. L'autre réalise des tests d'application des contenus des piscines de lavage contenant du bénomyl et du sulfate d'aluminium, utilisés habituellement pour traiter la pourriture de la couronne, et a obtenu de

bons résultats: la maladie semble ne plus avancer et les rejets poussent plus vigoureusement. Selon ces deux personnes, ces techniques permettent de limiter l'avancée de la maladie, qui se présente sous forme de taches dans les parcelles, mais pas à l'éradiquer complètement. Ils sont conscients que les méthodes de lutte conventionnelle ne sont pas efficaces contre ce pathogène.

Ces deux personnes, ainsi que deux autres participant.es, ont également mentionné des pratiques qu'il serait souhaitable d'approfondir ou même d'utiliser à l'avenir :




- trouver un organisme de biocontrôle comme *Trichoderma* spp.
- conscientiser et éduquer les acteur.rices de la filière sur la maladie
- remplacer les vieilles plantations par de nouvelles plantations saines via abattis-brûlis
- ne plus acheter de plantes venant de l'extérieur du pays
- utiliser des cultivars résistants
- mettre en place une pépinière mère qui produirait des vitroplants sains

Les 6 personnes à qui la question "Seriez-vous prêt.e à planter un cultivar résistant à la TR4 si celle-ci venait à contaminer la zone?" a été posée, ont répondu de façon affirmative. Cependant, quatre d'entre elles ont émis des réserves et restent réticentes, principalement car il y a déjà eu, selon elles, des introductions de maladies sur le territoire via l'introduction de vitroplants (ex: Sigatoka en 1996). Elles trouvent dangereux de faire rentrer du matériel végétal au vu de la situation de la TR4. Cette crainte est accentuée par le fait qu'elles n'ont pas confiance dans les structures étatiques, comme l'Institut national pour l'innovation agricole et forestière (INIAF), qui pourraient leur fournir ce service. Avant toute introduction, elles veulent pouvoir s'assurer que le matériel végétal est à 100% sain.

Trois des répondant.es ont également peur que les cultivars résistants qui pourraient être produits soient conçus pour être adaptés aux conditions abiotiques des principaux pays producteurs d'Amérique latine (Colombie et Equateur) et donc qu'ils ne soient pas adaptés aux conditions de la Bolivie. L'acquisition d'un cultivar résistant mais ne produisant pas de bons rendements n'étant pas intéressante. L'un.e d'entre elleux appuie ses propos en racontant son expérience avec un cultivar israélien résistant à la Sigatoka qu'il avait testé sur ses parcelles. Celui-ci ayant un trop grand besoin en fertilisation, il s'est avéré ne pas convenir et a finalement été abandonné. Afin d'introduire du matériel végétal amélioré et adapté aux conditions boliviennes, les répondant.es proposent de réaliser, au préalable, une sélection massale sur le stock génétique déjà présent en Bolivie.

Les réponses des répondant.es concernant les méthodes de gestion de Foc ont été résumées dans le tableau 6.

**Tableau 6** : Résumé des réponses concernant les méthodes de gestion de Foc

<i>Méthodes de gestion de Foc mises en place</i>	
	- abattre les plantes malades et mettre de la chaux et du chlore (ex: sous forme d'hypochlorite de sodium) au sol afin que les plantes se décomposent, que les rejets ne reprennent pas et afin de "désinfecter le sol" - planter des bananiers sains provenant de la même parcelle
	- désinfecter les outils utilisés pour tuer les plantes "infectées par Foc"
	- application des contenus des piscines de lavage pour le marché national : benomyl et sulfate d'aluminium

Résultat	- limite l'avancée de la tâche, mais n'éradique pas complètement la maladie
<b>Méthodes de gestion intéressantes</b>	
👤	<ul style="list-style-type: none"> <li>- trouver un organisme de biocontrôle comme trichoderma</li> <li>- ne plus acheter de plantes venant de l'extérieur</li> <li>- utiliser des cultivars résistants</li> <li>- mettre en place une pépinière mère qui produirait des vitroplants sains</li> </ul>
👤	<ul style="list-style-type: none"> <li>- conscientiser et éduquer les acteur.rices de la filière sur la maladie</li> <li>- remplacer les vieilles plantations par de nouvelles plantation saines via abattis-brûlis</li> </ul>
<b>"Prêt.e à introduire un cultivar résistant à Foc?"</b> <b>OUI, mais...</b>	
👤👤 👤	<ul style="list-style-type: none"> <li>- envie qu'il y ait un cultivar résistant et adapté aux conditions climatiques de la zone, c'est-à-dire qui fournisse un bon rendement</li> <li>- peur que les cultivars résistants soient conçus en adéquation avec les conditions abiotiques des plus gros pays producteurs latino américains (Colombie et Equateur) et donc pas en adéquation avec les conditions boliviennes</li> </ul>
👤👤 👤👤	<ul style="list-style-type: none"> <li>- n'ont pas confiance en les institutions étatiques qui veulent importer du matériel végétal résistant de l'extérieur</li> <li>- peur que l'importation de matériel végétal résistant de l'extérieur mène à l'introduction des nouvelles maladies (ex: la TR4) car cela a déjà été le cas avec la Sigatoka</li> <li>- envie qu'il y ait une sélection massale avec le stock génétique local pour créer des cultivars à la fois résistants et adaptés à la zone</li> </ul>

#### 4.2.4. État des lieux de Foc : avis des participant.es

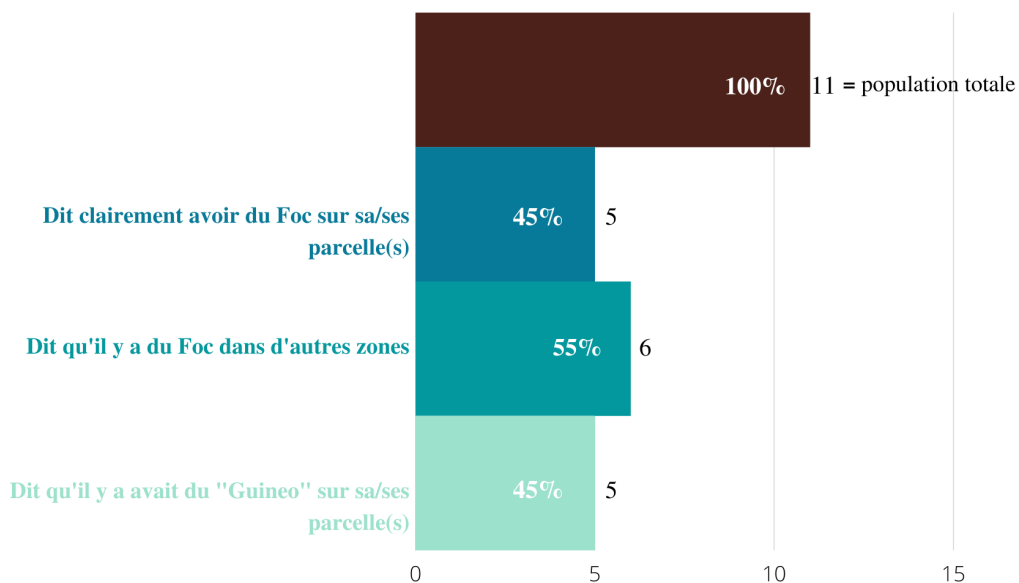


Figure 21 : État des lieux de la présence de Foc dans la zone d'étude : avis des participant.es

Il y a 45% des participant.es qui sont sûr.es d’avoir du Foc sur leurs parcelles et 55% qui disent qu’il y en a dans d’autres zones (Figure 21). Les 5 participant.es étant sûr.es d’avoir du Foc sur leur parcelles font partie des 6 participant.es déclarant qu’il y en a également sur d’autres parcelles. Un.e d’entre elleux affirme également que la présence de Foc sur une parcelle a pu être mise en évidence via un diagnostic et une mise en culture de prélèvements par Mario Coca Morante (résultats non-publiés). Parmi ces mêmes personnes, il y en a 3 qui évoquent le fait que les producteur.rices sont sûr.es qu’il y a du Foc dans la région.

Il y a également 5 participant.es qui déclarent avoir eu jadis une culture de “Guineo” sur leurs parcelles, qui aurait été éradiquée par la maladie de Panama. Cette maladie serait la raison pour laquelle ce cultivar local n’est presque plus cultivé dans le département de Cochabamba








En conclusion, il y a une majorité de personnes affirmant que la maladie est présente dans la zone.

#### 4.2.5. Attentes et craintes

Finalement, il a été demandé aux participant.es quelles étaient leurs attentes et leurs craintes quant au futur de la production ou la gestion des bananeraies.

Les réponses à cette question ont été résumées dans le tableau 7 :

**Tableau 7 :** Résumé des réponses des répondant.es sur leurs attentes concernant la production et la gestion des bananeraies

<i>Attentes concernant la production et la gestion des bananeraies</i>	
	L’ <b>amélioration des ressources génétiques et du matériel de plantation</b> via, entre autres, la mise en place d’une pépinière mère locale qui pourrait mettre à disposition des vitroplants sains pour toutes les cultures tropicales. Cela permettrait de rénover les plantations âgées et d’être plus résilients face aux bioagresseurs.
	L’ <b>amélioration des pratiques de fertilisation</b> via une fertilisation plus abondante ou plus raisonnée, avec des applications fractionnées au bon moment.
	L’ <b>amélioration du contrôle de la Sigatoka</b> via une fumigation plus efficiente. Cela pourrait être réalisé via une étude de sensibilité, afin d’éviter le développement de résistances aux molécules utilisées, ou via un monitoring plus poussé de la maladie afin de réaliser des fumigations plus précises.
	La <b>mise à disposition d’assistance technique spécialisée et continue</b> : fertilisation, phytopathologie, entomologie, etc.
	La <b>favorisation de la recherche scientifique sur les cultures tropicales</b> via, par exemple, l’implémentation d’un centre d’investigation dans les tropiques ou via un accord continu avec l’université de Cochabamba.
	La <b>réalisation de planifications de projets sur le long terme</b> pour développer la production bannière dans la zone.
	Une <b>implication étatique plus importante</b> .

Plusieurs participant.es regrettent que depuis que l’Agence des États-Unis pour le développement international (USAID) est partie de la zone, il n’y ait plus eu ni d’assistance technique, ni de

production et distribution de vitroplants sains, ni de recherche scientifique continue. Cela rejoint l'attente de prise en charge de ces volets par l'État, qui n'a pas continué à financer de lui-même les projets de développement de la filière bananière suite à la perte des financements étasuniens.

## 4.3 Discussions

### 4.3.1. Détection moléculaire

Les méthodes de biologie moléculaire développées dans le cadre de ce travail ont permis de réaliser un premier état des lieux de la présence de la maladie dans le département de Cochabamba. Leur transposabilité en Bolivie a également été évaluée. Les discussions et conclusions assorties à ces expérimentations réalisées en laboratoire seront discutées ci-dessous :

1. Le protocole d'extraction mis au point semble permettre d'extraire de l'ADN de Foc et est transposable aux conditions boliviennes, celui-ci ayant été appliqué dans un laboratoire local.
2. Le mode opératoire d'optimisation des conditions PCR semble pertinent car il permet de mettre en évidence des témoins positifs de façon spécifique.

Cela prouve la nécessité d'optimiser les protocoles issus de la littérature scientifique afin de les adapter aux conditions matérielles du laboratoire voulant les appliquer. Il est nécessaire d'utiliser des témoins positifs pour réaliser toute mise au point.

L'approvisionnement en échantillons d'ADN de Foc peut s'avérer compliqué en Bolivie, cela pouvant retarder les investigations. Il faut que, dès maintenant, les instances étatiques, le service national de santé et de sécurité agricole (SENASAG, *Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad*) ou les universités du pays déploient une logistique d'approvisionnement du matériel nécessaire pour la réalisation de diagnostics de la maladie. Ces instances locales pourraient également établir une collaboration avec les instances internationales (telles que la FAO) apportant déjà du soutien à certains pays dans le cadre de la gestion de l'épidémie de la race 4.

3. La détection moléculaire sur les 27 échantillons d'ADN extrait de matériel végétal prélevé dans des pseudo-troncs de bananier n'a pas permis de mettre en évidence la race 1 et la race tropicale 4.

La race 1 de Foc est considérée comme étant celle qui a la plus haute probabilité de présence dans la zone d'étude, pour les raisons suivantes :

- La mention de sa présence sur le territoire bolivien dans plusieurs documents.<sup>25-27</sup>
- Le fait que presque la majorité des acteur.rices de la filière rencontrés sur le terrain affirmait que Foc était présent, ou du moins l'avait été durant toute une période, ayant même éradiqué presque toute la culture d'une variété locale appelée "Guineo".
- Le fait que les personnes de contact et participant.es à l'entretien suspectaient plusieurs parcelles d'être infectées par Foc car ils affirmaient y observer des symptômes propres au pathogène. Un.e des participant.es affirmant même que la présence de Foc avait été vérifiée sur une de ses parcelles par Mario Coca Morante via des prélèvements similaires à ceux réalisés dans ce travail et via la mise en culture du pathogène (résultats non-publiés).
- Le fait que la symptomatologie de Foc ait pu être observée sur certaines parcelles avec un haut niveau de certitude, comme cela était le cas, par exemple, sur la parcelle 10, cultivée avec des variétés de banane à frise susceptibles à la race 1 et pour laquelle la personne de

contact a confirmé le diagnostic. Les photos de la symptomatologie observée peuvent être consultées sur la carte : [Banano](#)

Dès lors, l'absence totale de positif pour la race 1 lors de la détection moléculaire est questionnable. La première hypothèse soulevée serait que Foc était bel et bien présent dans les bananiers ayant été prélevés, mais que le prélèvement, le transport, le stockage ou encore la détection moléculaire n'ont pas été réalisés de façon optimale. La deuxième hypothèse serait que Foc n'était pas présent et que le diagnostic réalisé par l'expérimentateur et les personnes de contact sur le terrain s'est avéré erroné.

Dans l'éventualité de la première hypothèse, l'explication la plus probable serait celle d'un prélèvement non optimal pour la race 1 pour les Cavendish. Selon Li et al.<sup>58</sup>, la race 1 de Foc pourrait rester confinée dans les racines des cultivars de Cavendish sans aller jusqu'à infecter le rhizome dans de bonnes conditions. De fait, certains facteurs abiotiques (ex: température, niveau d'inoculum, pH du sol, drainage du sol, etc) peuvent influencer le niveau d'infection du pathogène ou de résistance de la plante hôte.<sup>59,60</sup> Il serait dès lors préférable, lors de futurs prélèvements, de prélever des racines à la place ou en plus du prélèvement dans le pseudo-tronc. Des prélèvements de sol pourraient également être réalisés. Cette hypothèse ne permet cependant pas d'expliquer l'absence de positif pour des prélèvements de variétés susceptibles avec une observation de symptômes spécifiques dans le pseudo-tronc.

Dans l'éventualité de la seconde hypothèse, cela voudrait dire également que les gestionnaires de parcelles, les assistant.es techniques et les ouvrier.ères agricoles se battent contre une maladie qui n'est pas correctement diagnostiquée. En prenant en compte le fait que les symptômes de Foc semblent être confondus avec ceux de *Cosmopolites sordidus* et la pourriture bactérienne (*Xanthomonas vasicola* pv. *musacearum*).<sup>9</sup> Il serait alors judicieux de réaliser un diagnostic plus général afin d'identifier la maladie causant les ravages décrits par les personnes de contact et les interviewé.es.

En ce qui concerne la détection de la race 4, l'absence de positif ne sera pas remise en question dans le cadre de ce travail, car aucune preuve ne porte à penser que le pathogène pourrait se trouver sur le territoire. Cependant, une évaluation des risques d'introduction et de gestion des ces risques est souhaitable.

**4.** La méthodologie de séquençage et d'alignement réalisée permet de confirmer les résultats spécifiques et non-spécifiques issus des tests PCR et dès lors d'augmenter la certitude de la détection moléculaire.

Son utilisation en parallèle du mode opératoire de détection moléculaire est donc conseillée mais pas indispensable. Elle n'est pas facilement accessible pour la Bolivie dû au manque de structure fournissant ce type de service sur son territoire.

Sur base du mode opératoire de détection moléculaire développé, donnant des résultats performants sur des témoins, qui montrent la pertinence des mises au points faites, et appliqué sur 27 échantillons prélevés sur 10 parcelles à partir de pseudo-troncs de bananiers, il n'a pas été possible de mettre en évidence la race 1 ou la race tropicale 4 du *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Cela ne veut pas dire qu'il n'y en a pas, la vigilance est de mise. Etant donné que le Foc pourrait engendrer des problèmes économiques importants menant à la disparition du secteur de la banane d'exportation et de la culture alimentaire de banane à cuire, des prélèvements et des tests moléculaires systématiques, en appliquant



cette méthodologie sur une superficie plus importante pourraient être réalisés. La contrainte majeure relevée étant l'accès à des ressources financières et matérielles.

Il est conseillé de prélever des échantillons de racines et de sol, principalement lorsque les plantes sont asymptomatiques. Ensuite, il est conseillé d'optimiser les conditions PCR aux conditions du laboratoire.

## **4.3.2. Entretiens**

### **4.3.2.1. Freins**

Globalement, l'évaluation des connaissances des acteur.rices de la filière montre que celles-ci sont limitées et surtout insuffisantes pour réaliser un diagnostic complet de la maladie.

#### ***Symptômes, biologie, races, dispersion, méthodes de gestion***

Premièrement, afin de réaliser un diagnostic complet et d'identifier la maladie sur le terrain, les symptômes internes devraient être connus, sachant que ce sont les plus spécifiques à celle-ci.

De plus, on remarque que même les participant.es qui semblent être les mieux informé.es évoquent des symptômes qu'ils considèrent comme propres à Foc alors que ces derniers n'ont jamais été mentionnés dans la littérature scientifique comme correspondant à ce pathogène.

#### ***Évaluation de la présence de Foc dans la zone selon les participant.es***

Malgré le fait que l'absence de positifs pour la race 1 a été discutée, cela semble peu probable que cette race puisse induire une symptomatologie dévastatrice telle que celle décrite comme appartenant à Foc par les participant.es. Certain.es d'entre elleux allant jusqu'à mentionner l'abandon d'une partie des parcelles à cause de cette maladie. La race 1 peut certes affecter jusqu'à un certain degré les Cavendish,<sup>59,60</sup> en fonction de certains facteurs abiotiques, mais ce cultivar reste cependant résistant et ne peut pas présenter de symptômes aussi sévères. L'hypothèse soulevée serait donc que les acteur.rices se battent contre un stress biotique ou abiotique n'ayant pas été correctement diagnostiqué. Il serait dès lors nécessaire de réaliser un diagnostic plus général afin d'élucider la cause de ces maux.

Ceci met cependant en évidence, encore une fois, le manque de connaissances permettant de réaliser un diagnostic complet de Foc. Pourtant, la conception de programmes de prévention et de gestion de maladie efficaces et efficientes dépend de la compréhension des symptômes du pathogène étudié.<sup>61</sup> En conclusion, si cette maladie ne peut être diagnostiquée correctement, il est urgent, face à la menace de la TR4 aux frontières de la Bolivie, de former les acteur.rices au diagnostic ou de fournir de l'assistance technique spécialisée pour y arriver, comme cela a d'ailleurs été recommandé par plusieurs interviewé.es.

### **4.3.2.2. Leviers**

Même si les connaissances sondées ne sont pas suffisantes pour une prévention voire une gestion concrète de la maladie, il est important de souligner le potentiel évalué. De fait, ces connaissances, loin d'être nulles, sont suffisantes que pour initier des actions de sensibilisation au sein des parties prenantes de la filière et pour que le public cible soit intéressé et se sente concerné. Des efforts sont d'ailleurs déjà déployés. En effet, un.e des participant.es a signalé, après l'investigation, la mise en place d'un événement de sensibilisation à la maladie de Panama, avec les collaborateur.rices de son

entreprise d'exportation et en partenariat avec Mario Coca Morante (qui avait réalisé un travail sur ce pathogène dans la zone). Cela contredit cependant les observations de Perez-Vicente et al.<sup>4</sup> à propos de la faible perception de nombreuses parties prenantes sur l'impact potentiel de la race 4 dans les pays latino américains et caribéens, le contexte bolivien est donc différent.

De plus, suite à plusieurs années de lobbying, des parties prenantes auprès du gouvernement bolivien, un programme national axé sur la culture de la banane (*Programa Nacional del Banano*) a été mis en place en 2021 avec un investissement de 137 millions de bolivianos afin d'augmenter de 60% la production et l'exportation de cette ressource.<sup>48,62</sup> Cependant, il y a actuellement des tensions entre les représentants étatiques et les acteurs de la filière bananière, principalement représentés par UNIBAN. Ces derniers ayant rompu l'accord établi afin de faire entendre leurs revendications.<sup>62,63</sup> Plusieurs irrégularités sont pointées du doigt par UNIBAN : des financements n'étant pas alloués correctement, un manque de consultation des parties prenantes et des personnes cibles pour l'élaboration des objectifs du projet,<sup>63</sup> la désignation de fonctionnaires ignorant tout de la production de bananes, embauchés comme coordinateurs, superviseurs et techniciens.<sup>62</sup> "Nous voulons faire le programme pour notre bénéfice et non pour celui des techniciens et des directeurs qui sont au Fonadin, au Senasag (Service national de santé agricole et de sécurité alimentaire) et à l'Iniaf (Institut national d'innovation agricole et forestière). Peut-être, je ne sais pas, qu'ils s'emparent des ressources et les gaspillent"<sup>6</sup>, a d'ailleurs déclaré M. Rivas.<sup>62</sup>

#### ***Attentes - Craintes***

Les revendications pré-citées concordent avec les attentes des acteurs de la filière rapportées dans ce travail. Les craintes concernant, entre autres, l'introduction de cultivars résistants ont également été relevées dans la presse bolivienne.<sup>62</sup> Les associations de producteurs ayant peur de l'introduction de nouvelles maladies, ils ont exprimé la nécessité de travailler en coordination avec le Senasag et ont proposé que le budget alloué à l'importation de nouveaux cultivars soit plutôt utilisé pour améliorer le stock génétique existant et adapté aux conditions biotiques et abiotiques boliviennes.<sup>62</sup> Le manque de confiance en les institutions en charge de cette logistique est donc avéré.

Les résultats présentés dans le cadre de ce travail pourraient constituer une base de réflexion pour la mise en place d'une réforme de l'allocation des budgets des programmes de développement, afin que ceux-ci bénéficient de façon plus optimale aux personnes ciblées dans les lignes directrices des projets. Enfin, l'évolution des programmes de développement pourrait être guidée par une collaboration entre les instances étatiques et les personnes ciblées, afin de mettre en place des actions qui permettent de remplir efficacement les objectifs définis.

#### **4.3.2.3. Méthodologie**

Plusieurs points d'attention méritent d'être pris en compte concernant l'analyse des résultats obtenus via les entretiens semi-directifs.

Tout d'abord, il est important de considérer le fait que la population de répondants est faible comparée à la population totale d'acteurs de la filière bananière des tropiques de Cochabamba, même si celle-ci est représentative de leur diversité via la représentation de la majorité des professions exercées par ces acteurs. Les résultats obtenus suite aux entretiens ne peuvent donc pas être généralisés mais fournissent les tendances exprimées au sein de la population totale. Ces tendances sont néanmoins accentuées en ce qui concerne les attentes et les craintes des interviewés, car elles

---

<sup>6</sup> Traduit via DeepL <https://www.deepl.com/fr/translator>

ont pu être corroborées par de la littérature mettant en évidence les mêmes observations.

Ensuite, l'appréciation des résultats repose sur le jugement subjectif de l'expérimentateur.ice. De fait, dans le cadre de ce travail, l'évaluation des connaissances des participant.es a été réalisée selon le travail de Oyesigye et al.<sup>61</sup> avec des adaptations. Les critères de jugement retenus afin d'évaluer les connaissances étant la symptomatologie, les différentes races et les méthodes de gestion.<sup>61</sup> Avec une hiérarchisation de ce qui était "le plus important à connaître".

Finalement, la méthodologie semi-directive s'est avérée être la plus adaptée dans le cadre de ce travail. Une méthodologie plus directive n'aurait pas laissé de place pour les discussions concernant les attentes et les craintes des participant.es. Cela s'est avéré vrai dans d'autres études sociologiques réalisées de façon semi-directive.<sup>64,65</sup>

### **4.3.3. Discussion générale et conseils de gestion**

Ce travail s'est réalisé en deux temps: la détection moléculaire et la réalisation d'entretiens. La détection est pragmatique et objective tandis que la réalisation des entretiens est plus humaine et subjective. Pourtant, ces deux parties sont complémentaires. Ensemble, elles ont permis de représenter l'entièreté du système bananier du département de Cochabamba, en prenant Foc comme problématique principale. Cela a été réalisé dans le but de fournir des conseils de gestion en adéquations avec les réalités de ce système.

L'état des lieux réalisé par le biais de ce travail est un conseil de gestion en tant que tel, puisqu'il est une base de travail pour les personnes cibles pour se rendre compte de la situation d'occurrence et de connaissances de Foc. Il représente donc un outil d'aide à la décision pour les acteur.rices de la filière bananière de la zone mais également pour les instances étatiques boliviennes.

Plusieurs conseils concrets ont également été formulés et sont résumés ci-dessous.

- Réaliser une analyse de risque d'introduction afin d'évaluer la menace et pouvoir mettre en place des mesures adéquates.
- Étendre les méthodes de détection développées sur une plus grande surface, en optimisant la méthodologie aux conditions locales et en réalisant des prélèvements racinaires ou de sol, en plus des prélèvements vasculaires.
- Former les acteur.rices de la filière au diagnostic de terrain ou fournir l'assistance technique nécessaire pour la réalisation de cette tâche.
- Ces deux derniers points vont de pair avec la mise en place de logistiques d'approvisionnement de matériel et d'allocation des budgets nécessaires à leur réalisation.
- Demander de l'aide aux instances internationales spécialisées dans le travail de gestion de Foc. La collaboration internationale étant essentielle.<sup>21</sup>
- Réformer l'allocation des budgets des programmes de développement, afin que ceux-ci bénéficient de façon plus optimale aux personnes ciblées dans les lignes directrices desdits projets.
- Faire évoluer les programmes de développement pour qu'ils soient guidés par une collaboration entre les instances étatiques et les personnes ciblées, afin de mettre en place des actions qui permettent de remplir efficacement les objectifs définis.

## 5. Conclusions et perspectives

La banane est d'une importance insoupçonnée pour la Bolivie : elle représente une ressource alimentaire indispensable, un secteur économique d'exportation florissant et une culture alternative à la culture illégale de feuilles de coca. Malheureusement, la banane bolivienne est menacée par l'un des champignons les plus agressifs et destructeurs de l'histoire de l'agriculture : *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.<sup>22-24</sup> Les seules méthodes de prévention et de gestion actuelles et efficaces sont la détection précoce et la mise au point de cultivars résistants.<sup>19-21</sup> Cependant, aucune de ces méthodes n'est encore appliquée ni étudiée sur place. Le présent travail a vu le jour dans ce contexte. Son objectif étant de développer une méthodologie de détection permettant de réaliser un premier état des lieux de la présence de la maladie dans la principale zone productrice de bananes d'exportation, les tropiques du département de Cochabamba. Le but étant, également, d'évaluer si ces méthodes sont transposables et reproductibles en Bolivie. De manière à avoir une vision globale de la situation bolivienne, des entretiens semi-directifs ont également été réalisés. Les entretiens avaient pour but d'évaluer les connaissances des acteur.rices de la filière bananière sur la maladie et sur sa gestion, ainsi que leurs attentes et craintes concernant le futur de cette filière. Grâce à cette évaluation, les leviers et freins qui peuvent être actionnés dans une optique de prévention et de gestion de la maladie sont connus.

Les conclusions tirées à l'issue de ce travail sont les suivantes :

- La méthodologie développée pour l'extraction d'ADN à partir d'échantillons de systèmes vasculaires de bananier fonctionne et est transposable en Bolivie.
- L'optimisation des protocoles est pertinente avant leur application dans un nouveau contexte.
- La race 1 et la race tropicale 4 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* n'ont pas pu être mises en évidence via la détection PCR réalisée sur les 27 échantillons d'ADN prélevés à partir de pseudo-tronc de bananiers provenant de 10 parcelles.
- Les connaissances des acteur.rices de la filière bananière ne sont pas suffisantes pour réaliser un diagnostic de terrain fiable. Cependant, les connaissances ne sont pas nulles, le potentiel pour la mise en place de mesures de prévention que les personnes cibles pourront intégrer rapidement est grand. Des actions sont d'ailleurs déjà mises en place, via la revendication des acteur.rices. Iels réclament plus de considération des instances étatiques dans les programmes qu'iels élaborent et dont iels devraient être les premier.ères bénéficiaires. Mais encore, des actions de sensibilisation pour les parties prenantes sont également réalisées.

Ce travail, replacé dans le cadre d'une recherche, a permis de montrer l'application d'outils de détection développés par la recherche scientifique dans un cas concret de détection d'un phytopathogène sur un territoire défini. Il a également prouvé que des amorces mises au point pour la réalisation de PCR quantitative peuvent être adaptées facilement à des conditions PCR conventionnelles, ce qui augmente le champ d'application des dites amorces. Il permet aussi de montrer l'intérêt de combiner des outils pragmatiques, tels que la détection, avec des outils sociologiques plus humains, comme les entretiens semi-directifs, dans l'évaluation des leviers et des freins à l'implémentation de méthodes de prévention et de gestion d'un agent de quarantaine. Ce travail peut donc servir de base de travail lors de l'étude d'un cas similaire dans un autre pays.

Finalement, une dernière perspective de ce travail pourrait être de sonder d'autres techniques de diagnostic telles que la qPCR, permettant d'avoir un résultat quantitatif offrant de meilleures performances en termes de sensibilité, de rapidité et de spécificité, qui sont essentielles pour la

détection d'agents phytopathogènes.<sup>54</sup> Les méthodes LAMP s'avèrent également intéressantes, surtout via leur application directement en champ à partir de matériel végétal frais, et pouvant donc être pertinentes pour réaliser de la détection précoce. Par ailleurs, leur faible nécessité en équipement les rend peu coûteuses et très accessibles.<sup>54,66</sup> De plus, ces dernières pourraient être adaptées au contexte bolivien, sachant que les équipements requis y sont déjà présents.

## 6. Bibliographie

- (1) Lassois, L.; Busogoro, J. P.; Jijakli, H. La Banane : De Son Origine à Sa Commercialisation. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. January 1, 2009, pp 575–586.
- (2) *Global leading producers of bananas 2020*. Statista. <https://www.statista.com/statistics/811243/leading-banana-producing-countries/> (accessed 2022-06-25).
- (3) *Banana Facts and Figures*. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/economic/est/est-commodities/oilcrops/bananas/bananafacts/en/#.YrdETnZBw2w> (accessed 2022-06-25).
- (4) Pérez-Vicente, L. F.; Dita, M.; Parte, E. Technical Manual Prevention and Diagnostic of *Fusarium Wilt* (Panama Disease) of Banana Caused by *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Tropical Race 4 (TR4); Trinidad and Tobago, 2014.
- (5) Voora, V.; Larrea, C.; Bermudez, S. Global Market Report: Bananas, 2020.
- (6) CEPROBOL - Centro de Promoción Bolivia. Bananas o plátano frescos - Perfil sectorial, 2014.
- (7) FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Banana Market Review -Preliminary Results 2021*; Rome, 2022; p 20.
- (8) *Diseases of Banana, Abacá, and Enset*; Jones, D. R., Ed.; CABI Pub: Wallingford, Oxon, UK ; New York, 1999.
- (9) Viljoen, A.; Mahuku, G.; Massawe, C.; Ssali, R. T.; Kimunye, J.; Mostert, G.; Ndayihanzamaso, P.; Coyne, D. L. Banana Diseases and Pests: Field Guide for Diagnostics and Data Collection, 2016.
- (10) Castillo-Arévalo, T.; Jiménez-Martínez, E. Incidencia y severidad de enfermedades asociadas al cultivo de plátano (*Musa paradisiaca* L.) en Rivas, Nicaragua. *La Calera* 2020, 20 (35). <https://doi.org/10.5377/calera.v20i35.10319>.
- (11) *Fusarium oxysporum* f. *cubense* (E.F.Sm.) W.C.Snyder & H.N.Hansen, 1940. Inventaire National du Patrimoine Naturel. [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/936983](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/936983) (accessed 2022-08-14).
- (12) Jayatri, H.; Sumardiyono, C.; Wibowo, A. Race and Virulence Determination of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Isolates from Sidomulyo Village of Bantul, Yogyakarta. *J. Perlindungan Tanam. Indones.* 2018, 22, 72. <https://doi.org/10.22146/jpti.26283>.
- (13) Carvalhais, L. C.; Henderson, J.; Rincon-Florez, V. A.; O'Dwyer, C.; Cziślowski, E.; Aitken, E. A. B.; Drenth, A. Molecular Diagnostics of Banana Fusarium Wilt Targeting Secreted-in-Xylem Genes. *Front. Plant Sci.* 2019, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00547>.
- (14) Lin, Y.-H.; Su, C.-C.; Chao, C.-P.; Chen, C.-Y.; Chang, C.-J.; Huang, J.-W.; Chang, P.-F. L. A Molecular Diagnosis Method Using Real-Time PCR for Quantification and Detection of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Race 4. *Eur. J. Plant Pathol.* 2013, 135 (2), 395–405. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0096-0>.
- (15) Lassoudière, A. *Le bananier et sa culture*; Savoir faire; Éd. Quae: Versailles, 2007.
- (16) *What is Fusarium Tropical Race 4? - TR4 Basics | TR4 Global Network*. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/tr4gn/tr4-basics/en/>

(accessed 2022-06-23).

- (17) Torres Bedoya, E.; Bebbler, D. P.; Studholme, D. J. Taxonomic Revision of the Banana *Fusarium Wilt* TR4 Pathogen Is Premature. *Phytopathology*® 2021, *111* (12), 2141–2145. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-21-0089-LE>.
- (18) Lassoudière, A. *Le Bananier : Un Siècle d'innovations Techniques*; Éditions Quae, 2012.
- (19) Varma, V.; Bebbler, D. P. Climate Change Impacts on Banana Yields around the World. *Nat. Clim. Change* 2019, *9* (10), 752–757. <https://doi.org/10.1038/s41558-019-0559-9>.
- (20) Lin, Y.-H.; Chang, J.-Y.; Liu, E.-T.; Chao, C.-P.; Huang, J.-W.; Chang, P.-F. L. Development of a Molecular Marker for Specific Detection of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Race 4. *Eur. J. Plant Pathol.* 2009, *123* (3), 353–365. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9372-4>.
- (21) TR4 Global Network. Together, We Can Prevent the Spread of Tropical Race 4 (TR4), 2020.
- (22) Bragard, C.; Baptista, P.; Chatzivassiliou, E.; Di Serio, F.; Gonthier, P.; Jaques Miret, J. A.; Justesen, A. F.; MacLeod, A.; Magnusson, C. S.; Milonas, P.; Navas-Cortes, J. A.; Parnell, S.; Potting, R.; Stefani, E.; Thulke, H.-H.; Van der Werf, W.; Civera, A. V.; Yuen, J.; Zappalà, L.; Migheli, Q.; Vloutoglou, I.; Maiorano, A.; Streissl, F.; Reignault, P. L. Pest Categorisation of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Tropical Race 4. *EFSA J.* 2022, *20* (1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7092>.
- (23) Olivares, B.; Lobo Luján, D.; Navas Cortés, J.; Landa, B.; Rey, J. C.; Gómez, J. *Fusarium Wilt* of Bananas: A Review of Agro-Environmental Factors in the Venezuelan Production System Affecting Its Development. *Agronomy* 2021, *11*, 1–24. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050986>.
- (24) *Latest Pest Reports - Detección de Fusarium oxysporum f.sp. cubense Raza 4 Tropical - Foc R4T*. International Plant Protection Convention - IPPC. <https://www.ippc.int/en/countries/peru/pestreports/2021/04/deteccion-de-fusarium-oxysporum-f-sp-cubense-raza-4-tropical-foc-r4t/> (accessed 2022-08-06).
- (25) Vargas Ramírez, A. V. Las exportaciones del banano en el desarrollo productivo de Bolivia; 1998-2017, UMSA - Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia, 2019.
- (26) Gerónimo Fernández, G.; Aguirre Villarroel, J. G. *Conocimientos locales del cultivo del plátano y banano*; Universidad Mayor de San Simón - Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias: Bolivia, 2018.
- (27) Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras; Observatorio Agroambiental y Productivo. *Compendio agropecuario 2012*; La Paz, Bolivia, 2012.
- (28) Aguilar-Hawod, K. G. I.; de la Cueva, F. M.; Cumagun, C. J. R. Genetic Diversity of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Causing Panama Wilt of Banana in the Philippines. *Pathogens* 2020, *9* (1), 32. <https://doi.org/10.3390/pathogens9010032>.
- (29) Mendoza, F.; Aguilera, J. m. Application of Image Analysis for Classification of Ripening Bananas. *J. Food Sci.* 2004, *69* (9), E471–E477. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09932.x>.
- (30) Mohapatra, D.; Mishra, S.; Sutar, N. Banana and Its By-Product Utilisation: An Overview. *J. Sci. Ind. Res.* 2010, *69*, 323–329.

- (31) *Which Country Eats the Most Bananas?*. Heigli Library. <https://www.heliglibrary.com/charts/which-country-eats-the-most-bananas> (accessed 2022-06-25).
- (32) Matthews, M. C.; Mostert, D.; Ndayihanzamaso, P.; Rose, L. J.; Viljoen, A. Quantitative Detection of Economically Important *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Strains in Africa in Plants, Soil and Water. *PLoS One* 2020, 15 (7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236110>.
- (33) *Bananas*. FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/bananas/en/> (accessed 2022-06-23).
- (34) Chittarath, K.; Nguyen, C. H.; Bailey, W. C.; Zheng, S.-J.; Mostert, D.; Viljoen, A.; Tazuba, A. F.; Ocimati, W.; Kearsley, E.; Chi, T. Y.; Tho, N. T.; Hung, N. T.; Dita, M.; Shah, T.; Karanja, M.; Mahuku, G.; Blomme, G. Geographical Distribution and Genetic Diversity of the Banana *Fusarium Wilt* Fungus in Laos and Vietnam. *J. Fungi* 2022, 8 (1), 46. <https://doi.org/10.3390/jof8010046>.
- (35) Zhang, X.; Zhang, H.; Pu, J.; Qi, Y.; Yu, Q.; Xie, Y.; Peng, J. Development of a Real-Time Fluorescence Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid and Quantitative Detection of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Tropical Race 4 In Soil. *PLoS One* 2013, 8 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082841>.
- (36) Dita, M.; Waalwijk, C.; Buddenhagen, I.; Souza Junior, M.; Kema, G. A Molecular Diagnostic for Tropical Race 4 of the Banana. *Plant Pathol.* 2010, 59(2), 348–357.
- (37) Meldrum, R. A.; Daly, A. M.; Tran-Nguyen, L. T. T.; Aitken, E. A. B. Are Banana Weevil Borers a Vector in Spreading *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Tropical Race 4 in Banana Plantations? *Australas. Plant Pathol.* 2013, 42 (5), 543–549. <https://doi.org/10.1007/s13313-013-0214-2>.
- (38) *Cosmopolites sordidus* (Germar, 1823). Inventaire National du Patrimoine Naturel. [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/328477](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/328477) (accessed 2022-08-15).
- (39) Maymon, M.; Sela, N.; Shpatz, U.; Galpaz, N.; Freeman, S. The Origin and Current Situation of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Tropical Race 4 in Israel and the Middle East. *Sci. Rep.* 2020, 10, 1590. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58378-9>.
- (40) Olivares, B.; Lobo Luján, D.; Navas Cortés, J.; Landa, B.; Rey, J. C.; Gómez, J. *Fusarium Wilt* of Bananas: A Review of Agro-Environmental Factors in the Venezuelan Production System Affecting Its Development. *Agronomy* 2021, 11, 1–24. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050986>.
- (41) Bortolini, N. G. Post-Harvest Application of Gibberelic Acid as a Retarding Agent of Ripening Banana from the Tropic of Cochabamba. *Sci. Technol. Public Policy* 2022, 6 (1), 37. <https://doi.org/10.11648/j.stpp.20220601.15>.
- (42) Producción y Exportación de Plátano Batió Récord En 2016 En Bolivia. *Banano Tecnia - El Portal Técnico del Banano*, 2017.
- (43) Bolivia aumentó la producción y exportación de plátano y banano | Noticias Agropecuarias. *El Productor - El Periódico del campo*, 2017.
- (44) *Trópico de Cochabamba, Referente de Alta Calidad En Banano de Exportación | Programa 20 (5° Ciclo)*; 2018.



- (45) Soliz Salinas, S. A. Análisis de La Cadena de Banano, 2002.
- (46) Olivares, S. *Preven subir en 49% las ventas de banano*. La Razón | Noticias de Bolivia y el Mundo. <https://www.la-razon.com/financiero/2021/08/22/preven-subir-en-49-las-ventas-de-banano/> (accessed 2022-08-05).
- (47) Introducción. *Instituto Nacional de Estadísticas - Bolivia*.
- (48) Crean Programa del Banano para subir rendimiento en 60%. *Los Tiempos*. August 23, 2021.
- (49) W. Ramiro Villarpando. Plan Departamental de Gestion de Riesgos y Resiliencia al Cambio Climatico, 2014.
- (50) Carmichael, J. W. Viability of Mold Cultures Stored at — 20° C. *Mycologia* 1962, 54 (4), 432–436. <https://doi.org/10.1080/00275514.1962.12025019>.
- (51) Espinel-Ingroff, A.; Montero, D.; Martin-Mazuelos, E. Long-Term Preservation of Fungal Isolates in Commercially Prepared Cryogenic Microbank Vials. *J. Clin. Microbiol.* 2004, 42 (3), 1257–1259. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.3.1257-1259.2004>.
- (52) Brandfass, C.; Karlovsky, P. Upscaled CTAB-Based DNA Extraction and Real-Time PCR Assays for *Fusarium Culmorum* and *F. Graminearum* DNA in Plant Material with Reduced Sampling Error. *Int. J. Mol. Sci.* 2008, 9 (11), 2306–2321. <https://doi.org/10.3390/ijms9112306>.
- (53) Toju, H.; Tanabe, A. S.; Yamamoto, S.; Sato, H. High-Coverage ITS Primers for the DNA-Based Identification of Ascomycetes and Basidiomycetes in Environmental Samples. *PLOS ONE* 2012, 7 (7), e40863. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040863>.
- (54) Aguayo, J.; Mostert, D.; Fourrier-Jeandel, C.; Cerf-Wendling, I.; Hostachy, B.; Viljoen, A.; Ios, R. Development of a Hydrolysis Probe-Based Real-Time Assay for the Detection of Tropical Strains of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Race 4. *PloS One* 2017, 12 (2), e0171767. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171767>.
- (55) Pillonetto, M.; Arend, L. N.; Faoro, H.; D’Espindula, H. R. S.; Blom, J.; Smits, T. H. M.; Mira, M. T.; Rezzonico, F. 2018. Emended Description of the Genus *Phytobacter*, Its Type Species *Phytobacter Diazotrophicus* (Zhang 2008) and Description of *Phytobacter Ursingii* Sp. Nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018, 68 (1), 176–184. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002477>.
- (56) Madhaiyan, M.; Saravanan, V. S.; Blom, J.; Smits, T. H. M.; Rezzonico, F.; Kim, S.-J.; Weon, H.-Y.; Kwon, S.-W.; Whitman, W. B.; Ji, L. 2020. *Phytobacter Palmae* Sp. Nov., a Novel Endophytic, N2 Fixing, Plant Growth Promoting Gammaproteobacterium Isolated from Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2020, 70 (2), 841–848. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003834>.
- (57) Osei, R.; Yang, C.; Cui, L.; Ma, T.; Li, Z.; Boamah, S. Isolation, Identification, and Pathogenicity of *Lelliottia Amnigena* Causing Soft Rot of Potato Tuber in China. *Microb. Pathog.* 2022, 164, 105441. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105441>.
- (58) Li, C.; Yang, J.; Li, W.; Sun, J.; Peng, M. Direct Root Penetration and Rhizome Vascular Colonization by *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* Are the Key Steps in the Successful Infection of Brazil Cavendish. *Plant Dis.* 2017, 101 (12), 2073–2078. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0467-RE>.
- (59) Stover, R. H.; Malo, S. E. Occurrence of Fusarial Wilt in Normally Resistant Dwarf Cavendish

Banana. *Plant Dis. Report*. 1972.

- (60) Brake, V. m; Irwin, J. a. g; Pegg, K. g; Chaseling, J. The Influence of Temperature, Inoculum Level and Race of *Fusarium Oxysporum* f. Sp. *Cubense* on the Disease Reaction of Banana Cv. Cavendish. *Aust. J. Agric. Res.* 1995.
- (61) Elias, O.; William, T.; Georgina, K.; Wacal, C. Distribution and Farmers Knowledge on Fusarium Wilt (Race 1) in Cropping Systems of Uganda. *Afr. J. Plant Sci.* 2021, 15 (11), 277–287. <https://doi.org/10.5897/AJPS2021.2193>.
- (62) Bananeros rompen convenio con Ejecutivo y denuncian sobreprecios. *Los Tiempos*. July 29, 2022.
- (63) Bananeros resuelven disolver convenio con el Gobierno. *El Diario - Bolivia*. July 31, 2022.
- (64) Huntington, H. P. Observations on the Utility of the Semi-Directive Interview for Documenting Traditional Ecological Knowledge. *Arctic* 1998, 51 (3), 237–242.
- (65) Imbert, G. L’entretien semi-directif : à la frontière de la santé publique et de l’anthropologie. *Rech. Soins Infirm.* 2010, 102 (3), 23–34. <https://doi.org/10.3917/rsi.102.0023>.
- (66) Hariharan, G.; Prasannath, K. Recent Advances in Molecular Diagnostics of Fungal Plant Pathogens: A Mini Review. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021, 10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.600234>.

## 7. Annexes

### Annexe 1 : Guide d'entretien semi-directif



## QUESTIONNAIRE - BANANO

### Introduction

- 1) **Se présenter :**  
Clara Lhoest, étudiante belge en agronomie qui fait son travail de fin d'études au centre de bio et nanotechnologie de l'université San Simon (Cochabamba).
- 2) **Cadre de l'étude :** Contribution à l'identification des différentes races de Fusarium Wilt. dans les systèmes bananiers des tropiques de Cochabamba (Bolivie) et conseils de gestion.
- 3) **Présenter le rôle de la personne interviewée dans l'étude**
- 4) **Préciser que les résultats peuvent être envoyés/consultés**
- 5) **Demander l'accord :** pour répondre, pour être contacté à nouveau à l'avenir, pour qu'on revienne sur sa parcelle, pour qu'on récolte du matériel végétal sur sa parcelle, pour que les coordonnées géographiques de sa parcelle ainsi que les photos prises sur celle-ci se retrouvent sur une carte en libre accès.
- 6) **Demander pour enregistrer :** garantir l'anonymat et la destruction de l'enregistrement après retranscription des notes
- 7) **Préciser que s'ils ne veulent pas répondre à certaines questions ils sont libres de le signaler**
- 8) **Remerciements**

### Sociodémographie

**NOM du/de la gestionnaire :**

**RÔLE dans l'exploitation :**

**AGE :** 0-25    26-50    51-75    76-100

**Genre :** M / F / non défini

**Niveau d'ÉTUDES :** 1. Pas d'éducation    2. Primaire    3. Secondaire    4. Supérieur  
(Universitaire/Autre)    5. Autre

**Depuis combien de TEMPS iel TRAVAILLE dans la banane :**

**FONCTIONS PRÉCÉDENTES :**

### Maladie de Panama

#### CONNAISSANCES SUR LA MALADIE

Est-ce que vous connaissez la maladie "MAL DE PANAMA"?

Est-ce que vous connaissez la DIFFÉRENCE ENTRE LES RACES R1, R2, R4, TR4 ET ST4?

Est-ce que vous connaissez la race TROPICAL 4 :

**QUE SAVEZ-VOUS SUR CETTE MALADIE :** mode de dispersion, cycle biologique, ...

#### SYMPTÔMES

Est-ce que vous reconnaissez ces symptômes : ajouter photos symptômes

Si oui, quand les avez-vous observés sur votre parcelle?

## QUESTIONNAIRE - BANANO

### DÉGÂTS + GESTION

QUANTIFIER et QUALIFIER les pertes?

Comment GÉREZ-vous cette maladie?

### RÉSISTANCES/VARIÉTÉS

VARIÉTÉS UTILISÉES	
CARACTÉRISTIQUES	
DISPOSITION	séparées      mélangées
PROPORTIONS RELATIVES	
POURQUOI?	
RÉSISTANCES	

Est-ce que vous seriez prêt à **PLANTER UNE NOUVELLE VARIÉTÉ RÉSISTANTE À LA TR4**? Pourquoi?

Si je vous dis que la T4 peut ravager toute votre production et que la seule solution c'est de trouver une nouvelle variété résistante, vous restez sur votre position?

Qu'est-ce que vous ferez si la production de bananes venait à être décimée dans la zone?

Que faire pour **AMÉLIORER LA GESTION** de Fusarium et **PRÉVENIR L'ENTRÉE DE TR4** sur le territoire ?

### Bioagresseurs

**FORMATION** sur la gestion des bioagresseurs :    oui    non

**TYPE** de formation :

## QUESTIONNAIRE - BANANO

### PRINCIPAUX PROBLÈMES rencontrés dans la production de bananes :

1. Manque d'encadrement
2. Dégâts de bioagresseurs
3. Dégâts climatiques
4. Appauvrissement des sols
5. Manque d'intrants spécifiques
6. Autres

### Les BIOAGRESSEURS les PLUS PROBLÉMATIQUES :

#### Qualifier/Quantifier les PERTES :

types de dégâts remarqué  
à combien s'élève les pertes

#### GESTION DES BIOAGRESSEURS :

Contrôle chimique (extraits botaniques, biopesticides,...) → (nature, produit, quantité, fréquence)

Contrôle biologique

Contrôle physique

Pratiques culturales (prophylaxie/pendant/post) → Est-ce qu'ils DÉSINFECTENT leur matériel sur le terrain ? Est-ce qu'ils défeuillent ou taille ? Fréquence, comment ? Est-ce qu'ils DÉSHÉBENT ? Est-ce qu'ils laissent le matériel végétal mort au sol ou est-ce qu'ils l'évacuent?

PROGRÈS GÉNÉTIQUE

MATÉRIEL DE PLANTATION (nature/origine/vitroplants)

SURVEILLANCE (fréquence, comment?, par qui?)

AVERTISSEMENT (communication /e/ producteurs?)

#### EVOLUTION dans la gestion depuis 10 ans :

#### Que faire pour AMÉLIORER LA GESTION ET LA PRODUCTION:

### Exploitation

**TAILLE** de la parcelle de banane ha :

**DENSITÉ** de population  $p/m^2$  :

**PAYSAGES** environnants/**voisinage** : route? forêt ? production de bananes dans les parcelles voisines ? et sous quelles conditions ?

**Nombre de PERSONNES** qui y travaille :

rôles :

nombre de personnes par rôle :

## QUESTIONNAIRE - BANANO

**STATUT de la parcelle :** 1. Location 2. Héritage 3. Achat

**SYSTÈME DE CULTURE :** monoculture cultures mélangées (?) → d'autres cultures que la banane? Si oui, cultures qu'on retrouve et leur importances relatives

**Pourquoi ce système :**

**HISTORIQUE de la parcelle :**

**FLORE ASSOCIÉE :** autres espèces de cultures dominantes rencontrées dans le, ou aux alentours du site de collecte, plantes sauvages → réservoirs? , qualitatif/quantitatif

### Systeme de culture de la banane

**ROTATIONS :** espèces, années, intérêt

**Voies de COMMERCIALISATION :** directe marché local exportation (formel/informel)

**COOPÉRATIVE ou pas :** (+ infos sur la coopérative, comment ça fonctionne, qu'est-ce que ça leur apporte, ...)

**Calendrier périodes + PRATIQUES culturelles :**

plantation, croissance, récolte, jachère

travail du sol engrais (oui/non, nature, produit, quantité, fréquence)

irrigation / drainage

gestion des mauvaises herbes entretien

### Economie

**RENDEMENT :**

**BÉNÉFICES :**

**UNITÉ DE VENTE :**

### Identification - Localisation - Climat - Géomorphologie

#### Identification - Localisation

N° du site		Département/District	
------------	--	----------------------	--

## QUESTIONNAIRE - BANANO

Date		Latitude	
Pays		Longitude	
Province/État		Altitude	

### Climat

Précipitations mm/an	
Saisons	
t° annuelle min °C	
t° annuelle max °C	
t° annuelle moyenne °C	
humidité relative moyenne %	
vent	

**Géomorphologie :**

1. Plaine 2. Bassin 3. Vallée 4. Plateau 5. Hautes terres 6. Colline 7. Montagne

**Type de sol :**

**Q? sur la questionnaire**

Qu'est-ce que vous aimeriez que je vous apporte en échange de vos connaissances. Est-ce que vous attendez quelque chose de ma part?

Qu'est-ce qui pourrait-être amélioré dans mon questionnaire ?

**Q supp?**

## ENCUESTA - BANANO

### Introducción

1) **Presentación :**

Clara Lhoest, estudiante belga de agronomía que realiza su tesis de fin de estudios en el centro de biotecnología y nanotecnología de la Universidad de San Simón (Cochabamba, Bolivia).

2) **Tema de la tesis :** Contribución a la identificación de las diferentes razas del mal de Panamá en los sistemas bananeros del trópico de Cochabamba (Bolivia) y consejos de manejo

3) **Explicar el rol del/de la entrevistado/a en el estudio**

4) **Especificar que los resultados pueden ser enviados/vistos**

5) **Preguntar si está de acuerdo en :** responder, que le contacte de nuevo, que vuelva, que recoja material vegetal en la parcela, que las coordenadas geográficas de su parcela, así como las fotos tomadas en ella, se coloquen en un mapa de libre acceso

6) **Solicitud de grabación:** garantizar el anonimato y la destrucción de la grabación después de transcribir las notas

7) **Aclarar que si no quieren responder a ciertas preguntas son libres de decirlo**

8) **Agradecimientos**

### Sociodemografía

**NOMBRE del/de la gestor/a:**

**ROL en la explotación:**

**EDAD:** 0-25      26-50      51-75      76-100

**Género:** M      F      indefinido

**Nivel de EDUCACIÓN:** 1. No hay educación      2. Primaria      3. Secundaria

4. Superior (Académico/Otro)      5. Otros

**¿Cuánto TIEMPO lleva TRABAJANDO en la industria del banano?**

**FUNCIONES ANTERIORES:**

### Mal de Panama

**CONOCIMIENTOS**

¿Conoce la enfermedad "**MAL DE PANAMÁ**"?

¿Conoce la **DIFERENCIA ENTRE LAS RAZAS R1, R2, R4, TR4 Y ST4?**

¿Conoce la raza **TROPICAL 4** :

¿**QUÉ SABE DE ESTA ENFERMEDAD** : cómo se propaga, ciclo de vida, ...

**SINTOMAS**

Reconoce estos síntomas: añada fotos de los síntomas

Si es afirmativo ¿cuándo los observó en su parcela?

**DAÑOS + GESTIÓN**

¿**CUANTIFICAR Y CALIFICAR** las **PÉRDIDAS?**



## ENCUESTA - BANANO

¿Cómo **GESTIONA** esta enfermedad?

### RESISTENCIAS/VARIEDADES

<b>VARIEDADES UTILIZADAS</b>	
<b>CARACTERÍSTICAS</b>	
<b>DISPOSICIÓN</b>	separación      mezcla
<b>PROPORCIONES RELATIVAS</b>	
<b>POR QUE?</b>	
<b>RESISTENCIAS</b>	

¿Estaría **DISPUESTO A PLANTAR UNA NUEVA VARIEDAD RESISTENTE A LA TR4?** ¿Por qué o por qué no?

Si le digo que la T4 puede arrasar toda su producción y que la única solución es encontrar una nueva variedad resistente, ¿se mantendrá firme?

¿Qué hará si la producción de bananos/ plátanos desaparece en la zona?

¿Qué se puede hacer para **MEJORAR LA GESTIÓN** del Fusarium y **EVITAR LA ENTRADA** de la **T4**?

### **Plagas y enfermedades**

**FORMACIÓN** sobre la gestión de plagas y enfermedades :    sí    no

**TIPO** de formación :

**PRINCIPALES PROBLEMAS** encontrados en la producción de bananos :

1. Falta de supervisión
2. Daños por plagas y enfermedades
3. Daños climáticos
4. Agotamiento del suelo
5. Falta de fertilizantes específicos
6. Otros

## ENCUESTA - BANANO

Las **PLAGAS** y **ENFERMEDADES MÁS PROBLEMÁTICAS**:

Calificar/cuantificar las **PÉRDIDAS**: tipos de daños observados      cuánto se pierde

### GESTIÓN DE PLAGAS :

Control químico (extractos botánicos, biopesticidas,...) → (naturaleza, producto, cantidad, frecuencia)

Control biológico

Control físico

Prácticas culturales (profilaxis/durante/post) → ¿DESINFECTAN su equipo en el campo?

Frecuencia, ¿cómo? ¿DESMALEZAMIENTO/DESHIERBE?

¿Dejan el material vegetal muerto en el suelo o se deshacen de él?

PROGRESO GENÉTICO

MATERIAL DE PLANTACIÓN (naturaleza/origen/vitroplantas)

CONTROL/MONITORIZACIÓN/SEGUIMIENTO (frecuencia, ¿cómo?, ¿por quién?)

ADVERTENCIA (¿comunicación /e/ productores?)

**EVOLUCIÓN** de la gestión en los últimos 10 años:

Qué hacer para **MEJORAR** la **GESTIÓN** y la **PRODUCCIÓN** en general:

## Explotacion

**TAMAÑO** de la parcela de bananos ha:

**DENSIDAD** de población p/m<sup>2</sup>:

**PAISAJES** circundantes/**vecinos**: ¿carretera? ¿bosque? ¿producción de bananos en parcelas vecinas? ¿en qué condiciones?

Cuántas **PERSONAS** están trabajando en la explotación:

ocupaciones/funciones:

Cuántas **personas** por ocupación:

**ESTADO** de la parcela:      1. Alquilada      2. Herencia      3.Comprada

**SISTEMA DE CULTIVO**: monocultivo/cultivos mixtos (?) → ¿otros cultivos además del banano? En caso afirmativo, ¿qué cultivos y sus importancias relativas?

¿Por qué este sistema?:

**HISTORIA** de la parcela:

**FLORA ASOCIADA**: otras especies de cultivos dominantes que se encuentran en el lugar de recogida o en sus alrededores, plantas silvestres → ¿embalses? cualitativo/cuantitativo

## ENCUESTA - BANANO

### Sistema de cultivo

**ROTACIONES:** especies, temporalidad, interés

**Canales de COMERCIALIZACIÓN:** directo mercado local exportación (formal/informal)

**COOPERATIVA o no:** (+ información sobre la cooperativa, cómo funciona, qué les aporta, ...)

**Períodos + PRÁCTICAS de cultivo :**

siembra, crecimiento, cosecha, barbecho

LABRANZA fertilizante, enmiendas/abono (sí/no, naturaleza, producto, cantidad, frecuencia) RIEGO

DRENAJE gestión de las malas hierbas (malezas) mantenimiento

### Economía

**RENDIMIENTO :**

**BENEFICIOS:**

**UNIDAD DE VENTA:**

### Identificación - Ubicación - Clima - Geomorfología

#### Identificación - Ubicación

Número del sitio		Departamento/ Distrito	
Fecha		Latitud	
País		Longitud	
Provincia /Estado		Altitud	

#### Clima

Precipitación mm/año	
Estaciones	

## ENCUESTA - BANANO

t° mínima anual °C	
t° máxima anual °C	
t° media anual °C	
humedad relativa media %.	
viento	

**Geomorfología:**

1. Llanura    2. Cuenca    3. Valle    4. Meseta    5. Tierras altas    6. Colina    7. Montaña

**Tipo de suelo:**

---

### Q? cuestionario

¿Qué quiere que le aporte a cambio de sus conocimientos? ¿Espera algo de mí?

¿Qué podría mejorar en mi cuestionario?

---

### ¿Q supp?