

◆ Normes OEPP ◆

METHODES PHYTOSANITAIRES

SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM: TESTS DU SOL ET
DEREGLEMENTATION DE PARCELLES
PRECEDEMMENT INFESTEES

PM 3/59(2) Français



Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes
1, rue Le Nôtre, 75016 Paris, France

APPROBATION

Les Normes OEPP sont approuvées par le Conseil de l'OEPP. La date d'approbation figure dans chaque norme.

REVISION

Les Normes OEPP sont sujettes à des révisions et des amendements périodiques. La prochaine date de révision de cette série de Normes OEPP est décidée par le Groupe de travail pour l'étude de la réglementation phytosanitaire.

ENREGISTREMENT DES AMENDEMENTS

Des amendements sont préparés si nécessaires, numérotés et datés. Les dates de révision figurent (si nécessaire) dans chaque norme individuelle.

DISTRIBUTION

Les Normes OEPP sont distribuées par le Secrétariat de l'OEPP à tous les Etats membres de l'OEPP. Des copies sont disponibles, sous certaines conditions, auprès du Secrétariat de l'OEPP pour toute personne intéressée.

CHAMP D'APPLICATION

Les méthodes phytosanitaires sont destinées aux Organisations Nationales de Protection des Végétaux, en leur qualité d'autorités responsables des inspections, analyses, et traitements des végétaux et produits végétaux faisant l'objet d'échanges commerciaux, ou dans la mise en œuvre de prospections concernant les organismes de quarantaine.

REFERENCES

CABI/EPPO (1997) *Organismes de Quarantaine pour l'Europe*, 2ème édition, CAB International, Wallingford (GB).

OEPP/EPPO (1996) Glossaire des termes phytosanitaires. *Documents Techniques de l'OEPP* no. 1026.

OEPP/EPPO (1998) *Normes OEPP PM 2 Exigences Spécifiques de Quarantaine (SQR)*. Disponibles sous forme de documents électroniques sur le site Web de l'OEPP www.eppo.fr.

DEFINITIONS

Analyse

Examen officiel, autre que visuel, permettant de déterminer la présence ou l'absence d'organismes nuisibles ou, le cas échéant, de les identifier.

Inspection

Examen visuel officiel de végétaux, de produits végétaux ou d'autres articles réglementés afin de déterminer la présence ou l'absence d'organismes nuisibles et/ou de s'assurer du respect de la réglementation phytosanitaire.

Méthode phytosanitaire

Toute méthode officielle prescrite pour effectuer les inspections, les analyses, les prospections ou les traitements relatifs aux organismes nuisibles réglementés.

Prospection

Procédé officiel appliqué pendant un laps de temps limité, pour déterminer les caractéristiques d'une population d'organismes nuisibles ou les espèces présentes dans une zone donnée.

Traitement

Procédure officielle autorisée pour la destruction, l'élimination ou la stérilisation d'organismes nuisibles.

VUE D'ENSEMBLE

Les méthodes phytosanitaires de l'OEPP décrivent les procédures à suivre pour réaliser les inspections, les analyses, et les traitements des végétaux et produits végétaux faisant l'objet d'échanges commerciaux, ou les prospections concernant les organismes de quarantaine. Pour de nombreux organismes de quarantaine, les Normes OEPP PM 2 Exigences spécifiques de quarantaine (SQR) font référence aux méthodes phytosanitaires.

Méthodes phytosanitaires

SYNCHYTRIUM ENDOBIOTICUM: TESTS DU SOL ET DEREGLEMENTATION DE PARCELLES PRECEDEMMENT INFESTEES

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit les méthodes d'analyse du sol pour la détection de *Synchytrium endobioticum*, ainsi que les procédures pour la déréglementation des parcelles précédemment infestées par cet organisme nuisible.

Approbation et amendement spécifiques

Approbation initiale en septembre 1999.

Introduction

Synchytrium endobioticum est un organisme de quarantaine A2. La fiche informative le concernant donne des détails sur sa biologie, sa répartition et son importance économique (EPPO/CABI, 1996). Dans les exigences spécifiques de quarantaine de l'OEPP pour *S. endobioticum*, aucune procédure d'inspection n'est envisagée sur pomme de terre car les réglementations de la plupart des pays pour la galle verruqueuse soumettent les parcelles infestées à une lutte officielle de longue durée et interdisent la culture de la pomme de terre sur ces parcelles. Par ailleurs, dans de nombreux pays, seuls des cultivars résistants peuvent être utilisés dans une zone environnante. Les exigences spécifiques de quarantaine demandent par contre que les pommes de terre, les végétaux avec racines, ainsi que les bulbes et tubercules à fleurs, proviennent de parcelles où *S. endobioticum* n'a jamais été présent, ou trouvées indemnes de *S. endobioticum*. Les pays OEPP ont généralement conservé des données sur la répartition de la galle verruqueuse depuis le début du 20^{ème} siècle, et la deuxième exigence concerne principalement la procédure visant à mettre fin à la lutte officielle pour les parcelles anciennement infestées (levée de la délimitation de la parcelle contaminée, selon la Directive UE 69/464 (EU, 1969) ou "déréglementation"). Cette procédure peut également être appliquée aux parcelles pour lesquelles aucune information n'est disponible.

Les méthodes décrites dans cette norme sont destinées à tester le sol dans une parcelle qui a été "réglementée", c'est à dire délimitée comme étant contaminée (selon la Directive UE 69/464), en raison de la détection à une date antérieure de symptômes de galle verruqueuse. On présume dans ce cas que des sporanges de *S. endobioticum* peuvent survivre dans la parcelle. Le test du sol, combiné avec l'intervalle depuis l'ancienne infestation, peut être utilisé comme un critère pour déréglementer totalement ou partiellement cette parcelle; la déréglementation totale supprime toutes les restrictions officielles sur les cultures pouvant être

cultivées, tandis que la déréglementation partielle supprime seulement certaines des restrictions sur l'utilisation et permet de cultiver des pommes de terre de consommation résistantes. L'utilisation de cultivars résistants après une déréglementation partielle doit faire l'objet d'une attention particulière en raison du risque d'un éventuel contournement de la résistance.

La déréglementation concerne l'ensemble de la parcelle initialement réglementée. Cependant, pour la déréglementation partielle, il peut y avoir des conditions dans lesquelles une sous-unité de la parcelle peut être considérée séparément, à condition que l'ONPV puisse garantir la sécurité phytosanitaire de la sous-parcelle.

Méthodes

Les méthodes sont de trois types : (1) examen direct du sol pour détecter la présence de sporanges viables; (2) tests biologiques; (3) tests en plein champ. Pour ces deux derniers types, il est essentiel de connaître le pathotype de *S. endobioticum* impliqué dans l'infestation initiale afin de choisir des cultivars sensibles adéquats pour les tests. Les méthodes sont décrites en détail à l'Annexe I.

Examen direct

Les méthodes de Mygind (1961), Pratt (1976), Potocek (1977) et Laidlaw (1985) (entre autres) permettent de déterminer le nombre de sporanges persistants par unité de poids de sol, mais la confirmation fiable de la viabilité des sporanges requiert une certaine expérience. Par ailleurs, il existe une petite possibilité de confusion avec d'autres espèces de *Synchytrium*.

Ces méthodes sont assez laborieuses mais elles donnent un résultat rapide. Un résultat négatif n'est pas considéré comme un critère suffisant pour déréglementer une parcelle, et l'examen direct doit être suivi d'un test biologique de confirmation. Par contre, un résultat positif peut éviter d'entreprendre une

procédure relativement lente de test biologique pour l'échantillon concerné, et la méthode d'examen direct peut être utile pour un premier criblage des échantillons.

Tests biologiques

Les tests biologiques sur pommes de terre sensibles incluent un test en pot (Rintelen *et al.*, 1983; Browning, pers.commun.) et le test de Potocek en éprouvette (Potocek *et al.*, 1991).

Tests de plein champ

Un cultivar de pomme de terre sensible est planté dans la parcelle à tester. Ce test de plein champ garantit un niveau de sécurité élevé, à condition que les conditions climatiques soient adéquates. Cependant, la conséquence pratique d'un résultat positif est que le niveau d'infection de la parcelle a augmenté et que, par conséquent, la longue période d'interdiction officielle de culture doit recommencer. C'est pour cette raison, et parce que les tests de plein champ dépendent des conditions climatiques, que la procédure de déréglementation décrite ici ne comporte pas ce type de test.

Critères pour le déréglementation

Une parcelle qui a été infestée par *S. endobioticum* et a été maintenue sous contrôle officiel avec des limitations sur les cultures autorisées peut être déréglementée totalement ou partiellement selon le nombre d'années écoulées depuis que les derniers symptômes de la maladie ont été observés et selon les résultats des tests du sol. Les sporanges de *S. endobioticum* persistent longtemps dans le sol et il n'est pas possible de déclarer avec certitude après un nombre d'années donné que tous les résidus de l'infestation ont disparu. Il n'est donc pas recommandé de déréglementer une parcelle anciennement infestée sans effectuer de test et simplement après un certain laps de temps.

Déréglementation totale

Une parcelle précédemment infestée par *S. endobioticum* peut être déréglementée au minimum 20 ans après la dernière infection à condition d'être échantillonnée, testée et trouvée indemne de sporanges viables et de tout signe d'infection (Fig. 1). La parcelle doit en principe avoir été cultivée pendant toute la période de réglementation; elle ne doit pas avoir été occupée par une prairie permanente. En pratique, la parcelle doit être subdivisée en unités de 0,33 ha et 60 sous-échantillons sont prélevés dans chaque unité. Chaque échantillon est:

1. soumis à un examen direct au microscope pour détecter les sporanges et soumis à un test biologique pour détecter l'infestation. D'un point de vue pratique, il est préférable de réaliser l'examen

direct, plus rapide, avant le test biologique. Si des sporanges viables sont observés, le résultat général est positif et il est alors inutile d'effectuer un test biologique ou

2. testé par deux tests biologiques successifs pour détecter l'infestation. Le sol doit être échantillonné à deux occasions pour les deux tests biologiques, avec une opération culturale (passage d'un rotavateur ou labour) du champ entre les deux échantillonnages.

Si l'examen direct ou les tests biologiques donnent des résultats positifs, il faut attendre au moins trois ans avant d'effectuer d'autres tests. Si les résultats sont négatifs pour tous les échantillons, la parcelle peut être déréglementée. Le type de cultures qui peuvent être utilisées sur la parcelle après la déréglementation n'est soumis à aucune limitation officielle mis à part la recommandation expresse que la première culture de pommes de terre d'un cultivar sensible soit inspectée à la récolte par l'ONPV pour détecter toute infection.

Déréglementation partielle

Une parcelle peut être partiellement déréglementée après une période plus courte (au moins 10 ans) afin de pouvoir cultiver des cultivars résistants de pommes de terre de consommation; la parcelle ne peut toutefois pas être utilisée pour d'autres types de pommes de terre, ni pour des végétaux destinés à la plantation, avant la déréglementation totale (Fig. 1). Comme dans le cas de la déréglementation totale, la parcelle doit en principe avoir été cultivée pendant toute la période de réglementation; elle ne doit pas avoir été occupée par une prairie permanente. Pour la déréglementation partielle, la parcelle doit être échantillonnée et testée comme ci-dessus. Les tests biologiques doivent donner des résultats négatifs et on doit trouver moins de cinq sporanges viables par g de sol par examen direct. Si l'on trouve plus de cinq sporanges par g de sol par examen direct, ou qu'un résultat positif est obtenu pour les tests biologiques, un test supplémentaire doit être effectué après deux ans ou plus selon le niveau d'infection et/ou le nombre de sporanges viables détectés par le(s) test(s).

Dans certains cas, lorsqu'il y a raison de penser que le sol n'est pas favorable à la survie à long terme des sporanges (par ex. parcelle avec une aération et des conditions hydriques optimales, qui a été cultivée continuellement, avec températures ambiantes plus élevées) ou après que des mesures de lutte directes aient été appliquées (par ex. traitement du sol avec un produit phytosanitaire), la déréglementation partielle peut être obtenue après 5 ans seulement depuis la dernière infection. Dans ce cas, l'intensité d'échantillonnage doit être augmentée à 10 échantillons par hectare, chacun contenant 60 sous-échantillons. Les tests biologiques doivent donner des résultats négatifs et on doit trouver moins de cinq sporanges viables par g de sol par examen direct (comme pour la déréglementation partielle après 10 ans).

Annexe I

Description des méthodes

Echantillonnage du sol

Prélever pour chaque unité de parcelle à échantillonner (0,1 ha ou 0,33 ha selon la procédure d'échantillonnage – voir section ci-dessus, "Critères pour la déréglementation"), un échantillon composé de 60 sous-échantillons. Les sous-échantillons doivent être prélevés à l'aide d'une tarière ou autre outil adéquat jusqu'à une profondeur de 20 cm et doivent être répartis régulièrement dans l'ensemble de la zone. Chaque échantillon doit être bien mélangé avant d'être testé. S'il est possible de déterminer la position exacte du ou des foyers infestés dans la parcelle, des échantillons individuels doivent être prélevés dans ces foyers et analysés séparément de ceux prélevés dans le reste de la parcelle; dans ce cas, l'intensité d'échantillonnage pour le reste de la parcelle peut être réduite. La quantité de sol à prélever (et donc la taille de l'outil d'échantillonnage) dépend du test à appliquer.

Examen direct

Cette section donne une brève description de la procédure de Pratt (1976) avec des modifications récentes. Deux échantillons de sol séché à l'air de 100 g sont mis en suspension dans 900 mL d'eau du robinet pendant 24 h, et tous les agrégats de sol doivent être fragmentés. La suspension subit un tamisage humide dans un tamis électromagnétique (par ex. Fritsch Analysette 3, A. Christian Ltd, Gateshead, GB) avec des mailles successives de 500, 250, 125, 71, 40 et 25 µm. Les fractions retenues sur les tamis de 40 et 25 µm sont lavées sur papier filtre, séchées et transférées dans des tubes de centrifugation de 50 mL. Du chloroforme (15 mL) ou de la solution saturée de CaCl₂ sont ajoutés à chaque tube, agités, et les tubes sont centrifugés à 800 g pendant 15 min. Le surnageant est filtré à travers du papier filtre durci. Le lavage au chloroforme ou au CaCl₂ est répété, normalement deux fois de plus, ou jusqu'à ce que plus aucun matériel ne soit séparé. Les résidus collectés sur le papier filtre durci sont remis en suspension dans 1 mL de lactoglycérol (ou plus si le sol à une forte teneur en matière organique) et sont examinés au microscope pour détecter les sporanges de *S. endobioticum*. Ceux-ci sont comptés et leur nombre par g de sol peut être calculé.

Les sporanges remplis d'un contenu granuleux grisâtre ou ayant un cytoplasme légèrement arrondi (si la germination est en cours) sont considérés comme viables, tandis que les sporanges plasmolysés de façon permanente ou sans contenu apparent sont considérés comme morts. Certaines sporanges viables sont fluorescents sous un éclairage en lumière bleue.

Tests biologiques

Dans les tests biologiques, des cultivars de pomme de terre très sensibles au pathotype de *S. endobioticum* sont utilisés. Il est donc essentiel de connaître le

pathotype impliqué dans l'infestation initiale pour pouvoir choisir les cultivars sensibles adéquats. Si le pathotype initial n'est pas connu, les tests biologiques doivent tester tous les pathotypes.

Test en pot avec des pommes de terre

Des échantillons de sol sont placés dans des pots (2-5 L) et trois tubercules d'un cultivar très sensible sont placés dans chaque pot. Il faut au moins 10 pots par ha; dans le cas d'une déréglementation partielle en revanche, lorsque 5 ans seulement se sont écoulés depuis la dernière infection, ce nombre peut être augmenté à 20 pots par ha. Les pots peuvent être placés à l'extérieur en été et être irrigués automatiquement par un goutte-à-goutte contrôlé par un tensiomètre ayant un potentiel de – 90 mb. Alternativement, les pots peuvent être conservés dans une serre en hiver avec un supplément d'éclairage (16 h par jour) et un système de brumisation pour maintenir l'humidité du sol. Après environ 100 jours, lorsque de nouveaux tubercules sont formés, les plantes sont déterrées et examinées pour détecter des galles.

Test de Potocek en éprouvette

Trente tubercules d'un cultivar très sensible avec leurs bourgeons et hors de dormance sont utilisés pour tester chaque échantillon de sol. Les échantillons de sol sont placés dans des éprouvettes plastique coniques (3-4 cm de diamètre à leur extrémité supérieure, 3,5-4,5 cm à leur extrémité inférieure et 8 cm de long); ces éprouvettes sont fixées au niveau de la couronne de germes des tubercules par un simple système de clips et de bandes élastiques. On laisse les germes pousser dans le sol pendant 5-7 semaines, avec un arrosage adéquat. Tout germe qui émerge rapidement du sol doit être coupé pour stimuler la formation d'autres germes. Le sol est ensuite éliminé et les tubercules germés sont conservés pendant 3-4 semaines dans des boîtes plastiques couvertes. Ils sont enfin évalués pour la galle verruqueuse. Dans tous les tests biologiques, il est essentiel d'inclure des témoins négatifs de sol sain et des témoins positifs de sol infesté.

Test en plein champ

Une culture de pomme de terre d'un cultivar sensible est établie dans la parcelle selon les pratiques agricoles locales. Les tubercules récoltés sont examinés pour détecter les symptômes de galle verruqueuse.

Références

EPPO/CABI (1996) *Synchytrium endobioticum*. In *Quarantine Pests for Europe*, 2nd edn. CAB International, Wallingford (GB).

EU (1969) Council Directive of 8 December 1969 on control of potato wart disease. *Official Journal of the European Communities* No L 323/1, 561-562.

Laidlaw WMR (1985) A method for the detection of resting sporangia of potato wart disease (*Synchytrium endobioticum*) in the soil of old outbreak sites. *Potato Research* **28**, 223-232.

Mygind H (1961) Examination of soil samples for potato wart sporangia. *Acta Agriculturae Scandinavica* **11**, 114-120.

Potocek J (1977) [Quantitative determination of resting zoosporangia of the potato wart pathogen in soil samples]. *Ochrana Rostlin* **13**, 251-256 (in Czech).

Potocek J, Gaar V, Hnizdil M & Novak F (1991) [Protection against spreading of potato wart disease and potato cyst nematode]. *Metodiky ÚVTIZ* **18**, 88pp. (in Czech).

Pratt MA (1976) A wet-sieving and flotation technique for the detection of resting sporangia of *Synchytrium*

endobioticum in soil. *Annals of Applied Biology* **82**, 21-29.

Rintelen J, Schöner M & Hunnius W (1983) [Detection and longevity of potato wart pathogen in once-infested foci]. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **90**, 251-257 (in German).

Renseignements

S'adresser à: Dr. H. Stachewicz, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Stahndorfer Damm 81, D-14532 Kleinmachnow, Germany

Fig. 1. Diagramme de la procédure de déréglementation totale ou partielle de parcelles précédemment infestées par *Synchytrium endobioticum*.

