

Détection et identification des nématodes à galles *Meloidogyne* *chitwoodi* et *M. fallax*

Anne-Claire Le Roux-Nio

anneclaire.leroux@fnpppt.fr

Emilie Huchet

emilie.huchet@fnpppt.fr

Contexte et Objectifs

Meloidogyne chitwoodi et *M. fallax* sont des nématodes phytoparasites très préjudiciables en zones tempérées et classés sur la liste des parasites de quarantaine. Compte tenu de leur gamme d'hôtes très large et de leur pouvoir de multiplication et de dissémination importants, il est très difficile de les éliminer. La prévention, reposant sur le contrôle du matériel introduit ou la gestion des apports extérieurs, reste le meilleur moyen pour se prémunir. Pour cela, il est nécessaire de disposer de méthodes de détection et d'identification spécifiques de ces deux espèces. Un travail a été mené dans ce sens par la FN3PT en partenariat avec l'ANSES, LSV-Unité de Nématologie de Rennes, dans le cadre de deux projets.

Projet ITA-CASDAR 0934 (2009-2011)

✓ Evaluation d'outils moléculaires publiés pour pouvoir identifier les espèces *M. chitwoodi* et *M. fallax* :

- Critères testés : sensibilité, répétabilité, reproductibilité et spécificité
- Essais menés sur les différents stades (J2, mâle, femelle)

Synthèse des résultats de l'évaluation des outils moléculaires

Référence de la Méthode	Meilleurs seuils obtenus selon les critères			Spécificité	
	Sensibilité	Répétabilité (100%)	Reproductibilité (100%)	Cible	Autres
Wishart et al., 2002 (JMVI-JMV2)	1 J2	1 J2	1 J2	100%	97%
	1 J2	1 J2	1 J2	100%	100%
PCR 18S-26S Zijlstra et al., 1995	1 J2	2 J2	2 J2	99%	100%
	1 J2	2 J2	2 J2	99%	100%
RFLP (Oral et Rsal)	1 J2	2 J2	2 J2	92%	100%
	1 J2	2 J2	2 J2	100%	100%
Zijlstra, 2000 (Fc2-Rc et Ff2-Rf)	2 J2	5 J2	5 J2	80%	100%
	1 J2	2 J2	2 J2	100%	100%

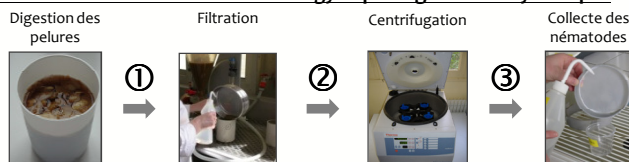
■ *M. chitwoodi* ■ *M. fallax*

- ➔ Le test JMVI-JMV2 (Wishart et al., 2002) est le plus performant vis-à-vis des critères évalués dans cette étude.
- ➔ Le taux de récupération de femelles sur une pelure de 5 mm est supérieur aux 2 autres modalités mais le nombre d'échantillons positifs n'est pas plus élevé.
- ➔ Le taux de récupération des femelles de *Meloidogyne* après digestion enzymatique est de l'ordre de 60%. Des individus sont perdus à chaque étape et majoritairement lors de la centrifugation.

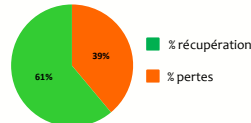
✓ Détection de *M. chitwoodi* et *M. fallax* dans les tubercules :

- Evaluation des étapes critiques de la méthode d'extraction après ajout de 10 femelles aux étapes 1 ou 2 ou 3.

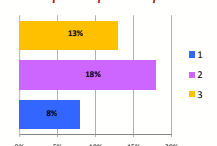
Extraction des femelles de *Meloidogyne* par digestion enzymatique :



% de récupération et de perte de nématodes avec la méthode

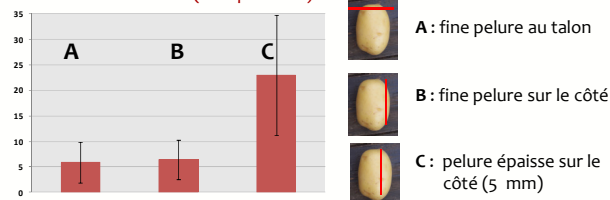


% de perte par étape



- Evaluation de l'échantillonnage sur tubercules en testant ≠ prélèvements (A, B et C) sur un échantillon contaminé

Nombre moyen de femelles récupérées selon les modalités (10 répétitions)



Projet EUPHRESCO, 2010-2012

Un projet Européen Euphresco intitulé « Detection and management of the quarantine nematodes *Meloidogyne chitwoodi* et *Meloidogyne fallax* » a débuté en 2010 pour une durée de 2 ans. Ce projet, auquel participent la FN3PT et l'ANSES pour la France, regroupe 22 laboratoires répartis dans 16 pays.

Ce projet est décliné en 5 sous-projets :

- 1/ Méthode d'analyse des nématodes dans le sol (EILA) ;
- 2/ Méthode moléculaire de détection et d'identification des nématodes (EILA) ;
- 3/ Atelier de présentation et de réflexion sur l'échantillonnage, la détection et l'identification de ces nématodes
- 4/ Gestion des déchets contaminés par les nématodes (analyse bibliographique et questionnaire pour inventaire) ;
- 5/ Agenda de recherche européen sur Mc et Mf (mise en place de réunions nationales + synthèse européenne).

- ➔ Bilan et réunion de clôture de ce projet le 24 septembre 2012 dans le cadre du congrès ESN en Turquie.

Perspectives

- ✓ Détection de ces parasites au sein de milieux complexes comme les sols, les boues et les déchets industriels.
- ✓ Etudes sur la mise en place de moyens de lutte efficaces et économiquement acceptables.
- ✓ Les méthodes de détection et d'identification de ces nématodes sont transférées aux laboratoires agréés plant.