Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE
ET DE LA PECHE

Direction générale de l'alimentation
Sous-Direction de la Qualité et de la Protection des Végétaux
Bureau Santé des Végétaux

Adresse : 251, rue de Vaugirard
75732 PARIS CEDEX 15
Dossier suivi par : Laure LE BOURGEOIS
Téléphone : 01 49 55 81 88
Fax : 01 49 55 59 49

NOTE DE SERVICE

DGAL/SDQPV/N2006-8269

Date: 28 novembre 2006

Classement : ON4

Le Ministre de l'agriculture,
de l'alimentation, de la pêche et de la ruralité
à

Date de mise en application : Immédiate

Abroge et remplace :

Mesdames et Messieurs les DAF de Martinique et Guadeloupe

Date limite de réponse :

Mesdames et Messieurs les Chefs des SPV

Nombre d'annexes: 4

Degré et période de confidentialité : Agents DGAL et services déconcentrés

Objet : Plan de surveillance des plants de bananiers vis-à-vis du virus Banana bract mosaic virus (BBrMV)- année 2006-2007.

Bases juridiques : arrêté du 31 juillet 2000, arrêté du 14 octobre 1995

MOTS-CLES : Bananiers, vitroplants, BBrMV, Banana bract mosaic virus, surveillance, contrôle, importation, évaluation de l'état sanitaire, DRAF, SRPV

Résumé :
Ce plan de surveillance des plants de bananiers vis-à-vis du Banana bract mosaic virus (BBrMV) est mis en place suite à la mise en évidence en mars 2006 pour la première fois dans les Antilles françaises de BBrMV sur des plants issus de vitroplants lors de contrôles de pré-commercialisation et en août 2006 sur des plants en plein champs.
Le BBrMV est un virus à l'origine de la virose du bananier dont la lutte est obligatoire, de façon permanente sur l'ensemble du territoire de la Martinique et de la Guadeloupe, en vertu de l'arrêté du 31 juillet 2000, annexe A, chapitre II.
Le plan de surveillance doit permettre de recueillir les premiers éléments de diagnostic de l'état phytosanitaire de la bananeraie antillaise et d'explication du changement de situation phytosanitaire observé en 2006.

Destinataires	
Pour exécution : . les D.R.A.F. ou D.A.F. (DOM) . les Chefs des S.R.P.V. ou S.P.V. (DOM) . les Unités du LNPV et laboratoires PV	Pour information : - MM. les Préfets de Région - MM. les Préfets de Département - MM. les I.G.G.R.E.F. (PV)

I. Communication

L'importance des conséquences économiques du BBrMV sur la production couplée au caractère émergent de cette virose impose la nécessité d'une communication très importante et régulière des DAF/SPV avec les acteurs locaux : mise en place d'une réunion de présentation du plan de surveillance, communication sur les symptômes et impacts du BBrMV et sur les bonnes pratiques à mettre en oeuvre….

II. Surveillance du territoire

L'objectif du plan est de disposer d'une première photographie à très court terme de l'état sanitaire des territoires des Antilles vis-à-vis du BBrMV. L'ensemble des prélèvements doit être réalisé avant la fin mai 2007. Le cas échéant, la demande de moyens financiers et humains supplémentaires afin d'assurer la réalisation de cet objectif devra être formulée dans les plus brefs délais suivant la parution de cette note.

2.1. Choix des exploitations

Les exploitations doivent être réparties sur le territoire de manière à représenter les différentes zones géographiques existantes. 2% des exploitations participent au plan de surveillance.

Compte-tenu de l'importance des critères de ciblage, il convient d'effectuer des prélèvements dans des exploitations ayant une bonne traçabilité et une gestion claire du renouvellement de leurs parcelles.

2.2. Ciblage

Les prélèvements devront porter sur des bananiers plantés en 2006, en 2005, en 2004 et 2003 : les plants des différentes années devront être prélevés au cours du même passage dans l'exploitation ou de passages successifs rapprochés. Les prélèvements de plants 2006 effectués dans le cadre du plan de contrôle peuvent être également utilisés dans les données du plan de surveillance. Pour une exploitation donnée, 25% des prélèvements concerneront des bananiers plantés en 2006, 25% des bananiers plantés en 2005, 25% des bananiers plantés en 2004, 25 % des bananiers plantés en 2003.

Pour chaque année, l'échantillonnage doit être représentatif de la diversité des origines disponibles sur l'exploitation (baïonnettes, vitroplants et clone). Seront réalisés en priorité les prélèvements sur des cultivars pour lesquels on peut suspecter la présence de BBrMV : le traitement des données actuellement disponibles à la DFA/SPV afin de connaître le taux de contamination pour chaque fournisseur permet d'établir cette priorité. Des parcelles anciennes issues de rejets dans des zones éloignées de parcelles infectées plantées récemment seront également prélevées.

Les plants sont soumis à un échantillonnage permettant de déceler un niveau d'infestation 5% avec une probabilité de 95% (voir tableau du 3.1).

Le tirage des plants échantillonnés sera un tirage systématique aligné, le cas échéant on prélèvera les plants présentant des symptômes.

III. Organisation des prélèvements et analyses

3.1. Echantillonage

Sans dépasser trois répétitions, les parcelles sont soumises à un échantillonnage pour analyse en prenant comme base d'échantillonnage le tableau ci-dessous, permettant de déceler un niveau d'infestation 5% avec une probabilité de 95%.

Nombre de plants dans la parcelle	Nombre de plants à échantillonner
25	23
50	35
100	45
200	51
500	56
1 000	57
2 000	58
10 000	59

Exemple : Sur une grosse exploitation de 180 hectares ayant des parcelles de 2.5 hectares en moyenne plantées avec une densité de 2000 pieds à l'hectare, soit 72 parcelles de 5000 pieds. La moitié des parcelles sont concernées (années 2003 et suivantes), soit 36 parcelles a priori. On ne dépasse pas 3 répétitions, soit 4 annéesx3=12 parcelles. Par conséquent 12 fois 58 prélèvements seront réalisés (4x58 prélèvements sur des parcelles 2006, 4x58 prélèvements sur des parcelles 2005, 4x58 prélèvements sur des parcelles 2004, 4x58 prélèvements sur des parcelles 2003).

3.2. Modalités de prélèvement et préparation des échantillons

Le tirage des plants échantillonnés sera un tirage systématique aligné, le cas échéant on prélèvera les plants présentant des symptômes.

1) Si le pied est jeune et de taille accessible, prélever à la main la base inférieure du limbe de la dernière feuille émise.

2) Si le pied est âgé et de taille difficilement accessible, couper la feuille avec un coupe feuille télescopique et prélever la base inférieure du limbe de la feuille à la main.

Nettoyer à l'alcool ou à la javel, les lames du coupe feuille avant de passer à un autre plant (le BBrMV ne se transmet pas par ce mode, mais la mesure est nécessaire pour d'autres virus éventuels).

3) Introduire le prélèvement dans un sac plastique ; refermer le sac. Inscrire le numéro de l'échantillon.

$\Rightarrow$ un sac = un échantillon provenant d'une seule plante = un numéro d'échantillon

La masse minimale d'échantillon de bananier devant être envoyé pour analyse par la méthode de DAS ELISA peut être estimée à environ 2 g de matériel frais soit environ 0,5 g de matériel lyophilisé.

4) Marquer les bananiers prélevés en mettant en place une étiquette plastique (100x 60 mm) portant le n°de l'échantillon au moyen d'un fil de fer plastifié ceinturant le tronc.

5)Chaque parcelle doit être géo-référencée au moyen d'un GPS.

6) Conserver dans un environnement frais (environ +6°C). Ne jamais mettre en contact direct avec de la glace ou des blocs froids.

7) Lyophiliser les échantillons des prélèvements lorsqu'ils sont destinés à un laboratoire impliquant un temps de transport long (DOM à métropole par exemple) conformément à la procédure en annexe 1.

8) Consigner les données relatives au prélèvement, à savoir (annexe2)

- l'exploitation agricole,
- la zone géographique,
- l'origine du plant : baillonette ou vitroplant , en précisant son clone,
- la date de plantation,
- la localisation dans la parcelle : centre de parcelle ou bordure de parcelle,
- les symptômes caractéristiques du BBrMV présents dans la parcelle (même ténus).

9) Préparer une fiche d'accompagnement (fiche standard) précisant pour chaque échantillon

- le numéro d'échantillon
- la date de prélèvement
- le lieu du prélèvement
- la personne ayant effectué le prélèvement
- l'espèce végétale
- les symptômes observés, le cas échéant
- la demande d'analyse pour recherche du BBrMV
- la personne destinataire du résultat (si différente de celle qui a prélevé)

et préciser dans un courrier le nombre total d'échantillons envoyés, ainsi que toute remarque utile (origine des plants, cultures environnantes, pourcentage de plantes atteintes sur la parcelle, …)

10) Faire parvenir sous 48h (collissimo) l'ensemble des échantillons au laboratoire, et prévenir au plus tôt le laboratoire (tél., fax, e-mail) de l'envoi des échantillons (préciser le nombre total d'échantillons envoyés et la date prévue de réception).

Remarque : Ne pas effectuer les envois en fin de semaine.

3.3. Réalisation des analyses

La méthode utilisée pour les analyses de routine est la méthode DAS-ELISA avec une lecture des résultats à 2 et 4 heures (confirmation à 24 heures), reconnue par la SDQPV. Cette méthode est susceptible d'évolution au cours du plan de surveillance.

sous forme lyophilisée
Laboratoire départemental d'analyse 71
267 rue des Epinoches
71000 – MACON
Tél. 03.85.33.52.20 Fax 03.85.33.52.25

En cas de surcharge du LDA 71 uniquement et après accord des 2 laboratoires

sous forme fraîche
SPV Martinique
Laboratoire
Pointe des sables BP 438
97205 Fort de France Cedex
tél. 05 96 70 27 62 fax 05 96 73 90 40

Les échantillons nécessitant une analyse moléculaire et/ou un séquençage ADN sont expédiés sous forme lyophilisée :

Unité mixte de recherche 385 BGPI
TA 41/K
Campus International de Baillarguet
F-34398 MONTPELLIER Cedex 5
tél. 04 99 62 48 13 fax 04 99 62 48 08

IV. Gestion des résultats d'analyse positifs

4.1. Analyse moléculaire et/ou séquençage ADN

Les premiers échantillons d'un couple [année/clone] testés positifs en routine et ayant des densités optiques inférieures à 2 fois les témoins sains devront faire l'objet d'une analyse moléculaire.

Les premiers échantillons d'un couple [année/clone] testés positifs en routine et ayant des densités optiques supérieures à 2 fois les témoins sains devront faire l'objet d'un séquençage ADN.

4.2.En surveillance du territoire

Tout résultat positif doit faire l'objet d'une communication immédiate à la Sous-direction de la qualité et de la protection des végétaux ; l'ensemble des éléments permettant de qualifier le prélèvement devra accompagner cette communication.

Un procès-verbal de constatation de la présence d'organisme nuisible pour les plants de bananier ayant des résultats positifs et un procès-verbal de consignation de l'ensemble de la parcelle (pour éviter par exemple le prélèvement de rejets sur des plants contaminés) sont rédigés et transmis.

Pour chaque cultivar trouvé positif, le cas échéant, il est demandé de procéder une fois à l'analyse de la répartition du virus autour du plant contaminé (annexe 3) afin de pouvoir disposer d'éléments permettant

de définir la notion de zone contaminée, zone focus, zone tampon. Une concertation entre les DAF/SPV aura lieu afin de n'effectuer qu'une fois l'étude pour un clone donné (Williams, Grande naine…).

L'ensemble des mesures de gestion qu'il conviendra de mettre en place ainsi que les modalités pratiques de leur mise en œuvre seront analysés à l'issue de la réalisation du plan de surveillance. En effet la répartition de l'éventuelle contamination (géographique, clonale, temporelle), la prévalence observée à l'échelle des Antilles françaises, jouent un rôle majeur dans cette définition.

V. Bilan de la campagne de contrôle et surveillance

Un premier bilan sera établi par DAF/SPV concerné le 15 janvier 2007, sur la base des prélèvements réalisés jusqu'au 31 décembre 2006. Il sera complété d'un bilan d'étape au 15 mars 2007 et d'un bilan final le 15 juin 2007. Ce dernier servira de base à la synthèse du plan de surveillance qui sera élaborée par la SDQPV puis communiquée aux différents acteurs locaux et nationaux.

Chaque bilan est adressé par le DAF/SPV à la SDQPV/BSV dans le respect des délais impartis. Il doit contenir au moins les informations suivantes :

- Nombre d'exploitations,
- Régions concernées,
- Nombre de prélèvements réalisés pour analyse, clones, résultats des analyses présentés de façon matricielle (annexe 4).

La synthèse nationale des différents bilans sera effectuée par un rapporteur désigné par la SDQPV.

Jean Marc Bournigal

Directeur Général de l Alimentation

ANNEXE 1
Procédure de lyophilisation

Liste du matériel :

-scalpel
-alcool 70°
- boîte de pétrie en verre
- essuie-tout
- coupelle de pesée
- balance
-flacon à lyophilisation
-pince
- lyophilisateur
-bêcher
-marqueur indélébile

Procédure pour la préparation d'un échantillon à lyophiliser :

1 – Réceptionner l'échantillon
2- Enregistrer l'échantillon sur le logiciel LOLA qui lui attribuera un numéro (n°LOLA)
3 – Essuyer la feuille avec l'essuie-tout
4 – peser au minimum 3 grammes de feuille (6x0.5g)
5 – couper en hachis à l'aide du scalpel préalablement trempé dans un bécher contenant de l'alcool
6 – introduire le hachis de feuille dans un flacon à lyophilisation avec une pince désinfectée
7 - indiquer au feutre indélibile, le numéro LOLA sur le flacon
8 – si possible, lyophiliser l'échantillon frais au plus vite, sinon mettre le flacon au congélateur à –20°C et lyophiliser dès que possible.

Recommencer l'opération pour chaque nouvel échantillon, en désinfectant le matériel de découpe et la boîte de pétrie à chaque fois.

Procédure d'utilisation du lyophilisateur :

1 - Mise en route du lyophilisateur
2 – Sur la pompe :
- Déboucher le bouchon noir et le bouchon rouge
- S'assurer que la vanne rouge sur le côté est ouverte
- Ouvrir au moins 2 embouts (tête vers le bas)
- Allumer la pompe

3 - Attendre 15 mn et noter l'heure sur la fiche de fonctionnement pompe
4 – Pendant ce temps là, récupérer les flacons contenant les échantillons à lyophiliser
5 – Déboucher les flacons
6 – Allumer le lyophilisateur et noter l'heure sur la fiche de fonctionnement lyophilisateur
- Enlever la cloche et placer les flacons contenant les échantillons
- Remettre la cloche et fermer les 2 embouts ouverts au préalable
- Fermer la vanne rouge sur le côté
- Vérifier que la pression diminue

7 – Allumer le climatiseur dans la pièce pour éviter une surchauffe du lyophilisateur
8 – Laisser les échantillons à lyophiliser pendant au moins 48 heures surtout si le lyophilisateur est plein
9 - Arrêt du lyophilisateur
- Arrêter la pompe : la pression diminue
- Noter l'heure d'arrêt sur la fiche de fonctionnement pompe
- Quand la pression atteint 10 mbar, ouvrir lentement un embout en laissant l'air pénétrer petit à petit
- A pression ambiante (quand l'air ne pénètre plus), éteindre le groupe
- Ouvrir la vanne rouge sur le côté
- Enlever le bloc

10 - Récupérer les flacons contenant les échantillons et les reboucher avec des bouchons propres
11 – Stocker les lyophilisats dans une boîte hermétique elle-même stockée dans un endroit climatisé.

ANNEXE 2
Fiche de symptômes

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

BBrMV
Fiche symptômes
(Faire un plan de situation au dos)

Date de prélèvement :_____ nom du(des) préleveur(s) :

N°d'échantillon :_____

Nom de l'exploitant : _____ tel mobile : _____

N°de parcelles : ref cadastrales :
relevés GPS : X _____ Y_____

Type d'organe prélevé :

Description des symptômes

Feuillage

- Engorgement des feuilles ☐
- stries ou lésions fusiformes vertes ou brun rouge sur le pétiole ☐
- tirets chlorotiques parallèles aux nervures ☐

Observations

Pseudo-tronc : **enlever les gaines mortes**

- présence de mosaïque ☐
- Présence de stries fusiformes de couleur jaune/blanc sur fond rouge et noir ☐
- Présence de stries fusiformes de couleur rouge et jaune sur fond vert ☐
- Traits colorés en forme de fuseaux ☐

Observations

Régime ou jetée

– Stries chlorotiques sur la hampe ☐
– Distorsion des régimes avec absence de fruits ☐
– Bractées anormales avec présence de stries brun-rouge ☐

Observations

Plante

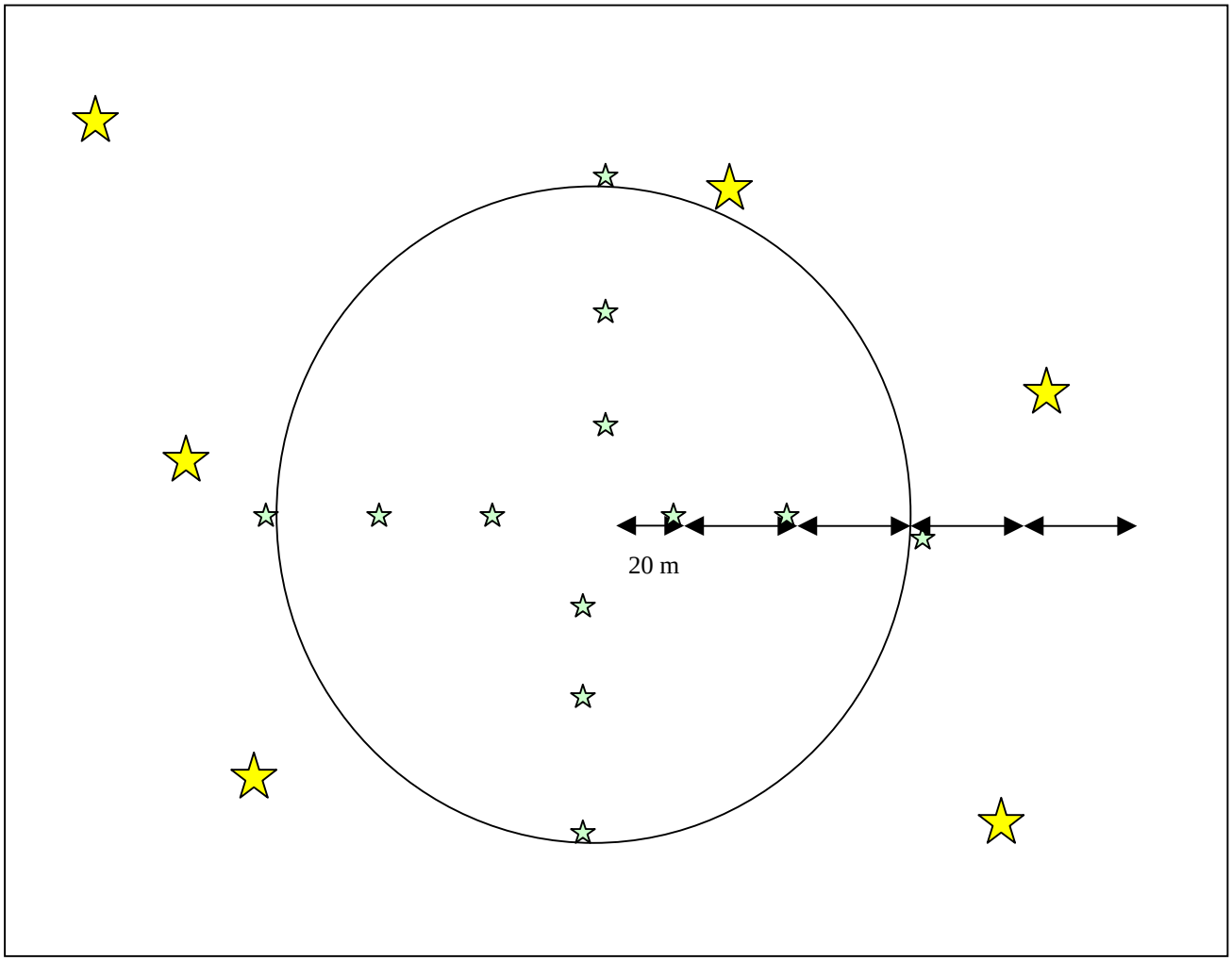
– Absence de rejets ☐
– Autres symptômes

Présence d'insectes

– Pucerons ☐
– autres :

Nom et signature de l'inspecteur :

ANNEXE 3
Répartition du BBrMV autours d'un plant contaminé



Parcelle

Prélèvement initial négatif

Prélèvement initial positif

Prélèvement complémentaire
Tous les 20 m jusqu'à 100m. Peut être effectué sur une parcelle adjacente, le cas échéant.

ANNEXE 4
Présentation matricielle des résultats d'analyse

	2006			2005			2004			2003			Total	
	Nb Prélèvement	Nb Positif	%	Nb Prélèvement	Nb Positif	%	Nb Prélèvement	Nb Positif	%	Nb Prélèvement	Nb Positif	%	Nb Positif	%
Clone : GAL S01														
Clone : GAL S02														
Clone : MA13 (Nord P1)														
Baïonette														
Total														

Origine : Vitropic

Origine : Rahan Meristem