ORDRE DE SERVICE D'ACTION

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALMIMENTAIRE ET DE LA FORÊT

Direction générale de l'alimentation
Service de la prévention des risques sanitaires de la production primaire
Sous-direction de la qualité et de la protection des végétaux
Bureau des semences et de la santé des végétaux

Adresse : 251 rue de Vaugirard
75 732 PARIS CEDEX 15
Suivi par : Olivier Dufour
Tél : 01 49 55 81 64
Courriel institutionnel : bssv.sdqpv.dgal@agriculture.gouv.fr
Réf. Interne : BSSV/2013-06-012
MOD10.21 E 01/01/11

NOTE DE SERVICE

DGAL/SDQPV/N2013-8106

Date: 26 juin 2013

A l'attention de mesdames et messieurs les Préfets

Date de mise en application :	immédiate
Abroge et remplace :	Méthode MF/04/18 parue au JO le 7 août 2004
Date d'expiration :	Sans objet
Date limite de réponse/réalisation :	Sans objet
Nombre d'annexe :	1
Degré et période de confidentialité :	Aucune

Objet : Méthode d'analyse MOA 031 version 1a, pour la détection de *Melampsora medusae* f sp. *deltoidae* sur peuplier.

Références :
- Articles L. 202-1 à 5, et R. 202-1 à 21 du Code rural et de la pêche maritime ;
- Décret 2006-7 du 4 janvier 2006 relatif aux laboratoires nationaux de référence, ainsi qu'à l'agrément et à la reconnaissance des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux ;
- Arrêté ministériel du 19 décembre 2007 fixant les conditions générales d'agrément des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux ;
- Arrêté du 29 décembre 2009 modifié, désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique vétérinaire et phytosanitaire.

Résumé : La présente note a pour objet la publication de la méthode officielle MOA031 version 1a pour la détection de *Melampsora medusae* f sp. *deltoidae* par PCR en temps réel, à partir de prélèvement d'urédies sur feuilles de peuplier.

Mots-clés : Mycologie - méthode officielle d'analyse - MOA - analyses - détection – *Melampsora medusae* - rouille du peuplier - peuplier - urédies.

Destinataires	
Pour exécution : DAAF DRAAF	**Pour information** : DRAAF et DAAF Anses-Laboratoire de la santé des végétaux

Melampsora medusae Thümen, agent de la rouille du peuplier, est listé dans l'annexe 1A2 de l'arrêté du 24 mai 2006 modifié (transposition de la directive du Conseil 2000/29/CE) relative aux organismes nuisibles réglementés dans l'Union européenne et dont l'introduction et la dissémination doivent être interdites dans tous les Etats membres.

La présente note a pour objet la publication officielle d'une nouvelle méthode de détection de *Melampsora medusae* f.sp. *deltoidae*, basée sur la PCR en temps réel. Celle-ci permet de détecter spécifiquement la forme spéciale *deltoidae*, inféodée aux peupliers dits 'cultivés' des sections *Aigeiros et Tacamahaca*, i.e. *Populus nigra*, *Populus deltoides*, *Populus trichocarpa*, ainsi que leurs hybrides interspecifiques.

Cette méthode remplace la méthode officielle MF/04/18, basée sur la PCR conventionnelle, moins spécifique et moins performante.

La nouvelle méthode, disponible sur le site de l'Anses (http://www.anses.fr/fr/content/m%C3%A9thodes-danalyse-dans-le-domaine-de-la-sant%C3%A9-v%C3%A9g%C3%A9tale) doit être utilisée pour les analyses officielles, notamment dans le cadre des contrôles phytosanitaires en surveillance du territoire.

Je demande de suivre les recommandations concernant le prélèvement des échantillons sont données en annexe de la présente note.

Le Directeur Général de l'Alimentation

Signé : Patrick DEHAUMONT

ANNEXE : **Conseils pour le prélèvement des échantillons**

- Echantillonnage au terrain

La récolte des échantillons s'effectue en portant des gants en latex à usage unique non talqués (les feuilles atteintes de rouille présentent à leur surface une très grande quantité d'urédospores de *Melampsora*, très facilement mise en suspension dans l'air, il faut donc éviter de transférer des spores d'une pépinière à l'autre pour des raisons prophylactiques mais aussi pour éviter la contamination des échantillons indemnes du champignon (faux-positifs) lors de l'analyse.

- Prélèvement des échantillons en pépinière

Repérer les clones de peuplier les plus infectés et qui surtout présentent des attaques récentes de rouille. Pour chaque clone infecté, à l'aide de la spatule de prélèvement gratter une quantité de spores suffisante pour obtenir environ 2 mm au fond du micro-tube de 2 mL (soit environ 2 mg) en évitant d'arracher du matériel végétal. Prélever sur autant de feuilles que nécessaire pour obtenir cette quantité. Annoter le code de l'échantillon sur le couvercle du tube.

- Précautions à prendre lors du prélèvement

Pour chaque nouvelle pépinière, une nouvelle paire de gants devra être utilisée. Une même spatule de prélèvement peut être utilisée sous réserve de la désinfecter à l'aide d'un papier absorbant imbibé d'une solution d'eau de javel à 1.7% (e.g. solution du berlingot commercial dilué au 10ème) et séché à l'aide d'un autre papier absorbant.

- Grandeur de l'objet soumis à analyse

Les échantillons pour analyse devraient idéalement être constitués d'environ 2 mg d'urédospores. L'analyse pourra toutefois être réalisée sur une quantité de prélèvement moindre si peu de matériel biologique est disponible sur le terrain. En revanche, la quantité de prélèvement ne doit pas dépasser le haut de la partie arrondi du fond du microtube (voir image ci-dessous), car le broyage ne pourrait alors s'effectuer correctement.

