

◆ Normes OEPP ◆

METHODES PHYTOSANITAIRES

BARLEY STRIPE MOSAIC HORDEIVIRUS

**METHODES D'INSPECTION ET DE TEST POUR
LES SEMENCES D'ORGE**

PM 3/34(1) 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 ET AMENDEMENTS

Des amendements seront préparés si nécessaire, 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 responsable 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

OEPP/EPPO (1996) Glossaire des termes phytosanitaires. *Documents Techniques de l'OEPP* no. 1026.
CABI/EPPO (1997) Organismes de Quarantaine pour l'Europe, 2^{ème} édition (Ed. par Smith, I.M.; McNamara, D.G.; Scott, P.R.; Holderness, M.), CAB International, Wallingford, UK.
OEPP/EPPO (en préparation) Exigences Spécifiques de Quarantaine (SQR). Disponibles sous forme de documents électronique sur le site Web de l'OEPP.

DEFINITIONS

Analyse: Examen officiel, autre que visuel, permettant de s'assurer de la présence ou de l'absence d'organismes nuisibles, ou permettant de les identifier.

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

Méthodes phytosanitaire: Méthodes officielles prescrites pour les inspections, les analyses, les prospections ou les traitements phytosanitaires.

Prospection: Procédé officiel permettant de déterminer les caractéristiques d'une population d'organismes nuisibles ou leur présence dans une zone pendant un laps de temps limité.

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 exigences spécifiques de quarantaine (SQR) font référence aux méthodes phytosanitaires. Depuis de nombreuses années, l'OEPP a développé ses méthodes phytosanitaires. Elles ont été publiées dans le Bulletin OEPP/EPPO Bulletin sous plusieurs titres 'Normes de fumigation', 'Méthodes d'inspection de quarantaine', 'Procédures de quarantaine'. Toutes figurent désormais sous le titre de 'Méthodes phytosanitaires' et ont été éditées dans le format des Normes OEPP. La numérotation de ces méthodes suit toujours la séquence décrite dans le Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 20(2), 229-233, qui correspond approximativement à l'ordre chronologique de leur parution.

Méthode phytosanitaire

BARLEY STRIPE MOSAIC HORDEIVIRUS

METHODES D'INSPECTION ET DE TEST POUR LES SEMENCES D'ORGE

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit les méthodes d'inspection et de test pour les semences d'orge, afin de répondre aux exigences de la norme OEPP PM 2/88(1).

Approbation et amendement spécifiques

Approbation initiale en septembre 1990.
Éditée sous forme de norme OEPP en 1998.

Introduction

Le barley stripe mosaic hordeivirus est un organisme de quarantaine de la liste A2. Pour toute information sur sa biologie, sa répartition et son importance économique, se référer à la fiche informative n° 88 (OEPP/EPPO, 1983).

D'après les exigences spécifiques de quarantaine de l'OEPP (OEPP/EPPO, 1990) pour ce virus, il est recommandé aux pays importateurs d'exiger, auprès des pays exportateurs de semences d'orge provenant de pays où le barley stripe mosaic hordeivirus est présent, que la culture ait été inspectée durant la période de végétation ou que des échantillons de semences représentatifs aient été testés par une méthode recommandée par l'OEPP et trouvés indemnes du virus.

Méthode

L'inspection au champ n'est pas une méthode de détection très fiable pour le BSMV, car la présence et la gravité des symptômes dépendent fortement de la température, le virus peut être présent sans que les symptômes soient clairement visibles et enfin les infections latentes sont courantes.

Pour les semences, le test ELISA (Lister *et al.*, 1981; Huth, 1988) est une méthode beaucoup plus fiable et peut être effectué en 24 h. L'annexe I présente le détail des méthodes.

ANNEXE I

Inspection au champ

L'inspection doit avoir lieu lorsque les plantes sont encore vertes et peut commencer dès que les plantes sont au stade 2-3 feuilles (GS 12-13), car les plantes issues de semences contaminées peuvent présenter des symptômes foliaires. Rechercher les taches et les tirets chlorotiques ou nécrotiques (voir fiche informative OEPP n° 88; OEPP/EPPO, 1983).

Test pour les semences

Echantillonnage

Le test peut être effectué avant l'exportation, en relation avec la délivrance d'un certificat phytosanitaire pour une parcelle de production de semences. Dans ce cas, 10-20 lots de semences de 50 g chacun (un lot comportant environ 1000 graines) sont prélevés au hasard dans chaque parcelle pour être testés selon la procédure figurant ci-dessous. Ou, le test peut être effectué sur un envoi de semences à n'importe quel stade de l'importation ou de l'exportation. Dans ce cas, 1 kg de semence est prélevé pour chaque 20 t ou pour chaque envoi, puis est subdivisé en lots de 50 g à tester.

Test ELISA

Broyer les semences pendant 1 min dans un moulin électrique (par ex. du type IKA A-10-S ou M 20), relié à un système de refroidissement. Mettre en suspension les semences broyées dans 10 ml de solution tampon phosphate NaCl (16,0 g de NaCl, 0,4 g de KH_2PO_4 , 2,88 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,4 g NaN_3 , 1 ml Tween 20 dans 2 litres d'eau, pH 7,4) pendant 1 h, en laissant la phase liquide se séparer du culot.

Pour chaque lot, remplir deux puits par plaque de microtitration ELISA, comportant une gamma-globuline anti-BSMV, avec 2 x 200 μl du surnageant. Deux puits supplémentaires par plaque sont réservés au surnageant témoin, qui est préparé de la même façon, à partir de semences indemnes de BSMV, et encore deux autres puits sont remplis avec le tampon seulement. Si un témoin positif est utilisé (un grain d'orge ou de petites parties de feuilles présentant des symptômes sont suffisants), le rinçage entre chaque étape du test ELISA doit être effectué très soigneusement afin d'éviter toute contamination des puits par le BSMV présent dans le témoin positif.

Mesurer la densité optique (DO) à 405 nm en utilisant un densimètre ELISA normal, après avoir conservé les plaques pendant 18-20 h à la température ambiante. Pour des lots fortement contaminés, une incubation plus courte peut être suffisante (par ex. 1 h). Les échantillons sont positifs si la valeur de la DO est au moins 3 fois plus importante que la valeur mesurée sur les échantillons de semences saines.

Bibliographie

- Huth, W. (1988) [Use of ELISA to detect barley stripe mosaic virus in barley seed]. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **40**, 128-132 (in German).
- Lister, R.M., Carroll, T.W. & Zaske, S.R. (1981) Sensitive serologic detection of barley stripe mosaic virus in barley seed. *Plant Disease* **65**, 809-814.
- OEPP/EPPO (1983) Data sheet on quarantine organisms no. 88: barley stripe mosaic hordeivirus. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **13** (1).
- OEPP/EPPO (1990) Specific quarantine requirements. *EPPO Technical Documents* no. 1008.

Renseignements

S'adresser à: W. Huth, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Messeweg 11/12, Braunschweig (DE).