

**Méthode d'analyse en santé des végétaux**

**RÉFÉRENCE : ANSES/LSV/MA077- Version 01**

**Consultation**

# **Détection morphologique de nématodes à galles (*Meloidogyne* spp.) à partir de sol**

**Laboratoire de la santé des végétaux, Unité de nématologie**

**Laboratoire national de référence « nématodes phytopathogènes\*»**

\*tous nématodes sauf exceptions mentionnées dans l'arrêté ministériel en vigueur désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique phytosanitaire

## Historique de la méthode

Une méthode est mise à jour afin de prendre en compte des modifications.

Une modification est qualifiée de majeure lorsqu'elle concerne le processus analytique, le domaine d'application ou des points critiques de la méthode, dont la prise en compte peut modifier les performances de la méthode d'analyse et/ou les résultats. Une modification majeure induit des adaptations. La méthode ainsi modifiée a fait l'objet d'une nouvelle validation, totale ou partielle.

Une modification est qualifiée de mineure si elle apporte des précisions utiles ou pratiques, reformule les propos pour les rendre plus clairs ou plus précis, rectifie des erreurs bénignes. Une modification mineure est sans influence sur les performances de la méthode et ne requiert pas une nouvelle validation.

Le tableau ci-dessous récapitule l'historique des versions de la présente méthode, incluant la qualification des modifications.

Version	Nature des modifications (majeure/mineure)	Date	Principales modifications
NS/04/06 version a	/	2006	Version initiale : Sols et organes végétaux souterrains - détection de <i>Meloidogyne fallax</i> Karssen, 1996 et de <i>Meloidogyne chitwoodi</i> Golden, O'bannon, Santo & Finley, 1980 (nématodes à galles)
ANSES/LSV/ MA077 version 01*	Majeure	XX/2024	Révision de la partie extraction de sol de N.S./04/06 : <ul style="list-style-type: none"> <li>- ajout de la calibration de l'élu triateur</li> <li>- utilisation d'un autre modèle d'élu triateur</li> <li>- modification de la partie récupération du contenu de l'élu triateur en évacuant les deux premiers litres</li> <li>- ajout d'une potentielle étape de migration</li> <li>- pas de modification de l'étape de centrifugation</li> <li>- précisions apportées pour <i>Meloidogyne enterolobii</i></li> </ul>

\* La version 01 a fait l'objet d'une consultation du XX/XX/2024 au XX/XX/2024 sur le site internet de l'Agence, notamment auprès des laboratoires agréés français.

## Avant-propos

La présente méthode a été optimisée et validée par :

**Anses - Laboratoire de la santé des végétaux – Unité de Nématologie**

Laboratoire National de Référence : « nématodes phytopathogènes\* »

\* tous nématodes sauf exceptions mentionnées dans l'arrêté ministériel en vigueur désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique phytosanitaire

Adresse :     Domaine de la Motte au Vicomte  
                  BP 35327  
  
                  35653 LE RHEU Cedex  
  
                  France

Contact : [rennes.lsv@anses.fr](mailto:rennes.lsv@anses.fr)

## Sommaire

<b>Introduction</b> .....	<b>5</b>
<b>1. Objet et domaine d'application</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Documents de référence</b> .....	<b>6</b>
<b>3. Termes, sigles et définitions</b> .....	<b>6</b>
<b>4. Principe de la méthode</b> .....	<b>7</b>
<b>5. Consommables et réactif</b> .....	<b>8</b>
<b>6. Appareillage et matériels</b> .....	<b>8</b>
6.1 Extraction.....	8
6.2 Détection.....	9
6.3 Calibration de l'élu triateur .....	9
6.4 Entretien de l'élu triateur.....	9
6.5 Mode d'emploi de l'élu triateur.....	9
<b>7. Échantillons</b> .....	<b>10</b>
7.1 Conditions d'acceptation des échantillons .....	10
7.2 Conservation des échantillons avant analyse .....	10
7.3 Conservation des échantillons ou reliquats après analyse .....	10
<b>8. Mode opératoire</b> .....	<b>10</b>
8.1 Extraction par élu triation .....	10
8.1.1 Préparation des échantillons pour analyse .....	10
8.1.2 Mise en solution.....	11
8.1.3 Stratification par élu triation .....	11
8.1.4 Récupération par filtration .....	11
8.1.5 Migration .....	12
8.1.6 Centrifugation .....	13
8.1.7 Récupération de la migration ou centrifugation et conditionnement .....	13
8.2 Détection par morphologie .....	14
8.2.1 Détection de formes libres de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	14
8.2.3 Conditionnement des nématodes.....	14
<b>9. Expressions des résultats</b> .....	<b>15</b>
<b>10. Caractéristiques de performance de la méthode</b> .....	<b>15</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>16</b>
<b>Annexe : Calibration de l'élu triateur</b> .....	<b>17</b>

## Introduction

Les « nématodes à galles » du genre *Meloidogyne* sont des nématodes phytoparasites très polyphages. Les stades mobiles de ce genre susceptibles d'être présents dans les sols sont les larves infectieuses du second stade et les mâles. Les larves du second stade pénètrent dans les racines de leurs plantes-hôtes et deviennent alors sédentaires. Elles se développent jusqu'au stade adulte en s'alimentant aux dépens de leur plante-hôte en modifiant la taille des cellules avoisinantes pour créer un site nourricier, provoquant ainsi une déformation de la racine appelée galle. Les nématodes à galles peuvent causer d'importantes altérations du système racinaire dont les conséquences pour la plante sont une diminution de la croissance végétale, des jaunissements, des flétrissements entraînant une baisse de rendement et de qualité des productions.

## Avertissements et précautions de sécurité

**Il convient que l'utilisateur de la présente méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation en vigueur.**

**Il est essentiel que les manipulations conduites conformément à la présente méthode soient exécutées par du personnel ayant reçu une formation appropriée.**

## 1. Objet et domaine d'application

### Objet

La méthode décrite ici permet de détecter les formes libres (L2 et mâles) des nématodes du genre *Meloidogyne* à partir d'un sol ou produit terreux. L'extraction par élutriation de ces organismes est basée sur une technique de flottaison des nématodes par courant ascendant. La détection des individus du genre *Meloidogyne* est basée sur des caractères morphobiométriques.

### Domaine d'application

#### **Objets susceptibles d'être soumis à analyse**

Les échantillons analysés par le laboratoire sont des sols ou produits terreux pouvant contenir des larves ou des mâles de *Meloidogyne* spp..

### Grandeur de l'objet soumis à l'analyse

La taille de l'échantillon analysé par cette méthode n'est pas critique. L'analyse d'un échantillon est réalisée sur une prise d'essai (*cf.* point 8.1.1) d'un volume d'environ 200 mL lorsque la taille initiale de l'échantillon le permet. A défaut, l'analyse est réalisée sur l'intégralité de l'échantillon et le rapport d'analyse indiquera que le volume analysé est inférieur à 200 mL.

### Précautions particulières à prendre

Le laboratoire doit mettre en place une procédure adaptée à son environnement (locaux, infrastructures, équipements, etc.) visant à éviter tout risque de contamination d'un échantillon par un autre et de dissémination dans l'environnement.

## 2. Documents de référence

Rapport de caractérisation et de validation d'une méthode d'analyse « Détection morphologique de nématodes à galles (*Meloidogyne* spp.) par extraction de sol» . Juin 2024

## 3. Termes, sigles et définitions

Afin d'éviter toute mauvaise interprétation des termes employés, le vocabulaire utilisé dans la présente méthode d'analyse est issu des normes, guides ou glossaires nationaux ou internationaux appropriés (AFNOR, ISO, CIPV, OEPP...).

Termes ou sigles pouvant être rencontrés dans le texte :

EMT : Erreur Maximale Tolérée

Forme libre : nématode filiforme ayant une capacité de déplacement

L2 : larves de second stade

MgSO<sub>4</sub> : sulfate de magnésium

## 4. Principe de la méthode

Le principe de la méthode est décrit dans le logigramme ci-dessous :

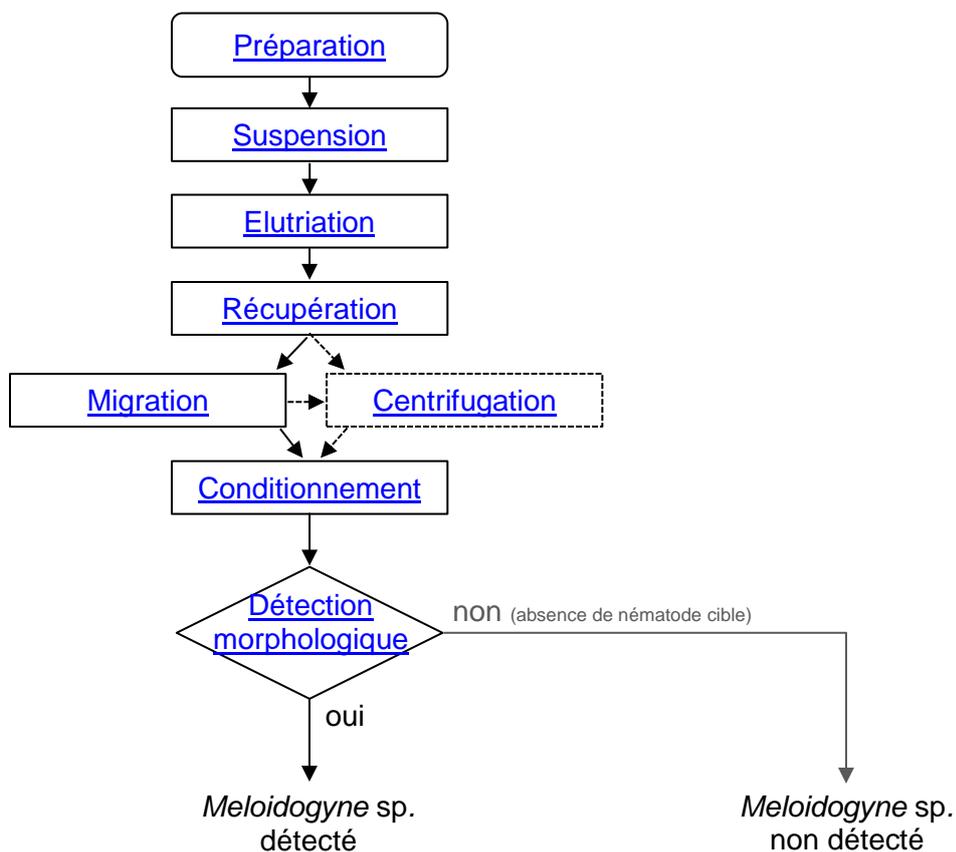


Figure 1 : Logigramme de la méthode

## 5. Consommables et réactif

**Avertissement :** Des appellations commerciales ou fournisseurs peuvent être mentionnés dans le descriptif des produits nécessaires à la mise en œuvre de la présente méthode. Ces informations sont données à l'intention des utilisateurs de la méthode et ne signifient nullement que l'Anses recommande l'emploi exclusif de ces produits. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

- Eau
- Solution de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (densité d'environ 1,18) ou solutions à propriété équivalente
- Papier d'essuyage : référence TORK Plus blanc (utilisé lors des essais de validation) ou équivalent
- Kaolin

## 6. Appareillage et matériels

**Avertissement :** Des appellations commerciales ou fournisseurs peuvent être mentionnés dans le descriptif des appareils et matériels nécessaires à la mise en œuvre de la présente méthode. Ces informations sont données à l'intention des utilisateurs de la méthode et ne signifient nullement que l'Anses recommande l'emploi exclusif de ces matériels. Des matériels équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

### 6.1 Extraction

- Elutriateur d'Oostenbrink transparent de 8 L de volume utile (cf. point 6.3)
- Appareil permettant de créer une boue fluide (ex : agitateur à retournement, malaxeur, ...)
- Pissettes
- Récipients avec couvercle pour agitation
- Tamis de récupération de mailles 40  $\mu m$  et 20  $\mu m$
- Tamis de criblage de mailles d'environ 1 mm et d'environ 4 mm
- Tamis de migration de mailles supérieures à 90  $\mu m$  et d'un diamètre minimum de 125 mm
- Support d'égouttage
- Récipient de migration adapté au diamètre du tamis de migration
- Centrifugeuse
- Récipients de centrifugation d'une capacité adaptée au volume des récupérations
- Balance ou autre équipement permettant un équilibrage des récipients de centrifugation
- Cuillère, spatule, fouet ou autre système d'homogénéisation (vibreur...)

## 6.2 Détection

- Loupe binoculaire avec système d'éclairage diascopique, plage de grossissement conseillé autour de 16X à 60X
- Cellule de lecture, de préférence avec marquage au fond subdivisé (boîte de Petri ou équivalent)
- Instrument adapté pour la manipulation et la collecte des nématodes filiformes (cil monté sur une baguette, aiguille d'acuponcture ou autre ...)
- Petit matériel de paille (pissettes, tubes, marqueurs ...)

## 6.3 Calibration de l'élutriateur

Cette méthode a été optimisée et validée avec l'élutriateur d'Oostenbrink en plexiglass de marque Meku modèle 9.0251 (dimensions L:450 mm x P:450 mm x H:1100 mm). Un calibrage de cet appareil est nécessaire pour mettre en œuvre la présente méthode et est décrit en [annexe](#). L'utilisation d'un autre modèle d'élutriateur nécessite une validation préalable par le laboratoire utilisateur.

## 6.4 Entretien de l'élutriateur

L'élutriateur nécessite un entretien régulier afin de garantir son bon fonctionnement et il est notamment nécessaire de s'assurer que :

- les parois internes soient propres et lisses,
- les trous d'arrivées d'eau dans la zone de décantation (6) ne soient pas obstrués (schématisés avec des flèches dans la Figure 2) et le cas échéant les déboucher,
- le débitmètre soit propre et fonctionnel (pas de dépôt qui limite les déplacements du flotteur) et d'encrassement à la sortie du débitmètre.

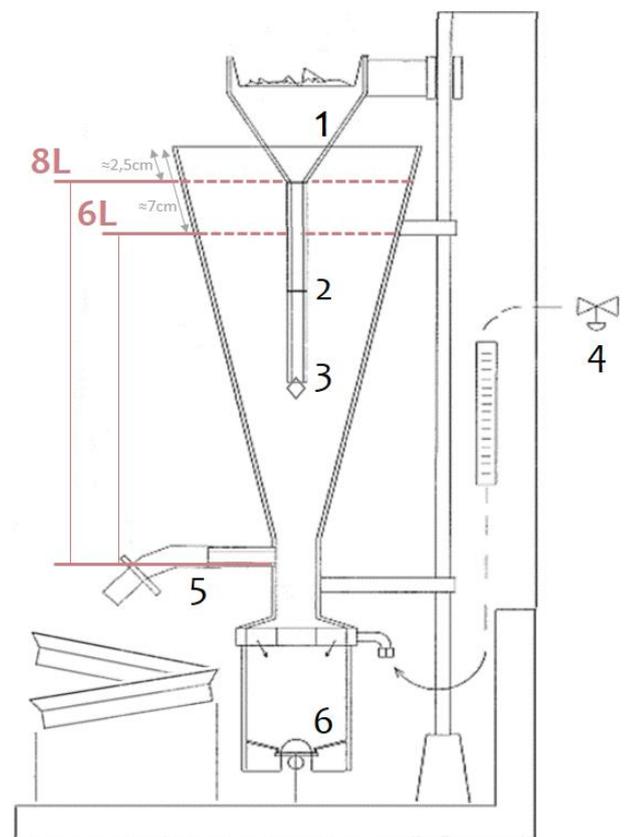


Figure 2 : Schéma de l'élutriateur

## 6.5 Mode d'emploi de l'élutriateur

Un mode d'emploi constructeur est fourni avec l'appareil lors de son achat. Ce mode d'emploi constructeur est en partie adapté et modifié dans cette méthode. Pour les besoins analytiques spécifiques liés à cette méthode d'analyse, celle-ci se substitue au mode d'emploi fourni par le constructeur.

## 7. Échantillons

### 7.1 Conditions d'acceptation des échantillons

Pour que l'analyse puisse être réalisée, l'échantillon doit avoir été conditionné par l'expéditeur dans un sachet ou un récipient fermé et référencé. Cette présente technique a été développée pour extraire les nématodes d'un sol ou produit terreux mais n'est pas adaptée à des substrats composés uniquement de matières organiques légères.

### 7.2 Conservation des échantillons avant analyse

Avant extraction, les échantillons et prises d'essai sont conservés à température ambiante et de préférence dans un endroit frais.

Après extraction et avant détection, les extraits sont conservés au froid positif (environ 5°C EMT= ± 4°C).

### 7.3 Conservation des échantillons ou reliquats après analyse

Il n'y a pas d'exigence particulière concernant la conservation des reliquats d'échantillon, mais il est conseillé de les conserver à température ambiante et de préférence dans un endroit frais.

## 8. Mode opératoire

### 8.1 Extraction par élutriation

#### 8.1.1 Préparation des échantillons pour analyse

Un volume de sol d'environ 200 mL constitue la prise d'essai à analyser par échantillon après préparation. Cette préparation nécessite l'élimination des débris de végétaux et cailloux qui pourraient impacter le volume final de la prise d'essai (l'élimination peut se faire manuellement ou par tamisage sur un tamis de criblage de 4 mm). Si possible la prise d'essai est constituée de plusieurs prises élémentaires, en ayant au préalable homogénéisé le sol et cassé d'éventuels agrégats.

*NB : les débris végétaux et cailloux sont éliminés et traités de façon appropriée pour éviter tout risque de dissémination des nématodes dans l'environnement.*

### 8.1.2 Mise en solution

L'objectif de cette étape est d'obtenir une boue fluide. Pour cela, s'ils permettent d'atteindre le même objectif, plusieurs type d'appareils peuvent être utilisés (agitateur à retournement, malaxeur, ...). Il est important de prévenir tout risque de contamination entre les prises d'essai lors de cette étape.

*Exemple de l'utilisation d'un agitateur à retournement : Les prises d'essais sont conditionnées dans des pots d'environ 400 mL pouvant être fermés hermétiquement. Le sol est largement recouvert d'eau tout en conservant une partie du pot avec un volume d'air. Les pots sont ensuite placés dans l'agitateur à vitesse faible pour une durée d'agitation permettant l'obtention de la boue fluide.*

A noter que, quel que soit l'appareil utilisé, la durée pour obtenir une boue fluide est dépendante de la texture du sol. Par exemple, une prise d'essai issue d'un sol sableux sera plus facilement transformée en boue fluide que celle issue d'un sol argileux.

### 8.1.3 Stratification par élutriation

- S'assurer que l'élutriateur soit fermé au niveau du tuyau de vidange (5) et s'assurer également que la zone de décantation (6) soit bien fermée (exemple : en y mettant un fond d'eau).
- Verser la boue fluide sur un tamis de criblage d'environ 1 mm (cf. point 6.1) posé sur le cône de rinçage de l'élutriateur (1). Laver le contenu du tamis de criblage par un courant d'eau faible et mélanger au besoin la boue retenue pour faciliter le passage dans le tamis. Le niveau maximum d'eau à ajouter pour faire passer la boue ne doit pas dépasser le prisme de diffusion (3).
- Ouvrir la vanne de remplissage (4) à son débit maximum permettant la mise en suspension de l'intégralité de la boue dans la colonne d'eau. Cette phase de brassage doit permettre de remettre en suspension l'intégralité de la sédimentation présente dans la zone de décantation (6). Si ce n'est pas le cas, s'assurer du bon entretien du matériel (cf. point 6.4).
- Lorsque que le niveau du repère de la partie verticale du cône (2) est atteint, réduire, à l'aide de la vanne de remplissage (4), le courant ascendant à un débit de 35-40 L/h. Cette phase à débit constant de 35-40 L/h se réalise jusqu'au repère 8L et permet la stratification des nématodes et des éléments texturaux du sol dans l'élutriateur.

*NB : le contenu du tamis de criblage est éliminé et traité de façon appropriée pour éviter tout risque de dissémination.*

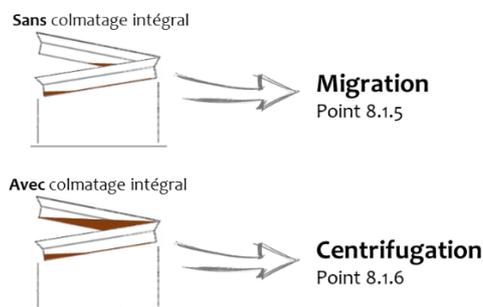
### 8.1.4 Récupération par filtration

Une fois le repère 8L atteint, tout en conservant le courant ascendant à 35-40 L/h, ouvrir le tuyau de vidange (5) (sans tamis de récupération) à débit important (tout en évitant les projections) jusqu'à ce que le niveau de la surface de l'eau atteigne rapidement le repère 6L, puis refermer le tuyau de vidange. Cela permet donc d'éliminer deux litres du volume de l'élutriateur rapidement. Disposer alors, sous ce tuyau (5), deux tamis de récupération de maille 40 µm légèrement inclinés de façon à pouvoir contrôler le contenu du tamis inférieur et prévenir des colmatages (cf. Figures 2 et 3 pour la disposition des tamis).

*NB : les deux premiers litres éliminés peuvent dans certains cas (ex : confirmation d'un échantillon faiblement contaminé) être conservés mais doivent alors être traités dans la suite du processus indépendamment des six autres litres de l'élu triateur.*

Grâce à cette étape, pour une grande majorité des sols, un colmatage intégral de toute la surface du premier tamis de récupération ne se formera pas. Dans ce cas, la suite du processus peut donc être réalisée par un éclaircissement de la récupération par migration (cf. point 8.1.5).

A l'inverse, si un colmatage est observé sur toute la surface du premier tamis de récupération (nécessitant de fermer le tuyau de vidange pour faire une récupération avant la vidange intégrale de l'élu triateur), la suite du processus doit être réalisée par un éclaircissement par centrifugation (cf. point 8.1.6 sans réaliser la migration expliquée au point 8.1.5).



**Figure 3 : Schéma décisionnel du choix de la technique d'éclaircissement**

Les sols générant ce type de colmatage sont en général constitués d'un taux d'argile conséquent (observable quand le haut de l'élu triateur avant récupération est très chargé en éléments texturaux du sol).

### 8.1.5 Migration

Cette étape nécessite en amont, ou en simultané du point 8.1.4, la préparation du récipient et tamis de migration. Le papier d'essuyage ou équivalent doit être placé à l'intérieur du tamis de migration (cf. point 6.1) en recouvrant l'intégralité des parois internes. Le papier a pour objectif de laisser passer les nématodes tout en retenant les particules de sol (pour l'utilisation du papier TORK Plus, deux couches sont nécessaires pour obtenir ce résultat). Placer le tamis de migration recouvert de papier dans le récipient.

Transférer rapidement les contenus des tamis de récupération du point 8.1.4, dans le tamis de migration (transférer d'abord le contenu du tamis supérieur puis celui du tamis inférieur). Il est important de s'assurer de ne pas faire tomber de gouttes entre le tamis de migration et le récipient (possibilité de forte diminution de la clarté de l'extrait récupéré ultérieurement). Recouvrir délicatement d'eau l'intégralité des éléments présents dans le tamis de migration en versant entre le tamis et la paroi interne du récipient de migration (pas directement dans le tamis).

La migration doit durer environ 48 h minimum mais peut être prolongée au besoin pour des raisons organisationnelles du laboratoire. Dans tous les cas, il est important de s'assurer que les éléments contenus dans le tamis de migration demeurent immergés.

*Suite des étapes dans le point 8.1.7.*

### 8.1.6 Centrifugation

- Transférer rapidement les contenus des tamis de récupération du point 8.1.4, dans le récipient de centrifugation, en commençant par le tamis supérieur. Compléter *a minima* 1/3 du récipient de centrifugation (la taille du récipient doit être adaptée à la quantité de matière récupérée dans les tamis 40 µm) avec de l'eau et ajouter du kaolin (la quantité de kaolin doit permettre d'obtenir un culot stable, environ 9 g pour un récipient de diamètre d'environ 8.6 cm) et bien homogénéiser avec un ustensile type spatule ou fouet.
- Equilibrer 2 à 2 les récipients de centrifugation et centrifuger la suspension avec une force d'environ 1800 g pour une durée d'environ 4 min. La vitesse et le temps de centrifugation doivent permettre l'obtention d'un culot stable. Après ce premier cycle de centrifugation, éliminer le surnageant contenu dans les récipients de centrifugation et nettoyer délicatement (rinçage ou essuyage) les parois internes afin d'éliminer les petits éléments de matière organique et en prenant bien soin de ne pas toucher le culot.
- Ajouter une faible quantité de MgSO<sub>4</sub> permettant d'homogénéiser la suspension avec un ustensile type spatule ou fouet. Il est important de s'assurer que l'intégralité du culot soit bien remise en suspension. Compléter *a minima* 1/3 du récipient de centrifugation avec du MgSO<sub>4</sub> à densité 1.18. Utiliser un ustensile propre pour chaque extraction afin d'éviter toute contamination croisée.
- Equilibrer 2 à 2 les récipients de centrifugation (avec la solution de MgSO<sub>4</sub>) et centrifuger la suspension avec une force d'environ 1800 g pour une durée d'environ 4 min.

*NB : Cette étape (8.1.6) peut également être nécessaire si la qualité de la récupération de la migration ne permet pas la suite de l'analyse, cependant ces cas doivent être rares et des améliorations au niveau de la migration doivent être nécessaires les cas échéants.*

### 8.1.7 Récupération de la migration ou centrifugation et conditionnement

- Vider le contenu du récipient (migration ou centrifugation) sur un tamis propre de 20 µm, préalablement rincé/humidifié, posé sur un support.
- Rassembler les particules retenues par le tamis de 20 µm avec de l'eau, en évitant toute projection du contenu du tamis à l'extérieur du tamis, tout en s'assurant de l'élimination de l'intégralité de la solution de MgSO<sub>4</sub>.
- Transférer à l'aide d'un jet de pissette d'eau le contenu du tamis de 20 µm dans un récipient pour la lecture.

*NB : La suspension peut être conservée à température ambiante si la lecture est faite le jour de l'extraction. Sinon, la suspension est conservée au froid positif.*

## 8.2 Détection par morphologie

L'analyse porte sur l'ensemble des nématodes présents dans l'extrait issu de l'étape 8.1.

Transférer l'extrait dans une cellule de lecture et l'observer sous une loupe binoculaire (stéréomicroscope) ou observer directement dans le contenant si sa forme le permet.

### 8.2.1 Détection de formes libres de *Meloidogyne* spp.

Les principaux critères de distinction du genre *Meloidogyne* sont :

**L2** : vermiforme, longueur comprise entre 250 et 600  $\mu\text{m}$ , stylet peu visible, recouvrement œsophagien ventral, présence d'une zone claire au niveau de l'anus, queue pointue souvent fine et présentant une partie hyaline (figure 5 et 6).

**Mâle** : vermiforme, taille entre 700 et 1900  $\mu\text{m}$ , tête souvent proéminente, forte sclérotisation céphalique; stylet robuste de 13 à 30  $\mu\text{m}$ , recouvrement œsophagien ventral; spicules terminaux et extrémité de la queue arrondie (figure 6).

### 8.2.3 Conditionnement des nématodes

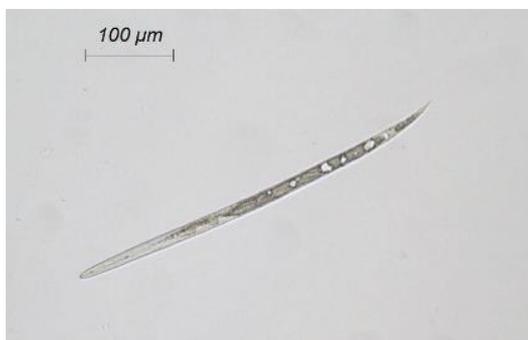


Figure 5 : Larve de *Meloidogyne* sp.  
(© Anses - LSV)



Figure 6 : Mâle (gauche) et larve (droite) de *Meloidogyne* sp.  
(© Anses - LSV)

A des fins d'analyses officielles, si l'observation de l'extrait a mis en évidence la présence de nématodes libres du genre *Meloidogyne*, ceux-ci sont conditionnés ou traités en adéquation avec une méthode d'identification spécifique qui sera mise en œuvre dans la suite du processus analytique de l'échantillon.

**NB** : les femelles de *Meloidogyne* spp. sont présentes uniquement dans les racines des végétaux et ne peuvent donc théoriquement pas être retrouvées dans un sol. Cependant, en cas d'observation de formes renflées après extraction à partir d'un sol, ces individus doivent être également conditionnés en adéquation avec la méthode officielle d'identification.

## 9. Expressions des résultats

Le résultat est exprimé par une phrase semblable aux propositions ci-dessous, avec une formulation appropriée lorsque la demande est clairement identifiée :

En cas d'**absence** de nématodes du genre *Meloidogyne* indiquer :

le nom de la ou des espèce(s) du genre *Meloidogyne* demandée(s) suivi de « non détecté ».

En cas de **présence** de nématodes du genre *Meloidogyne* indiquer :

« *Meloidogyne spp.* détectés » .

## 10. Caractéristiques de performance de la méthode

Tableau 1 : Taux d'extraction selon les textures de sol et la technique d'éclaircissement

	Elutriation + Centrifugation	Elutriation + Migration
<b>Limoneux</b>	33,1 % ±1,3	36,1 % ± 2,0
<b>Sableux</b>	31,6 % ±1,2	39,0 % ± 2,0
<b>Argileux</b>	39,6 % ± 1,9	9,9 % ± 1,1

± correspond à l'erreur type (StandErr) :  $(\sigma_x) = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$

Tableau 2 : Caractéristiques des performances analysées (extrait du rapport de validation)

Caractéristique de performance	Eclaircissement	Valeur obtenue à l'issue de la caractérisation
<b>Sensibilité</b> (en comparaison à NS/04/06 et MOA/024)	Centrifugation	Supérieur dans <b>100%</b> des cas testés
	Migration	Supérieur dans <b>100%</b> des cas testés
<b>Répétabilité qualitative</b>	Centrifugation	<b>100 %</b> positif
	Migration	<b>100 %</b> positif
<b>Répétabilité quantitative</b>	Centrifugation	<b>12,8 %</b> de CV*
	Migration	<b>17,9 %</b> de CV*

Tableau 2 (suite)

Caractéristique de performance	Eclaircissement	Valeur obtenue à l'issue de la caractérisation
Reproductibilité	Appareil	83.6 % de CoMoy**
	Opérateur	95.6 % de CoMoy**
Sélectivité ***	Limoneux	90,7 % de CoMoy**
	Sableux	76,5 % de CoMoy**
	Argileux	24,9 % <sup>1</sup> de CoMoy**

\* CV = coefficient de variation

\*\* CoMoy = concordance des moyennes des modalités

\*\*\* Sélectivité = concordance évaluée entre centrifugation et migration au sein de chaque texture

1 : L'éclaircissement des sols contenant un taux d'argile conséquent doit se faire uniquement par centrifugation (cf. point 8.1.4). En effet une forte disparité des résultats peut être observé selon la technique d'éclaircissement, le taux de récupération des larves de *Meloidogyne* par migration (9,9% ± 1,1) est inférieur à celui obtenu par centrifugation (39,6% ± 1,9).

## Bibliographie

- den Nijs L., Brinkman H., van der Sommen A (2004) A Dutch contribution to knowledge on phytosanitary risk and host status of various crops for *Meloidogyne chitwoodi* Golden et al., 1980 and *M. fallax* Karssen, 1996: an overview. *Nematology* 6: 303-312. <https://doi.org/10.1163/1568541042360492>
- Elling A. A. (2013). Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology* 103(11), 1092–102. <https://doi.org/10.1094/phyto-01-13-0019-rvw>
- EPPO (2023) Global database consultée le 15/06/2023 <https://gd.eppo.int/>
- Karssen G. (2002) The Plant-Parasitic Nematode Genus *Meloidogyne* in Europe. Brill Academic Pub (July 1,2002).

## Annexe : Calibration de l'élutriateur

### a. Création de repères

Deux repères doivent être matérialisés : il s'agit des repères « 6L » et « 8L ». Ces repères sont définis et correspondent aux volumes d'eau contenu dans l'appareil, au-dessus du tuyau de vidange (5). Ces niveaux peuvent être définis par mesures à partir du haut du de l'appareil (cf. Figure 2), ou par remplissage en suivant ces étapes :

- remplir d'eau le bas de l'appareil à l'aide de la vanne de remplissage (4) jusqu'à un écoulement par le tuyau de vidange (5) puis fermer la vanne (4),
- une fois l'écoulement terminé par le tuyau de vidange, le fermer à l'aide d'un système adapté (il est conseillé d'utiliser d'une molette de fermeture permettant le contrôle du débit),
- remplir l'appareil avec environ 6 L d'eau (en versant l'eau par le haut),
- au niveau de la surface de l'eau, inscrire sur l'appareil et de façon permanente le repère « 6L »,
- ajouter 2 L d'eau dans l'appareil (par le haut),
- au-niveau de la surface de l'eau, inscrire sur l'appareil et de façon permanente le repère « 8L ».

### b. Positionnement du cône de rinçage

Le cône de rinçage (1) doit être placé de façon à ce que sa partie basse se situe au même niveau que le repère « 8L » comme schématisé sur la Figure 2. La position de ce cône de rinçage est importante car ses éléments servent également de repères lors de l'extraction (le bas du prisme de diffusion (3) et le repère de la partie verticale (2) avec environ 10,5 cm entre 2 et 3).

### c. Calibration du débitmètre

Le débitmètre fourni avec l'élutriateur, ou tout autre débitmètre, mesurant l'eau alimentée par la vanne de remplissage (4) doit être vérifié avant la mise en service de l'appareil. En effet, des disparités peuvent être constatées entre les valeurs inscrites sur le débitmètre et le débit réel dans l'élutriateur installé au laboratoire. Il est donc fortement recommandé de bien identifier un positionnement du flotteur pour que le débit se situe à environ  $37,5 \text{ L/h} \pm 2,5 \text{ L/h}$ . Théoriquement pour ces débits, le remplissage d'un volume de 8L doit être compris entre environ 12 et 14 minutes. Il est donc recommandé de vérifier la durée approximative de ce remplissage lors de tests. L'échelle du débitmètre livré avec l'appareil étant peu adaptée pour l'utilisation de cette méthode, il peut être envisageable de le remplacer avec un débitmètre avec une échelle moins étendue (exemple : 5 à 50 L/h).