



*Séminaire : Invasions biologiques et crises sanitaires
Leurs conséquences pour la surveillance et le diagnostic phytosanitaires*

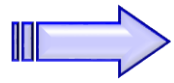
Le nématode du pin : Contribution à la surveillance du territoire



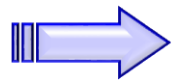
Photo Setúbal Portugal, G. Roux, INRA Orléans

ANSES, Laboratoire de la santé des végétaux
Xavier Tassus et Laurent Folcher

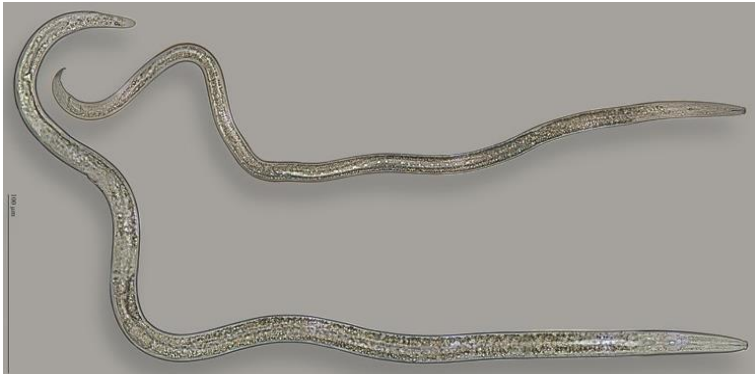
Le nématode du pin



Le nématode du pin, *Bursaphelenchus xylophilus*, est classé organisme de quarantaine depuis 1986 (directive européenne 2000/29/CE abrogée : UE 2016/2031)



C'est un ver microscopique (< 1mm) qui se développe dans le bois de divers conifères, principalement des pins.



Grossissement x 400



Photo Setúbal Portugal, G. Roux, INRA Orléans

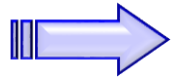
Les symptômes

➡ Un arbre contaminé peut mourir en **quelques semaines** quand les conditions climatiques sont favorables au nématode.



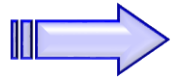
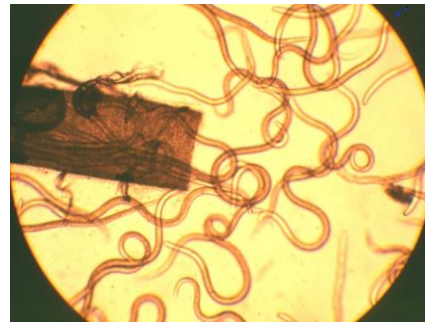
Photos Setúbal Portugal, G. Roux, INRA Orléans

Les voies de dissémination



Mode de dissémination à courte distance:

il est transmis d'un arbre à un autre uniquement par des **insectes vecteurs**, coléoptères du genre *Monochamus* (lors de prise de nourriture ou ponte)

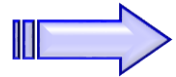


Mode de dissémination à longue distance :

Par les échanges commerciaux de bois (bois d'œuvre ou bois de palettes par exemple) pouvant contenir **le vecteur contaminé**.



Les niveaux de la surveillance et les matrices à analyser



Surveillance du territoire:

DGAI: Plan de surveillance national nématode du pin selon NS
DGAI/SDQPV/N2013-8132 du 31 juillet 2013

Matrices ciblées : arbres et insectes vecteurs

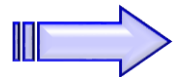


ORDRE DE SERVICE D'INSPECTION

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE 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 : Emmanuel Koen / Caroline Lemaître
Tél : 01 49 45 57 54
Courriel institutionnel : bssv.sdqpv.dgal@agriculture.gouv.fr
Réf. Interne : BSSV/2013-07-023
MOD10.21 F 20/07/12

NOTE DE SERVICE
DGAL/SDQPV/N2013-8132
Date: 31 juillet 2013



Imports:

Prélèvements par les SIVEP/SRAI

Matrices ciblées : bois de calage/arrimage, d'emballage et palettes



Outils d'analyse

Combinaison de méthodes d'analyses pratiquées dans le cadre du processus officiel



MOA 020 partie C. B. Analyse morphologique et identification par analyse morphologique du nématode du pin *Bursaphelenchus xylophilus* (uniquement LSV) bois de conifères
Screening / bois par les laboratoires agréés

MOA 020 partie C. B. Analyse biomoléculaire du nématode du pin *Bursaphelenchus xylophilus* (uniquement LSV)
Confirmation + palettes et import



MOA 020 partie C. B. Analyse biomoléculaire du nématode du pin *Bursaphelenchus xylophilus* (uniquement LSV) vecteur (uniquement LSV)
Analyses sur vecteurs

Extraction des nématodes à partir du bois

- Echantillons analysés



- Extraction des nématodes (commune au LSV et labos agréés)

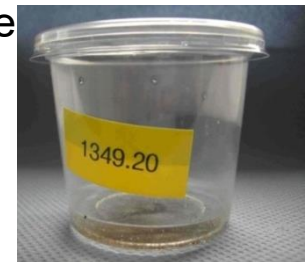


Méthode d'extraction Baermann modifiée:

- migration par gravité
- durée mini 24h
- réduction volume de l'extrait par tamisage



Obtention d'un extrait

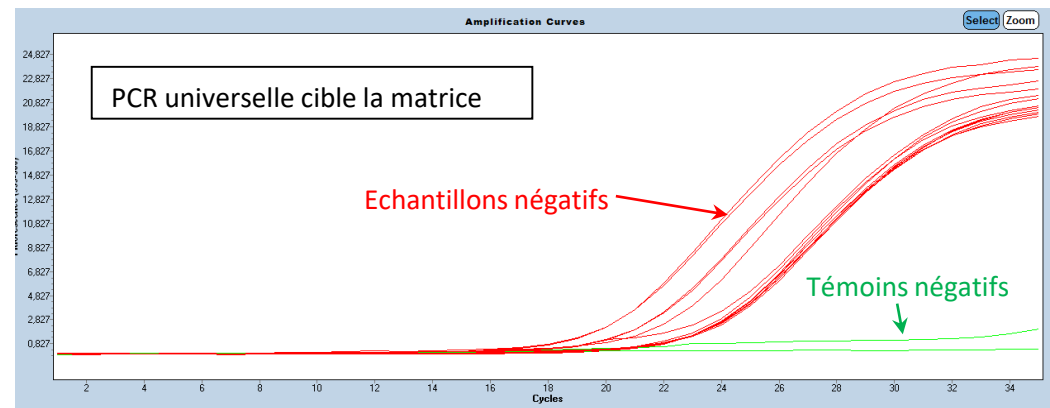
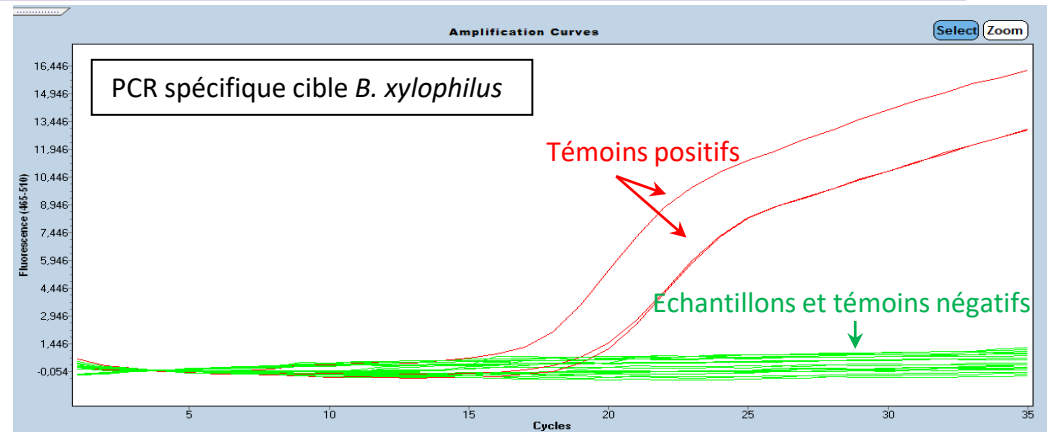


Méthode de screening (déléguée)

- Plan de surveillance de 1200 échantillons/an
- 2 laboratoires agréés
- 1 EILA tous les 2 ans

extraction de l'ADN total de l'extrait + PCR temps réel

- ✓ Sédimentation de l'extrait
- ✓ Broyage du culot
- ✓ Extraction avec un kit
- ✓ qPCR duplex



Méthodes d'analyses au LSV

1. Détection à partir de bois

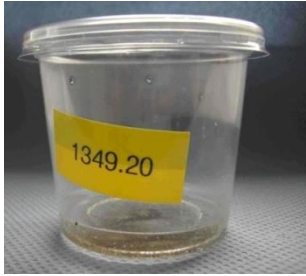
identification morphologique
+ PCR conventionnelle sur individus isolés

- Pour confirmer les résultats positifs des laboratoires agréés
- Dans le cas des échantillons de bois d'emballages (palettes...) et d'import (par souci de rendu plus rapide de résultats)

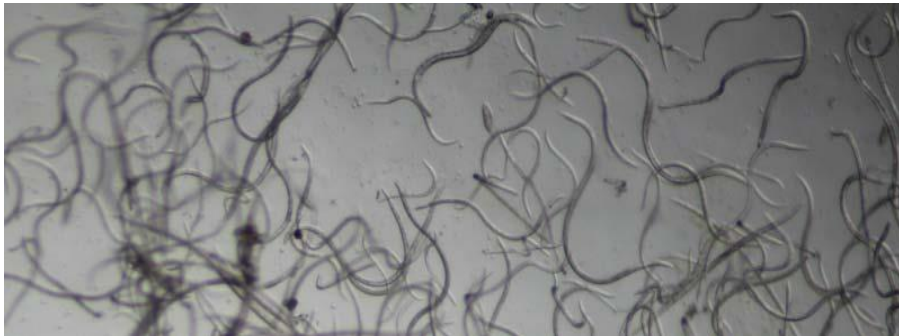


Méthodes d'analyses au LSV

- Identification morphologique



- Observation des nématodes à la loupe binoculaire
- Sélection des individus du genre *Bursaphelenchus*
- Montage entre lame et lamelle
- Observation microscopique



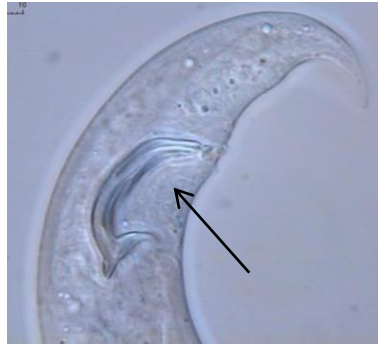
Méthodes d'analyses au LSV

• Identification morphologique

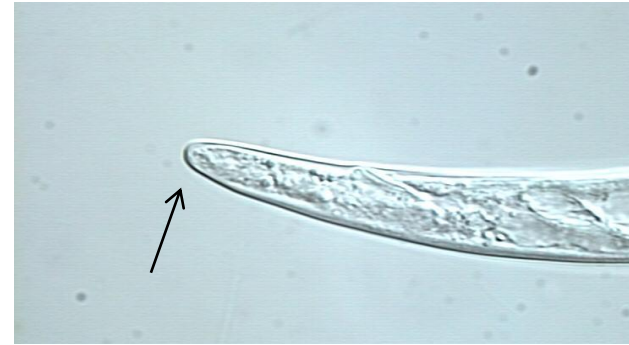
Caractéristiques de l'espèce *Bursaphelenchus xylophilus*



Recouvrement vulvaire important



Longs spicules très arqués



G x1000

Extrémité de la queue de la femelle arrondie

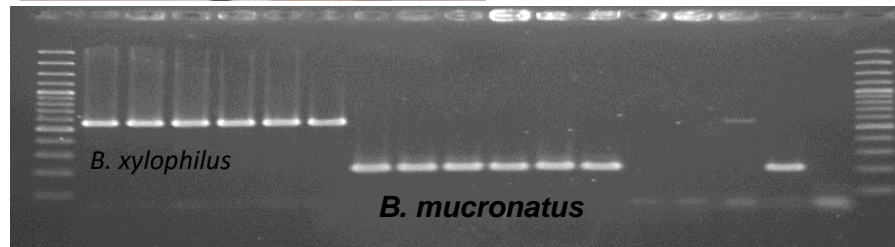
• Identification par PCR

- Mise en tubes d'individus isolés dans du tampon de lyse

- Broyage billes

-Extraction ADN

- PCR conventionnelle

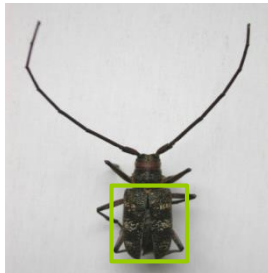


Méthodes d'analyses au LSV

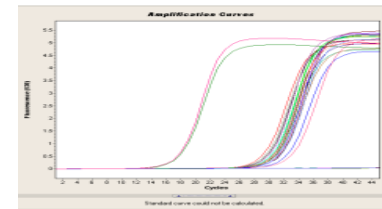
2. Détection dans l'insecte



extraction de l'ADN total+ PCR temps réel



Extraction d'ADN
total avec kit maxi



Analyse par PCR temps
réel


Évaluation des risques de dissémination et de l'efficacité des mesures de coupe rase



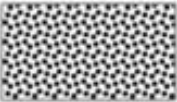
Photo Setúbal Portugal, G. Roux, INRA Orléans

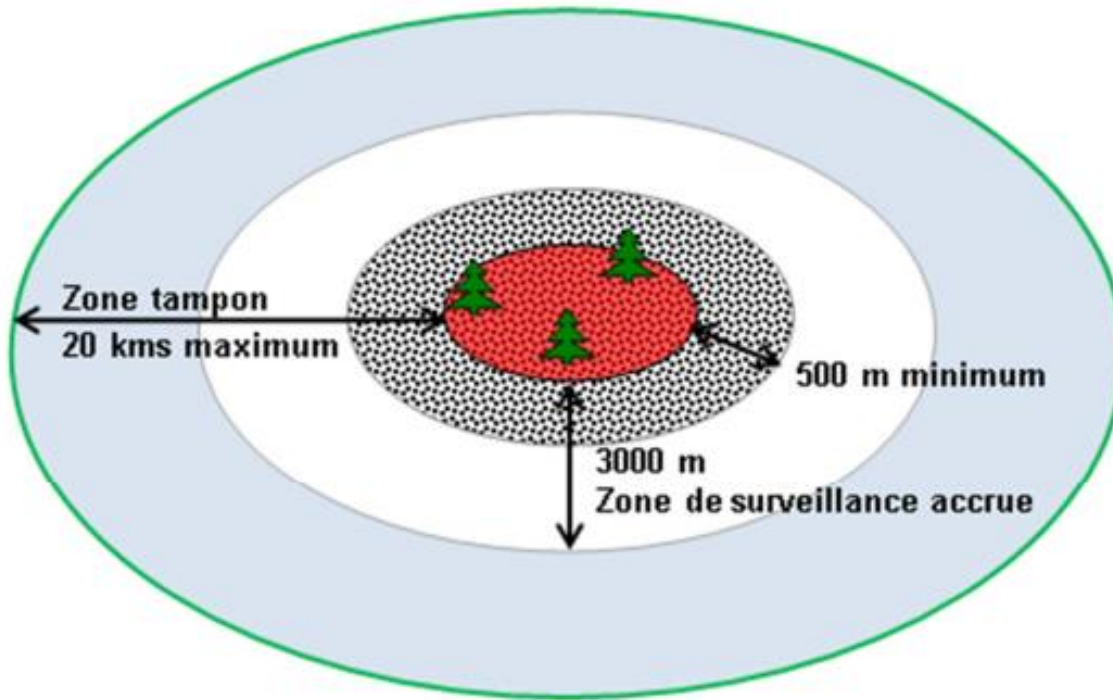
Décision 2012/535/UE

Zone délimitée = zone infestée + zone tampon de 6 à 20 kms

 Arbre testé positif

 ZONE INFESTEE

 ZONE
« coupe à blanc »



Rayon de 500 m = 78 ha

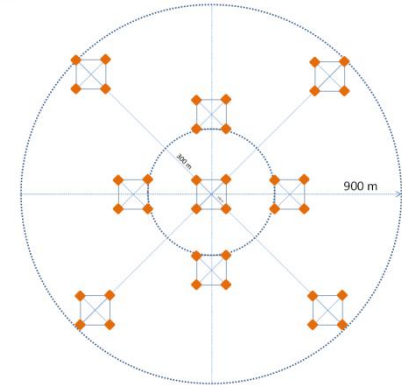
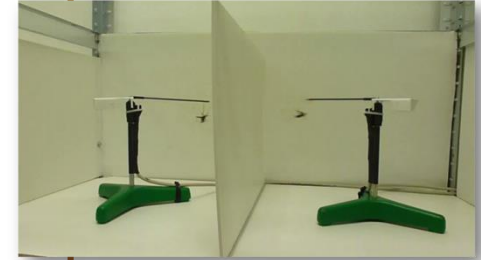
78 ha de forêts continues de pins (Forêt des Landes) = 40 000 arbres

40 000 arbres = 20 000 m³ de bois = 1 pile de bois de 2,5 km long

Réglementation Européenne

Afin d'examiner la pertinence des mesures d'urgence, il a été nécessaire :

- (1) d'estimer la distance de dissémination du vecteur européen,
Monochamus galloprovincialis
- ❖ Expérimentation en manège de vol
- ❖ Expérimentation de lâcher recapture



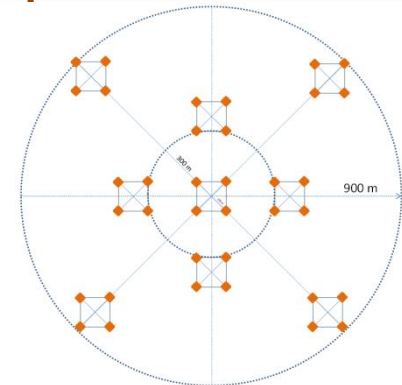
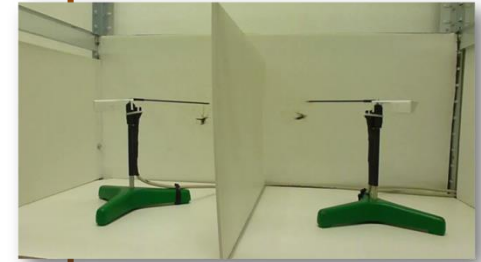
Réglementation Européenne

Afin d'examiner la pertinence des mesures d'urgence, il a été nécessaire :

- (1) d'estimer la distance de dissémination du vecteur européen,
Monochamus galloprovincialis
 - ❖ Expérimentation en manège de vol
 - ❖ Expérimentation de lâcher recapture

- (2) de vérifier l'efficacité de la coupe rase
 - ❖ Calibration d'un modèle de simulation ajusté premièrement à partir des distances de dissémination obtenues en manège de vol puis avec les taux et les temps de recapture

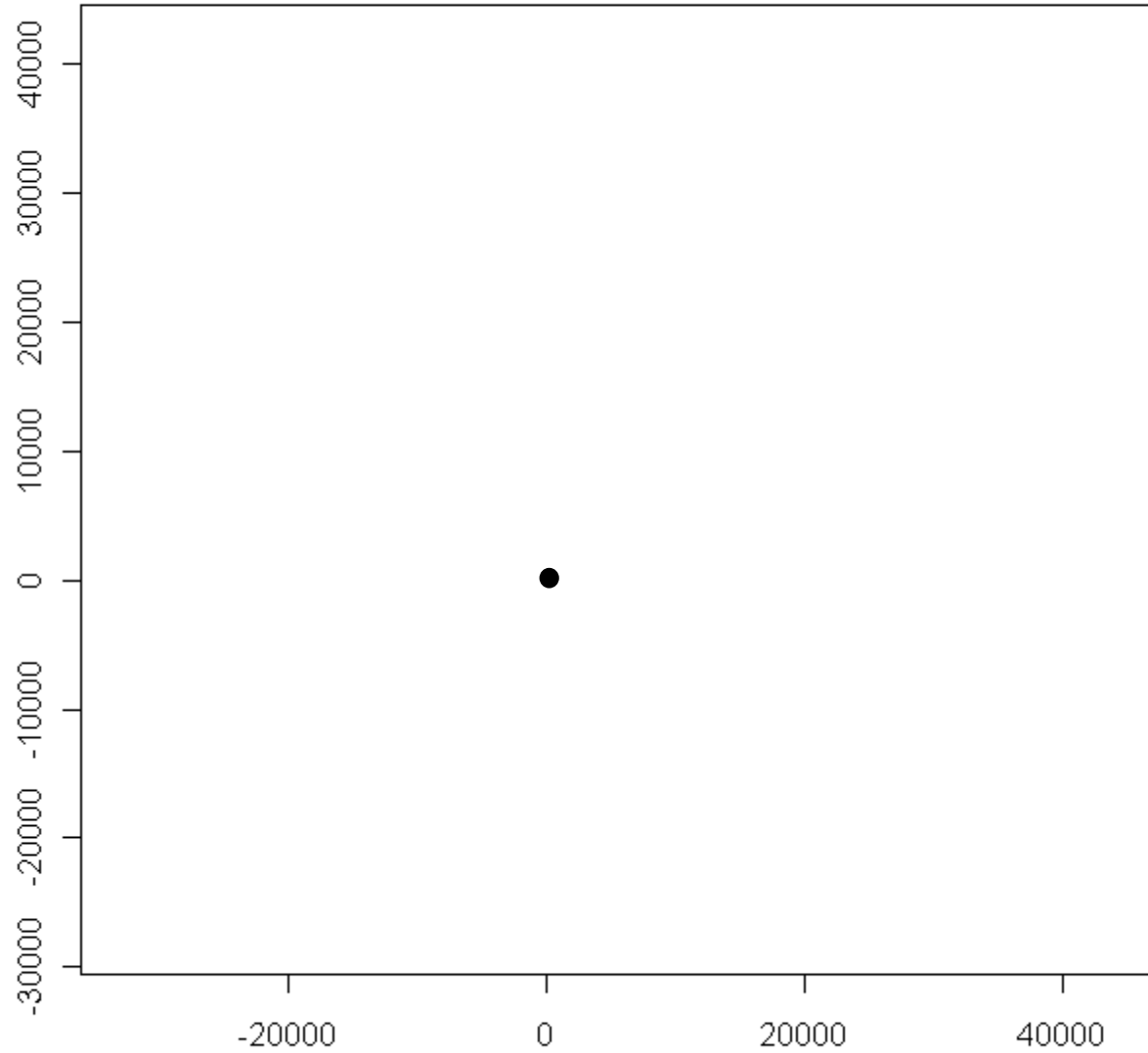
 - ❖ Simulations des coupes rases



Stochastic dispersal simulation

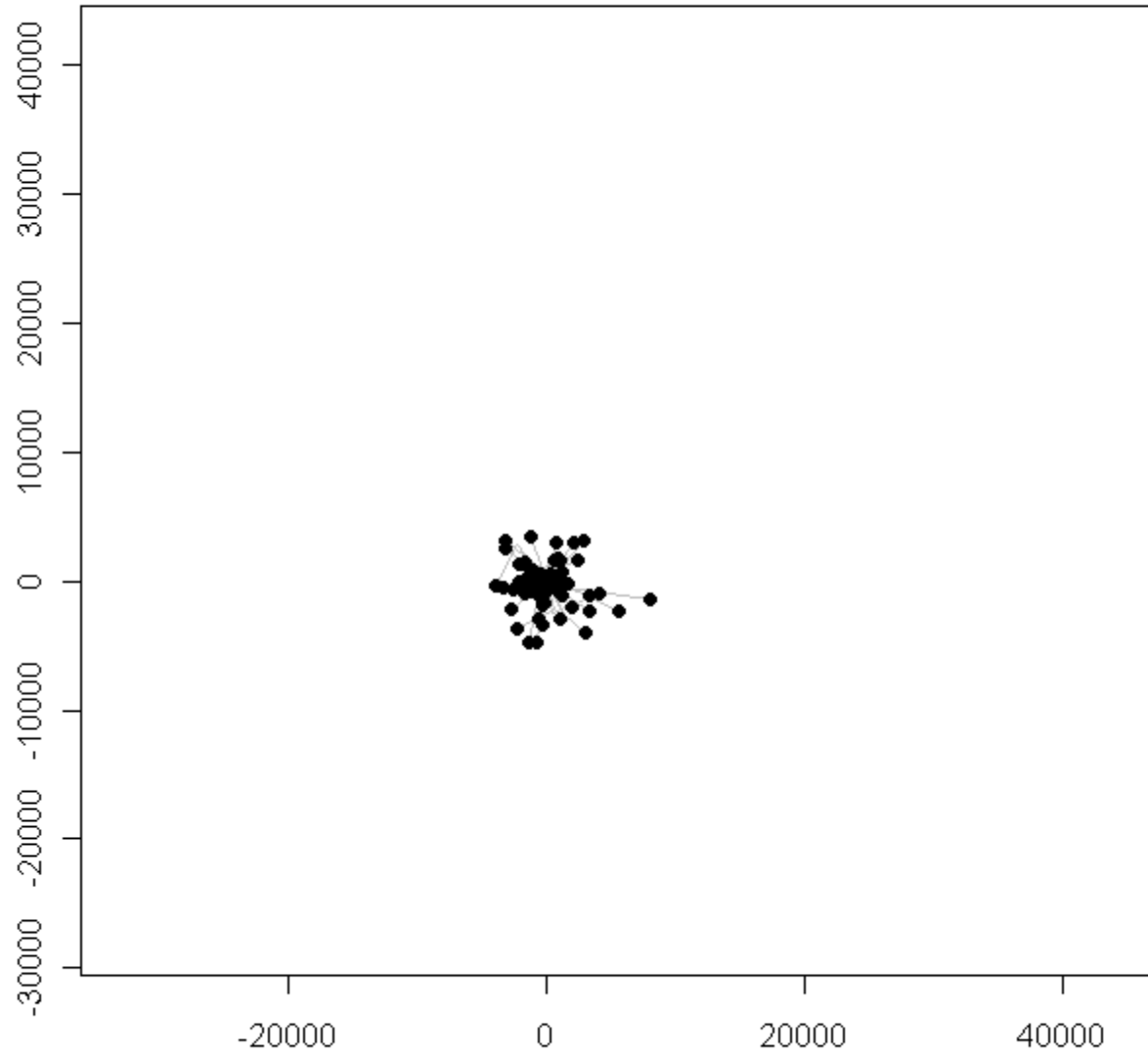
Jour 0

● Trajectoire de l'insecte



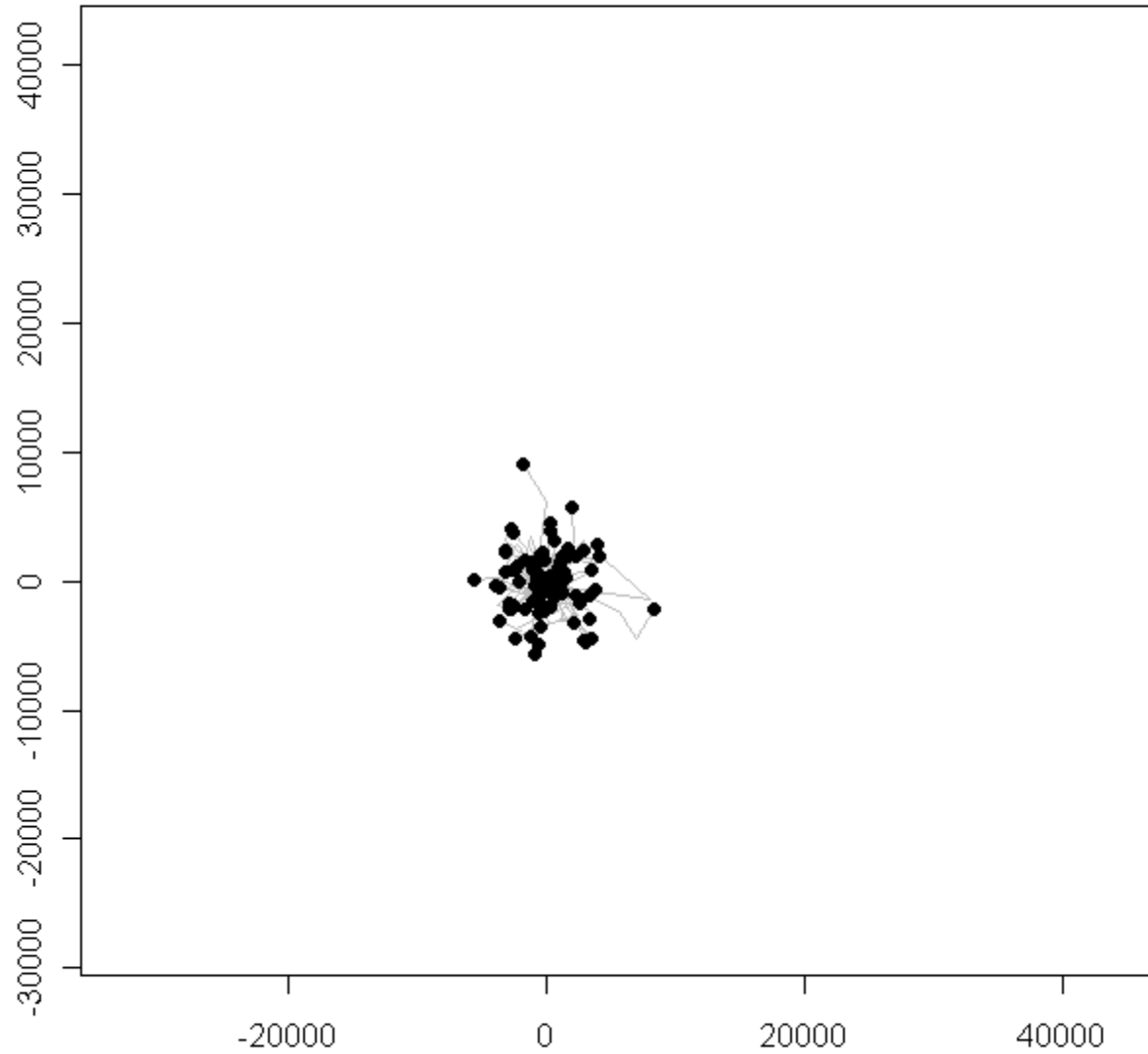
Stochastic dispersal simulation

Jour 2



Stochastic dispersal simulation

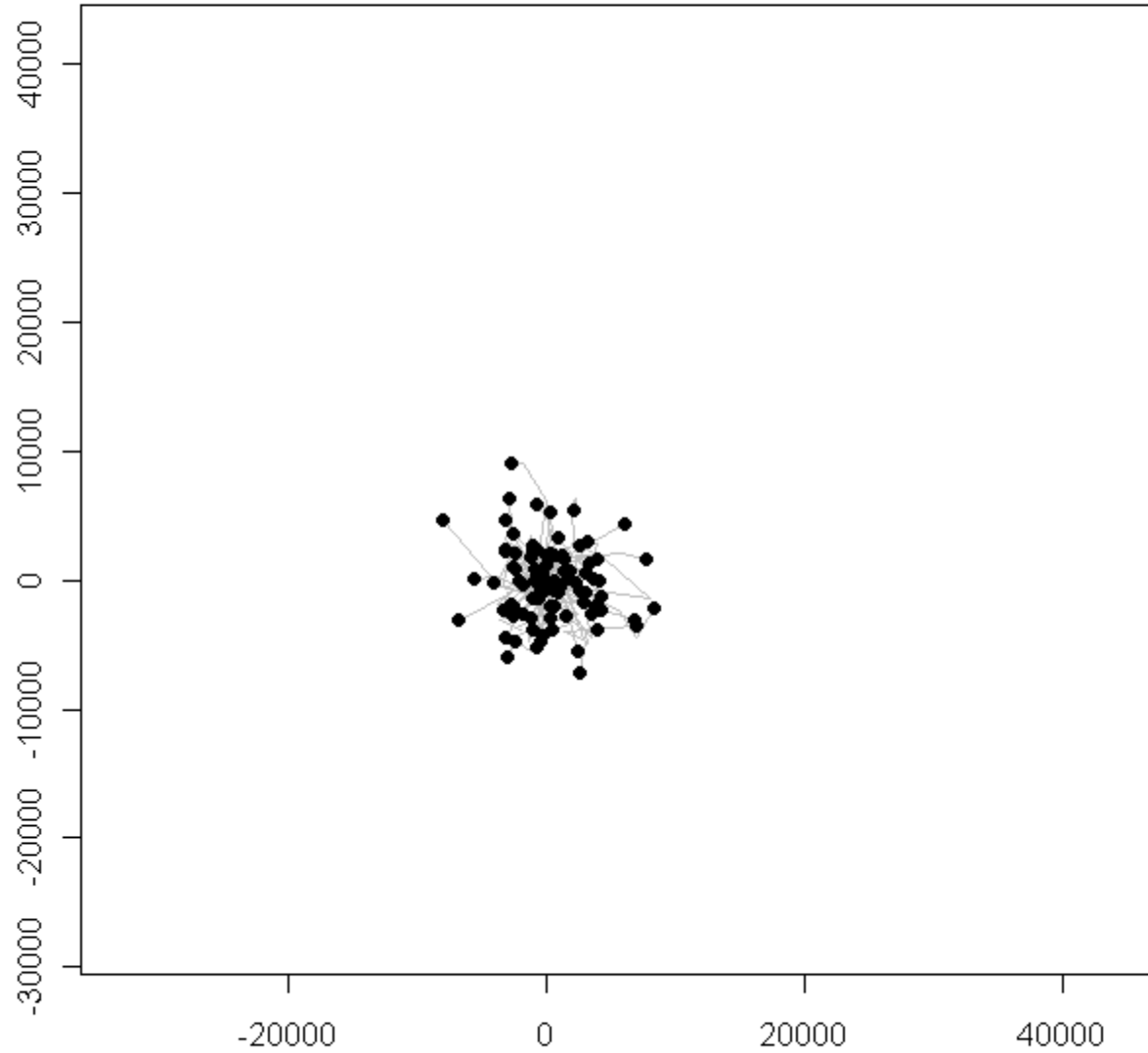
Jour 4



Stochastic dispersal simulation

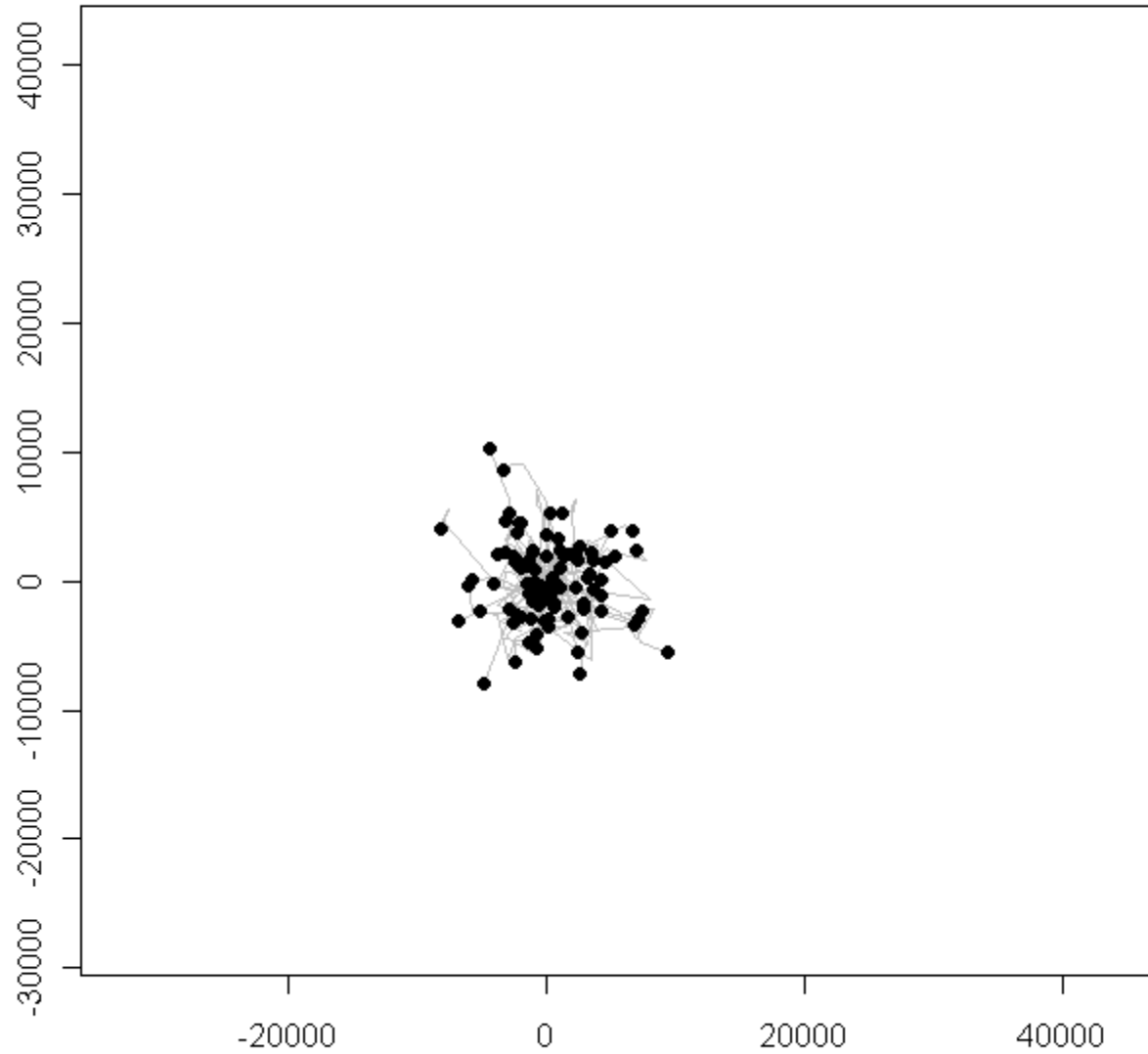
Jour 6

● Trajectoire de l'insecte



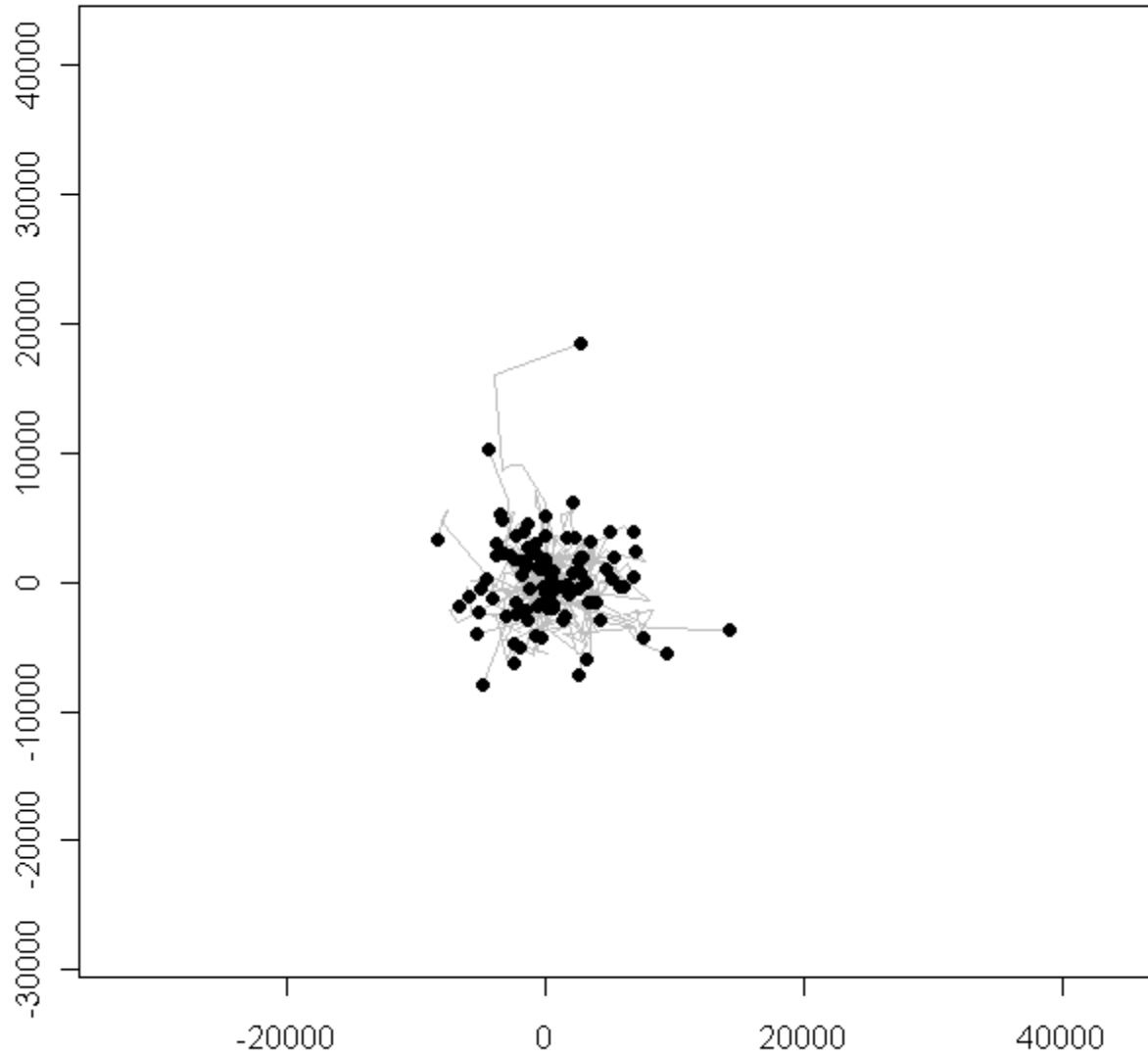
Stochastic dispersal simulation

Jour 8



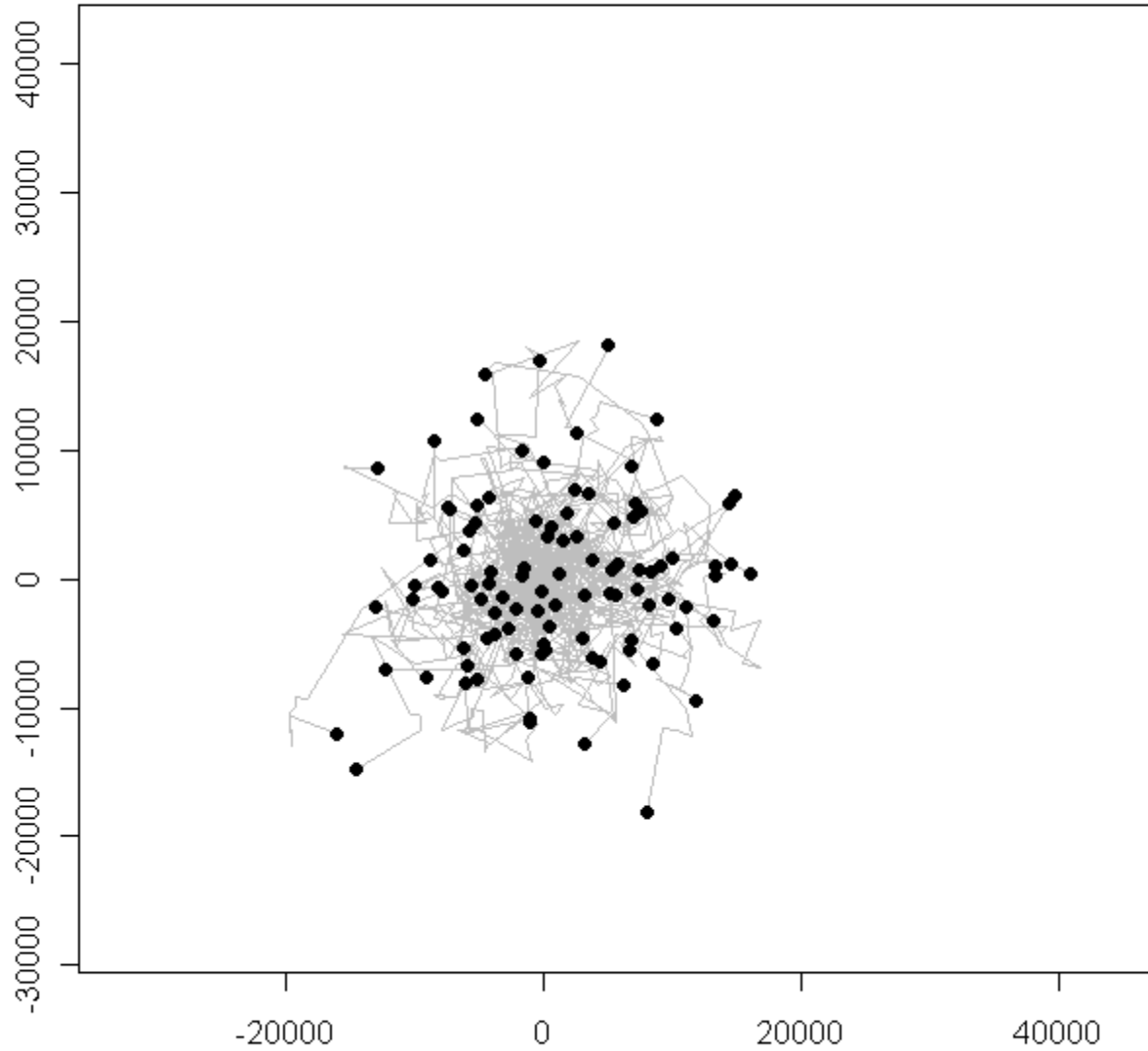
Stochastic dispersal simulation

Jour 10



Stochastic dispersal simulation

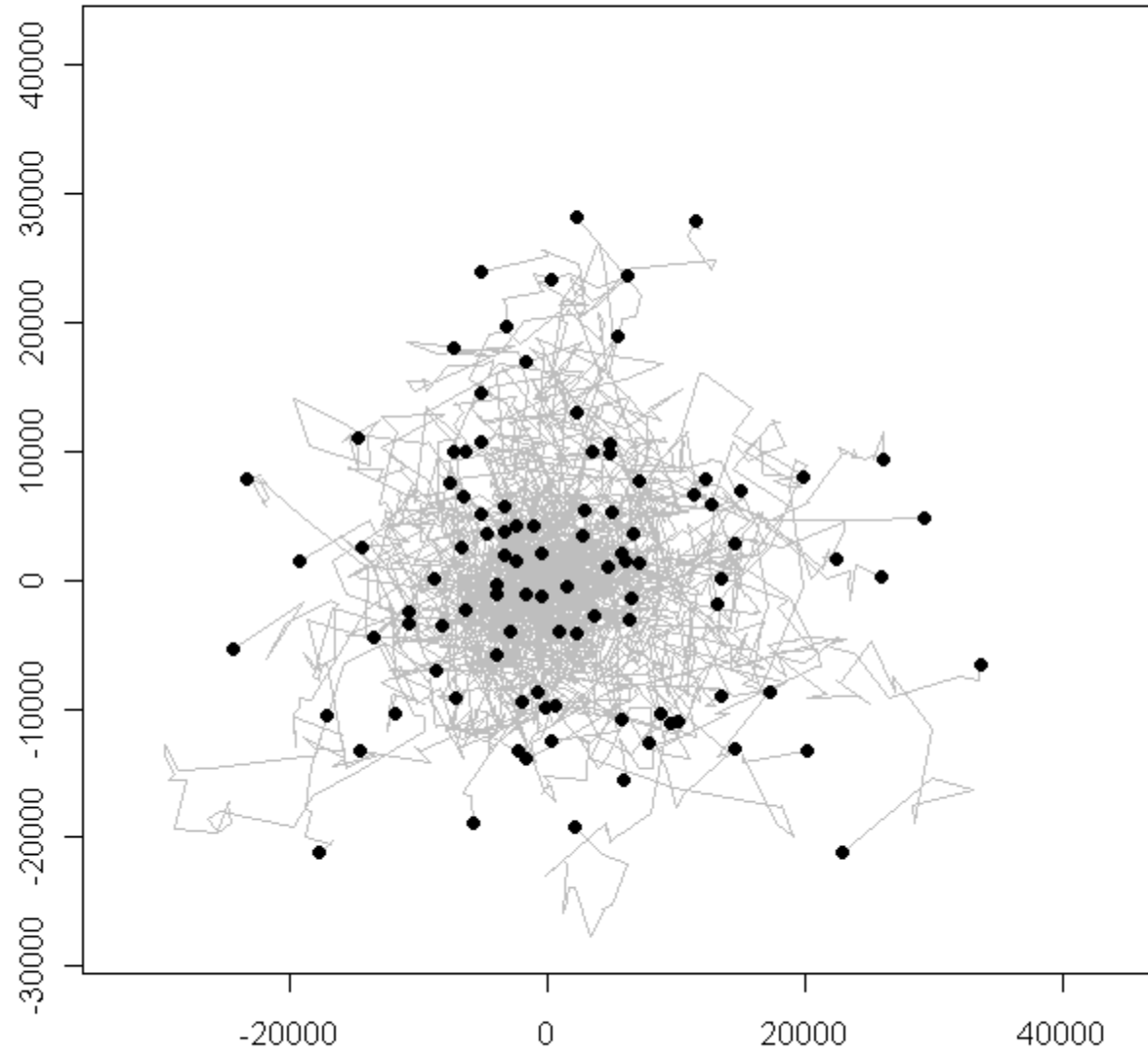
Jour 30



Stochastic dispersal simulation

Jour 60

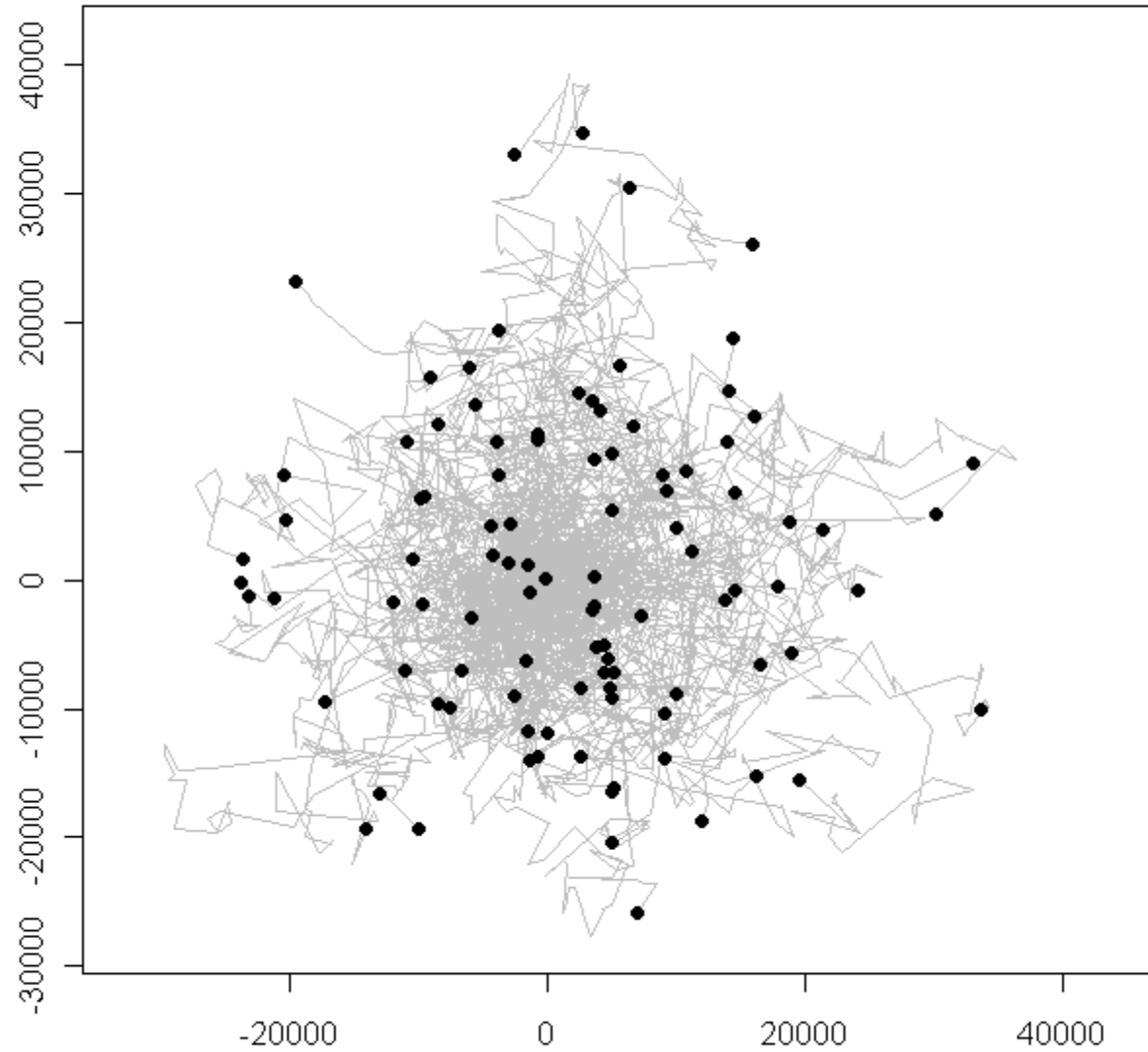
● Trajectoire de l'insecte



Stochastic dispersal simulation

Jour 80

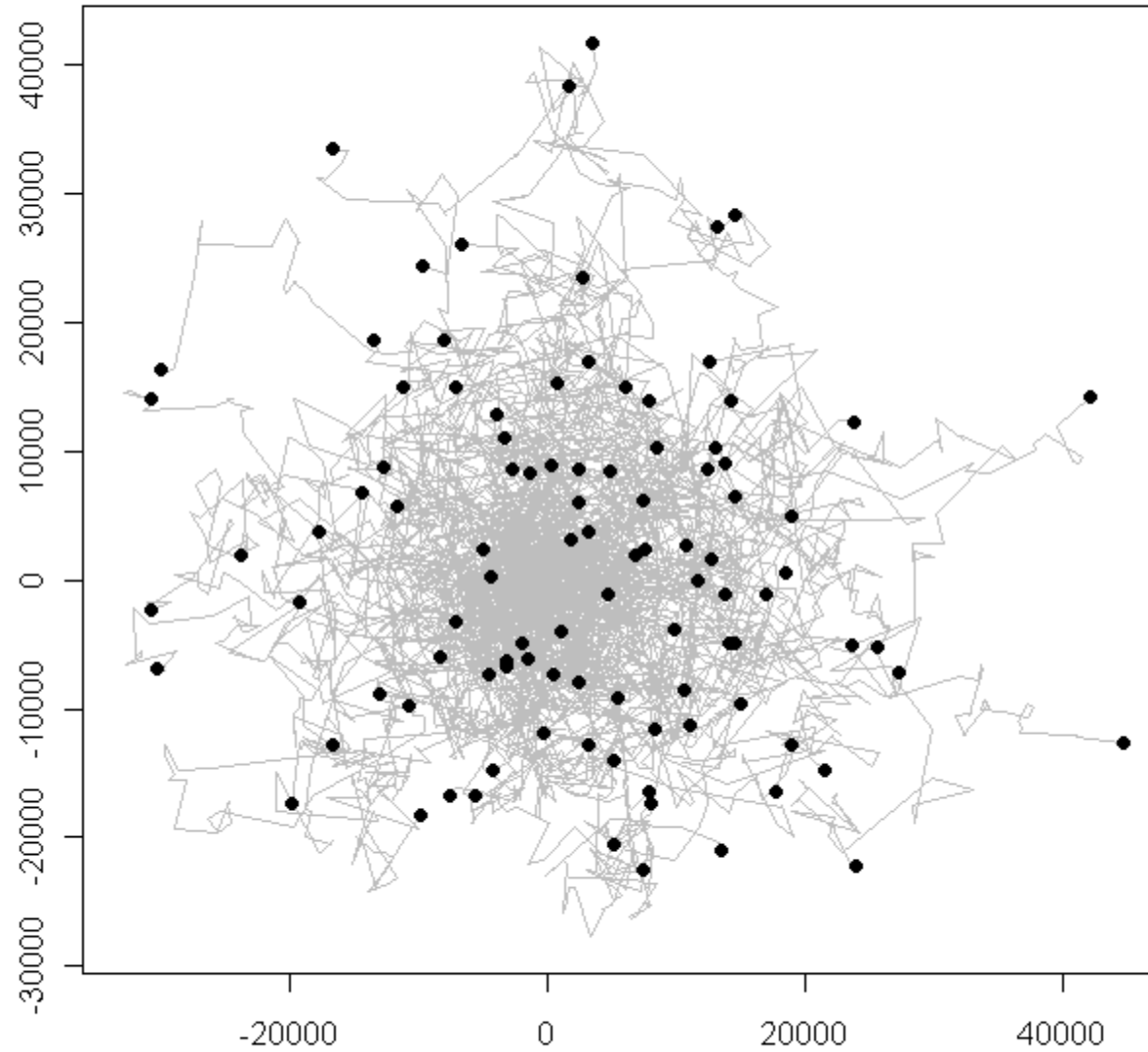
● Trajectoire de l'insecte



Stochastic dispersal simulation

Jour 120

● Trajectoire de l'insecte



Les questions :

- Quelle est l'efficacité de la coupe rase?
- Quel est le rayon optimum de la coupe rase?

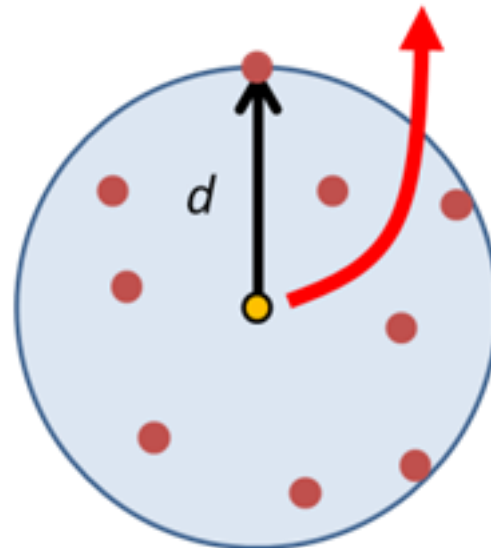
Les questions :

- Quelle est l'efficacité de la coupe rase?
- Quel est le rayon optimum de la coupe rase?

1- Scénario préventif

Scenario 1

Pine infected
and detected
at year N



Prevent migration
of immature beetles
at year N+1

Preventive clear-cut in winter N-N+1

Les questions :

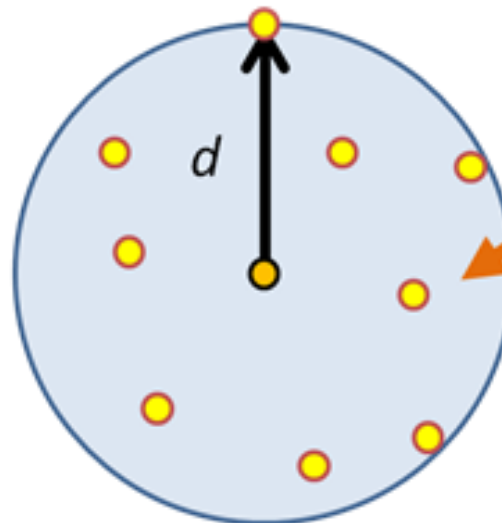
- Quelle est l'efficacité de la coupe rase?
- Quel est le rayon optimum de la coupe rase?

1- Scénario curatif

Scenario 2

Destroy overlooked, asymptomatic trees in the surroundings of the detected infected tree

Pine infected and detected at year N



Dans ce cas , l'insecte s'est déjà disséminé et la coupe rase n'a donc pas d'effet sur son comportement de vol.

Curative clear-cut since detection of first infected tree

Les questions :

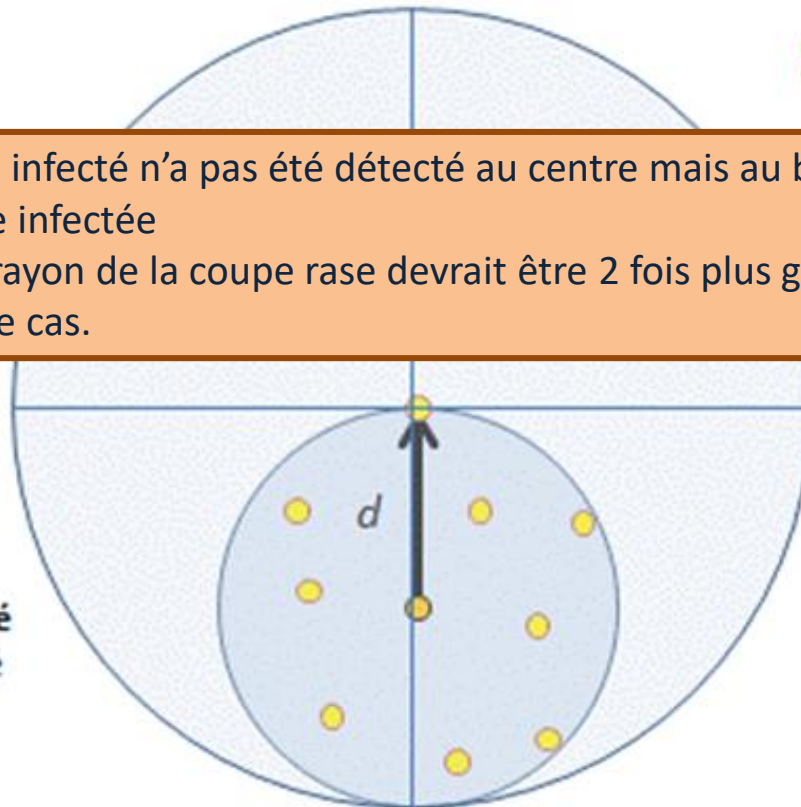
- Quelle est l'efficacité de la coupe rase?
- Quel est le rayon optimum de la coupe rase?

1- Scénario curatif

Scénario 2

L'arbre infecté n'a pas été détecté au centre mais au bord de la zone infectée
=> le rayon de la coupe rase devrait être 2 fois plus grand dans ce cas.

Pin infesté
et détecté
année N



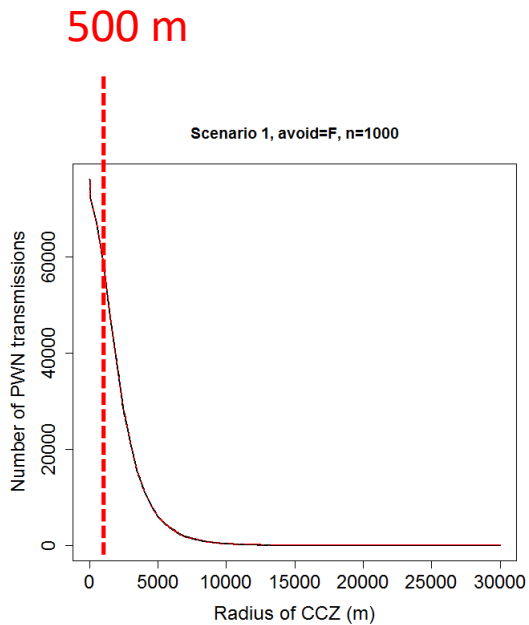
Eliminer les arbres oubliés ou asymptomatiques
présents au voisinage de l'arbre détecté

Coupe rase « curative » dès la détection de l'arbre 0

Transmission évitée du nématode du pin avec un rayon de coupe rase d'un rayon = 500 m (1000 insectes émergents)

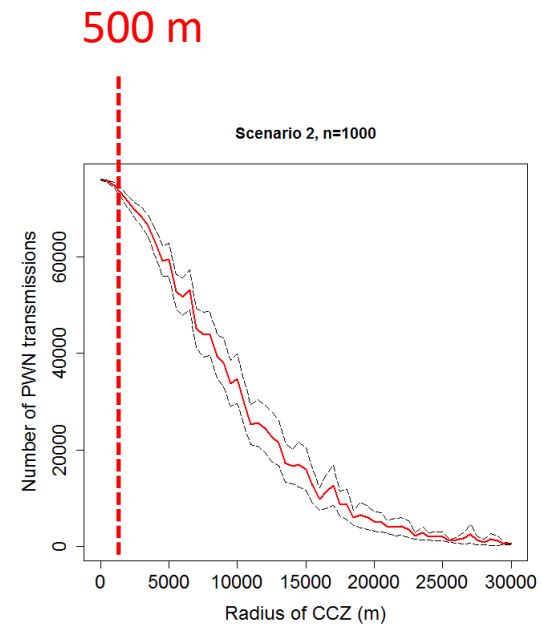
Scenario 1 Preventif

Entre 9 et 11 % des transmissions évitées



Scenario 2 Curatif

< 1 % des transmissions évitées



**Rayon recommandé pour une coupe rase permettant d'obtenir une éradication du nématode du pin
avec une probabilité de 99,9%**

**Scenario 1
Préventif**

**Scenario 2
Curatif**

R = compris entre 14.5 km (± 0.5) et 17,5 (± 1.0)

R = 38.0 km (± 1.5)

Rayon recommandé pour une coupe rase permettant d'obtenir une éradication du nématode du pin avec une probabilité de 99,9%

Scenario 1
Préventif

Scenario 2
Curatif

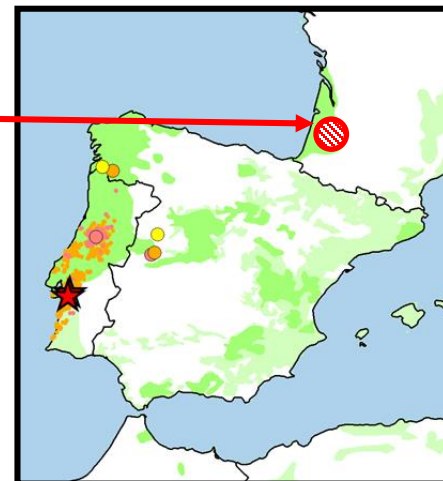
R = compris entre 14.5 km (± 0.5) et 17,5 (± 1.0)

R = 38.0 km (± 1.5)

Une coupe rase de 40 km ?

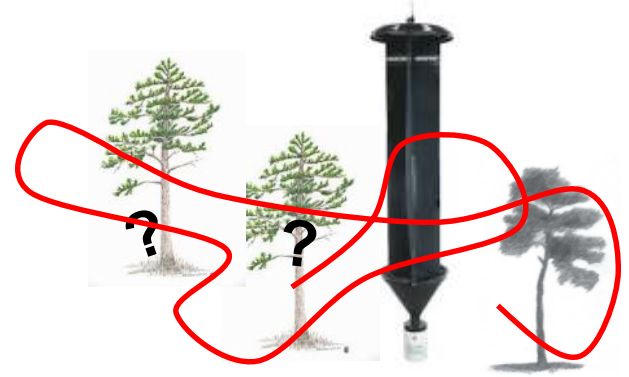
Pas techniquement et éthiquement réaliste

= 50% de la forêt des Landes



Lutte “arbre centré”

1) Surveillance et détection

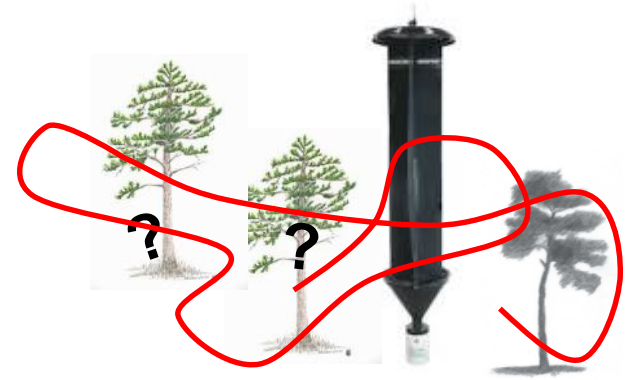


Lutte “arbre centré”

1) Surveillance et détection

Piégeage des insectes vecteurs

- **Signal précoce** (présence de nématodes dans les insectes piégés)
pour lancer la détection d’arbres symptomatiques

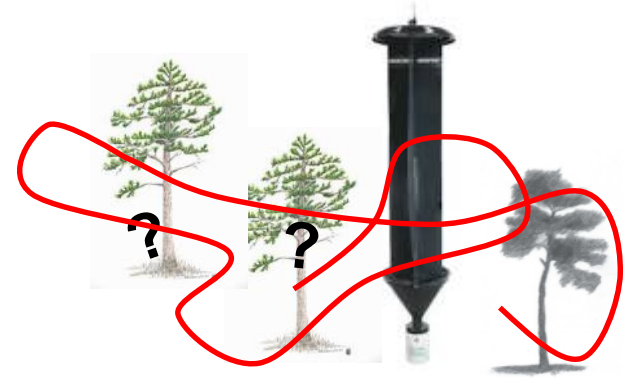


Lutte “arbre centré”

1) Surveillance et détection

Piégeage des insectes vecteurs

- **Signal précoce** (présence de nématodes dans les insectes piégés) pour lancer la détection d'arbres symptomatiques



Choisir les sites de piégeage = les zones sensibles où le risque d'introduction des nématodes est majeur

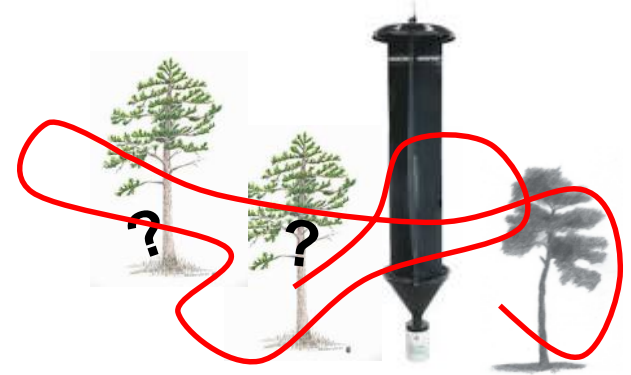


Lutte “arbre centré”

1) Surveillance et détection

Piégeage des insectes vecteurs

→ **Signal précoce** (présence de nématodes dans les insectes piégés)
pour lancer la détection d'arbres symptomatiques



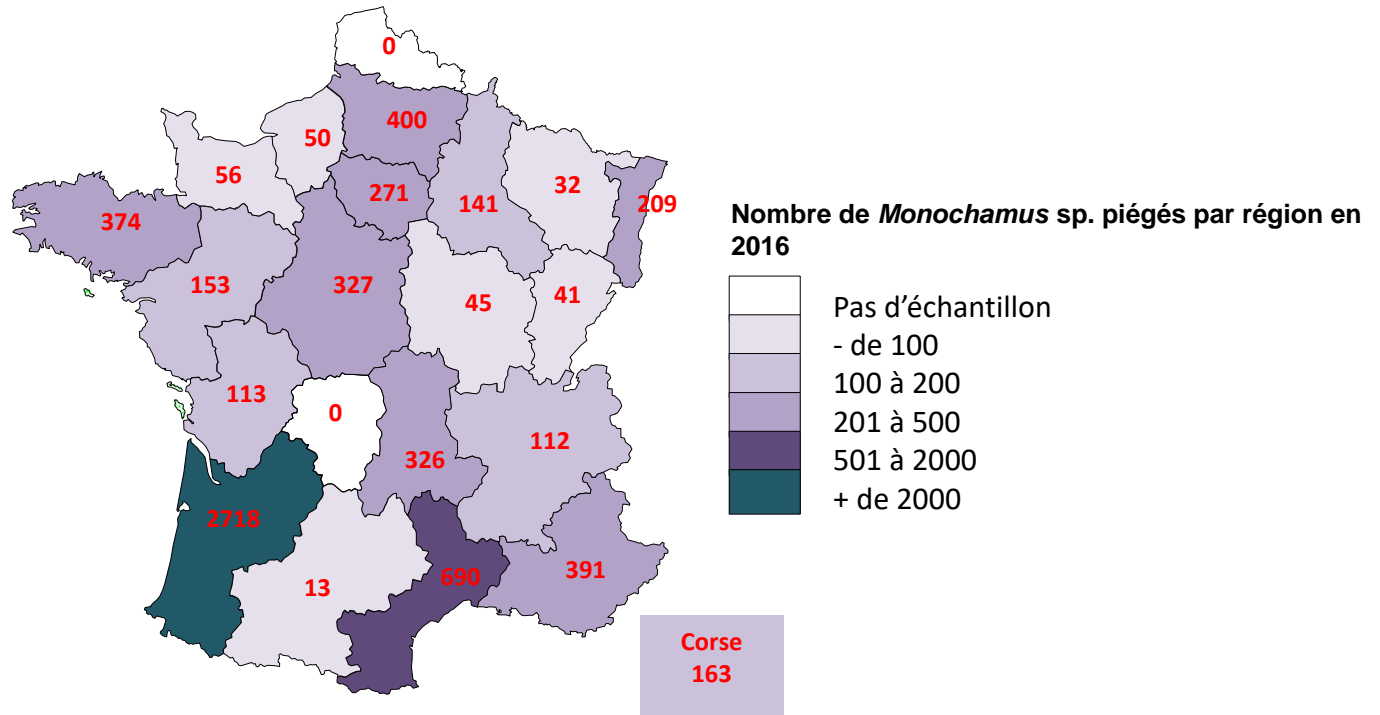
Choisir les sites de piégeage = les zones sensibles où le risque d'introduction des nématodes est majeur



Mais aussi un réseau de pièges plus systématique au niveau de la forêt (à définir en fonction des modèles de dissémination de *M. galloprovincialis*)

Résultats du piégeage 2016

90 pièges, 4 relevés/piège → 360 échantillons/an
6625 insectes piégés en 2016



Aucun nématode du pin détecté dans les insectes piégés

Lutte “arbre centré”

Détection précoce d'arbres symptomatiques dans des zones de forêt où des *M. galloprovincialis* ont été capturés et détectés infectés par le nématode du pin

Méthodes de surveillance au sol

- Observations des symptômes
- Confirmation par des analyses de laboratoire



Lutte “arbre centré”

Détection précoce d’arbres symptomatiques dans des zones de forêt où des *M. galloprovincialis* ont été capturés et détectés infectés par le nématode du pin

Méthodes de surveillance au sol

- Observations des symptômes
- Confirmation par des analyses de laboratoire

Inconvénient : la majorité des arbres dépérissants sont observés à proximité des chemins (ce qui représente seulement 16 % de la surface d’une forêt)

→ **Besoin d’une méthode plus efficace et moins coûteuse**



Lutte « arbre centré »

Méthodes aériennes : « sketch mapping »



0 0.5 1 2 Kilomètres

Lutte « arbre centré »

Méthodes aériennes : « sketch mapping »



0 0.5 1 2 Kilomètres

Difficultés :

- Dissémination des arbres contaminés
- Symptômes non spécifiques

Lutte « arbre centré »

Méthodes aériennes : « sketch mapping »



Difficultés :

- Dissémination des arbres contaminés
- Symptômes non spécifiques

Améliorations potentielles du «sketch mapping»:

Prise en compte de la dynamique spatio-temporelle des arbres contaminés



The feasibility of detecting trees affected by the Pine Wood Nematode using remote sensing

Pieter S. A. Beck
Pablo Zarco-Tejada
Peter Strobl
Jesús San Miguel

2015

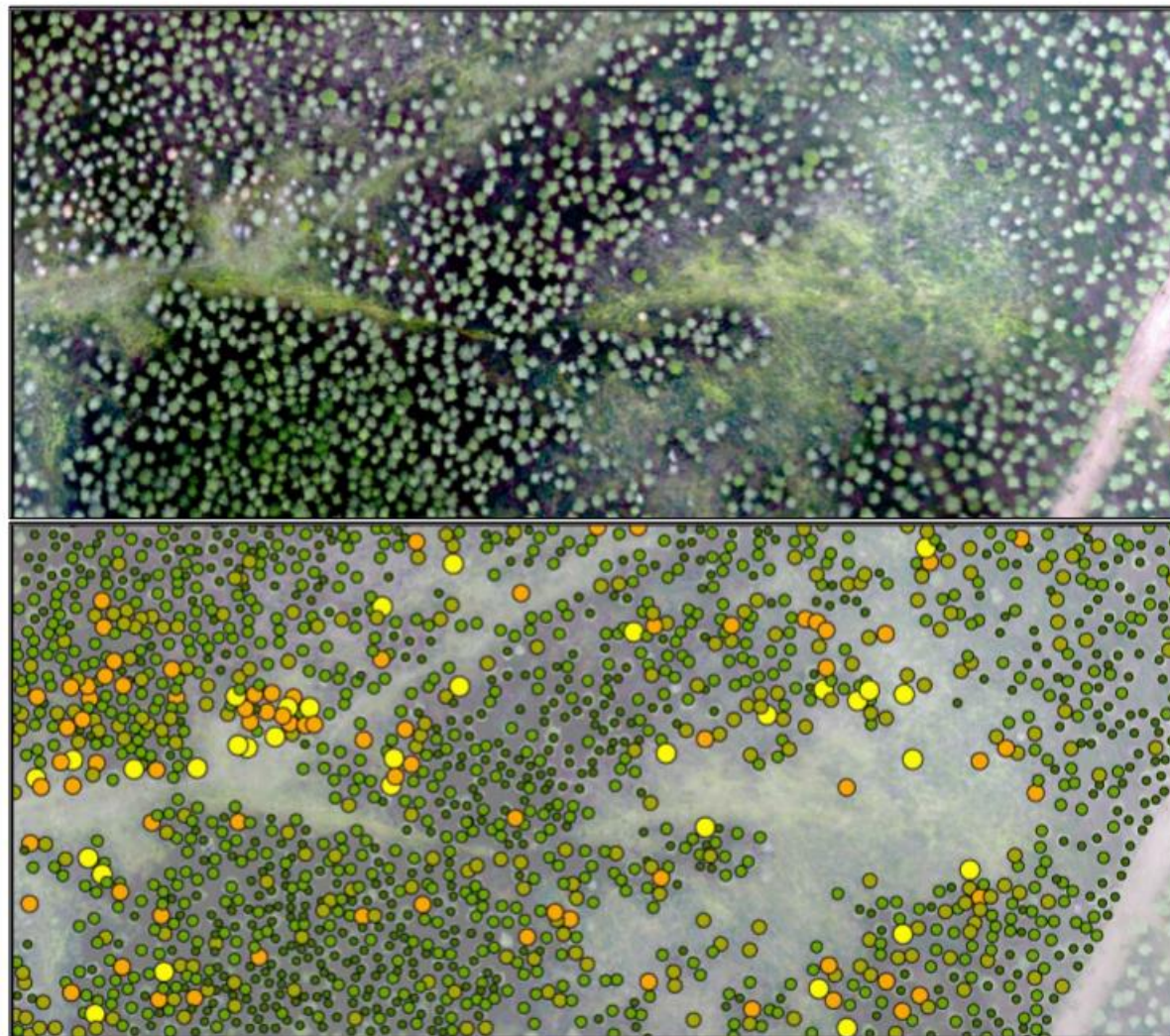


Figure 10. Example of the colour imagery collected over the Monte de Granadilla forest (top), and a tree crown condition indicator based on spectral information in the imagery (bottom): Larger symbols indicate trees where the imagery show increasing levels of canopy decline, and which would be prioritised in a field campaign aimed at inspecting or removing trees in poor health. Maps such as this one can be shared in hard copy or digitally with teams working in the field, and can also be used for feedback to improve tree crown condition mapping based on remote sensing. The depicted area measures 360 m across.

Lutte « arbre centré »

Coupe sanitaire (≠ coupe rase)



Lutte « arbre centré »

Coupe sanitaire (≠ coupe rase)

1. Surveillance annuelle des arbres d'une forêt



Lutte « arbre centré »

Coupe sanitaire (≠ coupe rase)

1. **Surveillance annuelle** des arbres d'une forêt
2. **Abattage des arbres contaminés** années après années



Lutte « arbre centré »

Coupe sanitaire (≠ coupe rase)

1. **Surveillance annuelle** des arbres d'une forêt
2. **Abattage des arbres contaminés** années après années
3. **Elimination et transformation** du bois contaminé



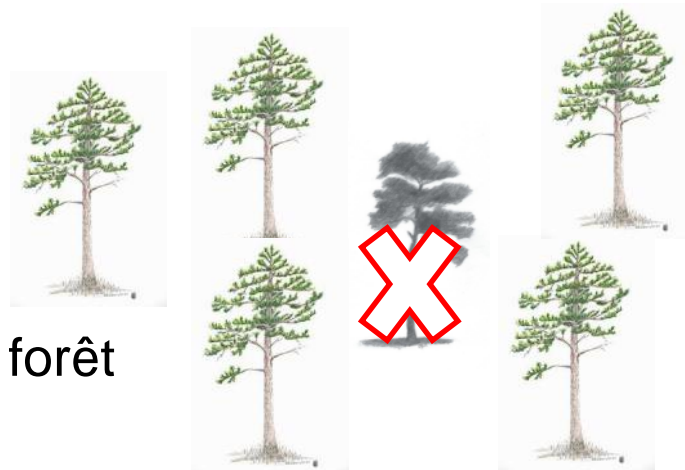
Lutte « arbre centré »

Coupe sanitaire (≠ coupe rase)

1. **Surveillance annuelle** des arbres d'une forêt
2. **Abattage des arbres contaminés** années après années
3. **Elimination et transformation** du bois contaminé



4. **Informier et impliquer** les forestiers (et autres parties prenantes) locaux



<https://www.anses.fr/fr/system/files/SVEG2014SA0103RaEN.pdf>

Evaluation of emergency
measures to prevent
the spread of
the pine wood nematode
within the European Union

ANSES opinion
Collective Expert Appraisal Report

September 2015 Scientific publication



**Merci pour
votre
attention**

Cycle de dispersion de *B. xylophilus* via l'insecte vecteur

