



Projet RITA Mahosinza « Préservation de la production de la bananeraie mahoraise face aux bioagresseurs actuels et émergents »

« Validation, transfert et formation à l'utilisation d'un test précoce de diagnostic précoce par la méthodologie LAMP pour la surveillance du territoire de Mayotte à la fusariose TR4 »

Rapport d'exécution des livrables 2.2 et 4.2

Déc. 2023

Yolande CHILIN-CHARLES, CIRAD, UMR PHIM



Rapport technique

Validation, transfert et formation à la méthode de détection de Foc TR4 par la technologie LAMP pour la surveillance du territoire de Mayotte

Projet Mahosinza (Actions 2.2 & 4.2)



Novembre 2023
Yolande CHILIN CHARLES

INTRODUCTION

Depuis la détection de Foc TR4 en septembre 2019 sur l'île de Mayotte, les agents du SALIM accompagnés par ceux du programme Eco-phyto SBT, de la DRTM et du CAPAM sillonnent régulièrement le territoire mahorrais dans le cadre de leurs activités, vigilants sur l'apparition de nouveaux symptômes de Fusariose TR4. Cependant, dans un contexte d'importante diversité de cultivars de bananiers dans les jardins mahorais, il n'est pas aisé d'identifier Foc TR4 lorsque la variété observée est différente de la Cavendish (Kontriké).

Il nous a donc semblé nécessaire de proposer un outil qui serait d'une part, simple d'utilisation pour l'ensemble des acteurs participant à la surveillance de Foc TR4, et d'autre part, rapide et fiable. Ce test que nous proposons utilise la technologie LAMP (Loop mediated isothermal amplication), utilisée plus couramment depuis 10 ans pour la détection d'autres pathogènes en santé végétale, et également humaine. Les tests développés sont aujourd'hui sensibles et fiables. Ils permettent d'avoir une réponse de diagnostic en 30 minutes à partir d'échantillons prélevés et analysés au champ à partir de petits fluorimètres très performants.

Dans le cadre du projet Mahosinza, nous avons pu acquérir l'un de ces fluorimètres, le Genie III, commercialisé par OPTIGENE, aujourd'hui remis au SALIM. Cet appareil permettra aux agents des différents instituts de réaliser dans un temps court, le test de détection LAMP directement au champ ou dans les locaux du SALIM.

La formation proposée à l'ensemble des acteurs investis dans la surveillance de Foc TR4, s'est déroulée en 2 étapes (sur 2 jours):

- Une partie au champ (chez un agriculteur) avec le SALIM.
- Une partie en salle (DRAAF Mayotte à Mamoudzou) convertie en laboratoire d'appoint avec l'ensemble des acteurs (liste des participants en annexe 1).

L'objectif de cette formation était de faire dans un premier temps, des rappels sur l'identification des symptômes (externes et internes) de la TR4, sur le protocole d'échantillonnage et le conditionnement des échantillons végétaux pour analyses, et dans un second temps d'apporter des éléments de connaissances théoriques sur le diagnostic de la TR4, avant d'introduire la pratique de la détection par le test LAMP qui a auparavant nécessité une phase de mise au point.

Une présentation PPT a été faite en salle et une fiche technique a été transmise à chaque participant à la partie pratique (annexe 2).

DEROULE de la FORMATION

Afin d'expérimenter les différentes étapes du diagnostic des échantillons végétaux ont été prélevés sur un bananier de la variété Cavendish présentant des symptômes externes de Fusariose. La parcelle a été identifiée en amont par le SALIM selon les résultats d'une précédente analyse.

1) Au champ

La prise d'échantillons de tissus vasculaires a été pratiquée selon le protocole défini par l'ANSES dans la MOA (ANSES/LSV/MO 55-Version3, Avril 2022). Ces échantillons ont été conservés à 4°C car la technique d'extraction nécessite d'utiliser des échantillons frais.



2) En salle/au laboratoire

Afin d'éviter la présence de plusieurs personnes sur la parcelle et ainsi réduire les risques de dispersion la partie pratique a été suivie dans les locaux de la DRAAF.

Après l'exposé, la salle a été transformé en laboratoire avec des conditions de travail existant sur le terrain, à savoir, (i) un espace réduit de travail, (ii) pas d'électricité, (iii) un effectif de 2 techniciens au plus.

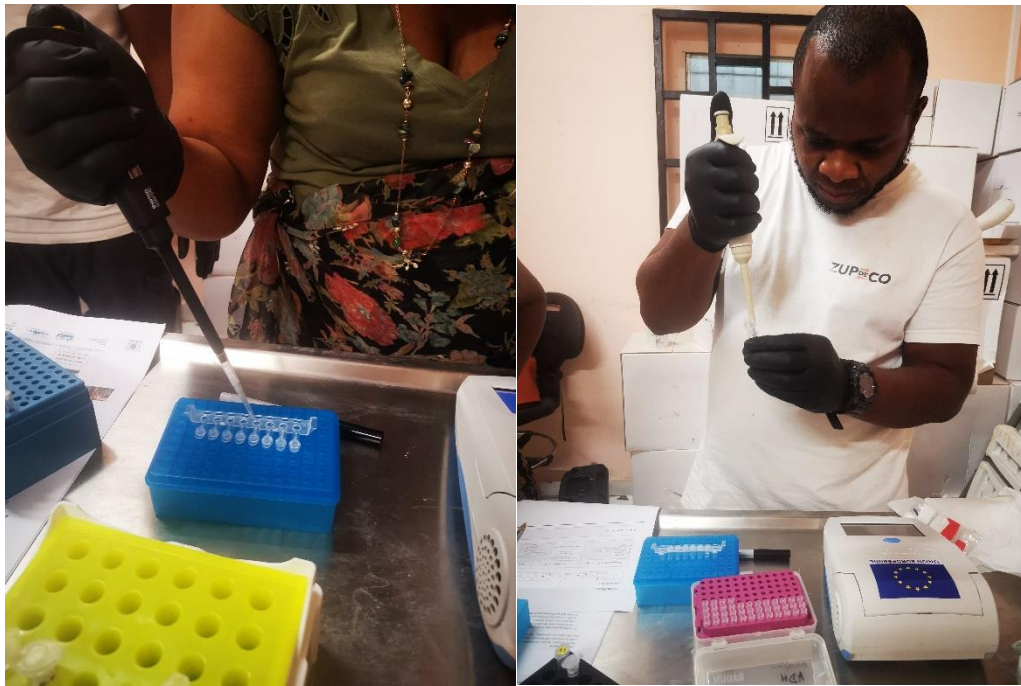
Comme cela est précisé dans la fiche technique, la méthode d'extraction expérimentée est l'extraction simplifiée qui sera proposée en complément du futur kit de détection de Foc TR4, commercialisé prochainement par l'entreprise montpelliéraine Qualiplant partenaire du CIRAD dans le développement du test LAMP. Les participants ont pu tester et évaluer différents systèmes de broyage des échantillons végétaux.





Pour le test LAMP, nous avons utilisé les amorces publiées par N. ORDONNEZ (Ordonnez et al. 2019-Plant Pathology), mais également 1 jeu d'amorces candidat pour le futur kit Foc TR4 (CIRAD-Qualiplant).





CONCLUSION et DISCUSSION

Cette formation s'est bien déroulée avec une collaboration active des participants. Tous ont montré leur intérêt tant au contenu théorique que pratique.

La partie au champ a permis d'adapter les conditions de collecte et de conditionnement des échantillons végétaux aux moyens humains et matériels disponibles, mais également de préciser les étapes de la procédure qui requièrent le plus d'attention pour l'analyse qui suivra. La seconde partie « laboratoire de brousse » a rappelé la nécessité d'accompagner ces différents acteurs de la surveillance sanitaire du territoire dans l'expérimentation d'un nouvel outil. Les participants ayant un niveau différent en pratiques de laboratoire, le travail en petit groupe a favorisé la participation spontanée. Cette étape a également permis à chacun de considérer justement le temps qu'il lui est nécessaire pour effectuer l'analyse moléculaire des échantillons, mais également de constater l'impact de la qualité du prélèvement sur cette dernière.

A l'issue de ces parties pratiques, les participants ont cependant insisté sur la nécessité d'être accompagnés lors de la première utilisation du kit de détection Qualiplant qui sera prochainement disponible. Nous avons remis au SALIM, le thermocycleur Genie III ainsi que le matériel et quelques consommables nécessaires à l'exécution de l'extraction d'ADN, et au test de détection moléculaire de Foc TR4 à partir d'échantillons frais.

Nous avons pu constater, par ailleurs, que la dispersion de la Fusariose à l'échelle de la parcelle était lente voir nulle. Ce constat, demande d'étudier avec plus d'attention le contexte d'évolution de cette maladie afin de mieux caractériser les facteurs influençant les conditions de dispersion et maintenir sa dynamique au niveau actuel. La fusariose TR4 reste une menace pour la sécurité alimentaire de la population mahoraise pour laquelle la banane a une place importante dans son alimentation quotidienne.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier particulièrement le SALIM, en la personne de Loïc LARROCHE, qui a fortement contribué à la tenue de cette formation.

ATELIER DE FORMATION A LA DETECTION DE Foc TR4 AVEC LA METHODE LAMP

20 Novembre 2023

SALIM MAYOTTE (KAWENI)

Fiche de Présences

NOM	PRENOM	INSTITUT	Adresse e-mail	Téléphone
LAROCHE	Loïc	DAAF-SALIM	loic.laroche@agriculture.gouv.fr	0686 310037
POIRIER	Jomas	DAAF-SALIM	jomas.poirier@agriculture.gouv.fr	—
MCHINDRA	Abdul-Fateha	ecophyto	abdul.mchinda@ecophyto.gouv.fr	0689 603081
ABDALLAH	Chaharia	DAAF salim	chaharia.abdallah@agriculture.gouv.fr	0693 040871
BOUVIER	Bruno	DAAF Salim	Bruno.Bouvier@agriculture.gouv.fr	0513 27075
DAUCE	VERONIQUE	DAAF Salim	veronique.dauce@agriculture.gouv.fr	