

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

**RÉFÉRENCE : ANSES/LSV/MA061 - Version 1**

Octobre 2020

# Détection du virus de la rhizomanie Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) de la Betterave.

## Test biologique

**Laboratoire de la Santé des Végétaux**  
**Laboratoire national de référence « Autres virus »**



## 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
VS/04/07 version c		2007	Version initiale
MOA 011 partie A version 1a*	mineure	Octobre 2010	Mise en forme de la méthode et modification du préambule selon un schéma harmonisé commun à l'ensemble des nouvelles méthodes ; Retrait des définitions de ce document pour les intégrer dans un glossaire général ;
MA061 version 1	mineure	Octobre 2020	Mise au format ANSES et adaptation au traitement des échantillons par biologie moléculaire (§ 8.4)

\* La MOA011 partie A version 1a a fait l'objet d'une consultation d'août à septembre 2010, notamment auprès des laboratoires agréés français.

\*\* La MA061 v1 a fait l'objet d'une consultation 10 juillet au 10 septembre 2020 sur le site internet de l'agence, notamment auprès des laboratoires agréés français.



## Avant-propos

La présente méthode a été développée par :

**Anses - Laboratoire de la santé des végétaux – Unité de Bactériologie, Virologie, OGM**

Laboratoire National de Référence (LNR) « Autres virus »

Adresse : 7 rue Jean Dixméras, 49044 ANGERS Cedex 01. France

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

La présente méthode a été initialement développée par le Laboratoire National de la Protection des Végétaux Unité de Flore Pathogène des Sols d'Orléans (84) en 2007 puis réécrite et modifiée par l'unité de Bactériologie, virologie, OGM du laboratoire de la santé des végétaux de l'ANSES (49).

La présente méthode est une version actualisée et modifiée de la MOA 011 partie A version 1a.



# Sommaire

<b>Avant-propos</b> .....	<b>3</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>6</b>
<b>Avertissements et précautions de sécurité</b> .....	<b>7</b>
<b>1 Objet et domaine d'application</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Documents de référence</b> .....	<b>8</b>
<b>3 Termes, sigles et définitions</b> .....	<b>8</b>
<b>4 Principe de la méthode</b> .....	<b>9</b>
<b>5 Réactifs</b> .....	<b>9</b>
5.1 Eau .....	9
5.2 Produit détergent désinfectant adapté .....	10
5.3 Contrôles et témoins .....	10
5.3.1 Témoins sains (TS).....	10
5.3.2 Témoins malades (TM).....	10
<b>6 Appareillage et matériels</b> .....	<b>11</b>
6.1 Gros matériel .....	11
6.2 Petit matériel.....	11
<b>7 Echantillons</b> .....	<b>11</b>
7.1 Prélèvement sur sol .....	11
Préparation de l'échantillon de sol pour envoi au laboratoire .....	12
7.2 Prélèvement sur eau terreuse.....	12
7.3 Prélèvement sur eau décantée .....	12
7.4 Conservation des reliquats de matériels utilisés.....	12
<b>8 Mode opératoire</b> .....	<b>13</b>
8.1 Prise d'analyse .....	13
8.1.1 Analyses sur sol.....	13
8.1.2 Analyses sur eau terreuse .....	13
8.1.3 Analyses sur eau décantée.....	13
8.2 Test de piégeage .....	13
8.2.1 Analyses sur sol.....	13
8.2.2 Analyses sur eau terreuse .....	14



8.2.3	Analyses sur eau décantée.....	14
8.3	Dépotage.....	14
8.4	Préparation des échantillons pour analyse par RT-PCR en temps réel.....	14
<b>9</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>15</b>
<b>10</b>	<b>Caractéristiques de performance de la méthode.....</b>	<b>15</b>
	<b>Bibliographie.....</b>	<b>15</b>



## Introduction

Le Beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) a été identifié comme le virus responsable de la maladie nommée « Rhizomanie » en référence à l'un des symptômes racinaires de la maladie, qui consiste en une prolifération du chevelu racinaire.

Les plantes hôtes de ce virus appartiennent principalement à la famille des *Chenopodiaceae* et à l'espèce *Beta vulgaris* (betteraves fourragère, potagère et sucrière ainsi que la poirée) mais aussi à l'espèce *Spinacia oleracea* (épinard).

Ce virus est transmis à la betterave par les zoospores d'un Plasmodiophoride du sol : *Polymyxa betae* (Protiste, parasite obligatoire des racines).

Le BNYVV appartient au genre *Benyvirus* dont il est l'espèce type. C'est un virus constitué de 4 à 5 ARN simple brin positif de différentes tailles (6,7 ; 4,6 ; 1,8 ; 1,4 et 1,3 kb). Ces ARN sont encapsidés dans des particules non enveloppées en forme de bâtonnets de 60 nm à 390 nm de long et de 20nm de diamètre.

Il existe actuellement 4 souches majoritaires non distinctes sérologiquement. Deux souches majeures dénommées types A et B qui possèdent 4 ARNss et deux souches mineures dénommées type P (Pithiviers - Européen) et type J (Japon - Asiatique) qui sont les seules à contenir l'ARN 5 (Pour revue : Hleibieh et al., 2007). Ces deux dernières ont été identifiées au Japon, en France (secteur de Pithiviers), au Kazakhstan et en Angleterre (Ratti et al., 2004). Elles provoquent des symptômes plus sévères et une baisse de rendement importante (Harju et al. 2004).



## 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 exécutés par du personnel ayant reçu une formation appropriée.**

Certains produits utilisés dans cette méthode peuvent présenter un risque pour l'opérateur et/ou pour l'environnement. Il convient de suivre les recommandations du fournisseur pour l'utilisation de ces produits et l'élimination des déchets et de se référer aux fiches de données de sécurité en vigueur.

Par ailleurs, l'utilisateur de la présente méthode doit mettre en œuvre toutes les mesures nécessaires pour garantir la non-dissémination de l'organisme nuisible dans l'environnement.

Afin d'éviter toute contamination de l'environnement via les eaux usées et les effluents, les eaux de lavage des plantes doivent être traitées avant rejet par un produit virucide de type hypochlorite de sodium à 1% de chlore actif (m/v) (ou autre produit équivalent) ou par traitement thermique adapté.

Tout fragment de végétal doit être détruit par autoclavage ou par trempage dans une solution de type hypochlorite de sodium à 1% de chlore actif (m/v) (ou autre produit équivalent).

Tout échantillon de terre ou eau terreuse ou décantée doit être désinfecté par autoclavage avant élimination.

Les consommables ayant été en contact avec le matériel végétal infecté (ou de statut indéterminé) doivent être détruits par autoclavage ou autre moyen inactivant les virus.

Le matériel ayant été en contact avec le végétal infecté (ou de statut indéterminé) doit être désinfecté.



## 1 Objet et domaine d'application

Cette méthode s'applique pour la détection en routine, dans le sol, sur eau terreuse ou décantée, du virus de la Rhizomanie le *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV), lui-même véhiculé par un protiste du sol (*Polymyxa betae*).

Le test biologique décrit dans la présente méthode vise à « piéger » le protiste éventuellement présent dans le sol et potentiellement porteur du virus sur une plante sensible en vue de la détection ensuite du virus sur cette plante hôte.

## 2 Documents de référence

1. MOA11 partie A version 2 (2015): Détection du virus de la rhizomanie *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) de la Betterave. Test biologique
2. Règlement 2019/2072EC, annexe III : Règlement des organismes de quarantaine et définissant les zones protégées de l'Europe communautaire.
3. VS/04/07 version c (2007) : Détection du virus de la Rhizomanie (*Beet necrotic yellow vein virus*) de la betterave par test biologique suivi du test ELISA

## 3 Termes, sigles et définitions

Afin de limiter les problèmes d'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...).

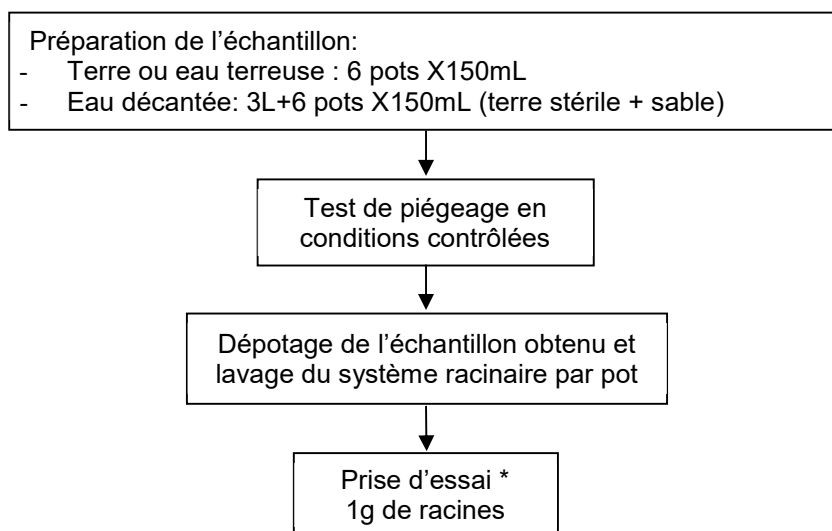
Le glossaire GLO-001 reprend les principales définitions. L'attention des lecteurs est attirée sur le fait que les termes intégrés au glossaire ne sont, en règle générale, pas spécifiquement repérés dans le corps de la méthode d'analyse.





## 4 Principe de la méthode

Le principe de la méthode est présenté dans le schéma ci-dessous.



\* la première prise d'essai est à utiliser dans la journée ou à congeler pour une utilisation ultérieure, si une deuxième prise d'essai est possible, elle doit être conservée au congélateur ou au réfrigérateur après lyophilisation pour une éventuelle analyse supplémentaire ou complémentaire.

## 5 Réactifs

**Avertissement :** Des appellations commerciales ou fournisseurs peuvent être mentionnées 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.

En règle générale, le manipulateur doit veiller (par l'utilisation de produits et consommables certifiés, nettoyage, stérilisation ou tout autre traitement approprié) à l'absence dans l'eau, produits et consommables utilisés, de contamination (ADN ou ARN), de nucléase, d'inhibiteur ou de tout autre élément pouvant interférer sur le résultat.

Les recommandations des fournisseurs, concernant les conditions de stockage avant utilisation, ainsi que la conservation en cours d'utilisation, seront suivies. A défaut le laboratoire définira les conditions qu'il jugera optimales.

### 5.1 Eau

L'eau doit être de qualité « analytique » (i.e. déminéralisée, distillée, osmosée,...) garantissant d'atteindre les critères de performance attendus pour les tests.



## 5.2 Produit détergent désinfectant adapté

Hypochlorite de sodium à 1% de chlore actif (m/v) (ou autre produit équivalent) pour la désinfection des surfaces de travail et du matériel.

## 5.3 Contrôles et témoins

Comme dans tout test biologique et/ou chimique, il est nécessaire d'intégrer des témoins sains et malades afin de vérifier le bon déroulement du test et de pouvoir en valider son fonctionnement.

### 5.3.1 Témoins sains (TS)

- Analyses sur sol: Les témoins sains sont constitués de 3 pots de 150 mL de terreau stérile auxquels sont ajoutés, à chacun, 2g de charbon végétal actif.
- Analyses sur eau terreuse : Les témoins sains sont constitués de 3 pots de 150 mL avec un mélange de  $\frac{1}{4}$  de terreau stérile pour  $\frac{3}{4}$  de sable auxquels sont ajoutés, à chacun, 2g de charbon végétal actif.
- Analyses sur eau décantée : Les témoins sains sont constitués de 3 pots de 150 mL avec un mélange de  $\frac{1}{2}$  de terreau stérile pour  $\frac{1}{2}$  de sable auxquels sont ajoutés, à chacun, 2g de charbon végétal actif.

Ces témoins sains sont ensuiteensemencés avec des graines de betteraves sensibles à la rhizomanie dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser. Ils seront arrosés avec de l'eau permutée, distillée ou osmosée. Il est préférable d'effectuer les manipulations de ces témoins sains en premier afin d'éviter toute contamination ultérieure.

### 5.3.2 Témoins malades (TM)

- Analyses sur sol : Les témoins malades sont constitués de 2 pots de 150 mL de terre reconnue contaminée auxquels sont ajoutés, à chacun, 1,5g de charbon végétal actif.
- Analyses sur eau terreuse : Les témoins malades sont constitués de 2 pots de 150 mL avec un mélange de  $\frac{1}{4}$  de terre reconnue contaminée pour  $\frac{3}{4}$  de sable auxquels sont ajoutés ; à chacun, 1,5g de charbon végétal actif.
- Analyses sur eau décantée : Les témoins malades sont constitués de 2 pots de 150 mL avec un mélange de  $\frac{1}{2}$  de terreau stérile pour  $\frac{1}{2}$  de sable auxquels sont ajoutés, à chacun, 1,5g de charbon végétal actif. Ces témoins seront arrosés tout au long du test avec un mélange d'eau décantée de 300 mL de terre contaminée + 1 litre d'eau permutée, distillée ou osmosée.

Ces témoins malades sont ensuiteensemencés avec des graines de betteraves sensibles à la rhizomanie dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser. Dans les cas des analyses sur sol et sur eau terreuse uniquement, arroser avec de l'eau permutée, distillée ou osmosée.

Il est préférable d'effectuer les manipulations de ce témoin malade en dernier.



## 6 Appareillage et matériels

### 6.1 Gros matériel

- Chambre climatisée : 6000-10 000 lux (15h jour/9h nuit), humidité relative proche de 80%, T°C = 25°C.
- Centrifugeuse (2000 à 3000g) : facultatif.
- Dessiccateur lent réglé à 25°C (peut être remplacé par un séchage à l'air libre).

### 6.2 Petit matériel

- Sac plastique ou tout autre contenant étanche.
- Tamis à 5 mm (tamisage des terres) et 1 à 2 mm (lavage des racines de plants pièges).
- Nappe d'irrigation.
- Godet percé : pot individuel de volume 150 mL.
- Barquette pouvant contenir 6 pots de 150 mL côte à côte.
- Papier absorbant.
- Semences de betterave de variété sensible à la rhizomanie et enrobées de fongicide contre les fontes de semis.
- Sachets de broyage type Bioreba.

## 7 Echantillons

La méthode s'applique à tout sol (ou eau terreuse ou décantée), matières fertilisantes et supports de culture dans la mesure où ils permettent un développement racinaire des plantes pièges suffisant pour réaliser le test dans les conditions définies ci-après. La méthode s'applique également aux racines et/ou tiges de betteraves cultivées sur ces milieux.

Attention : si les sols analysés ont fait l'objet de traitements herbicides avant leur prélèvement pour analyse, ceux-ci peuvent être susceptibles d'entraîner des difficultés de levée des plantules de betteraves pièges utilisées et donc d'empêcher la réalisation de l'analyse. Les sols à analyser doivent donc être prélevés si possible avant tout traitement herbicide.

### 7.1 Prélèvement sur sol

Un échantillon représente un prélèvement de 2,5L de terre par hectare comme décrit ci-dessous.

Compte tenu du caractère « hétérogène en agrégats » (foyers) de la plupart des champignons ou protistes du sol, la procédure formelle consiste à découper une parcelle en sous-unité de 1000 m<sup>2</sup> et à réaliser 10 prises de 250 mL (une tous les 100 m<sup>2</sup>) par sous-unités, regroupées en un échantillon.

Quand une parcelle n'est pas suspectée d'être contaminée, il est envisageable « d'élargir la maille » à raison d'un échantillon par hectare, constitué du regroupement de 10 à 15 prises de 250 mL. En revanche, en situation de zones potentiellement contaminées, le protocole de base (un échantillon = 10 prises sur 1000 m<sup>2</sup>) doit impérativement être respecté.

Remarque : Pour les grandes parcelles, et compte tenu des coûts engendrés, on ne retiendra que 3 échantillons, répertoriés sur un plan, par tranche de 10 hectares homogène.



Préparation de l'échantillon de sol pour envoi au laboratoire :

- Utiliser un sac résistant, effectuer un étiquetage soigné avec repérage sur un plan.
- Ne jamais laisser les sacs au soleil ou à une température supérieure à 35°C, même momentanément.
- Stocker, si nécessaire avant envoi, au frais (cave ou salle réfrigérée) et au maximum un mois.
- Répartir les échantillons en containers résistants (caisses ou cartons opaques).
- Prévenir le laboratoire destinataire.

## 7.2 Prélèvement sur eau terreuse

Un échantillon d'eau terreuse se définit comme un échantillon de consistance liquide ou semi-liquide à forte teneur en éléments solides récupérables par décantation.

L'échantillon minimum doit pouvoir fournir 250 mL de phase solide après décantation.

Le contenant doit être adapté au format liquide de l'échantillon. La procédure d'échantillonnage est identique au prélèvement sur sol.

## 7.3 Prélèvement sur eau décantée

Un échantillon d'eau décantée se définit comme un échantillon de consistance liquide à faible teneur en éléments solides.

Cet échantillon servira d'eau d'arrosage afin de contaminer, le cas échéant, la préparation initiale de terreau stérile + sable.

L'échantillon minimum est de 3 litres.

Les règles d'échantillonnage doivent se rapprocher de celles d'un échantillon de sol.

### Précaution(s) particulière(s) à prendre :

Stocker l'échantillon pendant environ 6 mois sous abri (non climatisé et à l'abri de la lumière) pour permettre un éventuel test complémentaire.

Le désinfecter avant élimination.

## 7.4 Conservation des reliquats de matériels utilisés

Sauf mention contraire explicite ou impossibilité technique avérée, les laboratoires doivent conserver les reliquats pertinents (nature, quantité et qualité) de matériel soumis à analyse, dans des conditions appropriées garantissant leur intégrité, jusqu'à au moins le dixième jour ouvrable suivant l'envoi au demandeur d'un rapport d'analyse concluant à la non mise en évidence de l'organisme recherché. Ce délai imposé est destiné à laisser le temps au demandeur de l'analyse de contester le résultat auprès du laboratoire (ce qui prolonge la conservation du reliquat jusqu'à l'issue de la contestation) et éventuellement de demander une analyse contradictoire.

Dans le cas d'un résultat autre que la non mise en évidence de l'organisme recherché, et sauf indications plus précises dans la méthode, l'ensemble des reliquats pertinents doit être conservé pendant une durée minimale de 12 mois, sauf pour les parties éventuellement transmises à un autre



laboratoire agréé ou de référence, à qui est alors transférée la charge de conservation des reliquats. Le laboratoire national de référence peut demander que tout ou partie de ces reliquats lui soient transmis, aux frais des laboratoires agréés ou reconnus, dans le cadre des missions qui lui sont confiées.

## 8 Mode opératoire

### 8.1 Prise d'analyse

#### 8.1.1 Analyses sur sol

Dans les jours suivant la réception et en fonction de l'humidité de l'échantillon, ce dernier est séché au dessiccateur lent (ou à l'air libre) pour être tamisé à 5 mm avant stockage à température ambiante dans des contenants hermétiques. Le laboratoire veillera à éviter une trop grande dessiccation de la terre.

Remarque : En cas d'échantillon nettement supérieur à la quantité nécessaire, il est possible de ne prélever que la quantité nécessaire à l'analyse en veillant à une bonne homogénéisation de l'échantillon initial avant prélèvement et de ne sécher que cette partie.

Ce stockage avant analyse ne pourra excéder un mois.

La prise d'essai pour analyse est constituée de 6 X 150 mL de terre (900mL) à analyser bien homogénéisée.

#### 8.1.2 Analyses sur eau terreuse

La prise d'essai est constituée de 6 pots de 150 mL du mélange  $\frac{1}{4}$  de phase solide récupérée après décantation et  $\frac{3}{4}$  de sable.

#### 8.1.3 Analyses sur eau décantée

La prise d'essai est constituée de 3 litres d'eau décantée.

### 8.2 Test de piégeage

#### 8.2.1 Analyses sur sol

- Mélanger la terre à analyser de manière à bien homogénéiser l'échantillon.
- Incorporer 4g de charbon végétal actif dans 900 mL de cette terre (permet de capter les éventuelles molécules chimiques présentes dans le sol à analyser et responsables de phytotoxicité).
- Remplir 6 pots de 150 mL avec les  $\frac{7}{8}$ <sup>ème</sup> de ce mélange.
- Semer vingt à trente graines de betteraves sensibles à la rhizomanie par pot ou plus si le taux de germination du lot de graines est faible.
- Compléter les 6 pots avec le mélange.
- Placer les 6 pots dans une barquette munie d'une nappe d'irrigation dans le fond.



- Arroser les pots par le fond par capillarité avec de l'eau permutée, distillée ou osmosée sans atteindre la saturation.
- Recouvrir les pots avec des couvercles transparents jusqu'à la levée des plants de betterave.
- Placer la barquette dans la chambre climatique réglée selon les indications données en 6.1.
- Arroser régulièrement les pots par le fond à saturation.
- Eviter d'éclabousser lors de l'arrosage.
- Récolter les plantes entre 21 et 28 jours après semis dans les pots.

### 8.2.2 Analyses sur eau terreuse

Procéder comme au 8.1.1 en utilisant le mélange préparé à partir des éléments solides récupérés après décantation comme indiqué point 7.2.

### 8.2.3 Analyses sur eau décantée

- Mélanger 450 mL de terreau stérile et 450 mL de sable.
- Remplir 6 pots de 150 mL du mélange.
- Procéder ensuite comme indiqué en 8.2.1 en arrosant chaque série de 6 pots avec l'échantillon d'eau décantée à analyser en remplacement de l'eau d'arrosage.

## 8.3 Dépotage

- Dépoter chaque pot individuellement afin de dégager les racelles des débris (organiques et terreux) par lavage délicat à l'eau courante sur un tamis maillé de 1 à 2mm (qui a pour but de retenir les plantules et racelles) et les sécher sur papier absorbant.
- Conserver les plantules nettoyées ainsi pot à pot.

Si l'analyse des échantillons est impossible dans les 24 heures suivant le dépotage, il est préférable soit de conserver les échantillons à 5°C enrobés dans du papier aluminium ou directement dans le sachet de broyage afin d'éviter leur dessèchement (48 heures maximum), soit à <-15°C pour une conservation plus longue dans une limite maximale de 6 mois.

## 8.4 Préparation des échantillons pour analyse par RT-PCR en temps réel

L'échantillon pour analyse est constitué à partir des plantules ayant servi au piégeage et dont l'appareil racinaire a été lavé.

Pour chaque échantillon de sol reçu, choisir 5 pots de culture parmi les 6. Ces 5 pots servent chacun à la préparation de 5 sous-échantillons. Sur chaque pot effectuer un prélèvement sur tige et racelles pour atteindre 1g par sous échantillon. Le 6<sup>ème</sup> pot peut servir à compléter le prélèvement des 5 premiers pots, s'il n'y a pas assez de matériel végétal. Chaque prélèvement est mis en sachet de broyage type Bioreba.

Les échantillons préparés peuvent être conservés quelques heures à 5°C avant analyse.

Une deuxième prise d'essai de 1g sera effectuée si la quantité de plantules le permet, dans tous les cas le reste du matériel végétal, sera conservé soit à 5°C pour une deuxième analyse dans les 48h suivant le dépotage si nécessaire, soit à <-15°C (pour une conservation maximale de 6 mois).



Remarque : Si la pesée de chaque sous échantillon n'atteint pas 1g, le ratio poids/tampon de broyage sera adapté selon les besoins de la méthode de détection employée.

## 9 Résultats

Lors de la levée des plants, noter toute absence de levée ou levée partielle. Ceci permettra d'émettre une réserve sur le résultat d'analyse qui pourra préciser par exemple que « du fait d'une absence de levée suffisante des plantules de betteraves, l'analyse n'a pas pu être réalisée » et si possible demander un nouvel échantillon.

## 10 Caractéristiques de performance de la méthode

Cette méthode correspond à la méthode décrite dans la méthode standard OEPP PM7/30 (2) dans laquelle elle est dénommée « French Test » (LNPV Fleury method). Elle a fait l'objet d'un rapport de validation en août 2004 par le LNPV de Fleury les Aubrais « Détection de la méthode de la rhizomanie dans le sol : comparaison de la méthode OEPP avec la méthode LNPV Fleury ».

## Bibliographie

1. Anonymous (2006). "Beet necrotic yellow vein virus (benyvirus)." PM7/30(2) EPPO bulletin 36(3): 429-440.
2. Goffart, J. P., V. Horta, and H. Maraite. 1989. "Inoculum potential and host range of Polymyxa betae and beet necrotic yellow vein furovirus." EPPO Bulletin 19 (3):517-525.
3. Hleibieh, K, C Peltier, E Klein, A Schirmer, L Schmidlin, L Covelli, Claudio Ratti, Anne Legrève, Claude Bragard, and David Gilmer. 2007. "Étiologie de la rhizomanie de la betterave sucrière." Virologie 11 (6):409-421.
4. EPPO (2020) EPPO Global Database (available online). <https://gd.eppo.int>