



HAL
open science

Effet de l'aménagement parcellaire sur la dynamique de l'inoculum viral et le développement des épidémies en culture de melons

Salome Sauvage

► **To cite this version:**

Salome Sauvage. Effet de l'aménagement parcellaire sur la dynamique de l'inoculum viral et le développement des épidémies en culture de melons. [Stage] France. Institut Universitaire de Technologie d'Avignon (IUT d'Avignon), FRA. 2015, 45 p. hal-02799457

HAL Id: hal-02799457

<https://hal.inrae.fr/hal-02799457v1>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Effet de l'aménagement parcellaire sur la dynamique de l'inoculum viral et le développement des épidémies en culture de melons

Présenté par Salomé Sauvage

Année 2015



Maîtres de stage : Alexandra Schoeny et Cécile Desbiez
Tutrice : Aline Le Menn

Rapport de stage pour l'obtention du DUT Génie Biologique Option Agronomie



Effet de l'aménagement parcellaire sur la dynamique de l'inoculum viral et le développement des épidémies en culture de melons de Salomé SAUVAGE est mis à disposition selon les termes de la [licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Remerciements

Je souhaiterais tout d'abord remercier Marc Bardin, responsable de l'unité de pathologie végétale pour m'avoir permis d'effectuer mon stage dans cette structure.

Je tiens aussi à remercier mes maîtres de stage Alexandra Schoeny et Cécile Desbiez, pour leur encadrement dans mon travail, ainsi que pour leurs conseils et aides dans la rédaction de ce rapport.

Je voudrais remercier tout le personnel de l'équipe de virologie, et en particulier Karine Nozeran et Pauline Millot pour leur bonne humeur et pour m'avoir encadré, aidé et conseillé dans la réalisation de nombreuses manipulations.

Je remercie Marion Gonny et Antoine Lauvernay pour leur soutien, leur aide et leur sympathie.

Je remercie Noémie Gonzales pour son aide précieuse dans la préparation des manipulations, et ma tutrice de stage Aline Le Menn pour son écoute et la correction qu'elle a apporté à ce rapport.

Enfin, je remercie tous les professionnels de la recherche agronomique de l'INRA avec qui j'ai été en contact au cours de ce stage passionnant.

Ce stage a bénéficié d'un financement du MAAF via le projet CASDAR intitulé « Gestion agro-écologique du puceron *Aphis gossypi* et du thrips *Thrips tabaci* en culture de melon ou de poireau – AGATH ».

Sommaire

I. Introduction.....	1
A. Présentation de l'INRA d'Avignon.....	1
B. Le melon et la filière melon en France.....	1
C. Problèmes rencontrés dans la culture de melon.....	2
1. Les pucerons.....	2
2. Les virus.....	3
3. Notion d'épidémie virale.....	5
D. Méthodes de lutte contre les virus.....	5
1. La lutte génétique.....	5
2. La lutte chimique contre les vecteurs.....	5
3. La lutte biologique.....	5
4. Pratiques culturales : aménagement parcellaire.....	6
E. Principe de l'étude.....	6
II. Matériel et méthodes.....	7
A. Dispositif expérimental.....	7
1. Localisation et plan de l'essai.....	7
2. Suivi des dynamiques aphidiennes.....	8
3. Plantes pièges.....	8
4. Suivi des parcelles.....	9
B. Détection et identification des virus.....	9
1. Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA).....	9
2. Tests moléculaires: RT-PCR et séquençage des ARN viraux.....	10
III. Résultats.....	10
A. Détection de l'inoculum viral dans les plantes pièges pour la modalité sol nu.....	10
B. Détection de l'inoculum viral et aménagement parcellaire.....	12
C. Dynamique des épidémies virales et aménagement parcellaire.....	14
D. Détection de l'inoculum viral et suivi épidémiologique.....	15
E. Dynamiques aphidiennes.....	18
IV. Discussion.....	21
A. Inoculum et suivi épidémiologique.....	21
B. Effet des aménagements parcellaires sur l'inoculum viral et les épidémies.....	22
Conclusion.....	23
Bibliographie.....	24
Abréviations.....	25
Liste des abréviations.....	26
Annexe.....	27

I. Introduction

A. Présentation de l'INRA d'Avignon

L'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) est un organisme de recherche scientifique publique placé sous la double tutelle du ministère délégué à l'Enseignement supérieur et à la Recherche et du ministère de l'Agriculture et de la Pêche. L'INRA mène des recherches sur des questions liées à l'agriculture, l'alimentation, la sécurité des aliments, l'environnement et sa gestion durable.

L'INRA a été fondé en 1946, au lendemain de la seconde guerre mondiale. En effet, à cette époque, la France est en situation de pénurie alimentaire. Son agriculture accuse un retard considérable par rapport à celle des grands pays développés et ne permet pas de subvenir aux besoins alimentaires de la population. Il a pour mission de mettre la science et la technologie au service du développement de l'agriculture en améliorant les techniques de production (culture et élevage) et la sélection génétique végétale et animale, et est aujourd'hui le premier institut européen de recherche agronomique.

L'unité de Pathologie Végétale de l'INRA PACA Avignon est orientée vers l'étude des maladies des cultures maraîchères et ornementales. Ces cultures sont répandues dans la région. On peut citer l'exemple du melon, culture emblématique de la région PACA.

B. Le melon et la filière melon en France

Le melon est un légume qui appartient à la famille des cucurbitacées. Originaire d'Afrique, le melon était, à ses débuts, petit, peu sucré et se dégustait poivré et vinaigré. Au fil du temps, le melon a vu son volume, son parfum et sa saveur sucrée se développer. Il va alors cesser d'être considéré comme un légume et prend la place d'un fruit dans l'imaginaire et l'utilisation des consommateurs. Il existe de nombreuses variétés de melons avec des goûts et des formes différents. En France, nous produisons et consommons essentiellement des melons de type « Charentais ». Au niveau des plantations, on dénombre plusieurs modes de production qui permettent d'étaler les récoltes du mois de mai pour les plus précoces au mois d'octobre pour les plus tardifs : on distingue la culture de melon sous abris chauffé de mi-avril à mai, sous abris froids de mai à août, et en plein champ de juin à début octobre. Ce dernier mode de production représente 51% des surfaces cultivées. En France métropolitaine, on compte 5 511 exploitations réparties sur 15 655 ha de surface (Le melon en quelques chiffres, Coordination Rurale, 2012). La plupart des melons sont achetés en hyper (19%) et supermarchés (35%), le reste des achats se fait sur les marchés, en hard discount et chez les primeurs. La consommation annuelle en France est d'environ 4 kg de melon par personne et par an. Les principaux consommateurs de melons se situent dans le sud-ouest et le sud-est. Ces régions sont en effet très prisées pendant les vacances d'été, période durant laquelle la consommation de melon atteint son pic.

C. Problèmes rencontrés dans la culture de melon

La culture de melon rencontre des problèmes qui peuvent altérer les plantes, et par conséquent le rendement et la qualité des fruits. On peut citer les maladies causées par les champignons comme l'oïdium, les bactéries et les virus, et les ravageurs comme les insectes et les acariens. Dans notre étude, nous allons nous intéresser aux pucerons et aux virus qu'ils peuvent transmettre.

1. Les pucerons

Les pucerons sont des insectes ravageurs appartenant à l'ordre *Hemiptera*, sous-ordre *Sternorrhyncha*, famille *Aphidoideae* (figure 1). Les pucerons mesurent entre 1 et 4 mm. Ils peuvent être de couleur verte, rose, rouge, noire, brune, bleue, ou encore jaune. Ils possèdent des antennes entre les deux yeux et ses pièces buccales forment un stylet. Celui-ci est tenu sous le corps de l'insecte lorsqu'il ne se nourrit pas. Le thorax porte six pattes. La plupart des pucerons adultes sont aptères, mais il existe des formes ailées, qui favorisent la dissémination à longue distance. Leurs ailes sont transparentes et membraneuses, et les antérieures sont plus grandes que les postérieures. A l'extrémité de l'abdomen se trouve la cauda. C'est une sorte de queue qui permet de diriger l'écoulement du miellat, substance sucrée que le puceron évacue de son organisme. Chez plusieurs espèces de pucerons, il existe sur l'abdomen deux cornicules, structures en forme de tubes.

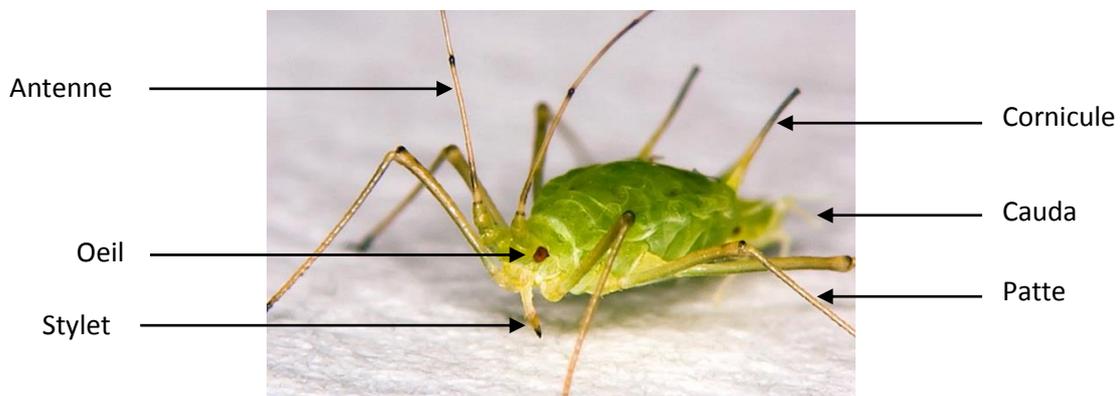


Figure 1 : Photographie d'un puceron aptère (AlphaDxD)

Les pucerons peuvent causer deux types de dégâts : des dégâts directs et des dégâts indirects. Les dégâts directs sont dus aux piqures, aux prélèvements de sève et à la toxicité de la salive. Ceux-ci occasionnent à la plante des déformations et un ralentissement de sa croissance, et par conséquent une perturbation du rendement. Les dégâts indirects sont dus à l'excrétion de miellat, sur lequel peuvent se développer des champignons saprophytes provoquant des fumagines qui perturbent la photosynthèse et la respiration, et à la transmission des virus. En effet, les pucerons phytophages de type «piqueur-suceur» utilisent leur stylet pour percer la paroi des cellules végétales et se nourrir de la sève élaborée, dans le phloème. Au cours des piqûres, ils peuvent transmettre des virus susceptibles d'altérer le rendement et la qualité des cultures à la plante.

Après avoir repéré une plante hôte par contraste visuel avec le sol, le puceron se pose sur le feuillage et effectue une piqûre d'essai superficielle et brève afin de « goûter » la plante et déterminer si c'est un hôte potentiel. Si c'est le cas, le puceron enfonce ses stylets plus profondément afin de se nourrir dans le phloème. Dans le cas contraire, le puceron va s'envoler pour aller tester d'autres plantes. A ces deux comportements sont associés deux modes de transmissions des virus. Il est à noter que chaque espèce virale peut être transmise uniquement selon un des deux modes :

- Le mode non-persistant : le virus est acquis lors d'une piqûre d'essai, reste au niveau des stylets et sera transmissible au cours d'une action similaire. La capacité de transmission du virus est de courte durée, de l'ordre de quelques minutes à quelques heures.
- Le mode persistant : le virus est acquis lors de l'alimentation dans le phloème. Il passe dans le tube digestif du puceron, puis dans l'hémolymphe, et rejoint les glandes salivaires. Il sera alors transmis lors de la prochaine piqûre d'alimentation. La capacité de transmission va de quelques jours à toute la durée de vie du vecteur.

2. Les virus

Un phytovirus est un virus qui s'attaque aux organismes végétaux. Les virus sont des parasites obligatoires stricts qui, pour se multiplier, doivent se trouver dans des cellules vivantes. En effet, les virus détournent les mécanismes des cellules végétales à leur profit pour leur multiplication. A de rares exceptions près, les particules virales se dénaturent très rapidement à la mort de la plante ou des cellules hôtes. Pour survivre, il faut donc que la population virale puisse se maintenir soit en étant transmise à d'autres individus de la même espèce ou d'autres espèces végétales. Pour ce faire, les virus utilisent des moyens très variés correspondant à deux stratégies : la voie interne, qui permet au virus de se transmettre à la descendance de la plante infectée en contaminant les organes de multiplication, et la voie externe, qui fait intervenir un vecteur, souvent un insecte. Celui-ci, en se nourrissant d'une plante infectée puis d'une plante saine, va propager le virus.

Dans ce rapport, nous allons nous intéresser à quatre virus : le CABYV, le CMV, le WMV et le ZYMV, qui sont les virus les plus fréquents sur melon en France.

a. Cucurbit Aphid-Borne Yellow Virus (CABYV)

Le CABYV, ou virus de la jaunisse des cucurbitacées transmise par puceron, appartient au genre *Polytomovirus*, dans la famille *Luteoviridae*. Il présente des particules parasphériques d'environ 25 nm de diamètre, et le génome viral est constitué d'une molécule d'ARN simple brin de 5,6 kb et de polarité positive. Ce virus provoque des maladies de type jaunisse chez les cucurbitacées cultivées. Dans le cas du melon, ce virus affaiblit les plantes et entraîne une diminution significative du nombre de fruits, mais il n'affecte pas leur qualité. Le CABYV est transmis par les pucerons selon le mode persistant et est restreint au phloème des plantes. Il est le second virus le plus fréquent dans les cultures de cucurbitacées en France.

b. Cucumber Mosaic Virus (CMV)

Le CMV, ou virus de la mosaïque du concombre, est un cucumovirus, de la famille des *Bromoviridae*. Il possède une capsidie icosaédrique et son génome, à ARN simple brin de polarité positive, est composé de trois ARN encapsidés séparément (3,4+3+2,2kb) (Lecoq & Desbiez, 2012). Il entraîne des pertes de rendement, et elles sont d'autant plus importantes que les infections sont précoces. Une plante peut être contaminée par plusieurs virus en même temps. Des synergies entraînant des symptômes plus forts ont été signalées lors d'infections mixtes entre le CMV et différents potyvirus. Ce virus est très commun en culture de plein champ, mais on le rencontre aussi sous abris. Il est transmis selon le mode non-persistant par de nombreuses espèces de pucerons. Le CMV possède une gamme d'hôtes très large (plus de 1000 espèces), tant chez les monocotylédones que chez les dicotylédones. C'est un des principaux virus des cucurbitacées dans les régions tempérées et méditerranéennes. En France, la fréquence des infections par le CMV chez les cucurbitacées varie beaucoup en fonction de l'espèce, de l'année et de la région.

c. Watermelon Mosaic Virus (WMV)

Le WMV, ou virus de la mosaïque de la pastèque, appartient au genre *Potyvirus*. Tous les potyvirus ont un génome d'environ 9 à 11kb contenu dans une capsidie flexueuse de 750 nm de long et 12 nm de large environ (Lecoq & Desbiez, 2012), et sont transmis par pucerons selon le mode non-persistant. Certaines souches de WMV peuvent provoquer des symptômes sévères de mosaïque, des déformations sur le feuillage, des décolorations voire des déformations sur fruits. Les attaques précoces entraînent parfois d'importantes pertes de rendement. Le WMV est transmis par au moins 35 espèces de pucerons dont *Aphis craccivora*, *Aphis gossypii* et *Myzus persicae*, et il a une gamme d'hôtes de 170 plantes identifiées dans 26 familles. C'est le virus le plus fréquent sur cucurbitacées dans le sud-est de la France (Lecoq et al., 2005).

d. Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV)

Le ZYMV, ou virus de la mosaïque jaune de la courgette, est un potyvirus, comme le WMV. Il provoque des symptômes de mosaïque très sévère, un jaunissement et rabougrissement des feuilles, des déformations sur le feuillage, et cause un fort impact sur le rendement et la qualité du melon (décolorations et déformations des fruits). Les attaques précoces peuvent entraîner une perte totale des récoltes. Le ZYMV est signalé sur les cucurbitacées dans toutes leurs zones de production dans le monde mais sa fréquence peut varier selon les régions. Il est transmis par de nombreuses espèces de pucerons.

3. Notion d'épidémie virale

Dans notre étude, les plants de melons employés dans la parcelle sont exempts de virus jusqu'à la plantation car ils sont produits en pépinière en conditions « insect proof » et, de plus, les quatre virus décrits plus haut ne sont pas transmis par la graine chez le melon.

Les pucerons, qu'ils soient sains ou virulifères, viennent de l'extérieur de la parcelle. Dans le cas où ils sont sains, ils peuvent acquérir le virus sur des adventices infectées via des piqûres d'essai ou d'alimentation. Les pucerons porteurs de virus acquis hors de la parcelle (inoculum primaire) vont ensuite piquer les plants de melon et les contaminer, causant des infections primaires dans la parcelle. Par la suite, on peut observer des infections secondaires à partir des plantes infectées dans la parcelle. On parle d'inoculum secondaire. Ces foyers secondaires vont favoriser l'infection d'adventices proches dans la parcelle qui permettront de préserver le virus pendant l'hiver.

D. Méthodes de lutte contre les virus

Une plante sensible infectée par un virus le reste toute au long de sa vie. Il n'existe pas de traitement permettant à la plante de redevenir saine. Il est nécessaire de trouver des solutions pour lutter contre les virus et les pucerons qui les transmettent.

1. La lutte génétique

La création par croisement de variétés résistantes aux virus est possible. Mais c'est un travail long et difficile qui peut ne pas être efficace. En effet, les gènes de résistance à effets forts sont rares et, lorsqu'ils sont connus, ne confèrent pas toujours une résistance durable. En effet, le potentiel évolutif des pathogènes et ravageurs leur permettant de s'adapter à de nombreuses pressions de sélection peut causer un contournement de résistance. Il est donc nécessaire de renforcer l'efficacité et la durabilité des gènes de résistance, en les associant à d'autres méthodes de protection dans une approche de lutte intégrée.

2. La lutte chimique contre les vecteurs

Les produits de la chimie de synthèse se sont avérés d'une grande efficacité pour contrôler les populations de pucerons. Cependant, leur utilisation de manière immodérée a montré ses limites. En effet, la lutte chimique a favorisé la sélection d'individus de diverses espèces de pucerons résistants à la plupart des familles d'insecticides. De plus, la lutte chimique est contestée pour les conséquences sur la santé humaine et l'environnement. Enfin, la lutte chimique n'est pas forcément efficace pour lutter contre les virus, notamment ceux transmis selon le mode non persistant, car les molécules n'agissent pas assez vite pour empêcher les piqûres d'essai des pucerons, qui suffisent à transmettre les virus.

3. La lutte biologique

Les ravageurs constituent une ressource alimentaire abondante et régulière utilisée par de nombreux organismes. La lutte biologique repose sur l'utilisation de ces organismes, que l'on

appelle ennemis naturels ou auxiliaires des cultures, pour réduire les populations de ravageurs. Il y a plusieurs types de lutte biologique. La lutte biologique par inondation consiste à lâcher des auxiliaires dans les cultures, alors que la lutte biologique par conservation consiste à manipuler l'environnement parcellaire pour favoriser l'action des auxiliaires naturellement présents.

4. Pratiques culturales : aménagement parcellaire

Divers pratiques culturales peuvent limiter les attaques de pathogènes et ravageurs dans les cultures. Les paillages plastiques ont un effet répulsif sur les pucerons et limitent la transmission de virus, au moins en début de culture avant qu'ils ne soient recouverts par la croissance des plantes. La manipulation de l'aménagement parcellaire peut être une stratégie efficace pour diminuer la pression des virus et des pucerons. Une bande fleurie est un aménagement parcellaire riche en fleurs, elle est disposée près des parcelles de culture. Elle peut avoir un effet « barrière » vis-à-vis des pucerons. Elle peut aussi avoir un effet « filtre à virus », mais cet effet n'est valable que pour les virus non persistants. En d'autres termes, le puceron va piquer une certaine plante de la bande fleurie et il va donc s'y décharger du virus qu'il transporte à l'extrémité de ses stylets. Ainsi, quand il atteindra la parcelle, il ne transportera plus le virus. Enfin, les espèces végétales qui composent la bande fleurie vont attirer, héberger et nourrir les insectes auxiliaires indigènes qui vont participer au maintien des populations de ravageurs sous le seuil de nuisibilité économique.

E. Principe de l'étude

En ce qui concerne notre étude, nous allons combiner la lutte génétique et la lutte biologique par conservation.

Une partie des melons testés possède le gène *Vat* (*Virus aphid transmission*) qui confère une résistance à la fois à la colonisation par *Aphis gossypii* (seul puceron colonisateur du melon en France) et aux virus lorsqu'ils sont transmis par *A. gossypii*. Pour augmenter la durabilité et l'efficacité du gène *Vat*, et limiter les épidémies virales -le gène *Vat* n'ayant pas d'effet sur la transmission de virus par les autres pucerons qu'*A. gossypii*, il est important de limiter la pression en pucerons et en inoculum viral par des pratiques culturales appropriées, ici l'utilisation de bandes fleuries à proximité des parcelles.

Cette étude a donc pour objectif d'étudier le développement des épidémies virales transmises par les pucerons dans des cultures de melons ayant des environnements différents (bandes fleuries ou sol nu).

En effet, dans le but de concevoir des stratégies de lutte plus durables, il est nécessaire d'avoir une meilleure connaissance des épidémies virales et de l'effet des pratiques culturales sur celles-ci. Il est en particulier important de mieux connaître la phase d'initiation des épidémies, en d'autres termes savoir à quel moment un virus est introduit dans une culture, par quel vecteur, les pucerons ici, et comment l'inoculum évolue. Pour ce faire, il est important d'étudier la dynamique des pucerons et celle de l'inoculum viral dans une culture.

Dans notre étude, nous allons suivre la dynamique de l'inoculum viral par plantes pièges en fonction de l'aménagement des parcelles et tenter de la mettre en relation avec la dynamique des populations de pucerons ailés.

II. Matériels et méthodes

A. Dispositif expérimental

1. Localisation et plan de l'essai

L'essai Parcel-R est situé sur le domaine expérimental INRA de St Paul à Montfavet (84) (figure 2). La superficie totale de l'essai est d'environ 3500 m². L'essai est abrité par une haie de cyprès au Nord et au Sud, un verger de pommiers de taille moyenne la jouxte du côté Est, une allée de platanes et un ruisseau la bordent du côté Ouest. En ce qui concerne le sol, il est limono-argileux et de nature alluvionnaire.

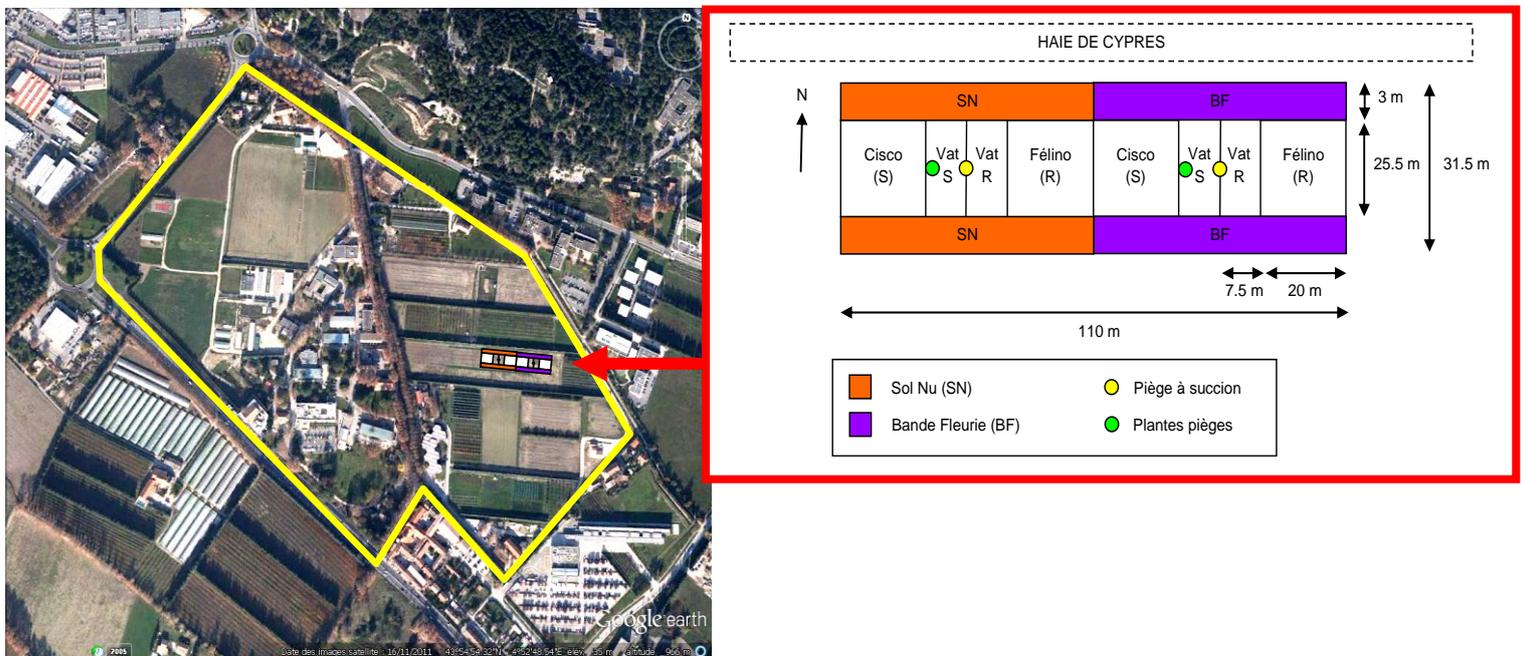


Figure 2 : Localisation de l'essai Parcel-R à l'INRA d'Avignon (St Paul) (Google earth) et plan de l'essai Parcel-R 2015 (Alexandra Schoeny)

L'essai est axé sur l'étude de deux facteurs expérimentaux :

- Le type d'aménagement parcellaire avec deux modalités : sol nu (SN) et bande fleurie (BF). Les espèces végétales qui constituent les bandes fleuries (*Centaurea cyanus*, *Lathyrus sativus*, *Onobrychis viciifolia*, *Origanum majorana* et *Sanguisorba minor*) ont été sélectionnées après avoir vérifié qu'elles n'étaient ni hôtes des virus qui infectent les melons, ni hôtes des pucerons qui colonisent les melons (Schoeny et al., 2014).

- Le niveau de résistance génétique du melon : sensible (S) et résistant (R). En effet, ces deux modalités sont plantées dans chaque aménagement. Les plantes sont différenciées par la présence du gène *Vat* (Vat R) et son absence (Vat S). Pour limiter les effets de bordure, des zones tampons constituées des variétés Cisco (Vat S) et Felino (Vat R) sont plantées. Ces deux variétés sont résistantes à l'oïdium.

2. Suivi des dynamiques aphidiennes

Un piège à aspiration est installé au milieu de chaque modalité d'aménagement parcellaire. Ce piège permet d'échantillonner les insectes ailés de manière non biaisée et d'établir les dynamiques des pucerons ailés. Les pièges fonctionnent de 8h à 22h, soit 14 heures par jour. Ils sont relevés quotidiennement avant la mise en route. Le pot de la date J est remplacé par le pot de la date J+1. Au laboratoire, les captures sont lavées et placées dans l'alcool à 70°. L'essai a été planté le 28 mai 2015 (J₀), les pièges à aspiration ont été mis en route la veille (J₋₁). Le comptage des pucerons ailés est alors effectif dès le jour de la plantation de l'essai. La période de suivi est de J₀ à J₅₆.

Le traitement des captures se fait en deux étapes :

- Les pucerons sont séparés des autres insectes et invertébrés afin d'étudier la dynamique aphidienne globale dans l'essai.
- Les pucerons sont identifiés sur des critères morphologiques. Identifier un puceron passe par la reconnaissance de critères comme la forme des cornicules, les marques et la couleur de l'abdomen, ou encore le nombre d'articles et l'apparence du fouet des antennes. Il est nécessaire d'identifier tous les pucerons. Mais cette activité demande un certain temps et demande une expertise complexe et longue à acquérir. La priorité est donc donnée à certaines espèces telles que *Aphis craccivora*, *Aphis fabae*, *Aphis gossypii* et *Myzus persicae*, qui sont des espèces d'intérêt connues pour être vectrices de virus des cucurbitacées.

J'ai contribué à la collecte des données pour la dynamique aphidienne, mais je ne présenterais pas les résultats des déterminations de pucerons dans ce rapport car ce n'était pas le sujet de mon stage.

3. Plantes pièges

Des plants de melon au stade première feuille étalée sont disposés dans la parcelle à environ deux mètres des pièges à aspiration pour suivre la dynamique de l'inoculum viral. Les melons utilisés sont de la variété Védraçais. Ils sont sensibles aux principaux virus des cucurbitacées et dépourvus du gène *Vat*. Le temps d'exposition varie entre les aménagements parcellaires (tableau 1). En effet, il est de un ou sept jours pour SN, et de sept jours pour BF. Une plus grande attention est portée sur la modalité SN car il s'agit du témoin dans cet essai et c'est aussi l'aménagement le plus répandu chez les agriculteurs. L'exposition des plantes pièges est

effectuée pendant 7 semaines (de J₀ à J₅₀). Les lots de plantes pièges sont regroupés par semaine d'exposition.

Tableau 1 : Plan de mise en place des plantes pièges sur la parcelle

Modalité	Plantes pièges	Temps d'exposition	Nombre total/modalité/semaine
SN	30 le lundi 30 le lundi 30 le mardi 30 le mercredi 30 le jeudi	7 jours 24h 24h 24h 24h	150
BF	30 le lundi	7 jours	30
Nombre total de plantes pièges par semaine			180

4. Suivi des parcelles

Afin de déterminer la cinétique des infections virales dans la parcelle, un suivi hebdomadaire des épidémies virales est effectué dans les modalités Vat R et Vat S, avec un échantillonnage de 40 plantes identifiées par parcelle, et ce pour chaque aménagement parcellaire. On obtient donc 160 plantes suivies dans l'essai. Seuls les résultats obtenus dans les modalités « Vat S » seront présentés par la suite.

B. Détection et identification des virus

1. Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA)

Le test DAS-ELISA est un test sérologique qui permet de détecter un grand nombre de virus de morphologies différentes, dans des préparations non purifiées de plantes infectées. Le protocole utilisé est celui proposé par Clark et Adams en 1977. Le principe est de capturer un antigène entre deux anticorps spécifiques au virus détecté, puis de révéler sa présence par une réaction enzyme-substrat colorimétrique.

Pour les plantes pièges, les végétaux à tester peuvent être broyés de deux façons différentes (figure 3) :

- Au broyeur à rouleaux si on n'observe pas de symptôme, afin de tester la présence de CABYV. Ce virus est limité au phloème et en faible concentration dans les plantes, les risques de contamination entre deux broyats successifs sont très faibles.
- En sachet individuel si on observe des symptômes de type mosaïque, indiquant la présence possible de CMV, WMV ou ZYMV qui peuvent présenter une forte concentration dans les plantes. Les échantillons obtenus ne seront ainsi pas contaminés par des virus présents dans l'échantillon précédent. Cette précaution est nécessaire afin de s'assurer de la fiabilité des tests moléculaires ultérieurs.

Les tests sont réalisés sur des plaques en plastique d'un format standard de 96 puits.

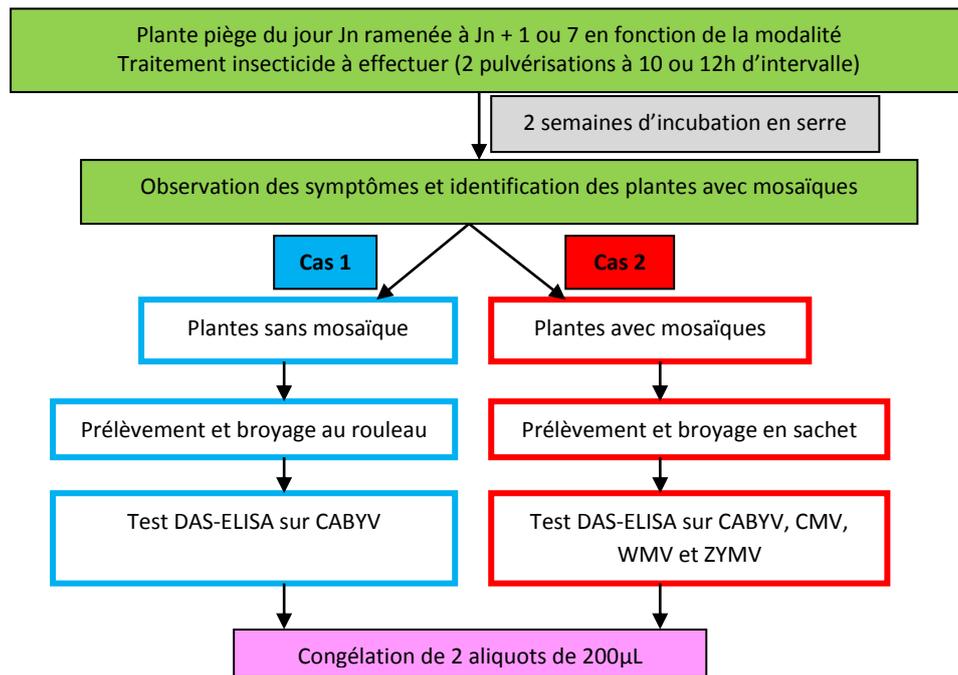


Figure 3 : Organigramme des manipulations des plantes pièges après retour de la parcelle

2. Tests moléculaires : RT-PCR et séquençage des ARN viraux

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement des nucléotides pour un fragment d'ADN donné. Dans un premier temps, il est nécessaire de transformer l'ARN en ADN complémentaire ou ADN_c. L'ARN va subir une transcription inverse ou RT, suivie d'une PCR. Cette technique permet de réaliser une réaction en chaîne par polymérase, ou PCR, à partir d'un échantillon d'ARN. L'ARN est tout d'abord rétrotranscrit grâce à une enzyme appelée transcriptase inverse. Celle-ci permet la synthèse de l'ADN_c. Ce dernier est ensuite utilisé pour réaliser une PCR. Après la PCR, les échantillons sont contrôlés sur un gel d'agarose à 1%. Les échantillons positifs sont envoyés au séquençage. Une fois les ADN_c séquencés, ils sont comparés à l'aide du logiciel Blast à une base de données. Cette comparaison permet de savoir à quelles souches de virus nous sommes confrontés.

III. Résultats

Nous n'avons pas détecté de ZYMV pendant toute la durée de l'essai, ni dans les plantes pièges, ni sur la parcelle. Par conséquent, nous ne le traiterons pas dans la suite du rapport.

A. Détection de l'inoculum viral dans les plantes pièges pour la modalité SN

Les résultats présentés ici concernent les inocula viraux détectés dans la modalité sol nu, aménagement parcellaire considéré comme le témoin pour cet essai. Il a fait l'objet d'un suivi plus régulier. Les figures 4, 5 et 6 présentent les inocula de différents virus suivi par plantes pièges dans la modalité sol nu.

- Le CABYV (figure 4) n'a été détecté que sur deux plantes pièges exposées 24h. L'une avait été déposée à J13 et l'autre à J34. Parmi les plantes pièges exposées sept jours, la première plante piège infectée avait été déposée à J4. Au maximum, une seule plante sur les trente exposées a été infectée, tant pour les expositions 24h que sept jours. Il ne semble pas y avoir de pic de détection de l'inoculum observé. C'est le virus le moins détecté sur les plantes pièges avec une fréquence de 0,7%.
- Le CMV (figure 5) est le virus qui a été détecté le plus précocement dans les plantes pièges. Le nombre de plantes pièges infectées est assez élevé jusqu'à J35 dans les plantes exposées 24h. On observe un pic de quinze plantes pièges exposées 24h à J25. Après J38, le nombre de plantes pièges infectées après exposition 24h diminue fortement. On observe la même tendance dans les plantes pièges exposées sept jours. Une plante piège de la première série « sept jours », correspondant en pratique aux quatre premiers jours après la plantation, était positive pour le CMV. Le CMV est le virus le plus détecté dans les plantes pièges avec une fréquence de 8,6%.
- Pour ce qui est du WMV (figure 6), on observe qu'il a été détecté tardivement, à J25 dans les plantes pièges exposées 24h et à J18 dans les plantes pièges exposées sept jours. Le nombre de plantes pièges exposées sept jours croît de J18 à J25, puis diminue de J31 à J39. Il semble y avoir un pic d'infection entre J25 et J38 pour les plantes pièges exposées sept jours, mais on ne l'a pas détecté dans les plantes pièges exposées 24h. Le WMV est le second virus le plus détecté sur les plantes pièges avec une fréquence de 2,8%.

Ainsi, d'après ces résultats, le CMV est le virus observé le plus précocement et fréquemment dans les plantes pièges.

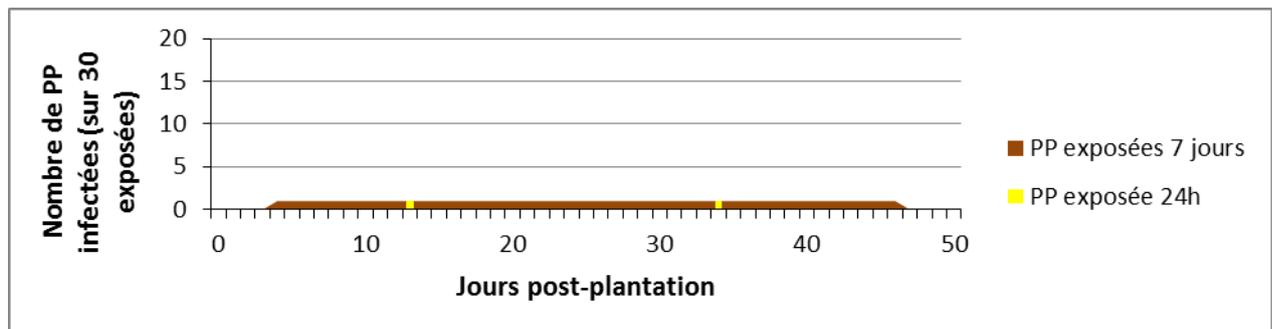


Figure 4 : Dynamique de l'inoculum de CABYV dans la modalité SN

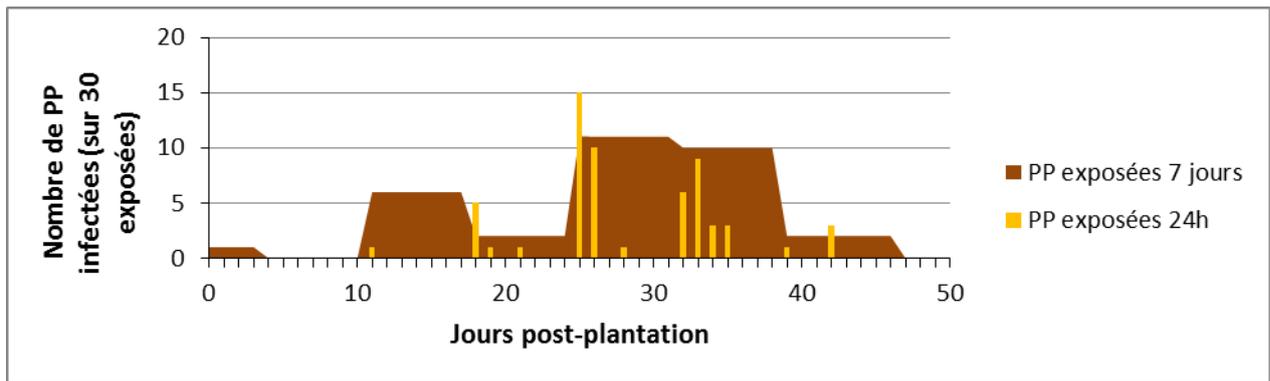


Figure 5 : Dynamique de l'inoculum de CMV dans la modalité SN

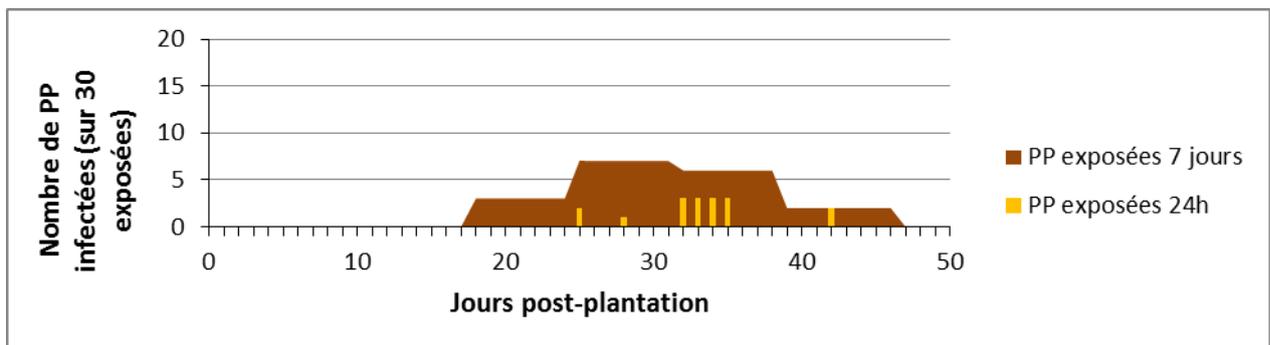


Figure 6 : Dynamique de l'inoculum de WMV dans la modalité SN

B. Détection de l'inoculum viral et aménagement parcellaire

Les figures 7, 8 et 9 présentent le nombre de plantes positives parmi les plantes pièges exposées sept jours en fonction des différents virus et aménagements parcellaires.

- Nous n'avons pas relevé de plante piège infectée par CABYV la première semaine dans les deux aménagements parcellaires (figure 7). Dans la modalité SN, une plante piège positive a été relevée lors des semaines 2, 3, 4, 5, 6 et 7. Dans la modalité BF, trois plantes pièges positives ont été observées en semaine 3, deux en semaine 5 et une en semaine 7. Ainsi, il y a six plantes pièges positives dans les deux modalités lors des sept semaines. L'aménagement BF ne semble pas limiter le nombre de plantes pièges positives par rapport à l'aménagement SN pour le CABYV, mais le nombre total de plantes pièges infectées est faible dans tous les cas.
- En ce qui concerne le CMV (figure 8), dans la modalité SN, il y a 32 plantes pièges positives lors des sept semaines, et 25 plantes pièges positives dans la modalité BF. Le nombre de plantes pièges positives dans la modalité BF est inférieur à celui de la modalité SN lors des semaines 1, 3, 5 et 6. L'aménagement BF semble réduire le nombre de plantes pièges positives, donc potentiellement l'inoculum viral, par rapport à l'aménagement SN pour le CMV.
- Pour ce qui est du WMV (figure 9), on n'observe aucune plante piège positive dans les deux aménagements parcellaires lors des semaines 1 et 2. Il y a 18 plantes pièges positives dans la modalité SN lors des sept semaines, et 28 plantes pièges positives

dans la modalité BF. Le nombre de plantes pièges positives dans la modalité BF est toujours supérieur à celui de la modalité SN. L'aménagement BF ne semble pas limiter la transmission de l'inoculum viral par rapport à l'aménagement SN pour le WMV.

En conclusion, l'aménagement parcellaire BF semble réduire l'inoculum viral par rapport à l'aménagement parcellaire SN pour le CMV uniquement d'après les résultats obtenus pour les plantes pièges exposées sept jours pour les deux aménagements.

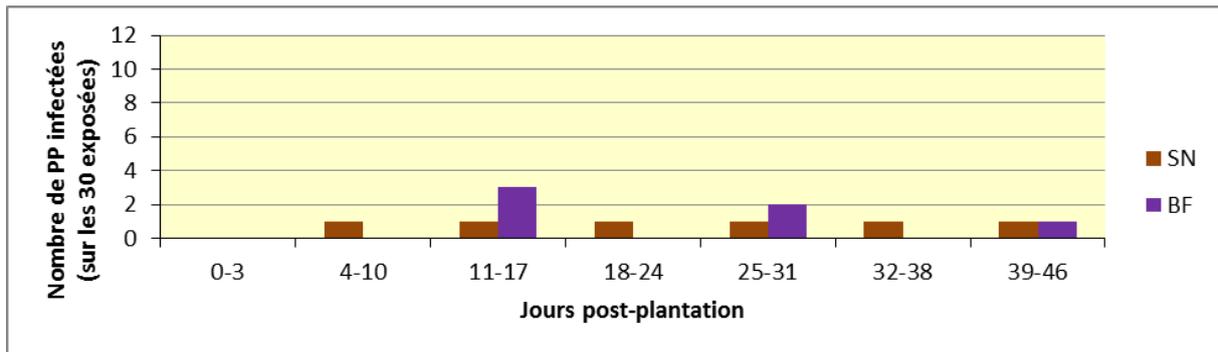


Figure 7 : Nombre de plantes positives pour le CABYV dans les plantes pièges exposées sept jours dans les modalités SN et BF

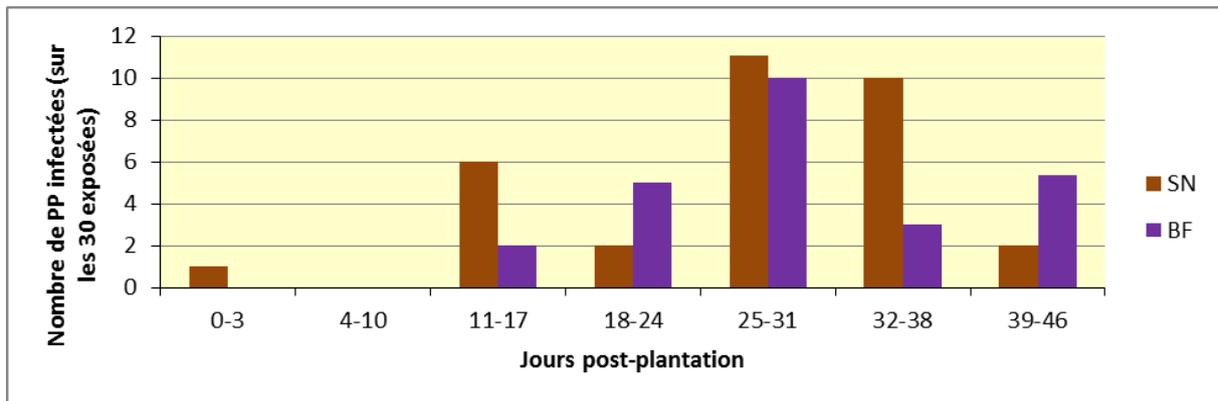


Figure 8 : Nombre de plantes positives pour le CMV dans les plantes pièges exposées sept jours dans les modalités SN et BF

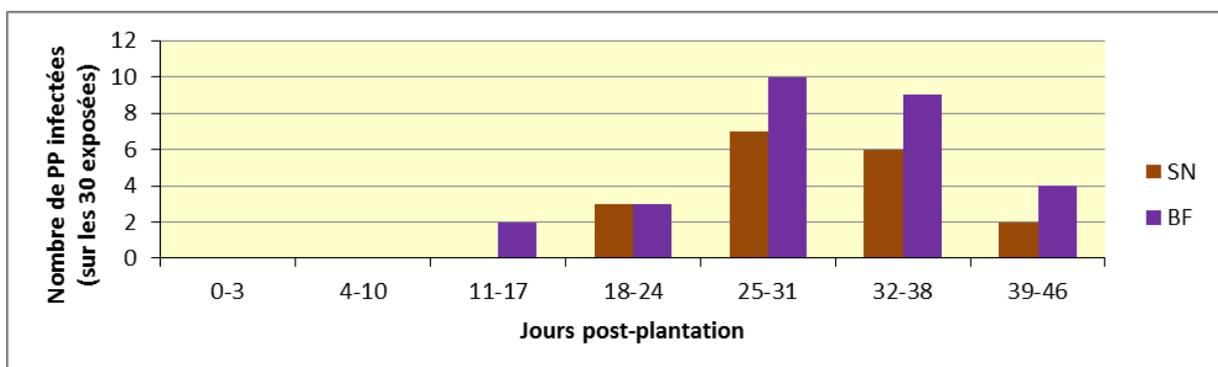


Figure 9 : Nombre de plantes positives pour le WMV dans les plantes pièges exposées sept jours dans les modalités SN et BF

C. Dynamique des épidémies virales et aménagement parcellaire

Les résultats présentés dans les figures 10 à 13 sont les dynamiques virales observées sur la parcelle en fonction des différents virus et des aménagements parcellaires.

Pour la modalité SN, aucune infection par le CABYV, le CMV ou le WMV (figure 10) n'a été détectée une semaine après la plantation (J8). Les premières plantes positives ont été détectées à J15 pour les trois virus. A J43, les trois virus ont infecté presque toute la parcelle. Entre J15 et J43, le pourcentage de plantes infectées est passé de 7,5% à 97,5% pour le CABYV, de 2,5% à 100% pour le CMV, et de 2,5% à 95% pour le WMV. Le CMV a présenté un développement d'épidémie plus rapide que le CABYV et le WMV avec un fort développement dès J22. L'épidémie de WMV a progressé lentement jusqu'à J22, puis a présenté un développement rapide, avec un pic entre J29 et J36, passant de 25% de plantes infectées à 87%.

La progression des épidémies a donc été moyennement précoce et modérée pour le CABYV, précoce et forte pour le CMV, et assez tardive et forte pour le WMV dans la modalité SN.

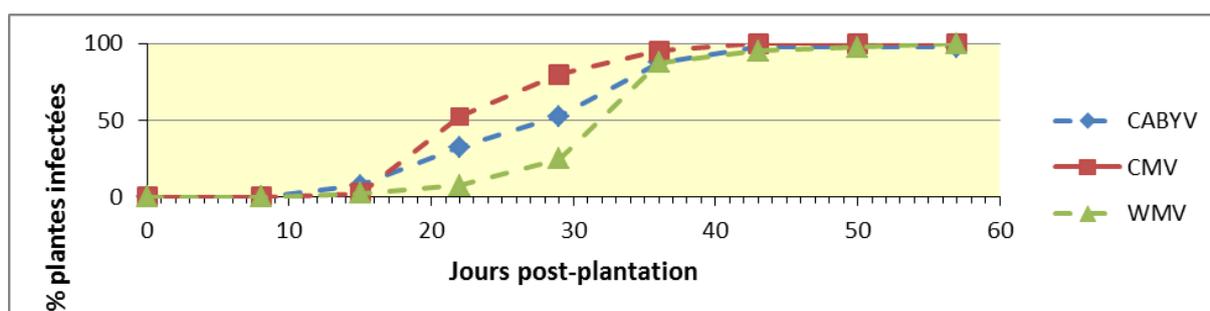


Figure 10 : Progression des dynamiques virales dans la modalité SN

Dans la modalité BF, les premières plantes infectées par le CABYV (figure 11) ont été détectées à J15. L'épidémie s'est développée assez lentement et de façon presque linéaire entre J22 et J57, avec seulement 52% d'infection à J57. La courbe de la modalité BF est située en-dessous de la courbe de la modalité SN tout au long de l'essai.

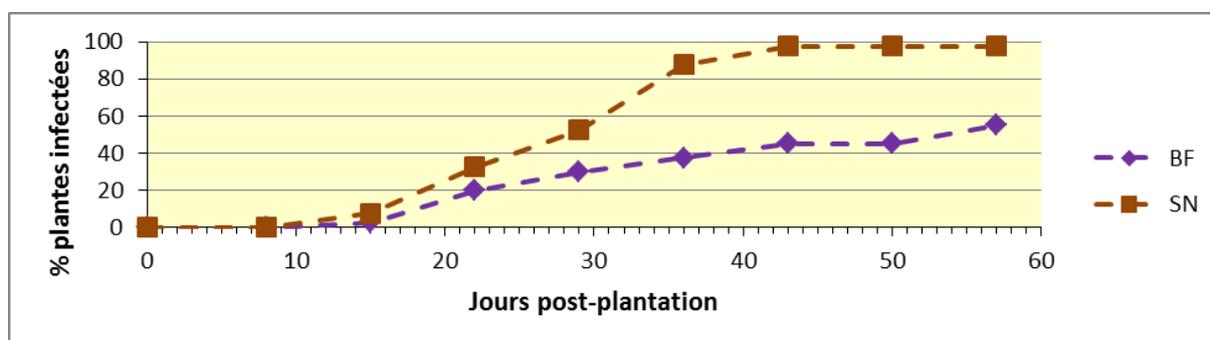


Figure 11 : Progression de l'épidémie de CABYV dans la parcelle en fonction des modalités SN et BF

Pour ce qui est du CMV (figure 12), dans la modalité BF, on observe les premières plantes infectées à J15 et le nombre de plantes infectées croît de 2,5% à 97,5% de J15 à J57. La

courbe de la modalité BF est située en-dessous de la courbe de la modalité SN tout au long de l'essai, mais contrairement au CABYV le pourcentage d'infection en fin d'essai est presque identique entre les modalités SN et BF.

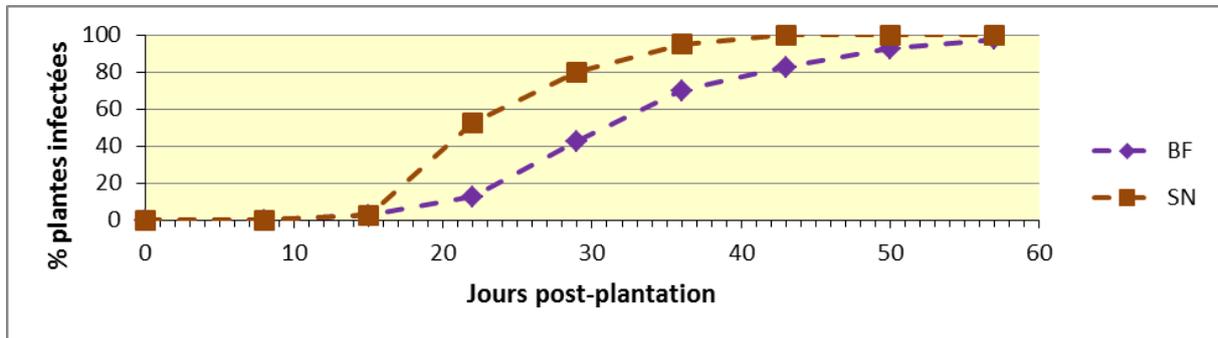


Figure 12 : Progression de l'épidémie de CMV dans la parcelle en fonction des modalités SN et BF

En ce qui concerne le WMV (figure 13), les premières plantes infectées sont observées dès le premier test à J8 dans la modalité BF, puis le nombre de plantes infectées croît très rapidement de 12 à 100% de J22 à J36, et atteint 100% dès J36. La courbe de la modalité BF est située au-dessus de la courbe de la modalité sol nu tout au long de l'essai.

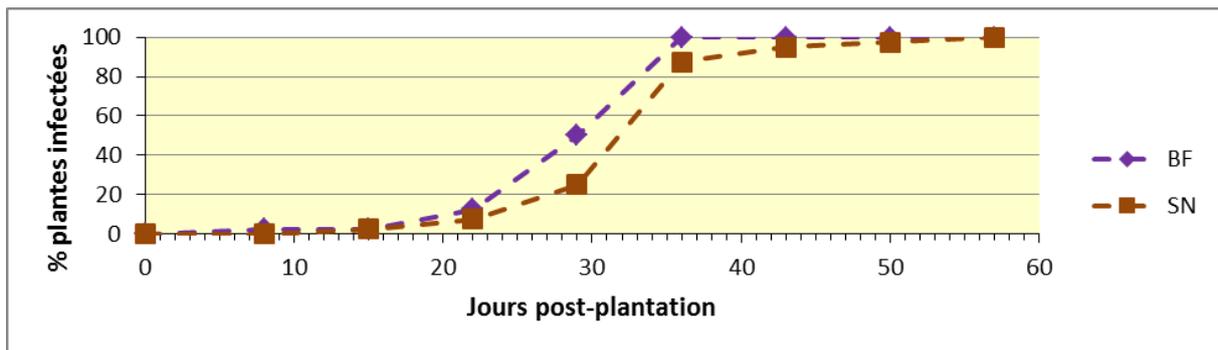


Figure 13 : Progression de l'épidémie de WMV dans la parcelle en fonction des modalités SN et BF

En conclusion, on remarque que les trois virus sont détectés à partir de J8 ou J15 dans les modalités SN et BF. L'aménagement parcellaire semblerait jouer un rôle sur les dynamiques virales. Les bandes fleuries semblent retarder et diminuer les infections par le CABYV sur la parcelle, et retarder les infections par CMV. En ce qui concerne le WMV, les bandes fleuries ne semblent pas très efficaces pour limiter l'inoculum viral: la courbe épidémique de la modalité bandes fleuries est située au-dessus de la courbe de la modalité sol nu tout au long de l'essai, mais l'aire entre les deux courbes est très faible.

D. Détection de l'inoculum viral et suivi épidémiologique

Les virus CABYV, CMV et WMV ont été trouvés dans les deux aménagements parcellaires. Nous allons nous intéresser maintenant à la modalité SN plus particulièrement, en lien avec la détection d'inoculum viral dans les plantes pièges (cf figure 10).

- L'épidémie de CABYV dans la parcelle a été moyennement précoce et modérée (figure 14). La première détection de CABYV sur la parcelle intervient pratiquement en même temps que sur les plantes pièges : la première plante positive dans la parcelle a été détectée à J15, alors qu'une plante piège exposée 24h était positive à J14. Nous n'avons pas observé de pic de détection du virus dans les plantes pièges, le nombre de plantes pièges infectées étant resté très faible.

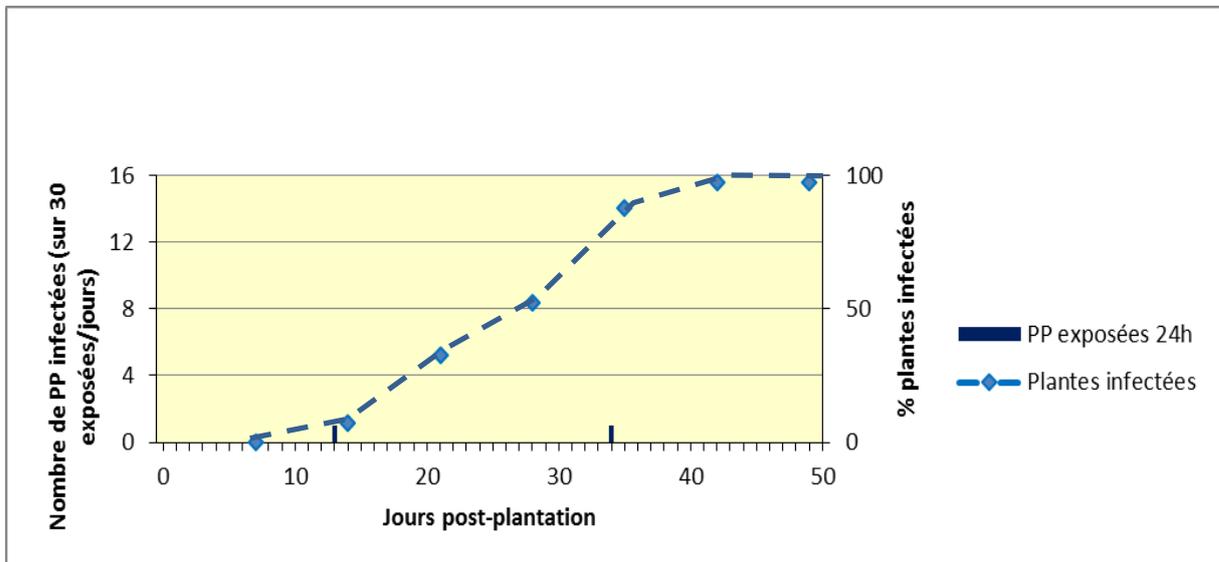


Figure 14 : Progression de l'épidémie de CABYV dans la modalité SN

- L'épidémie de CMV dans la parcelle est assez précoce et forte (figure 15). Elle semble débiter à partir de J15 dans les plantes testées, à J29 80% des plantes testées sont infectées, à partir de J43 le pourcentage de plantes infectées atteint 100%. La première détection de CMV sur la parcelle (J15) intervient après celle sur les plantes pièges (J11). Nous avons relevé un pic de détection dans les plantes pièges à J25. Le nombre de plantes pièges positives est élevé entre J13 et J35, intervalle de temps correspondant au développement rapide de l'épidémie (beaucoup d'inoculum, probablement primaire et secondaire).

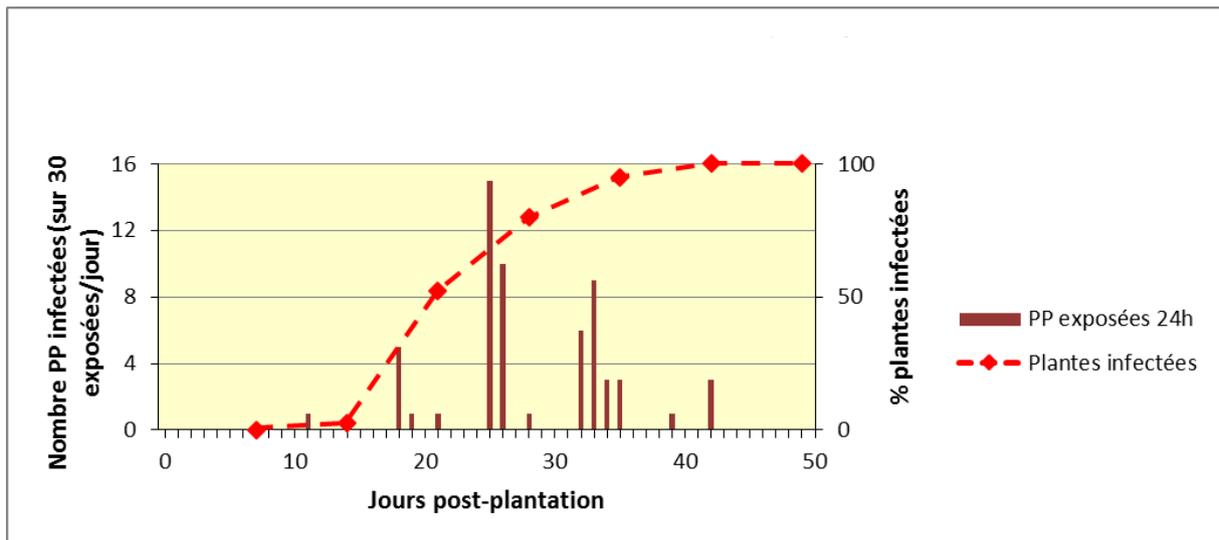


Figure 15 : Progression de l'épidémie de CMV dans la modalité SN

- La détection du WMV dans la parcelle (J15) intervient avant celle sur les plantes pièges (J25) exposées 24h (figure 16). Même si le nombre de plantes pièges exposées 24h et positives pour le WMV est resté faible tout au long de l'essai, le nombre maximal de plantes positives (J32 à J35) correspond au développement le plus rapide de l'épidémie, le pourcentage de plantes testées infectées sur la parcelle passant de 25% à près de 90% en une semaine entre J29 et J36.

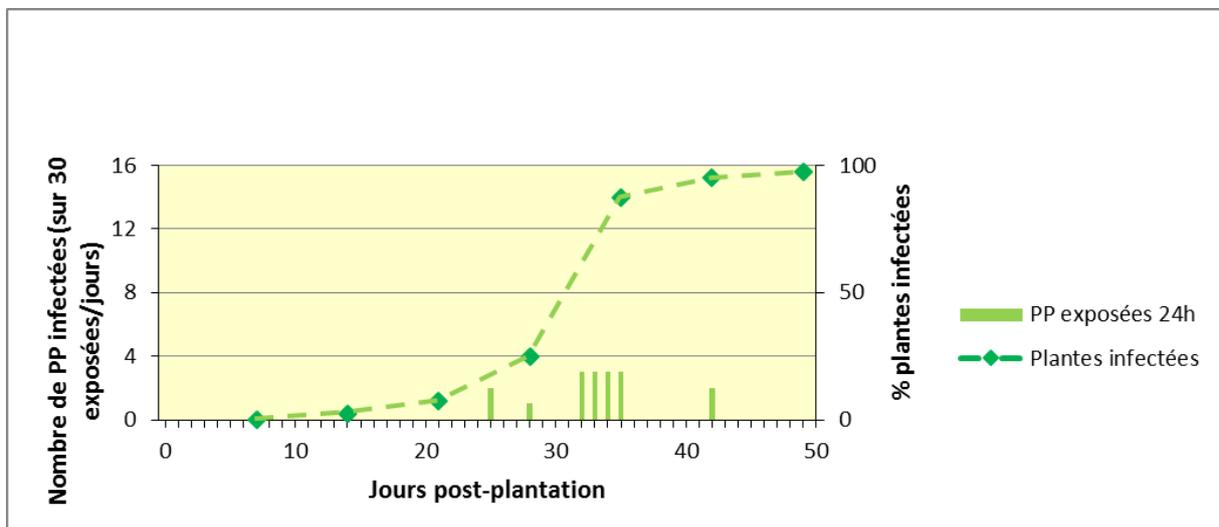


Figure 16 : Progression de l'épidémie de WMV dans la modalité SN

Pour les plantes pièges exposées sept jours, on observe un pic d'infection pour les semaines 3 à 6 (J11 à J38) pour le CMV, et les semaines 4 à 6 (J18 à J38) pour le WMV. Si on n'a pas capturé l'inoculum primaire, en particulier pour le WMV, on observe néanmoins une corrélation entre les infections des plantes pièges et la dynamique épidémique dans la parcelle.

En conclusion, la progression des épidémies semble moyennement précoce et modérée pour le CABYV, précoce et forte pour le CMV, et assez tardive et forte pour le WMV, et la dynamique épidémique présente, au moins pour le CMV et le WMV, une corrélation avec la fréquence des plantes pièges positives pour ces virus. Pour le CABYV et le CMV, les premières plantes pièges positives ont été observées presque simultanément avec le début de l'épidémie dans la parcelle, ce qui n'est pas le cas pour le WMV. Cela laisse supposer que pour le CABYV et le CMV les premières plantes pièges infectées l'ont été par de l'inoculum primaire, même si, dans la mesure où nous ne testons pas toutes les plantes de la parcelle, nous ne pouvons pas être certains de détecter précisément les premières infections et donc l'inoculum primaire réel dans celle-ci.

E. Dynamiques aphidiennes

Les dynamiques aphidiennes établies pour les modalités SN et BF présentent globalement des allures similaires (figure 17). On peut distinguer trois phases d'activité : 1) modérée de J0 à J6 le nombre de pucerons capturés par jour reste inférieur à 100 ; 2) très intense de J7 à J19, le nombre de pucerons capturés par jour dépasse fréquemment 100 ; 3) faible de J20 à J50, le nombre de pucerons capturés par jour dépasse rarement 30.

Le pic d'activité est plus précoce dans la modalité SN (305 pucerons capturés à J11) que dans la modalité BF (364 pucerons capturés J13).

Les effectifs totaux sont très similaires (2245 dans SN, 2206 dans BF) mais la composition spécifique est différente notamment pour l'espèce colonisatrice *Aphis gossypii* qui a été moins fréquente dans BF (399 dans SN, 284 dans BF).

Les fortes précipitations relevées à J15 (45,5 mm) peuvent expliquer la chute brutale du nombre de pucerons capturés entre J14 (266 individus) et J15 (43 individus). La température moyenne varie entre 20 et 25°C de J0 à J30, et entre 25 et 30 °C de J31 à J50 (figure 18). Les fluctuations journalières des dynamiques aphidiennes semblent indépendantes de la température. On peut toutefois noter que la phase de faible activité correspond à une période où les températures dépassent fréquemment 25°C.

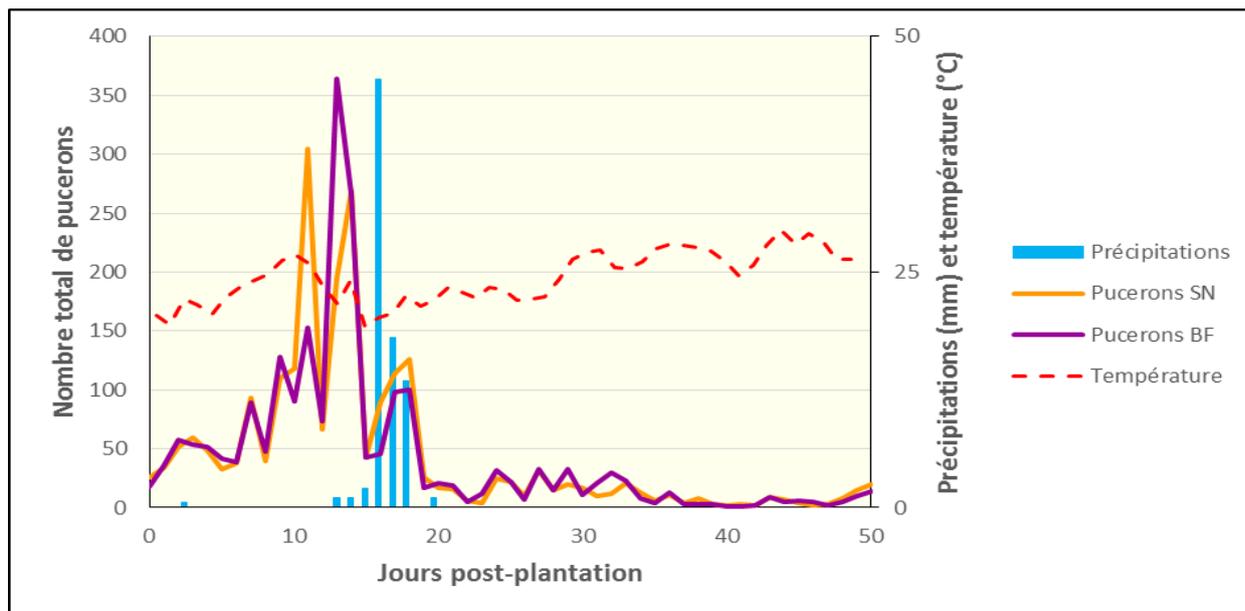


Figure 17 : Effet de l'aménagement parcellaire, des précipitations et de la température sur les dynamiques aphidiennes

La figure 18 présente les épidémies virales dans la parcelle en lien avec les dynamiques de pucerons. Nous pouvons remarquer que les pics d'activité aphidienne et les épidémies virales ne sont pas contemporains. En effet, les pics de pucerons surviennent peu après la plantation (J7 à J17), alors que les développements épidémiques les plus importants ont lieu au moment où il y a très peu de pucerons (J19 à J50). Ce décalage dans le temps est en partie dû à la période d'incubation des virus (7-14 jours) pendant laquelle le virus se multiplie dans la plante hôte pour atteindre une concentration détectable.

Très peu de plantes pièges ont été positives pendant la période de forte activité aphidienne (cf figures 14 à 16). Ainsi, il semblerait que ce n'est pas parce qu'il y a un grand nombre de pucerons qu'il y a forcément beaucoup d'inocula viraux. Si la plupart des pucerons sont sains, l'épidémie mettra plus de temps à démarrer sur la parcelle. Au contraire, le développement des épidémies est maximal (J19 à J50) alors qu'il y a peu de pucerons ailés actifs dans la parcelle. Dans ce cas, en présence d'une forte pression d'inoculum dans la parcelle (12,5 à 90% de plantes infectées), même un faible nombre de pucerons suffit à disséminer efficacement les virus.

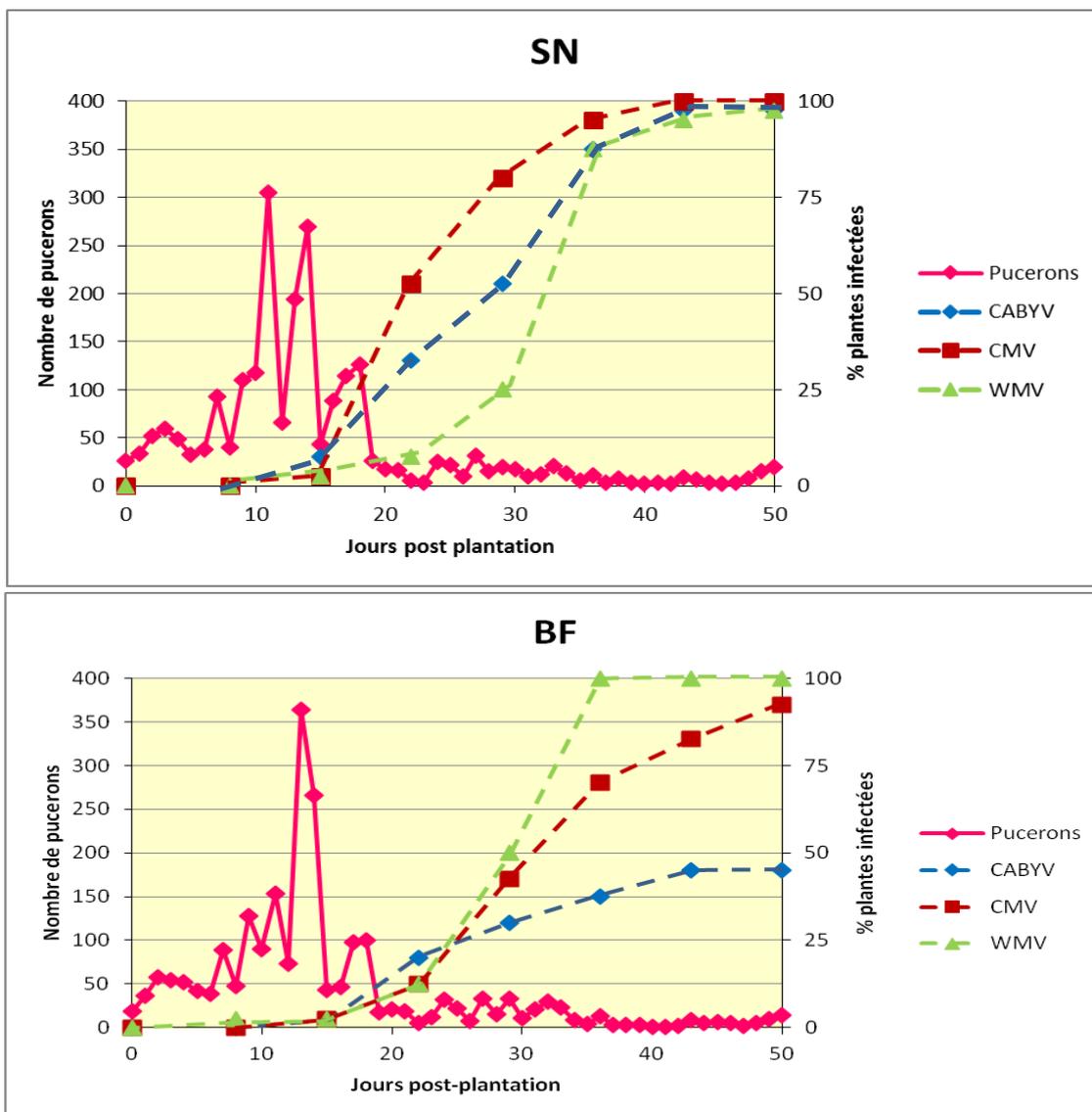


Figure 18 : Dynamique des pucerons capturés et courbes de progression des épidémies virales au champ en fonction des modalités SN et BF

IV. Discussion

A. Inoculum et suivi épidémiologique

Les résultats ont montré que les virus n'ont pas été détectés dans les mêmes proportions et à des moments similaires dans les plantes pièges. Des hypothèses peuvent être posées :

- Le CABYV a été détecté très faiblement dans les plantes pièges, et de manière régulière dans SN, et plus irrégulière dans BF. Il n'a été détecté que deux fois dans les plantes pièges exposées 24h, ce qui ne permet pas l'observation d'une dynamique nette de l'inoculum. Il est possible qu'un temps d'exposition de 24h soit insuffisant pour détecter ce virus transmis selon le mode persistant, toutefois le nombre de plantes pièges infectées après sept jours d'exposition reste également faible pendant tout l'essai. La faible présence de ce virus pourrait s'expliquer, au moins en début de culture, par l'absence de réservoirs biologiques aux alentours de la parcelle. En effet, nous n'avons pas observé de Coquelicot (*Papaver rhoenas*) ou de Sénéçon (*Senecio vulgaris*) à proximité de la parcelle par exemple (Lecoq et al., 1992), même si aucune étude floristique précise des abords de la parcelle n'a été effectuée. Mais le CABYV a un assez grand nombre de réservoirs biologiques potentiels. Toutefois, en cours de culture, la prévalence du CABYV dans la parcelle augmente fortement, et on pourrait s'attendre à détecter de l'inoculum secondaire dans les plantes pièges. Il est possible que les plantes pièges, situées au milieu de la parcelle, soient peu repérables ou peu appétentes pour les quelques pucerons *A. gossypii* présents tout au long de l'essai.
- Le CMV est le virus le plus détecté dans les plantes pièges, pour les deux modalités. La détection de l'inoculum est précoce et peut s'expliquer par le fait que le CMV a une des plus grandes gammes d'hôtes répertoriés chez les virus (Blancard, Ephytia, INRA, 2014). Certains hôtes pourraient se trouver à proximité de la parcelle. De plus, la très grande efficacité de son mode de transmission rend la dissémination du CMV très rapide même sans que d'importantes pullulations de pucerons ne soient observées (Blancard, Marchoux, Ephytia, INRA, 2013).
- Le WMV a été détecté tardivement dans les plantes pièges, quelle que soit la modalité. Au vu de sa détection tardive, il est très probable que les infections détectées sur les plantes pièges soient de l'inoculum secondaire, à partir de plantes de la parcelle. L'inoculum primaire est peut-être arrivé plus tardivement et en quantité moindre que le CMV, en relation avec un faible nombre de plantes réservoirs infectées à proximité de la parcelle, ce qui n'est pas en faveur de sa détection dans les plantes pièges. Des études moléculaires permettront potentiellement de déterminer, en fonction de la diversité des souches virales observées, les relations entre les virus présents dans les plantes pièges et dans la parcelle.

Quelle que soit la modalité d'aménagement parcellaire, le CABYV a été détecté en très faible quantité tout au long de l'essai dans les plantes pièges. Il est donc difficile de conclure quant à un éventuel effet des bandes fleuries sur la dynamique de l'inoculum viral. Par contre, l'aménagement parcellaire BF a permis une progression plus lente du CABYV dans la parcelle. Les plantes pièges étaient toutes regroupées au même endroit dans une modalité alors que les plantes testées dans le suivi épidémiologique étaient situées à différents endroits des modalités. Il serait intéressant d'augmenter le nombre de lots de plantes pièges et de les déposer à différents endroits dans les modalités. Ainsi, nous pourrions affiner nos résultats et faire des études statistiques, études que nous n'avons pas pu faire dans ce rapport faute de répétitions et étant donné le faible nombre de plantes pièges positives.

Les premières plantes pièges infectées par le CMV ont été détectées dès les premiers jours après la plantation de l'essai (J0-J3), nous pouvons donc affirmer que le dispositif utilisé permet de détecter précocement les inocula primaires. Cette détection rapide d'un virus montre que les pucerons ailés virulifères étaient présents précocement dans la parcelle et que des sources de virus étaient probablement présentes à proximité de l'essai. En effet, dans un paysage très fragmenté, les virus à transmission non persistante comme le CMV et le WMV semblent avoir une faible distance de dissémination (Lecoq et al., 2014), donc les sources d'inoculum sont probablement proches de la parcelle.

B. Effet des aménagements parcellaires sur l'inoculum et les dynamiques virales

En ce qui concerne les aménagements parcellaires, nous supposons que l'aménagement BF devait ralentir, voire diminuer, les épidémies pour le CABYV, le CMV et le WMV. D'après les dynamiques virales, ils sembleraient que les aménagements parcellaires aient des effets différents selon les virus étudiés. En effet, l'aménagement parcellaire BF semble ralentir et diminuer les épidémies de CABYV, et ralentir les épidémies de CMV, conformément à ce qu'on attendait. Dans le cas du CMV, le nombre de plantes pièges positives après une exposition de sept jours était également plus faible dans la modalité BF par rapport à SN. Mais l'aménagement parcellaire BF ne semble pas très efficace sur les épidémies par le WMV : l'épidémie a progressé un peu plus rapidement dans la modalité BF que dans SN, et la même tendance se retrouve au niveau des plantes pièges exposées sept jours. Mais ces résultats ne s'observent pas toujours les années précédentes. En effet, BF a permis en 2012 et 2014 une réduction de la probabilité d'infection par le WMV (Schoeny et al., 2014).

Les effets de l'aménagement parcellaire sur les inocula viraux et les dynamiques virales peuvent être partiellement expliqués par les dynamiques aphidiennes. En effet, le pic d'activité aphidien est légèrement plus tardif dans BF que dans SN, donc on peut supposer que les virus apparaissent plus tardivement dans BF que dans SN. Afin d'affiner notre étude, il serait intéressant de connaître le pourcentage de pucerons virulifères dans la parcelle. Mis en relation avec les dynamiques des virus, nous pourrions peut-être en extraire un lien entre une espèce de pucerons et un virus ou une souche de virus. Pour se faire, il faudrait pouvoir détecter des virus dans les pucerons. Des méthodes ont été

mises en place pour détecter certains virus persistants dans les pucerons, mais ce n'est pas encore le cas pour les virus non-persistants de notre étude.

En conclusion de cette discussion, nous pouvons dire que l'effet des BF sur les épidémies apparaît limité mais en combinant l'aménagement parcellaire avec d'autres méthodes de lutte, nous pouvons espérer renforcer leur efficacité.

Conclusion

Au cours de cet essai, nous avons effectué le suivi de l'inoculum viral grâce à l'emploi de plantes pièges dans deux aménagements parcellaires différents : SN et BF. En parallèle, nous avons suivi les dynamiques virales et le nombre de pucerons sur la parcelle. Des différences entre les aménagements parcellaires par rapport à la dynamique de l'inoculum viral ont été relevés : les bandes fleuries semblent retarder, voire diminuer, les épidémies de CABYV et CMV sur la parcelle. Néanmoins, ce n'est pas le cas pour le WMV. De plus, nous nous sommes aperçus que les plantes pièges n'étaient pas forcément très efficaces pour étudier l'inoculum primaire. Nous pouvons nous demander si l'attractivité des plantules pour les pucerons par rapport aux plantes de la parcelle serait insuffisantes. Ainsi, certaines améliorations pourraient être amenées pour mieux étudier la dynamique de l'inoculum viral. Nous pourrions ainsi multiplier les lots de plantes pièges, ou les subdiviser, et les répartir à différents endroits de la parcelle. Ou encore augmenter le nombre de plantes pièges au début de l'essai afin d'essayer d'affiner la détection de l'inoculum primaire dans la parcelle.

Enfin, il semblerait que le nombre de pucerons ne soit pas directement corrélé à l'intensité de l'épidémie : si les pucerons sont sains, ils ne transmettront pas de virus aux plantes de la parcelle. Mais il suffit de quelques pucerons virulifères pour initier l'épidémie. Dans ce cas, les pucerons sains peuvent devenir virulifères et entraîner des contaminations secondaires dans le reste de la parcelle. Il serait peut-être intéressant de tester plus de plantes sur la parcelle au début de l'essai afin de caractériser plus précisément la phase d'initiation de l'épidémie virale. Il serait intéressant aussi de pouvoir détecter des virus dans les pucerons. Nous pourrions ainsi repérer plus précisément l'inoculum primaire et dégager, peut-être, une corrélation entre une espèce de puceron et la présence d'un inoculum viral.

Bibliographie

- Astier, S., Albouy, J., Maury, Y., & Lecoq, H. (2001). *Principes de virologie végétale : génome, pouvoir pathogène, écologie des virus*. Paris : INRA Editions.
- Blancard, D. (2014, Mai 25). *Cucumber Mosaic Virus (CMV) – Virus de la mosaïque du concombre*. Consulté le Mai 2015, sur Ephytia : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/5251/Tomate-Principaux-symptomes>
- Blancard, D., & Marchoux, G. (2013, Février 12). *Principaux Symptômes (CMV)*. Consulté le Mai 2015, sur Ephytia : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/5251/Tomate-Principaux-symptomes>
- Clark, M., & Adams, A. (1977). Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, 34, pp. 475-483
- Conti, M., Gallitelli, D., Lisa, V., Lovisolò, O., Martelli, G., Ragozzino, A., et al. (1996). *I principali virus delle piante ortive*. Milan : Bayer.
- Coordination Rurale. (2012, Juin 25). *Le melon en quelques chiffres*. Consulté le Avril 19, 2015, sur Coordination Rurale : <http://www.coordinationrurale.fr/le-melon-en-quelques-chiffres.html>
- CTIFL. (1998). *Le melon pour un produit de qualité*
- Lecoq, H. (1992). Les virus des cultures de melon et de courgette de plein champ (II). *Pépiniéristes, horticulteurs, maraîchers-revue horticole*, pp. 324,23-27
- Lecoq, H., & Desbiez, C. (2012). Viruses of cucurbit crops in the mediterranean region: an ever-changing picture. *Advances in Virus Research*, 84, pp. 67-126.
- Lecoq, H., Bourdin, D., Wipf-Scheibel, C., Bon, M., & Lot, H. (1992). A new yellowing disease of cucurbits caused by a luteovirus: Cucurbit Aphid-Borne Yellowing Virus. *Plant Pathology*, 41, p. 84
- Lecoq, H., Wipf-Scheibel, C., Nozeran, K., Millot, P., & Desbiez, C. (2014). Comparative molecular epidemiology provides new insights into Zucchini Yellow Mosaic Virus occurrence in France. *Virus research*, pp. 1-8.
- Monteil, V. (2013). *Etude de la durabilité de la résistance conférée par Vat chez le melon*. Avignon : INRA.
- Schoeny, A., Boissot, N., Lambion, J., Wipf-Scheibel, C., Mistral, P., Gognalons, P., et al. (2014). Conception d'associations en maraîchage de plein champ: exemple de production de melons associés à des bandes fleuries pour lutter contre les pucerons et les virus. *Innovations Agronomiques*, 40, pp. 113-124.
- Turpeau, E., Hullé, M., & Chaubet, B. (2013, Juillet3). *Lutte chimique*. Consulté le Mai 2015, sur Encyclop'APHID : <http://www6.inra.fr/encyclopedie-pucerons/Pucerons-et-agriculture/Luttes/Lutte-chimique>
- Vœux, R. (2014). *Vers la compréhension des épidémies virales : suivi des dynamiques de populations de pucerons ailés et de l'inoculum viral en cultures de melons*. Avignon : INRA.

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

BF : bandes fleuries

CABYV : cucurbit aphyd-borne yellows virus

CMV: cucumber mosaic virus

DAS: double antibody sandwich

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

INRA: Institut National de la Recherche Agronomique

PP : plantes pièges

SN : sol nu

Vat : virus aphid transmission

Vat S : génotype de melon ne possédant pas le gène *Vat* (sensible)

Vat R : génotype de melon possédant le gène *Vat* (résistant)

WMV : watermelon mosaic virus

ZYMV : zucchini yellow mosaic virus

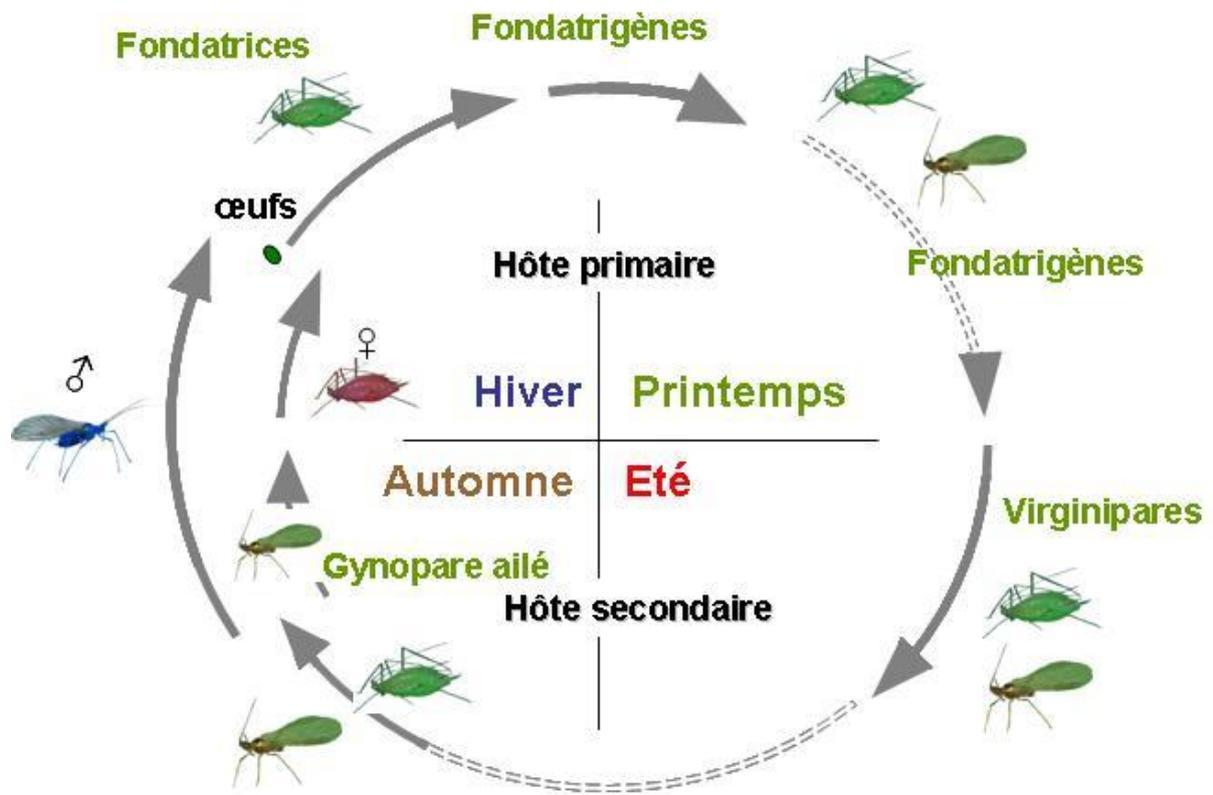
Liste des illustrations

Figure 1 : Photographie d'un puceron aptère (AlphaDxD).....	2
Figure 2 : Localisation de l'essai Parcel-R à l'INRA d'Avignon (St Paul) (Google earth) et plan de l'essai Parcel-R 2015 (Alexandra Schoeny).....	7
Tableau 1 : Plan de mise en place des plantes pièges sur la parcelle.....	9
Figure 3 : Organigramme des manipulations des plantes pièges après retour de la parcelle.....	10
Figure 4 : Dynamique de l'inoculum de CABYV dans la modalité SN.....	11
Figure 5 : Dynamique de l'inoculum de CMV dans la modalité SN.....	12
Figure 6 : Dynamique de l'inoculum de WMV dans la modalité SN.....	12
Figure 7 : Nombre de plantes positives pour le CABYV dans les plantes pièges exposées sept jours dans les modalités SN et BF.....	13
Figure 8 : Nombre de plantes positives pour le CMV dans les plantes pièges exposées sept jours dans les modalités SN et BF.....	13
Figure 9 : Nombre de plantes positives pour le WMV dans les plantes pièges exposées sept jours dans les modalités SN et BF.....	13
Figure 10 : Progression des dynamiques virales dans la modalité SN.....	14
Figure 11 : Progression de l'épidémie de CABYV dans la parcelle en fonction des modalités SN et BF.....	14
Figure 12 : Progression de l'épidémie de CMV dans la parcelle en fonction des modalités SN et BF.....	15
Figure 13 : Progression de l'épidémie de WMV dans la parcelle en fonction des modalités SN et BF.....	15
Figure 14 : Progression de l'épidémie de CABYV dans la modalité SN.....	16
Figure 15 : Progression de l'épidémie de CMV dans la modalité SN.....	17
Figure 16 : Progression de l'épidémie de WMV dans la modalité SN.....	17
Figure 17 : Effet de l'aménagement parcellaire, des précipitations et de la température sur les dynamiques aphidiennes.....	19
Figure 18 : Dynamique des pucerons capturés et courbes de progression des épidémies virales au champ dans les modalités SN et BF.....	20

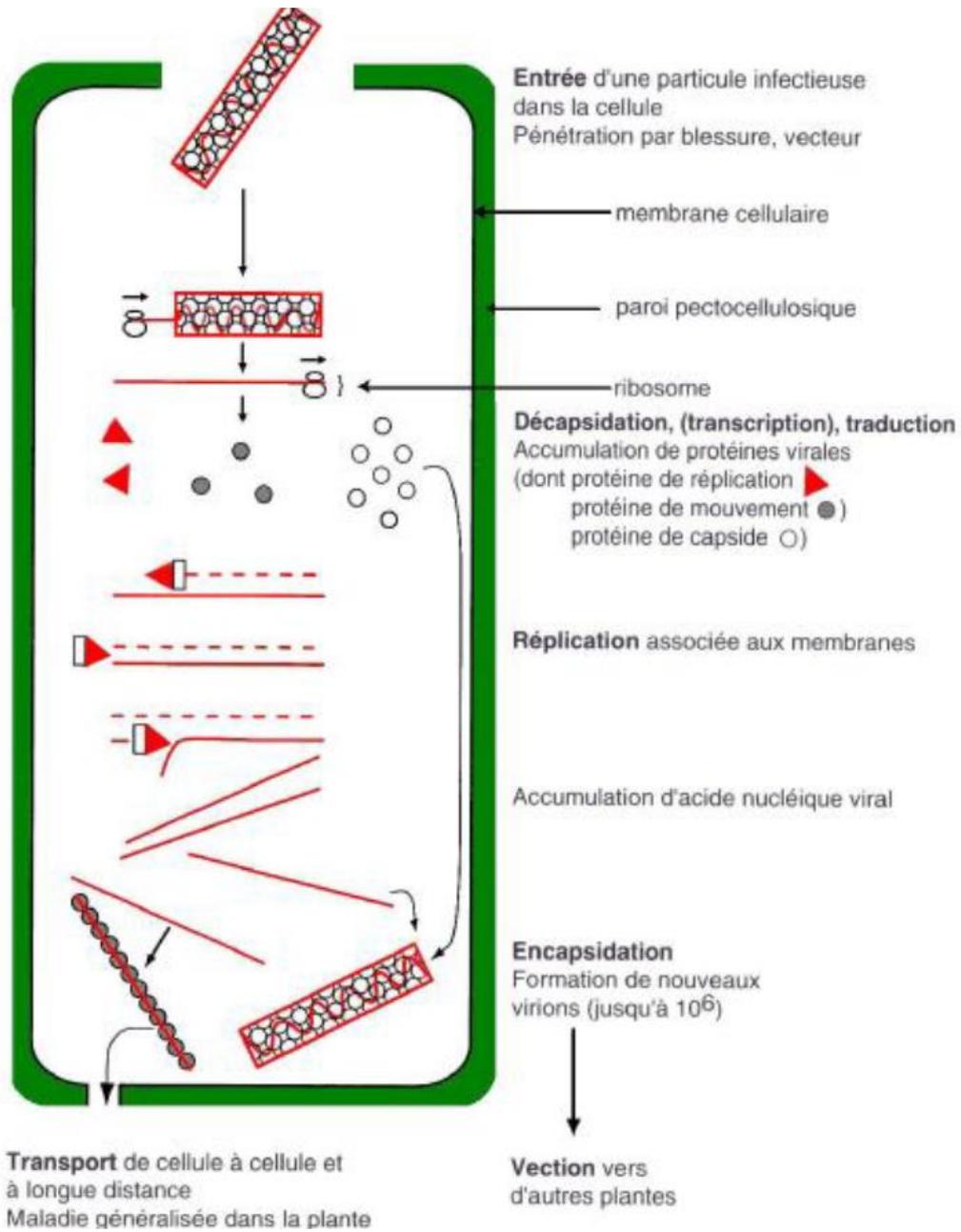
Annexes

Annexe 1 : Schéma du cycle complet d'un puceron (phase sexuée et asexuée) sur deux hôtes (dioecique) retrouvé chez les <i>Aphididae</i> (INRA, 2010)	28
Annexe 2 : Schéma du cycle infectieux d'un potyvirus dans une cellule végétale (Astier et Al., 2010).....	29
Annexe 3 : Photographies des espèces florales constituant la bande fleurie.....	30
Annexe 4 : Photographie des plantes pièges sur la parcelle du côté de la modalité bandes fleurie (A. Schoeny) et d'un piège à aspiration (A. Lauvernay).....	31
Annexe 5 : Schéma du développement d'une épidémie en plein champ, d'un phytovirus transporté par puceron (Astier, 2001).....	32
Annexe 6 : Principe du test DAS-ELISA (d'après Clark & Adams, 1977) (R. Vœux).....	33
Annexe 7 : Photographies des broyeurs à rouleaux et à billes (sources personnelles).....	34
Annexe 8 : Tableaux de composition des tampons de broyage nécessaire au test DAS-ELISA et des dilutions des anticorps pour le test DAS-ELISA (INRA).....	35
Annexe 9 : Exemple d'un plan de plaque de test DAS-ELISA et photographie d'une plaque ELISA (sources personnelles).....	36
Annexe 10 : Photographies de symptômes de CABYV sur feuilles âgées de melon (INRA) et particules virales de CABYV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard)	37
Annexe 12 : Photographie de symptômes de WMV sur feuilles de melon (INRA) et particules virales de WMV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard).....	37
Annexe 13 : Photographie de symptômes de ZYMV sur feuilles de melon (INRA) et particules virales de ZYMV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard).....	37
Annexe 13 : Photographie de symptômes de ZYMV sur feuilles de melon (INRA) et particules virales de ZYMV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard).....	37
Annexe 14 : Graphique représentant les conditions météorologiques de la parcelle au cours de l'essai Parcel-R 2015.....	38
Annexe 15 : Progression des épidémies virales dans la parcelle en fonction des différentes modalités et des différents virus.....	39

Annexe 1: Schéma du cycle complet d'un puceron (phase sexuée et asexuée) sur deux hôtes (dioecique), retrouvé chez les *Aphididae* (INRA 2010)



Annexe 2 : Schéma du cycle infectieux d'un potyvirus dans une cellule végétale (Astier et al., 2001)



Annexe 3 : Photographies des espèces florales constituant la bande fleurie

Nom de la plante	Photographie
<p>Bleuet des champs</p> <p><i>Centaurea cyanus L.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Asteraceae</i> - Plante annuelle - Hermaphrodite 	 <p>(Jouko Lehmuskallio)</p>
<p>Gesse commune</p> <p><i>Lathyrus sativus L.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Fabaceae</i> - Annuelle 	 <p>(H. Zell)</p>
<p>Marjolaine</p> <p><i>Origanum majorana L.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Lamiaceae</i> - Plante annuelle - Feuilles aromatiques 	 <p>(H. Zell)</p>
<p>Petite pimprenelle</p> <p><i>Sanguisorba minor Scop.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Rosaceae</i> - Plante herbacée vivace 	 <p>(INRA)</p>
<p>Sainfoin cultivé</p> <p><i>Onobrychis viciifolia</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Fabaceae</i> - Plante annuelle Plante fourragère 	 <p>(Jean Tosti)</p>

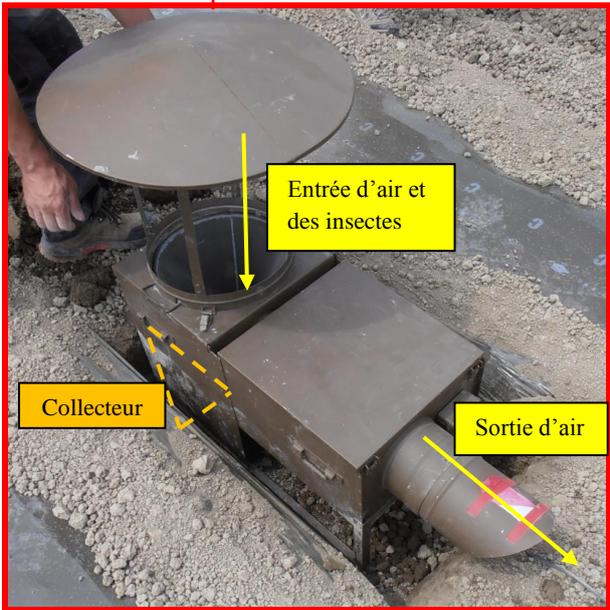
Annexe 4 : Photographies des plantes pièges sur la parcelle du côté de la modalité BF (A. Schoeny) et d'un piège à aspiration (A. Lauvernay)



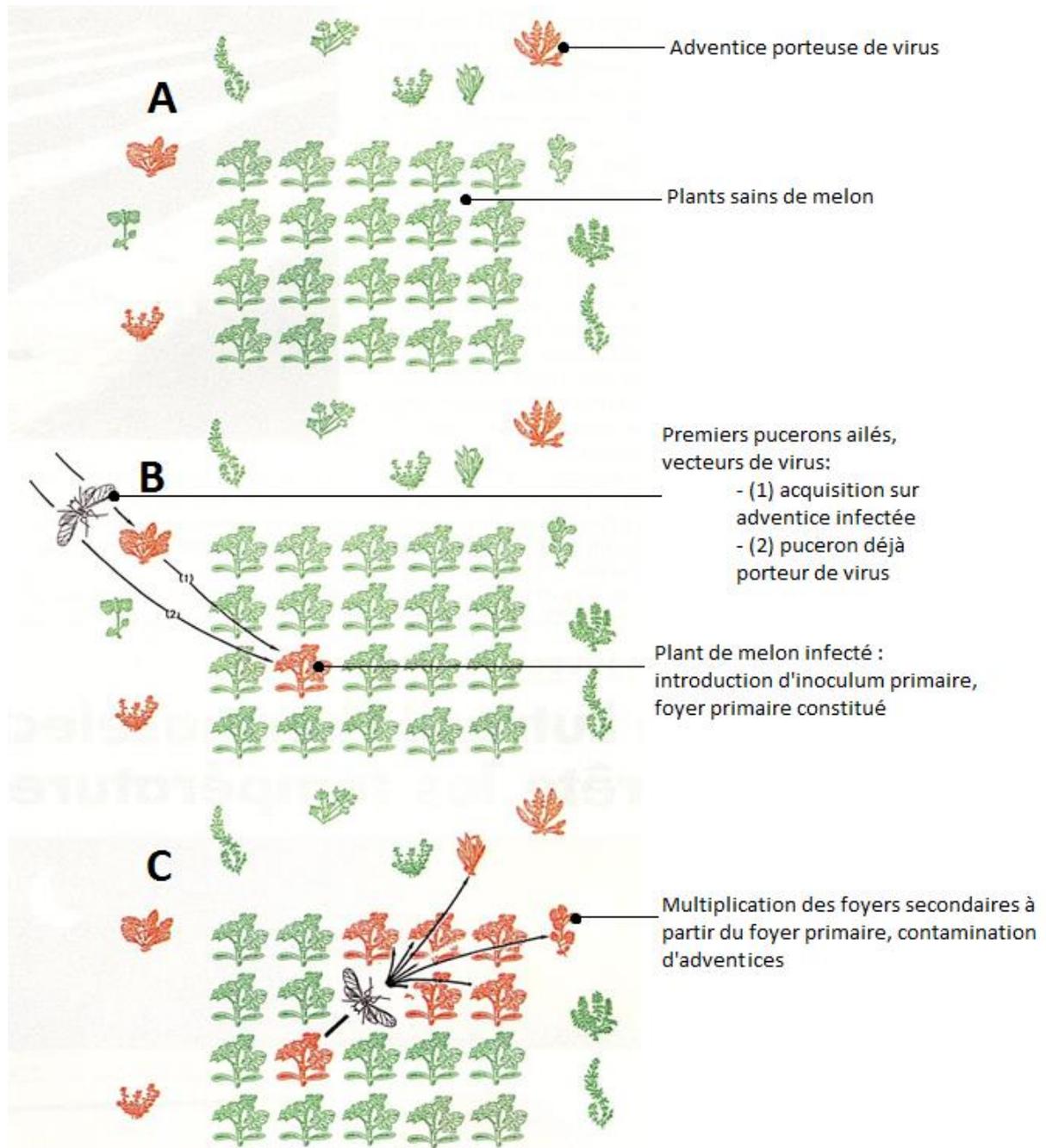
Piège à aspiration

Plantes pièges

BF



Annexe 5 : Schéma du développement d'une épidémie en plein champ, d'un phytovirus transporté par puceron (Astier, 2001).



- ❖ Dépôt des anticorps (IgG) spécifiques d'un virus.

Adsorption des anticorps spécifiques au fond des puits

Rinçage de la plaque à l'eau puis au PBS tween.

- ❖ Dépôt de l'extrait de plante à tester.

Formation du complexe virus-anticorps, si la plante est infectée.

Rinçage de la plaque à l'eau puis au PBS tween.

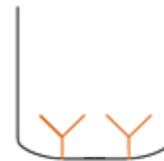
- ❖ Addition du conjugué composé d'anticorps spécifiques couplés à la phosphatase alcaline.

Fixation du conjugué sur le virus s'il est présent.

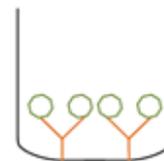
Rinçage de la plaque à l'eau puis au PBS tween.

- ❖ Addition du substrat de l'enzyme.

Hydrolyse du substrat donnant une couleur jaune mesurée à 405nm



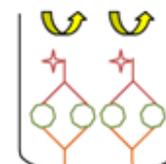
Incubation 3h30 à 37°C



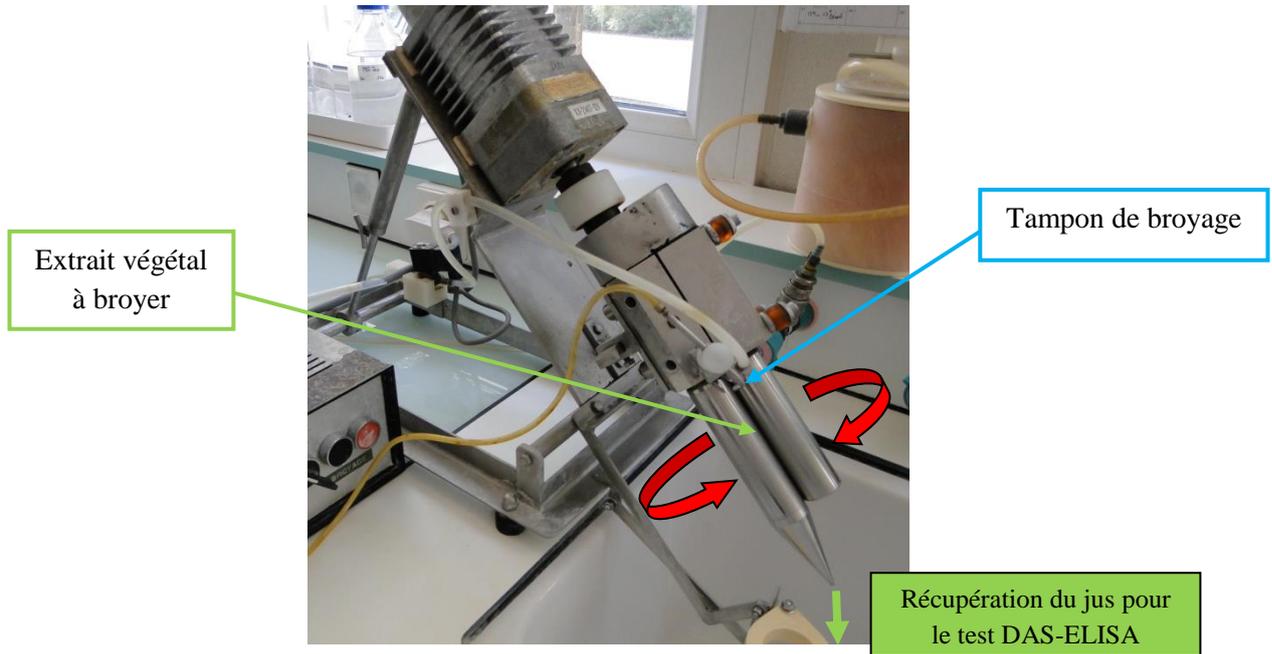
Incubation une nuit à 4°C.



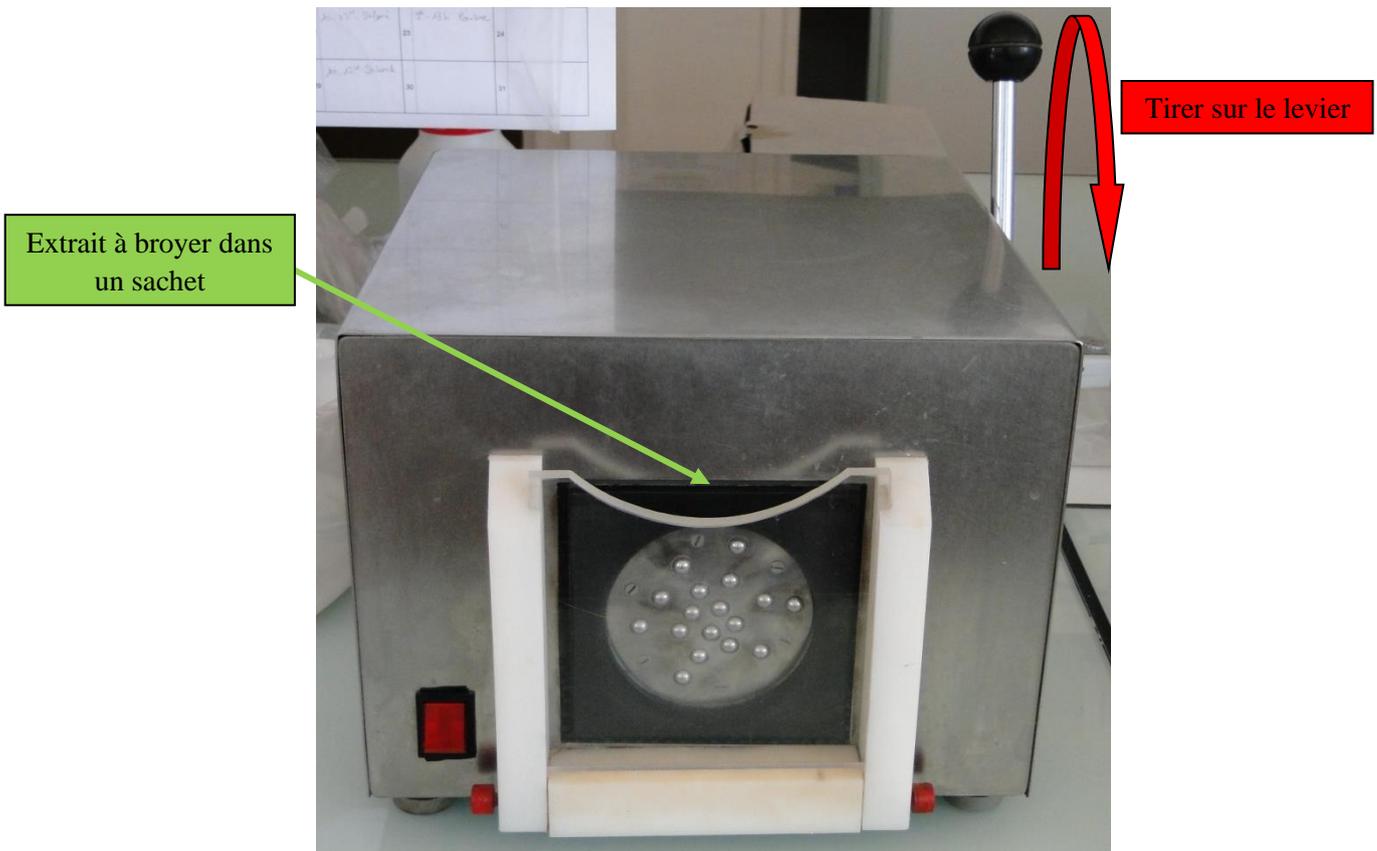
Incubation 3h à 37°C



Annexe 7 : Photographies des broyeurs à rouleaux et à billes (sources personnelles)



Broyeur à rouleaux (conception INRA)



Broyeur à billes

Annexe 8 : Tableaux de la composition des tampons nécessaires au test DAS-ELISA et des dilutions des anticorps pour le test DAS-ELISA (INRA)

Tableau de la composition des tampons nécessaires au test DAS-ELISA

	PBS 1	PBS 20	
H ₂ O distillée	q. s. p1 litre	qsp 5 litre	
NaCl	8 g	800 g	
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	2,9 g	290 g	
KH ₂ PO ₄	0,2 g	20 g	
KCl	0,2 g	20 g	
TAMPON DE RINCAGE PBS TWEEN	PBS 1 TWEEN 20	q. s. p 1 litre 0,5 ml	pH 7,4
TAMPON DE DILUTION DES IgG	H ₂ O distillée Na ₂ CO ₃ NaHCO ₃	q. s. p 1 litre 1,6 g 3 g	pH 9,6
TAMPON DE DILUTION DU CONJUGUE	PVP OVALBUMINE NaN ₃ PBS TWEEN	20 g 2g 0.2g ajuster à 1 litre	pH 7,1 - 7,3
TAMPON SUBSTRAT	H ₂ O distillée DIETHANOLAMINE	800 ml 97 ml	amener à pH 9,8 avec HCl fumant. Ajuster à 1 litre

Tableau de dilution des anticorps pour le test DAS-ELISA

Virus	CABYV	CMV	WMV	ZYMV
IgG	1/1000	1/2000	1/1000	1/1000
Conjugué	1/2500	1/4000	1/2000	1/4000

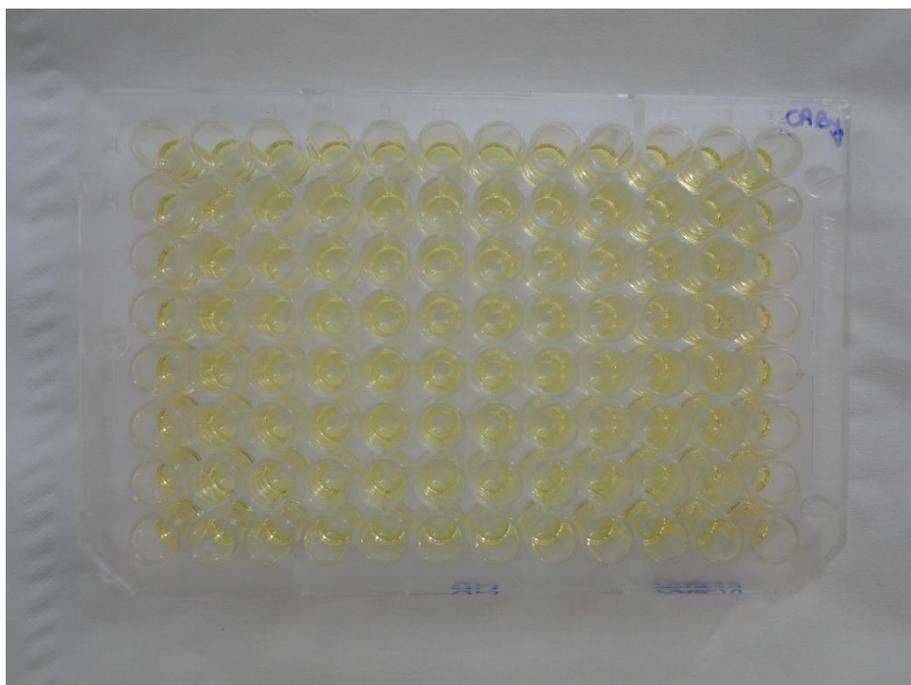
Annexe 9 : Exemple d'un plan de plaque de test DAS-ELISA et photographie d'une plaque ELISA (sources personnelles)

Plaque: CABYV1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		TS	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
B	T	TS	3	7	11	15	19	23	27	31	35	39
C	A	TM	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
D	M	TM	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
E	P	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41
F	O	1	5	9	13	17	21	25	29	33	37	41
G	N	2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42
H		2	6	10	14	18	22	26	30	34	38	42

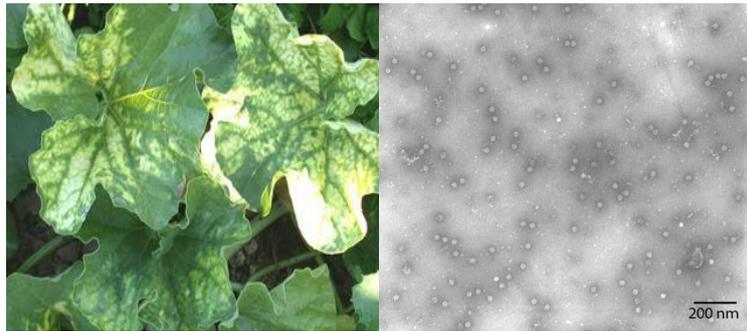
TS : Témoin Sain TM : Témoin Malade

Plan de plaque de test DAS-ELISA



Photographie d'une plaque ELISA

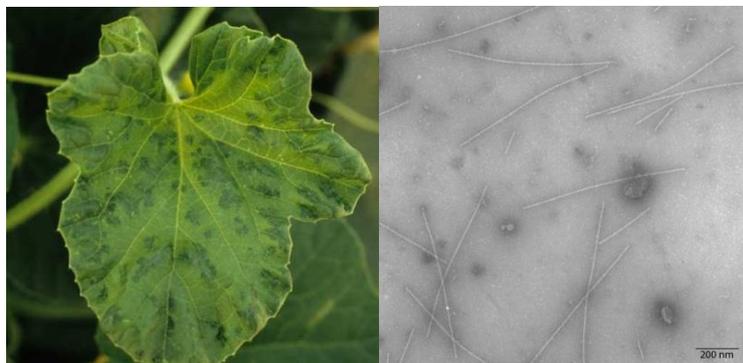
Annexe 10 : Photographies de symptômes de CABYV sur feuilles âgées de melon (INRA) et particules virales de CABYV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard)



Annexe 11 : Photographie de symptômes de CMV sur jeunes feuilles de melon (R. Vœux) et particules virales de CMV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard)



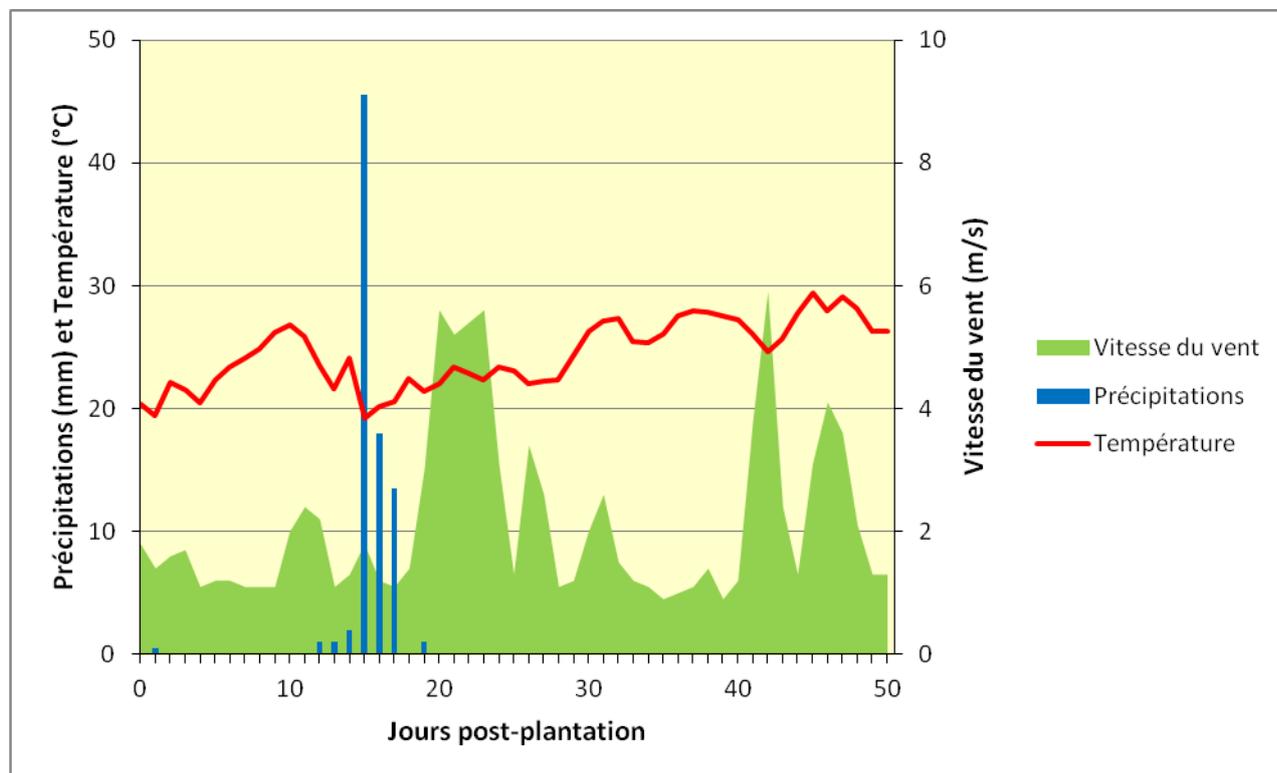
Annexe 12 : Photographie de symptômes de WMV sur feuilles de melon (INRA) et particules virales de WMV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard)



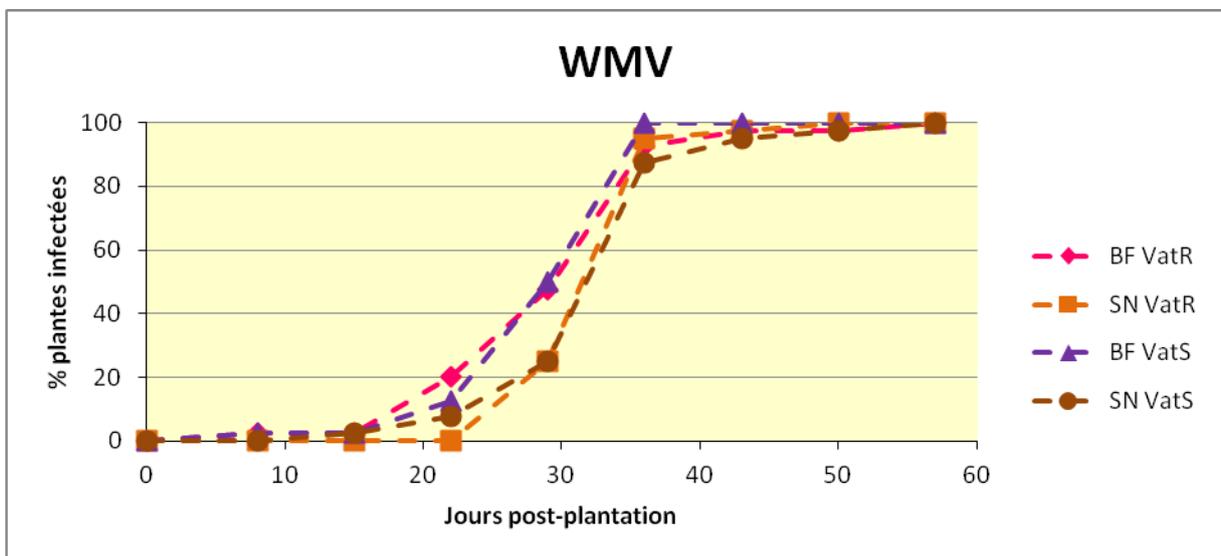
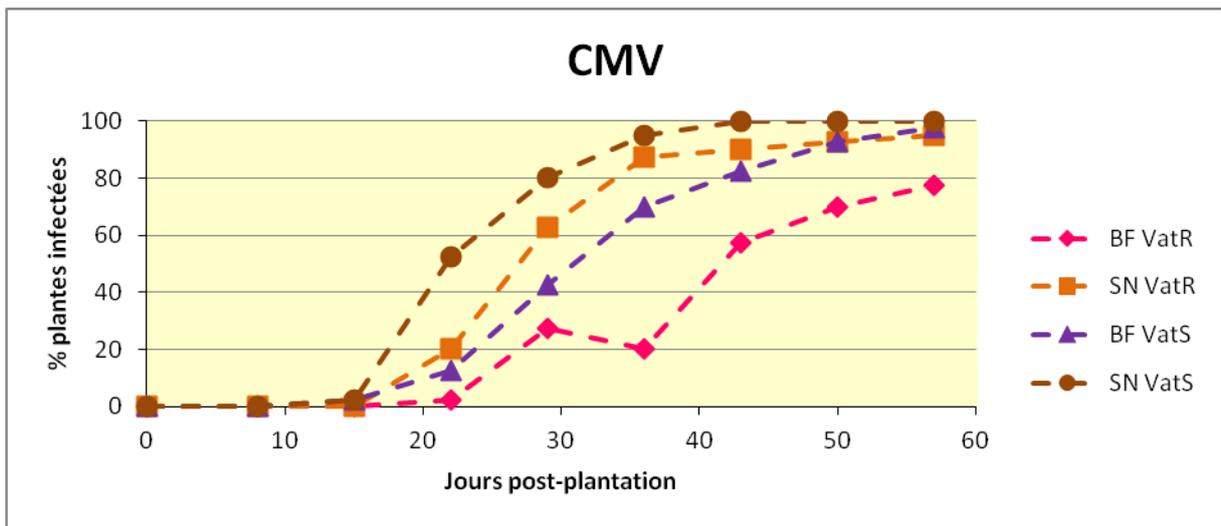
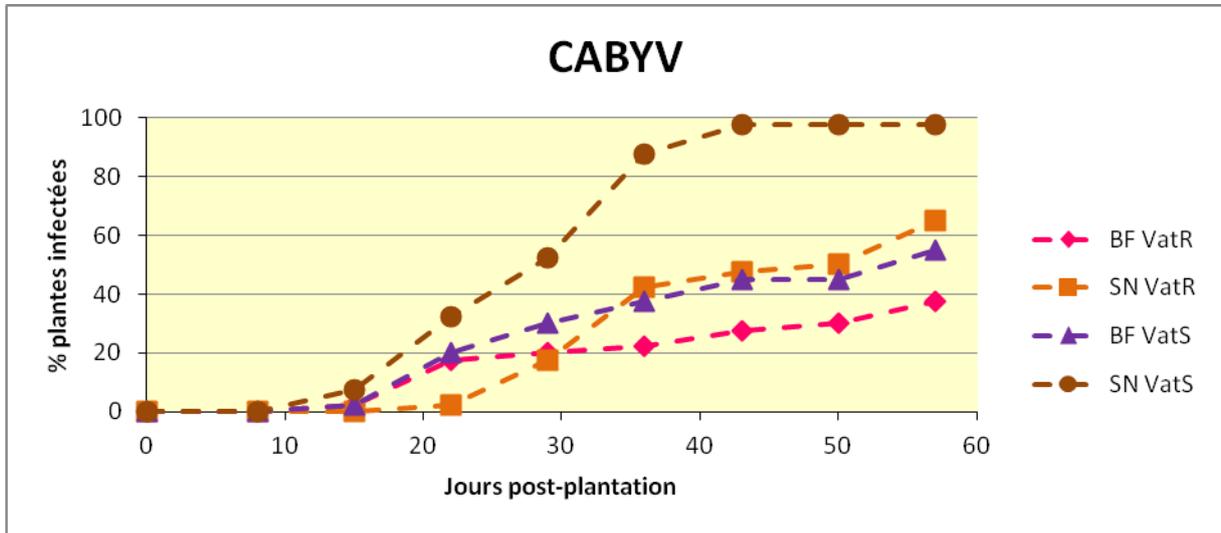
Annexe 13 : Photographie de symptômes de ZYMV sur feuilles de melon (INRA) et particules virales de ZYMV observées au microscope électronique à transmission (I. Bornard)



Annexe 14 : Graphique présentant les conditions météorologiques de la parcelle au cours de l'essai Parcel-R 2015



Annexe 15 : Progression des épidémies virales dans la parcelle en fonction des différentes modalités et des différents virus



Résumé

Le melon est un légume très apprécié par les français durant l'été. Mais la culture des melons en France rencontre certains problèmes. En effet, le melon est sensible aux attaques de nombreux pathogènes et ravageurs. Parmi ces ravageurs, il y a les pucerons. Ils peuvent causer des dégâts directs et indirects sur les cultures de melon, notamment par le transfert de virus. Les méthodes de lutte contre les virus consistent à limiter son invasion sur les cultures. Le gène *Vat* confère une résistance à la colonisation par *A. gossypii* et aux virus lorsqu'ils sont transmis par celui-ci. Pour augmenter la durabilité et l'efficacité du gène *Vat*, et limiter les épidémies virales, il est important de limiter la pression en pucerons et en inoculum viral par des pratiques culturales appropriées, comme l'utilisation de bandes fleuries. Dans l'essai Parcel-R 2015, nous avons étudié l'effet de deux aménagements parcellaires différents (bandes fleuries et sol nu) dans une culture de melon sur le nombre de pucerons dans la parcelle et le développement des épidémies virales des principaux virus qui touchent le melon (CABYV, CMV, WMV, ZYMV). Pour cela, des plantes pièges ont été exposées et renouvelées régulièrement afin d'étudier les inocula viraux, des pièges à aspiration ont assuré la capture de pucerons ailés, et des suivis épidémiologiques sur la parcelle ont permis de suivre l'évolution des épidémies virales. Il semblerait que les bandes fleuries retardent et diminuent les infections par le CABYV et le CMV, mais ce n'est pas le cas pour le WMV. Ainsi, l'effet des bandes fleuries sur les épidémies apparaît limité, mais en combinant l'aménagement parcellaire avec d'autres méthodes de lutte, nous pouvons espérer renforcer leur efficacité. Il serait intéressant d'étudier s'il existe un lien entre un virus et une espèce de puceron afin de pouvoir mettre en place des méthodes de lutte plus précises.

Mots-clefs : épidémie virale, inoculum, melon, méthodes de lutte, pucerons

Abstract

Melon is a well appreciated vegetable by the French during summer. But melon crops in France encounter phytosanitary problems caused by many pathogens and pests, including aphids. Aphids can cause direct damages and indirect damages through virus transmission. Control methods of viruses consist in limiting their introduction and dissemination in the crops. To limit viral epidemics, it is important to decrease the aphids and viral inoculum pressure by appropriated cultural practices, such as the use of flower strips. In Parcel-R 2015 assay, we studied the effect of two different crop border management (flower strips and bare soil) on the viral inoculum and epidemic development of the main melon viruses (CABYV, CMV, WMV, ZYMV). To do this, trap plants have been exposed and renewed regularly to study viral inocula, suction traps ensured the capture of winged aphids, and epidemiological monitoring on the parcel enabled to follow viral epidemic evolution. Flower strips seem to delay and reduce infections by CABYV or CMV, but not for WMV. By constast, the effect of flower strips on epidemics appeared restricted, but by combining crop borders with other control methods, we may enhance their efficiency. It would be interesting to study whether there is a link between a virus and an aphid species in order to establish more precise control methods.

Keywords: aphids, control methods, inoculum, melon crop, viral epidemic