



HAL
open science

Etude de la durabilité de la résistance conférée par Vat chez le melon

Vanina Monteil

► **To cite this version:**

Vanina Monteil. Etude de la durabilité de la résistance conférée par Vat chez le melon. [Stage] Autres régions du monde. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (UAPV), FRA. 2013, 42 p. hal-02811534

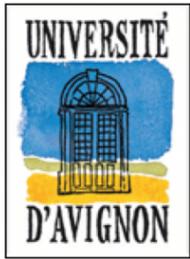
HAL Id: hal-02811534

<https://hal.inrae.fr/hal-02811534>

Submitted on 6 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.



Vanina MONTEIL

Master 1 GQPV *Phytoprotection* 2012-2013
Université d'Avignon et des pays du Vaucluse
UFR Sciences exactes – Pôle Agrosiences



Etude de la durabilité de la résistance conférée par *Vat* chez le melon

08 Avril – 31 août 2013

Maître de stage : **Mr Hervé Lecoq**

INRA Avignon – Domaine st Maurice

Unité de Pathologie Végétale
Equipe de Virologie



REMERCIEMENTS

Mes premiers remerciements s'adressent à Cindy Morris responsable de l'unité INRA pour m'avoir accepté en tant que stagiaire dans cet organisme.

Un grand merci à Hervé Lecoq, pour m'avoir pris en tant que stagiaire et de m'avoir permis de travailler avec son équipe de virologie, pour la confiance qu'il a accordée dans mon travail ainsi que pour son appui lors de la réalisation de ce rapport.

Je remercie particulièrement, Catherine Rys pour m'avoir accompagné tout au long de ce stage, pour sa patience et le temps qu'elle m'a consacré. Sa constante bonne humeur et son soutien m'ont vraiment permis de m'adapter rapidement. Mais également à Pauline Millot, pour son aide précieuse et pour les nombreuses séances de rire.

Un grand merci à Elsa Rousseau pour son aide. Jonathan Gaudin, collègue de bureau pour son soutien, sa bonne humeur et ses sifflements perpétuels.

D'une manière générale, je souhaite à travers ces quelques mots remercier toute l'équipe de la virologie, pour leur accueil et pour l'attention qu'ils m'ont accordés. J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler avec toutes ces personnes. Ces quelques mois passés en leur compagnie furent très agréables et très enrichissants.

RESUME

La réussite des cultures de cucurbitacées est souvent menacée par les virus tels que le CMV, le CABYV, le ZYMV et le WMV. Il y a quelques années, une résistance à la transmission de ces virus par le puceron *Aphis gossypii* et au puceron lui-même associée au gène *Vat* a été mise en évidence. Mais des contournements de ce gène sont à craindre en raison de la forte pression de sélection exercée par les variétés de melon résistant. Cette année, deux essais aux champs ont été implantés à Montfavet et à Moissac afin de déterminer l'incidence du gène *Vat* sur la dissémination des virus et d'étudier l'influence de pratiques culturales sur la résistance. Une efficacité partielle du gène *Vat* a été observée pour le CABYV, laissant supposer que le vecteur principal de ce virus est *A. gossypii*. Ces résultats confirment les études antérieures. Cependant, l'essai au champ n'a pas permis de mettre en évidence une efficacité nette de la bande enherbée ou de la bande fleurie comme protection de culture contre les virus.

Mots clés : Cucurbitacées, melon, gène *Vat*, résistance, puceron, *Aphis gossypii*, virus, CABYV, CMV, WMV, ZYMV.

ABSTRACT

The success of cucurbits crops is often threatened by viruses such as CMV, CABYV, ZYMV and WMV. A few years ago, a specific resistance transmission of these viruses by the aphid *Aphis gossypii* and the aphid itself associated to *Vat* gene has been discovered. But breakdowns of this gene are worrying because of the strong selection pressure applied by melon varieties resistant. This year, two field trials were settled at Montfavet and at Moissac to determine the impact of *Vat* gene on the spread viruses and to study the influence of cultural practices on resistance. The partial efficiency of *Vat* gene was observed for CABYV, suggesting that the main vector of this virus is *A. gossypii*. These results are consistent with previous studies. However, the field trial failed to demonstrate a clear efficiency of grass or flowers strips as crop protection against the viruses.

Key words : Cucurbits, melon, *Vat* gene, resistance, aphid, *Aphis gossypii*, virus, CABYV, CMV, WMV, ZYMV.

SOMMAIRE

<u>Introduction</u>	1
I. Présentation de l'INRA.....	1
II. Contexte de l'étude.....	1
1. <i>Importance de la culture du melon</i>	1
2. <i>Les pucerons, d'importants ravageurs des cultures</i>	1
3. <i>Les pucerons, de redoutables vecteurs de virus</i>	2
4. <i>Les principaux virus du melon</i>	3
a. <i>Cucumber mosaic virus</i>	3
b. <i>Watermelon mosaic virus</i>	3
c. <i>Zucchini yellow mosaic virus</i>	4
d. <i>Cucurbit aphid-borne yellows virus</i>	4
5. <i>La lutte contre les virus</i>	5
a. <i>La lutte écologique</i>	5
b. <i>La lutte chimique</i>	5
c. <i>La lutte génétique</i>	5
III. Objectifs de l'étude expérimentale.....	6
<u>Matériel & méthodes</u>	7
I. Dispositif expérimental.....	7
1. <i>Lieu d'implantation</i>	7
2. <i>Dispositif expérimental</i>	7
3. <i>Matériel végétal</i>	7
II. Méthodes d'échantillonnage.....	8
III. Méthode de détection : Le test ELISA.....	9
<u>Résultats</u>	10
I. Progression des épidémies virales dans les parcelles en 2013.....	10
II. Efficacité du gène <i>Vat</i> sur le développement des épidémies virales.....	11
III. Comparaison de l'effet des bandes enherbées, fleuries et du sol nu sur le développement des épidémies virales.....	12
<u>Discussion</u>	13
<u>Conclusion</u>	16
<u>Bibliographie</u>	
<u>Annexes</u>	

LISTE DES ABREVIATIONS

BE : Bande enherbée

BF : Bande fleurie

CABYV : Cucurbit aphid-borne yellows virus, Polerovirus

CEFEL : Centre d'Expérimentation Fruits et Légumes

CMV : Cucumber mosaic virus, Cucumovirus

DAS : Double antibody sandwich

DIECA : Diéthylthiocarbamate

DO : Densité optique

ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

IgG : Immunoglobuline G

PBS : Phosphate buffered saline

PNPP : Paranitrophénylphosphate

SN : Sol nu

Vat : Virus aphid transmission

Vat S : Variété ne possédant pas le gène *Vat*

Vat R : Variété possédant le gène *Vat*

WMV : Watermelon mosaic virus, Potyvirus

ZYMV : Zucchini yellow mosaic virus, Potyvirus

LISTE DES ILLUSTRATIONS

➤ Liste des figures

Figure 1 : Principales zones de production de melon en France.

Figure 2 : Fruit de melon (variété de type Charentais).

Figure 3 : Campagne de production de melon en 2013.

Figure 4 : Représentation schématique du comportement d'un puceron lors d'un vol de prospection.

Figure 5 : Représentation schématique de la transmission d'un virus par puceron lors de son alimentation a) Piqûre d'essai : transmission de virus selon le mode non-persistant. b) Piqûre d'alimentation : transmission de virus selon le mode persistant.

Figure 6 : A gauche : particules de CMV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de mosaïque sur feuille de melon.

Figure 7 : A gauche : particules de WMV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de mosaïque sur feuille de melon.

Figure 8 : A gauche : particules de ZYMV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de mosaïque sur feuille de melon.

Figure 9 : A gauche : particules de CABYV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de jaunissement sur feuille âgée de melon.

Figure 10 : Représentation schématique de la transmission de virus par l'intermédiaire d'un puceron sur une culture de melon.

Figure 11 : Représentation schématique du déchargement du potentiel virulifère d'un puceron sur des plantes secondaires non hôte du virus près d'une parcelle de melon.

Figure 12 : A gauche : localisation géographique des essais en plein champ. A droite : lieu d'implantation de la parcelle sur le domaine expérimental de St Paul de l'INRA à Montfavet.

Figure 13 : Présentation du dispositif expérimental 2013, indiquant l'emplacement des trois types d'aménagements parcellaire (sol nu, bande enherbée et bande fleurie) et la disposition des modalités *Vat R* (variété résistante) et *Vat S* (variété sensible).

Figure 14 : Plan d'échantillonnage des trois aménagements parcellaire. Les cases numérotées correspondent aux plantes prélevées et les parties noires représentent les pertes occasionnées par le mistral.

Figure 15 : Principe du test DAS-ELISA.

Figure 16 : Comparaison du développement des épidémies virales sur les différents traitements (SN, BE, BF) et pour les deux variétés *Vat S* et *Vat R*.

Figure 17 : Comparaison de deux variétés *Vat S* et *Vat R* pour chacun des virus (CABYV, CMV, WMV) et sur les trois traitements (SN, BE, BF).

Figure 18 : Comparaison des traitements « bandes » (SN, BE, BF) pour chacun des virus (CABYV, CMV, WMV) et pour les deux variétés *Vat S* et *Vat R*.

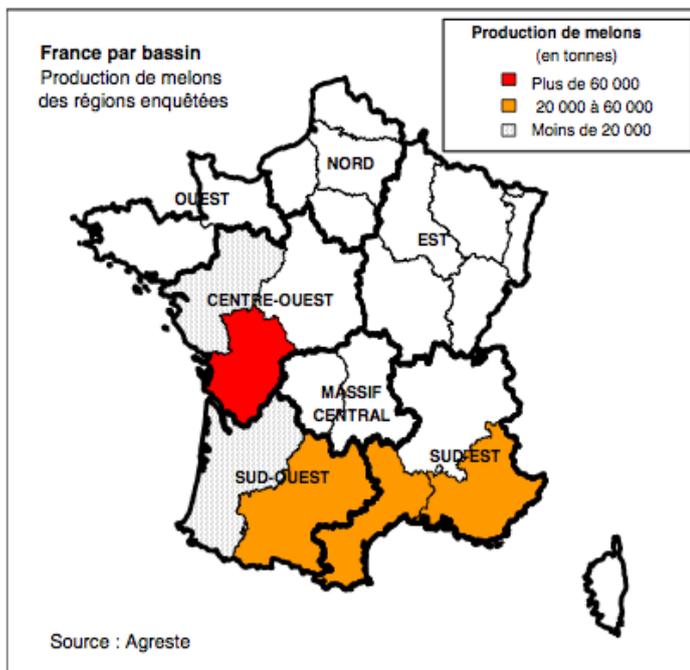


Figure 1 : Principales zones de production de melon en France (Source : Agreste).

Figure 2 : Fruit de melon (variété Charentais) (Source : INRA)

Campagne de production 2013 (janvier à décembre)

Unités : surface : ha production : t

Estimations au 01-Jul-2013		Centre Ouest	Sud Ouest	Sud Est	Autres bassins	France
Surface	Serre	26	40	637	19	722
	Abri bas	2 970	798	3 431	22	7 221
	Plein air	2 218	2 664	1 670	20	6 572
	Total surfaces	5 214	3 502	5 738	61	14 515
	<i>Evol 1 an</i>	-2%	-6%	1%	///	-2%
<i>Evol 5 ans</i>	-1%	-10%	2%	///	-2%	
Production	Total production	89 030	67 421	114 663	1 199	272 313
	<i>Evol 1 an</i>	5%	-16%	-6%	///	-5%
	<i>Evol 5 ans</i>	-1%	-6%	-2%	///	-3%

Source : Agreste

Figure 3 : Campagne de production de melon en 2013 (Source : Agreste).



INTRODUCTION

I. Présentation de l'INRA

L'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) a été fondé en 1946 dans un contexte de modernisation de l'agriculture française d'après-guerre. C'est un organisme public de recherche scientifique placé sous la tutelle du ministère délégué à l'Enseignement Supérieur et à la Recherche et du ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt. L'INRA est actuellement le premier institut de recherche agronomique européen et le deuxième à l'échelle mondiale. Que ce soit au niveau de l'agriculture, de l'agroalimentaire ou de l'environnement, cet organisme a pour principales missions de produire et diffuser des connaissances dans ces domaines (INRA, 2013). La Station de Pathologie Végétale de l'INRA à Montfavet étudie principalement les parasites des cultures maraîchères : virus, bactéries et champignons. L'équipe dans laquelle j'ai réalisé mon stage travaille plus particulièrement sur les virus des Cucurbitacées.

II. Contexte de l'étude

1. Importance de la culture du melon

Plusieurs Cucurbitacées cultivées ont une importance économique à l'échelle mondiale, tels le melon (figure 1), la pastèque, le concombre et la courge alors que d'autres espèces n'ont qu'un intérêt local (Whitaker & Davis, 1962). Le genre *Cucumis* regroupe principalement le melon (*C. melo*) (figure 2) et le concombre (*C. sativus*) qui sont deux espèces largement cultivées.

En France, la culture du melon se fait principalement pour son fruit et ses atouts nutritionnels. En 2013 la superficie totale représentait 14 515 ha dont la moitié cultivée sous abris. Les cultures précoces sont localisées essentiellement dans le Sud-Est de la France du fait de leur exigence thermique, mais on trouve également des cultures plus tardives dans l'Ouest (Agreste, 2013 ; Guérineau, 1998). La production totale était de 272 313 t en 2013 (figure 3), plaçant ainsi la France au 13ème rang mondial.

2. Les pucerons, d'importants ravageurs des cultures

Les pucerons sont des hémiptères, qui constituent la super-famille des Aphidoidea. Dans le monde, on dénombre pas loin de 4700 espèces de pucerons et environ 600 en France parmi lesquelles, 250 sont connues pour être des ravageurs des cultures ayant parfois un fort impact

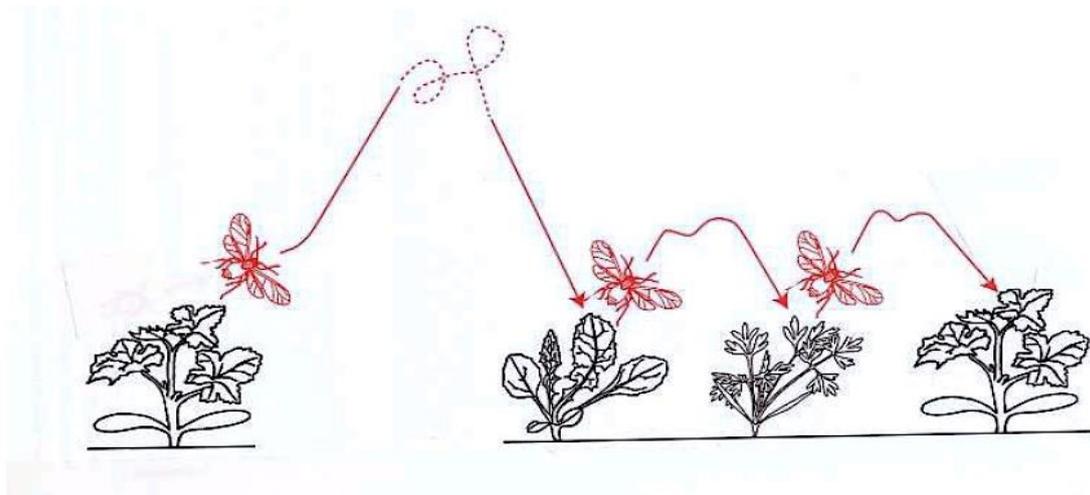


Figure 4 : Représentation schématique du comportement d'un puceron lors d'un vol de prospection (Astier & *al.*, 2001).

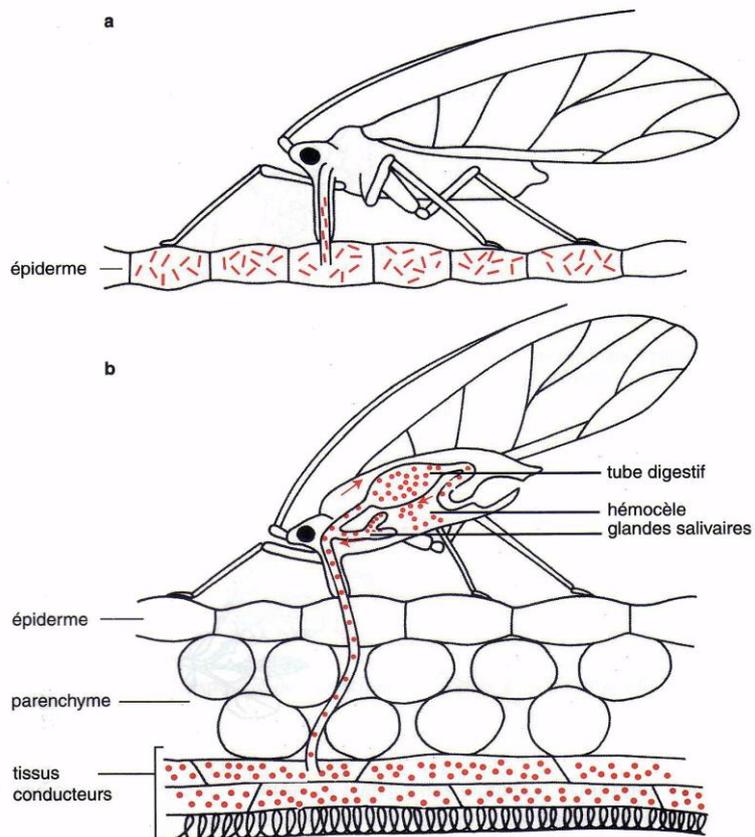


Figure 5 : Représentation schématique de la transmission d'un virus par puceron lors de son alimentation

- a) Piqûre d'essai : transmission de virus selon le mode non-persistants
- b) Piqûre d'alimentation : transmission de virus selon le mode persistant

(Astier & *al.*, 2001)



économique. On peut citer comme exemple *Aphis gossypii* qui est une espèce cosmopolite et polyphage. On la rencontre dans toutes les régions tempérées, subtropicales et tropicales. Ce puceron s'attaque à un grand nombre de cultures, mais il a cependant une prédilection pour les Cucurbitacées, les Malvacées et les Rutacées. Cette espèce peut être à l'origine de nombreux dégâts provoqués d'une part par leurs piqûres d'alimentation et les sécrétions de miellat, et d'autre part par les virus qu'ils transmettent. Ces dommages chez le melon peuvent même aller jusqu'à la destruction quasi-totale de la culture.

3. Les pucerons, de redoutables vecteurs de virus

Les principaux virus du melon présents en France sont transmis par plusieurs espèces de pucerons dont *A. gossypii* qui est le principal puceron se développant sur les Cucurbitacées (Lecoq & al., 1982 ; Desbiez & Lecoq, 1997). Les pucerons sont des organismes mobiles qui sont capables, en utilisant leurs pièces buccales (les stylets), de percer la paroi pecto-cellulosique et de pénétrer dans les cellules sans les tuer. Cela leur permet ainsi d'être des « vecteurs » de virus, c'est-à-dire d'être capables de prélever un virus sur une plante infectée et de le transmettre à une plante saine. Ce sont leurs caractéristiques biologiques et morphologiques telles que leur mode d'alimentation et de recherche de plantes hôtes ou leur cycle biologique complexe qui leur confèrent d'étonnantes capacités vectrices (Astier & al., 2001). Les pucerons sont des insectes phytophages qui ont une alimentation phloémienne, ils se nourrissent donc de la sève élaborée des plantes. Ces insectes sont incapables d'identifier directement leur plante hôte à distance. Ils se servent par conséquent des couleurs ou des contrastes (feuillage/sol) et peut être aussi de molécules volatiles émises par les plantes par lesquelles ils sont attirés pour discerner les hôtes potentiels. Une fois posés, ils effectuent des piqûres d'essai leur permettant de « goûter » la plante pour déterminer si celle-ci leur convient comme hôte (figure 4). Ces piqûres sont brèves, souvent répétées et superficielles. Ce comportement est favorable à l'acquisition ou à la transmission des virus non-persistants (figure 5). Si la plante est un hôte de l'espèce, le puceron s'immobilise et enfonce alors plus profondément ses stylets jusqu'au phloème pour s'y nourrir. C'est au cours de ces piqûres nutritionnelles que l'hémiptère va acquérir ou transmettre les virus transmis selon le mode persistant. Les pucerons ont un fort potentiel de multiplication mais également de dissémination. Une caractéristique remarquable est leur polymorphisme qui est une alternance de formes ailées et de formes aptères avec des temps de génération très courts.

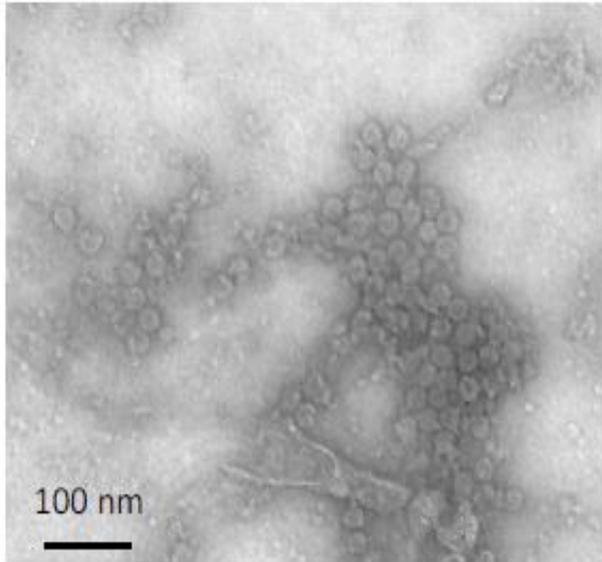


Figure 6 : A gauche : particules de CMV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de mosaïque sur feuille de melon (photographies INRA).

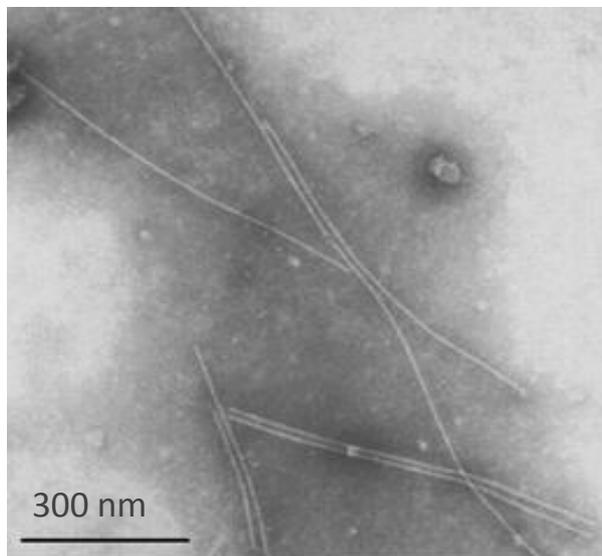


Figure 7 : A gauche : particules de WMV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de mosaïque sur feuille de melon (Photographies INRA).



4. Les principaux virus du melon

Les virus de plantes sont des parasites obligatoires, qui ne peuvent survivre en dehors d'une cellule vivante. Ils se multiplient donc uniquement sur des plantes hôtes (Lecoq, 1992). Leur présence dans une plante peut perturber les processus physiologiques des cellules et des tissus, pouvant nuire à son développement et au rendement de la culture. Les maladies à virus font partie chaque année des menaces les plus préoccupantes pesant sur la réussite des cultures de melon en France. En effet, les maladies virales sont incurables, une plante infectée par un virus le restera toute sa vie.

a. Cucumber mosaic virus

Le cucumber mosaic virus (CMV, Virus de la mosaïque de concombre) est un cucumovirus (particules de symétrie icosaédrique d'environ 29nm de diamètre) transmis par une soixantaine d'espèces de pucerons selon le mode non-persistant (Lecoq, 2003a). Il est probablement le virus le plus commun des cultures maraîchères dans le monde, particulièrement dans les régions tempérées. Le CMV possède une large gamme d'hôtes, et peut infecter plus de 1000 espèces et en particulier les cultures maraichères, fruitières et les plantes adventices. Plus les contaminations par le CMV sont précoces, plus les pertes seront importantes. Les symptômes décrits sont des réductions de croissance et des mosaïques (figure 6). Les feuilles peuvent présenter une réduction de leur surface et des déformations. Sur fruits, on peut observer des décolorations mais le virus peut également causer de légères déformations qui pourraient nuire à la commercialisation du melon.

b. Watermelon mosaic virus

Le watermelon mosaic virus (WMV, Virus de la mosaïque de la pastèque) est un potyvirus (particules flexueuses d'environ 750 nm de long), qui est transmis par 35 espèces de pucerons selon le mode non-persistant (Purcifull & al., 1984). Ce virus possède une distribution mondiale sauf dans les régions tropicales et sub-tropicales. Il a été décrit pour la première fois en France en 1974. Il fait partie des virus les plus fréquemment rencontrés chez les Cucurbitacées. Les premiers symptômes s'expriment chez le melon sous forme d'un vein banding suivi d'une mosaïque, parfois très déformante (Lecoq & Desbiez, 2008) (figure 7). Ce virus a une gamme d'hôtes assez large et de nombreuses adventices peuvent servir de réservoir durant la saison hivernale. Ces dernières permettent au virus de passer l'hiver en l'absence de culture de Cucurbitacées et de devenir sources de nouvelles épidémies au printemps (Lecoq, 2003a).

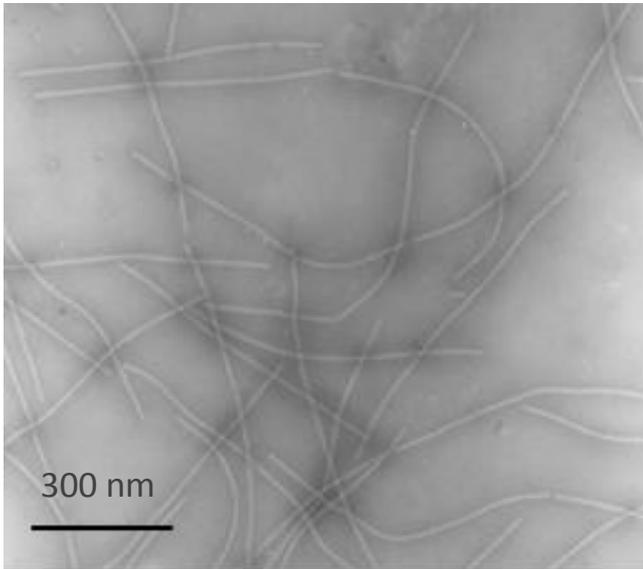


Figure 8 : A gauche : particules de ZYMV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de mosaïque sur feuille de melon (Photographies INRA).

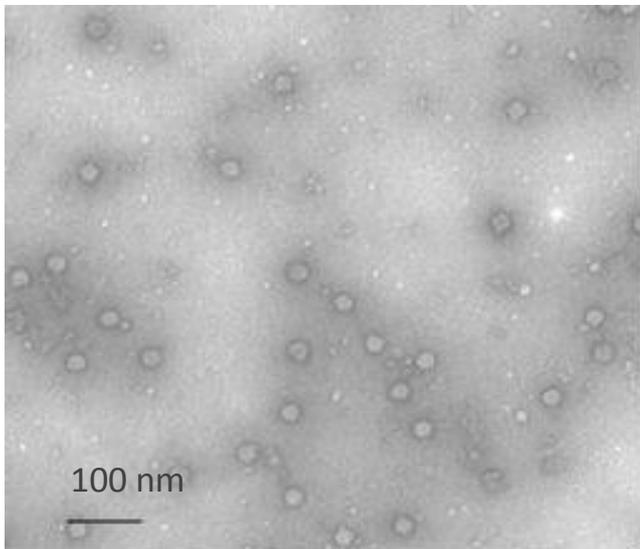


Figure 9 : A gauche : particules de CABYV observées au microscope électronique à transmission. A droite : symptôme de jaunissement sur feuille âgée de melon (Photographies INRA).



c. Zucchini yellow mosaic virus

Le zucchini yellow mosaic virus (ZYMV, virus de la mosaïque jaune de la courgette) est un potyvirus (particules flexueuses d'environ 750 nm de long) transmis par environ 26 espèces de pucerons selon le mode non-persistant. Ce virus signalé pour la première fois dans les années 80 en Italie et en France, s'est répandu en quelques années dans le monde entier provoquant des dégâts considérables. C'est un des exemples les plus caractéristiques de virus émergent chez les plantes. Aujourd'hui, ses épidémies en France sont irrégulières, mais peuvent être graves dans les bassins de production du Sud-Est et du Sud-Ouest. De nombreuses souches de ZYMV ont été décrites dans la bibliographie, qui induisent des symptômes plus ou moins prononcés. Cependant, ses manifestations restent très fortes et très caractéristiques. Les premiers symptômes décrits chez le melon sont un éclaircissement des nervures, un jaunissement des feuilles, des mosaïques déformantes et un arrêt de croissance. Un raccourcissement des entre-nœuds est observé et des cloques vertes peuvent être également présentes sur le feuillage (Lecoq & Desbiez., 2008) (figure 8).

d. Cucurbit aphid borne yellows virus

Le cucurbit aphid-borne yellows virus (CABYV, virus de la jaunisse de Cucurbitacées) est un polerovirus (particules de symétrie icosaédrique d'environ 25 nm de diamètre) transmis par les pucerons selon le mode persistant, lors de piqûres d'alimentation profondes (Lecoq & *al.*, 2012). Seules quelques espèces de pucerons transmettent le CABYV (parmi lesquelles : *A. gossypii*, *Myzus persicae* et *Macrosiphum euphorbiae*) (Lecoq, 2003a). Ce virus a été décrit en France pour la première fois en 1989. Il est maintenant signalé dans la plupart des pays où l'on cultive les Cucurbitacées dans le monde. Le CABYV est le second virus le plus fréquent dans les cultures de Cucurbitacées en France. N'affectant pas la qualité du fruit, l'impact économique de ce virus est faible même si l'on observe le plus souvent de légères réductions de rendement. Les symptômes du CABYV se manifestent généralement par un jaunissement des feuilles âgées qui vont également s'épaissir et devenir cassantes (figure 9). Selon la saison, l'intensité des symptômes peut varier. Le CABYV possède une gamme d'hôtes relativement large dont certaines adventices qui peuvent constituer des réservoirs du virus durant l'hiver.

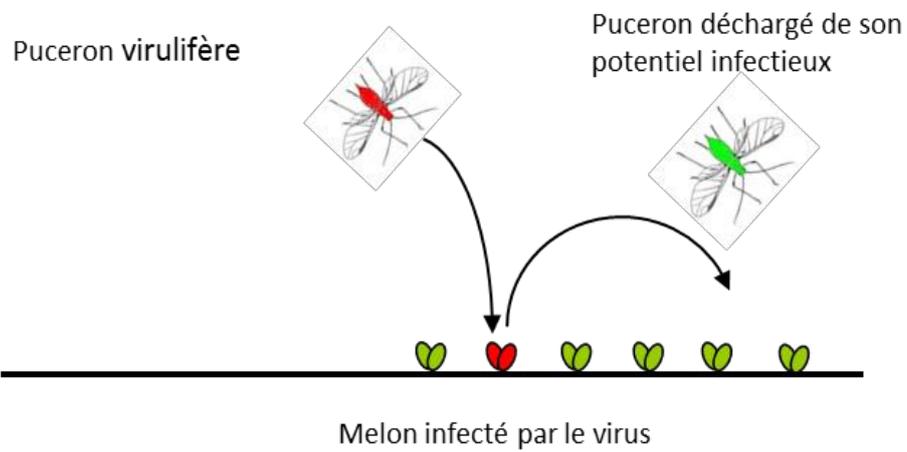


Figure 10 : Représentation schématique de la transmission de virus par l'intermédiaire d'un puceron sur une culture de melon. (Source : A. Schoeny (INRA)).

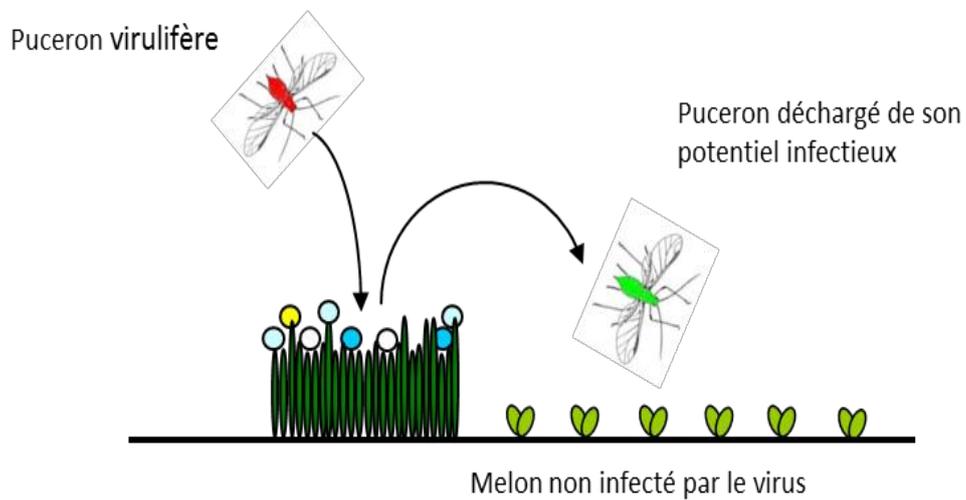


Figure 11 : Représentation schématique du déchargement du potentiel virulifère d'un puceron sur des plantes secondaires non hôte du virus près d'une parcelle de melon (Source : A. Schoeny (INRA)).



5. La lutte contre les virus

a. La lutte écologique

Les pratiques culturales peuvent avoir un effet positif sur la lutte contre les virus en réduisant ou retardant les épidémies virales. Elles constituent le plus souvent, un moyen de lutte respectueux de l'environnement. Pratiquer un désherbage soigneux, modifier les calendriers de plantations, éviter les cultures chevauchantes, utiliser des paillages plastiques ou des voiles non-tissés sont autant de moyens de prévention pouvant éviter ou retarder la contamination d'une plante par un virus.

Un autre moyen alternatif est l'utilisation de plantes secondaires en bordure de culture (Hook & Fereres, 2006). Toutefois, cette pratique n'est pas encore exploitée par les agriculteurs bien qu'elle suscite de nombreuses recherches expérimentales. Elles peuvent servir :

- De « puits à virus ». Autrement dit le puceron peut décharger son potentiel infectieux (virus non-persistants) sur des plantes qui ne sont pas hôtes du virus. (figure 10 & 11)
- De barrière mécanique, empêchant ainsi la colonisation par les pucerons (Fereres, 2000).
- D'habitat naturel à une faune diverse, dont certains auxiliaires qui pourraient ainsi diminuer les populations de pucerons.

b. La lutte chimique

Les traitements insecticides sont généralisés depuis les années 1960 avec la mise sur le marché des organochlorés puis de nombreuses autres familles chimiques. Si ces insecticides ont une certaine efficacité contre les pullulations de pucerons dans les cultures, ils n'empêchent pas la dissémination de virus transmis selon le mode non-persistant. En effet, ces virus sont acquis et transmis au cours de piqûres d'épreuve très brèves (quelques dizaines de secondes) et aucun insecticide n'est aujourd'hui suffisamment foudroyant pour empêcher la transmission. En grande culture et pour les virus transmis selon le mode persistant, les traitements aphicides ont montré leur intérêt pour limiter les épidémies virales. Par contre, chez le melon, les traitements insectides ne se sont pas montrés efficaces pour réduire les épidémies de CABYV (Lecoq, 2003b).

c. La lutte génétique

La résistance génétique s'inscrit dans une démarche écologique, c'est un moyen de lutte efficace et respectueux de l'environnement. Des résistances au CMV, ZYMV et CABYV ont été mises en évidence dans les ressources génétiques du melon, mais elles n'ont pas encore été introduites dans des variétés commerciales. Il y a plus de 30 ans, une résistance à la transmission du CMV



par *A. gossypii* a été observée chez certaines variétés de melon (Lecoq & al., 1979).

Le gène dominant qui contrôle cette résistance est appelé *Vat* (virus aphid transmission) (Pitrat & Lecoq, 1982). Ce gène de résistance est spécifique à l'espèce *A. gossypii* et lui confère trois effets distincts.

- (1) : Une « antibiose » qui diminue la croissance, la longévité et la fécondité d'*Aphis gossypii* par rapport à une variété sensible.
- (2) : Une « antixénose » ou « non-acceptation » qui modifie le comportement de l'insecte vis-à-vis de la plante, qui la quitte au lieu de la coloniser.
- (3) : Une résistance spécifique à la transmission des virus non-persistants (CMV, WMV, ZYMV) par ce puceron (Pitrat & Lecoq, 1982 ; Thomas & al., 2011).

Vat est aujourd'hui présent dans près de 30 variétés de melons cultivées en France, ce qui représenterait plus de 40% des surfaces cultivées (Dogimont & al., 2010). Depuis quelques années, apparaissent de manière localisée des foyers de pucerons capables de contourner la résistance (Thomas, 2011). Il est important de renforcer la durabilité de ce gène de résistance en associant d'autres méthodes à la lutte génétique, dans le cadre d'une lutte intégrée, ce qui pourrait diminuer la pression de sélection exercée par la plante résistante sur les populations aphidiennes.

III. Objectifs de l'étude expérimentale

L'épidémiologie consiste à étudier l'évolution dans le temps et l'espace de la distribution d'une maladie au sein d'une parcelle, mais également d'analyser les facteurs qui influencent son développement. Afin de mettre en place une bonne stratégie de lutte adaptée et efficace, il est donc essentiel de bien connaître l'épidémiologie d'une maladie. Une épidémie est conditionnée par trois facteurs principaux : les sources de virus à proximité de la parcelle cultivée, l'activité des vecteurs et la sensibilité de la plante hôte. Ces facteurs sont eux-mêmes sous l'influence des conditions environnementales physiques et climatiques.

Cette étude a donc eu pour objectifs :

- D'évaluer l'incidence du gène *Vat* sur les épidémies virales dans les cultures de melon.
- De déterminer dans quelle mesure on peut réduire cette pression virale sur les plants de melons par des pratiques culturales adaptées.
- A plus long terme, d'évaluer la durabilité du gène de résistance *Vat* qui dépend directement de la capacité des pucerons à s'adapter aux variétés résistantes.



MATERIEL & METHODES

I. Dispositif expérimental

1. Lieu d'implantation

L'essai Parcel-R est implanté sur une parcelle du domaine expérimental St Paul de l'INRA de Montfavet (Vaucluse). Un réplicat est également mis en place près de la ville de Moissac (Tarn-et-Garonne) dans le domaine expérimental du CEFEL (figure 12).

2. Dispositif expérimental

Le dispositif est placé sur une parcelle d'environ 5000 m². Après une semaine de culture en godets, les melons sont plantés en plein champ ce qui permet le suivi épidémiologique des virus en conditions naturelles. Deux paramètres expérimentaux sont à prendre en compte dans cet essai :

- Le type d'aménagement parcellaire comportant trois modalités : sol nu (SN), bande enherbée (BE) et bande fleurie (BF)
- La présence du gène *Vat* (variété résistante, *Vat* R) ou son absence (variété sensible, *Vat* S).

Les trois modalités « bandes » sont placées en directions Nord-Sud, abritées du mistral provenant du Nord-Ouest par une haie de cyprès. Au milieu de chacune de ces bandes (SN, BE, BF) ont été plantés 16 rangs de 15 plantes, soit 240 melons de variété charentais (*Vat* R) et 240 melons de variété charentais (*Vat* S) qui serviront de témoins sensibles. Les couples de modalités *Vat* S/*Vat* R pour un type d'aménagement donné sont séparés par des zones tampons de 640 plants afin d'éviter les interactions entre les effets des différents aménagements parcellaires (figure 13) (cf annexe 1).

3. Matériel végétal

Les modalités *Vat* R et *Vat* S correspondent plus particulièrement à des lignées quasi-isogéniques de type Charentais possédant ou non le gène *Vat*. Les zones tampons sont constituées de 320 melons de variétés commerciales F1 Felino (possédant le gène *Vat*) et F1 Cisco (dépourvue du gène *Vat*) ayant donc le même niveau de résistance à la colonisation par *A. gossypii* que les modalités expérimentales voisines mais surtout une tolérance à l'oïdium ce qui permet de réduire

VERGERS A L'EST

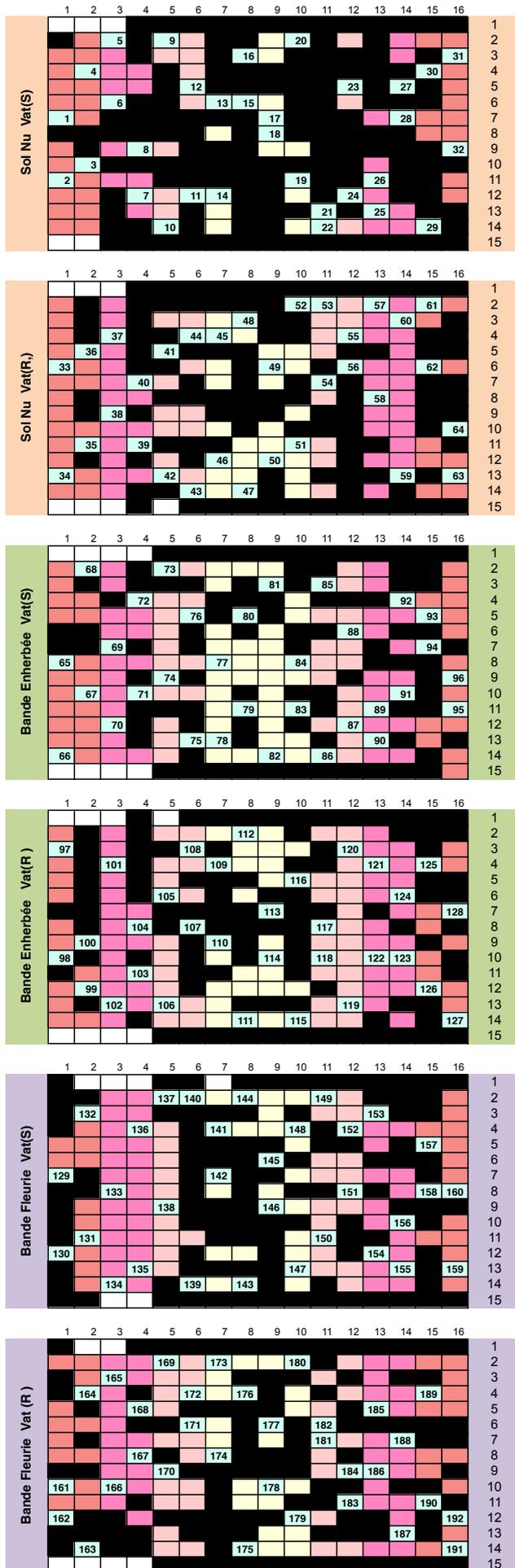


Figure 14: Plan d'échantillonnage des trois aménagements parcellaire. Les cases numérotées correspondent aux plantes prélevées et les parties noires représentent les pertes occasionnées par le mistral.



l'impact de cette maladie fongique. Les espèces végétales composant les bandes enherbées et fleuries sont choisies pour constituer respectivement un couvert homogène et un couvert hétérogène de plantes non hôtes d'*A. gossypii* et non hôtes des principaux virus qu'ils transmettent (CMV, WMV, ZYMV, CABYV). Les bandes enherbées sont composées d'un ray-grass anglais (RGA) (*Lolium perenne*). Les bandes fleuries sont créées à partir d'un mélange de cinq espèces : sainfoin (*Onobrychis vicifolia*), gesse (*Lathyrus sativus*), pimprenelle (*Sanguisorba minor*), bleuet (*Centaurea cyanus*) et marjolaine (*Origanum majorana*). Les herbes et fleurs choisies pour ces essais ne doivent pas servir de réservoir pour les virus, c'est la raison pour laquelle ces espèces ont été testées préalablement en laboratoire par inoculation mécanique en milieu contrôlé. Les plantes les moins sensibles ont été choisies pour l'essai.

II. Méthodes d'échantillonnages

L'essai a été implanté le 24 mai 2013. Tous les mercredis, durant la période du 5 juin au 24 juillet 2013, 40 échantillons devaient être prélevés pour chaque couple de modalité [variété; bandes] sur la parcelle de St Paul. Les plantes à prélever ont été choisies de façon semi-aléatoire : un programme informatique a sélectionné pour chaque couple de ligne de plantation, 5 échantillons au hasard. Dans la parcelle, ces plantes à prélever sont repérées par des piquets annotés.

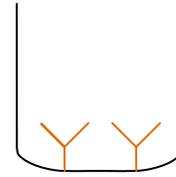
Cependant le facteur climatologique a joué un rôle majeur dans cet essai de plein champ. Les fortes rafales de mistral observées pendant plusieurs jours suivant la plantation ont causé des dommages et d'importantes pertes. Ceci nous a contraint ainsi à modifier quelque peu le plan d'échantillonnage et donc de réduire les effectifs au nombre de 32 échantillons soit 4 échantillons seulement par couple de ligne (figure 14) et à retarder le 1^{er} prélèvement au 19 juin pour ne pas affecter la croissance des plants. Afin d'éviter au maximum la variabilité de nos échantillons de semaine en semaine, un même rameau est choisi pour tous les prélèvements (le rameau est identifié au premier prélèvement par une rue-balise). En outre, nous prélevons les jeunes feuilles préférentiellement, où la multiplication virale est généralement plus forte.

Les prélèvements sont effectués à l'aide de sachets plastiques (préalablement numérotés) que l'on retourne afin de ne pas toucher les feuilles à main nue évitant ainsi d'éventuelles contaminations entre les échantillons.

Pour la parcelle se situant à Moissac, du fait de sa localisation géographique, les prélèvements n'ont lieu que tous les 10 jours. Les 30 échantillons pour chaque couple de modalités ont été sélectionnés et sont prélevés de la même manière qu'à St Paul.

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

Adsorption des anticorps spécifiques au fond des puits

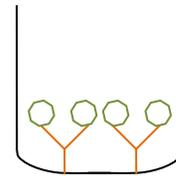


Incubation 3h30 à 37°C

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.

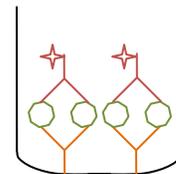


Incubation une nuit à 4°C.

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.



Incubation 3h à 37°C

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

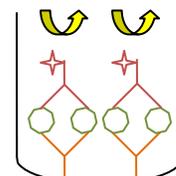


Figure 15 : Principe du test DAS-ELISA (D'après Clark & Adams, 1977).



III. Méthode de détection : le test ELISA

Le test DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) est couramment utilisé en test de routine pour la détection des virus chez les plantes (figure 15). Les tests sérologiques sont basés sur l'interaction spécifique entre un antigène (capside) et un anticorps (protéine spécifique de l'antigène produite par un animal, en réponse à l'injection de cet antigène). A chaque test, 192 échantillons doivent être contrôlés pour 4 virus (CMV, CABYV, ZYMV, WMV).

Le protocole utilisé est le suivant (Clark & Adams, 1977) :

- La première étape, le « coating », consiste à saturer les puits d'une plaque de microtitration par une solution contenant des anticorps polyclonaux. Les anticorps, Immunoglobuline G spécifiques du virus recherché, sont dilués dans un tampon spécifique (cf annexe 2) puis déposés sur des plaques de polystyrène de 96 puits à raison de 150 µl par puits.

Les plaques sont placées à l'étuve à 37°C durant 3h30 ; il y a adsorption des anticorps polyclonaux au fond des puits. Après ce laps de temps les plaques sont rincées : trois fois à l'eau du robinet, puis une fois au PBS tween afin d'éliminer les IgG non fixées.

- Les échantillons de plantes (environ 0,5g de feuille) à tester sont broyés à l'aide d'un broyeur à rouleaux dans 4 ml de tampon de broyage. Entre chaque broyage, les rouleaux sont brossés avec une solution détergente, RBS T 105. Les broyats sont déposés sur la plaque ELISA (150 µl/puits) et chaque échantillon est doublé (2 puits/échantillon) (cf annexe 3). Des témoins positifs (infectés) et négatifs (sains) sont inclus sur chaque plaque pour garantir la validité du test. Les plaques restent à 4°C pendant une nuit, ce qui permet la formation du complexe antigène-anticorps dans le cas où la plante est infectée, puis sont à nouveau rincées comme précédemment.

- Les anticorps spécifiques couplés à une enzyme (la phosphatase alcaline) appelés « conjugué », sont déposés dans les puits à raison de 150µl/puits. Par la suite, les plaques sont placées à l'étuve durant 3 heures à 37°C, il y a fixation du conjugué sur le virus lorsque la plante est infectée. Les plaques sont rincées comme précédemment.

- Une solution de p-nitrophényl phosphate (PNPP), substrat de la phosphatase alcaline est ajoutée. La dégradation du substrat par l'enzyme produit une réaction de couleur jaune, qui est quantifiée par plusieurs lectures successives à 405nm au spectrophotomètre. Les échantillons sont généralement considérés positifs lorsque la DO est supérieure à 0,1.

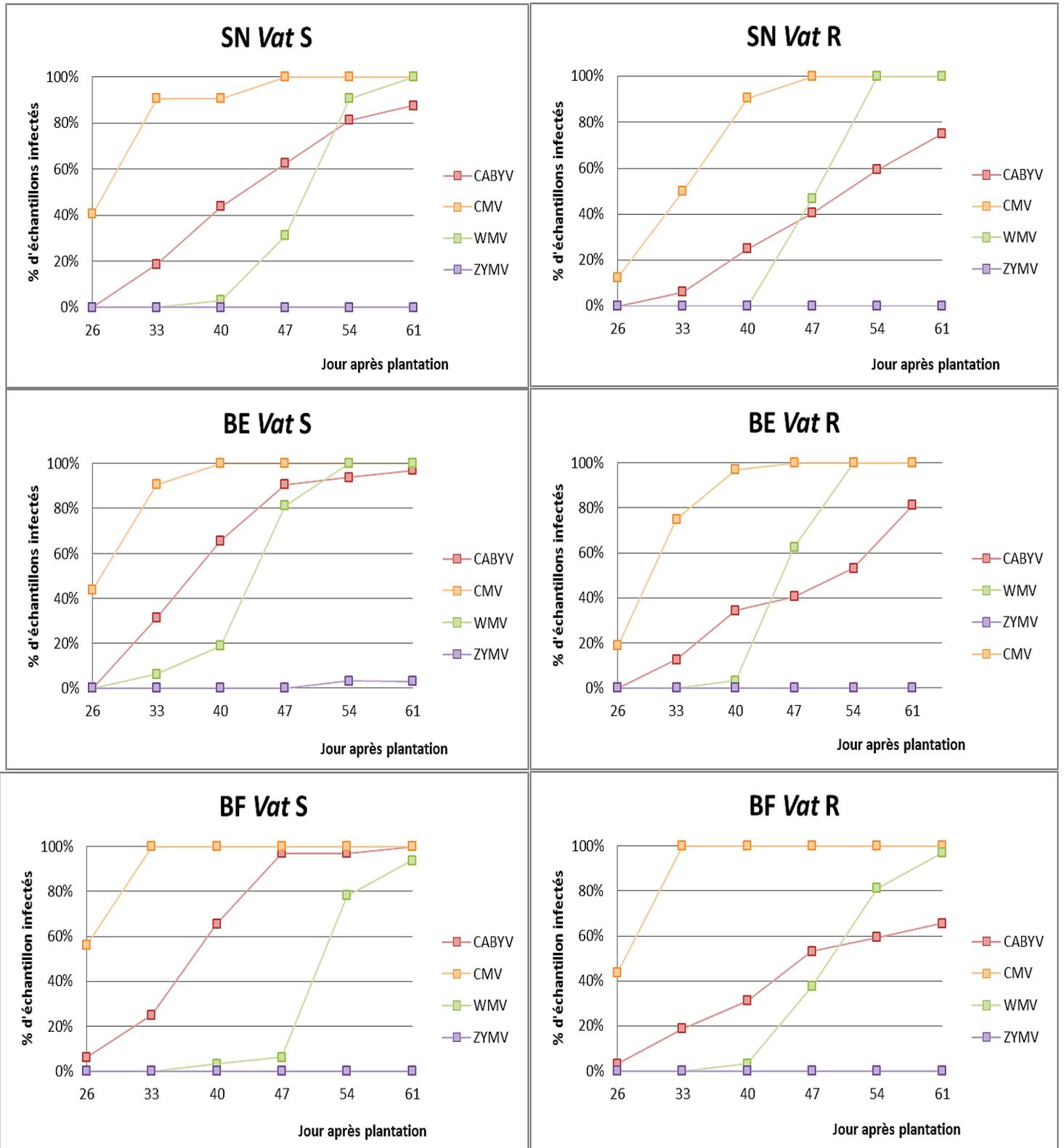


Figure 16 : Comparaison du développement des épidémies virales sur les différents traitements (SN, BE, BF) et pour les deux variétés *Vat S* et *Vat R*.



RESULTATS

I. Progression des épidémies virales dans les parcelles en 2013

Le premier prélèvement à St Paul devait être effectué 12 jours après la plantation. Cependant la croissance des plants de melon a été jugée insuffisante du fait des mauvaises conditions météorologiques, ce qui nous a contraint à retarder cet échantillonnage de 2 semaines. Ainsi le premier prélèvement a été réalisé 26 jours après la plantation. Par la suite, le rythme d'un prélèvement hebdomadaire a pu être maintenu à St Paul. Les prélèvements, tous les 10 jours ont été réalisés à Moissac, mais compte tenu du faible nombre de plantes virosées les résultats ne sont pas présentés ici.

Les pourcentages d'infection ont permis de tracer les courbes d'évolution des virus (cf annexe 4). Le traitement SN *Vat S* représente le témoin de l'essai (figure 16).

Le cucumber mosaic virus (CMV) est le premier virus apparu sur la parcelle. Celui-ci est arrivé de manière précoce sur la culture et s'est répandu rapidement sur l'ensemble de la parcelle. Le test ELISA du premier prélèvement, soit 26 jours après la plantation, a révélé un taux de contamination de 40% par le CMV. Tous les échantillons de cette modalité ont été infectés par ce virus 47 jours après la plantation. Le cucurbit aphid-born yellows virus (CABYV) est le second virus apparu sur l'essai. L'évolution de l'épidémie du CABYV a été plus progressive. Le watermelon mosaic virus (WMV) est arrivé plus tardivement sur la culture. Ce virus a été détecté qu'au 3^{ème} prélèvement seulement, soit 40 jours après la plantation. Par contre, la progression de l'épidémie a été plus rapide que celle du CABYV. En effet, on a pu constater à la date du dernier prélèvement que la totalité des échantillons de la parcelle était contaminée par le WMV, alors que seulement 88% de plants l'étaient pour le CABYV.

Lors du dernier prélèvement, nous constatons la présence des trois virus dans 88% des plantes. Les 12% restant sont coinfecteds par le WMV et le CMV.

Globalement la séquence de développement des épidémies a été la même dans les 6 sous-parcelles.

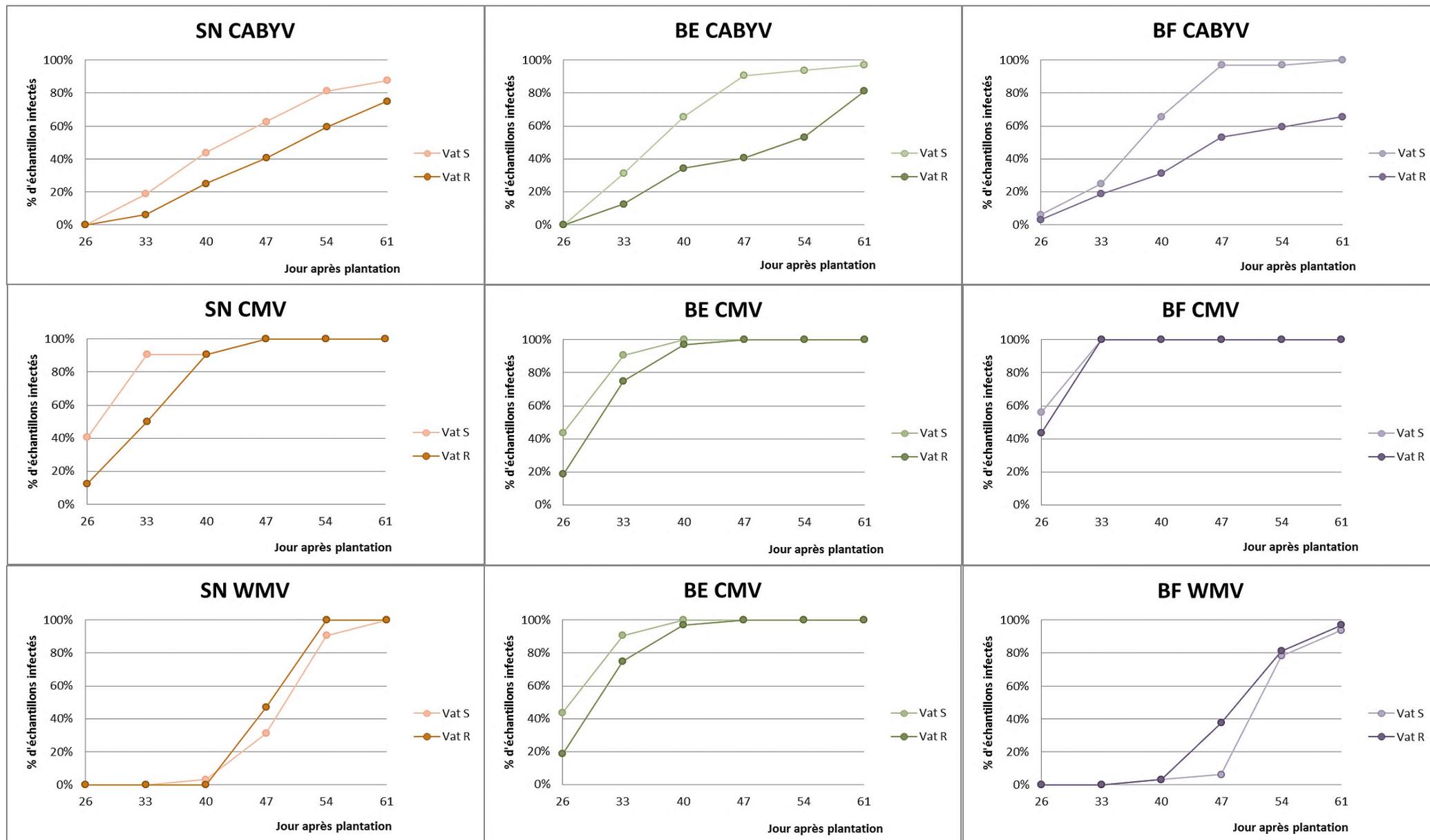


Figure 17 : Comparaison de deux variétés *Vat S* et *Vat R* pour chacun des virus (CABYV, CMV, WMV) et sur les trois traitements (SN, BE, BF).



II. Efficacité du gène *Vat* sur le développement des épidémies

virales

La comparaison du développement des épidémies d'un même virus chez *Vat S* et *Vat R* et dans les différents types d'aménagement de la parcelle (figure 17) permettent de mettre en évidence l'efficacité éventuelle du gène *Vat*. Pour le CABYV, on peut constater des différences nettes sur le développement des épidémies chez *Vat S* et *Vat R*. Ces écarts sont plus prononcés pour le traitement BE et BF que pour le SN. En effet pour le SN, un retard d'infection d'environ une semaine entre les deux modalités peut être observé. Cette différence se réduit légèrement 61 jours après la plantation. Une différence plus marquée a été observée à partir du 40^{ème} jour dans BE. A 47 jours, 91% des plantes dans la modalité *Vat S* sont contaminées par le CABYV alors que seulement 41% des plantes *Vat R* le sont.

Pour le CMV, les proportions de plantes contaminées 47 jours après la plantation ont vite atteint 100% pour les trois traitements et les deux variétés. Sur SN et BE, on peut cependant observer en début d'essai une différence entre les variétés sensibles et les variétés résistantes. Mais cette différence ne concerne que 3 prélèvements sur les 6 au total et nous n'avons pas pu recueillir les informations de l'épidémie en début de culture. Aucun effet du gène de résistance n'est notable pour BF.

Pour le WMV, on ne constate pas de différence *Vat S/Vat R* entre les deux modalités SN et BF. Les proportions d'infections sont similaires. Dans le traitement BE, le développement de l'épidémie de WMV est légèrement retardé chez la variété résistante. Alors qu'à l'inverse, on peut constater une progression épidémiologique plus rapide chez *Vat R* pour les traitements SN et BF.

L'effet du gène *Vat* sur les épidémies du ZYMV n'a pu être étudié cette année du fait de l'absence de ce virus sur les parcelles.

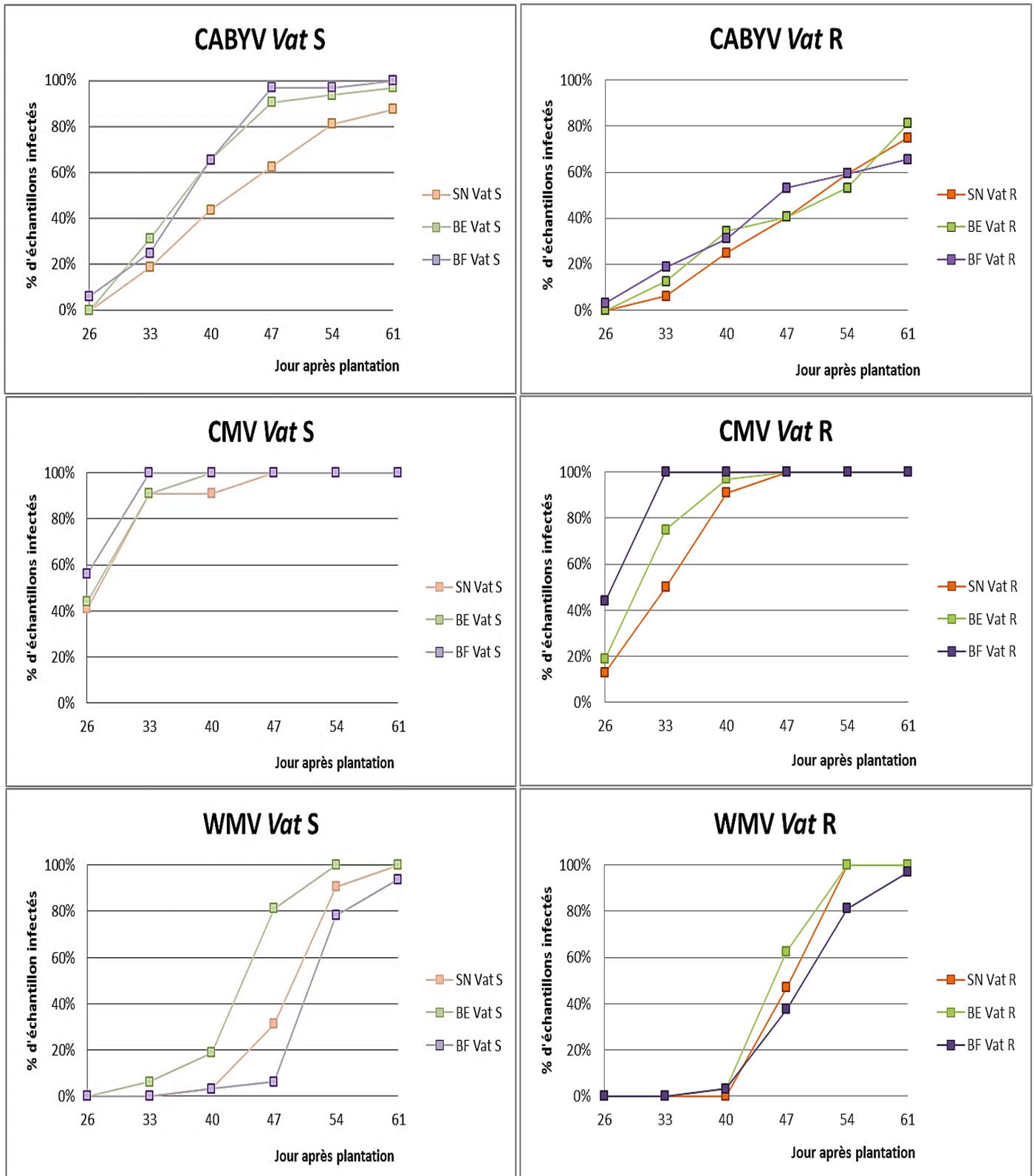


Figure 18 : Comparaison des traitements « bandes » (SN, BE, BF) pour chacun des virus (CABYV, CMV, WMV) et pour les deux variétés *Vat S* et *Vat R*.



III. Comparaison de l'effet des bandes enherbées, fleuries et du sol nu sur le développement des épidémies virales

Le développement des épidémies de CABYV chez la variété *Vat S*, dans les traitements BE et BF est comparable (figure 18). En revanche, dans le traitement SN, on observe une contamination légèrement moins importante et une évolution plus progressive de l'épidémie. Chez la variété *Vat R*, nous n'observons pas de différence entre les bandes. Les proportions d'échantillons infectés par le CABYV sont sensiblement les mêmes pour les trois traitements.

Pour le CMV, on n'observe pas d'effet pour *Vat S*, en effet les taux de contamination sont similaires pour les melons cultivés en SN, BE ou BF. Pour *Vat R*, le traitement BF a été le plus rapidement contaminé par ce virus, suivi par les traitements BE et SN.

Pour le WMV, on peut remarquer une différence dans la progression des épidémies dans les trois traitements chez *Vat S*. Une vitesse de progression plus rapide, est observée dans le traitement BF. En effet, au 4^{ème} prélèvement, les proportions d'échantillons contaminés ont atteint 80% contrairement au traitement SN dont le taux de contamination s'élève à 31% et BF 6%. Du fait de la rapidité du développement des épidémies au prélèvement suivant, les taux de contaminations se rapprochent (100, 91 et 78%).



DISCUSSION

Dans cette étude, le suivi des épidémies de 3 virus (CMV, CABYV, WMV) a été réalisé chez deux variétés, sensible (*Vat S*) ou résistante (*Vat R*) à *A. gossypii*, dans 3 contextes culturels différents (sol nu (SN), bande enherbée (BE) et bande fleurie (BF)).

Le gène *Vat* du melon confère une résistance vis à vis des virus étudiés mais seulement lorsqu'ils sont transmis par le puceron *A. gossypii*. On s'attend donc à observer une dissémination des virus plus rapide chez les plantes sensibles (*Vat S*), que chez les plantes résistantes (*Vat R*). Une différence reproductible entre les deux variétés se constate pour le CABYV et pour les trois traitements (SN, BE et BF). En effet, les plantes ne possédant pas le gène *Vat* ont été contaminées plus rapidement que la variété possédant ce gène. Cette différence montre une efficacité partielle du gène *Vat* vis à vis de ce virus, ce qui confirme les résultats obtenus précédemment (Carles, 2012 ; Lecoq, 2003b). Cet effet peut indiquer qu'*A. gossypii* est l'un des vecteurs principaux de ce virus, car la résistance *Vat* est spécifique à ce puceron. L'absence d'effet notable entre *Vat S* et *Vat R* nous indique que ce puceron n'est probablement pas le principal vecteur dans la transmission du virus non-persistant WMV. L'arrivée précoce et la dissémination très rapide du CMV, nous empêche de conclure sur le gène *Vat*. En effet, principalement pour SN et BE, on observe une légère différence dans les 2 premiers prélèvements, mais très vite les taux de contamination de la parcelle ont atteint 100%. Pour pouvoir traiter ces résultats, il aurait fallu suivre l'épidémie de CMV dès son apparition, juste après la plantation, ce qui était prévu, mais n'a pu être réalisé en raison de l'état des plantes au champ.

Les pratiques culturales devraient également influencer les épidémies virales. Le sol nu sert essentiellement de témoin. Les BE non hôtes devraient protéger les cultures des virus transmis selon le mode non-persistant de différentes manières (barrière physique, stimulus visuel, filtre à virus). Un retard dans la propagation des virus est donc attendu dans ce traitement. Les bandes fleuries peuvent participer au maintien de la biodiversité des agro-écosystèmes et contribuer au contrôle biologique des pucerons en offrant un habitat naturel aux prédateurs et parasitoïdes de ces insectes. En plus de retarder le développement des épidémies virales, la bande fleurie pourrait restreindre la colonisation aphidienne en favorisant la faune auxiliaire, ce qui pourrait réduire ainsi la pression de sélection exercée par les melons et retarder l'apparition de population contournant le gène *Vat*.



L'apparition précoce et une dissémination rapide du CMV avaient déjà été observées l'année précédente. Cela s'explique essentiellement par la présence d'une pression d'inoculum importante, dans l'environnement proche de la culture (plants réservoirs dans les vergers enherbés voisins). La présence des bandes, enherbée et fleurie au bord de la parcelle ne semble pas être efficace pour limiter la contamination par ces virus. De plus il est difficile de conclure sur l'efficacité des bandes concernant le CMV du fait de sa progression rapide sur l'ensemble de la parcelle. Concernant le CABYV, nous n'observons pas de différence entre BE et BF, ce qui est peut être expliqué par le mode de transmission de ce virus. En effet, les pucerons transmettent le CABYV selon le mode persistant (lors de piqûres d'alimentation profondes atteignant le phloème et non lors de piqûres brèves d'essai) et le puceron reste virulifère pendant une longue période voire toute sa vie, ce qui explique que le « déchargement » du virus sur des plantes non hôtes ne sont pas efficace. Nous nous attendions donc à ce résultat. Cependant nous avons émis l'hypothèse que la bande fleurie pourrait abriter des ennemis naturels du puceron *A. gossypii*, ce qui aurait pu provoquer un certain retard dans le développement de l'épidémie virale pour ce traitement. Ce qui n'est pas le cas dans cet essai.

Diverses études antérieures ont montré que le ZYMV apparaissait généralement tardivement sur une parcelle. Malgré un prélèvement tardif nous n'avons pas constaté la présence de ce virus à l'exception d'une seule plante infectée 54 jours après la plantation. Depuis de nombreuses années des travaux cherchent à identifier les réservoirs naturels du ZYMV qui restent encore inconnus actuellement en France (Desbiez & Lecoq, 1997). Par conséquent la présence ou non de ce virus sur une culture dépend essentiellement des sources d'inoculum présentes ou non aux alentours de la parcelle. L'absence de ZYMV pourrait également s'expliquer par les conditions climatiques hivernales de l'année 2012-2013 qui ont été particulièrement rigoureuses, ce qui a pu détruire d'éventuels réservoirs naturels de virus.

Pour la distribution dans le temps et l'espace des virus on s'attendait à détecter les premières contaminations sur SN, qui est considéré comme étant le témoin de l'essai, puis dans les traitements BE et BF. En 2012 un gradient de répartition s'était installé d'Ouest en Est pour le WMV contaminant plus particulièrement la modalité SN, dû à la proximité d'un autre essai déjà contaminé par ce virus. Ce qui n'est pas le cas cette année, les premières contaminations ont commencé sur BF pour le CABYV et sur BE pour le WMV. La distribution observée pourrait être liée à des atterrissages aléatoires des pucerons virulifères. Il est cependant difficile de



conclure sur la répartition des virus sur la parcelle, l'étude n'ayant porté que sur un nombre d'échantillonnages limité dans chaque parcelle.

D'autres facteurs environnementaux ont pu avoir une influence sur l'arrivée et la dissémination de ces virus. Le dispositif a été créé de manière à se rapprocher le plus possible des conditions de culture d'un agriculteur c'est la raison pour laquelle les bandes ont été placées uniquement sur les côtés Nord et Sud du dispositif (figure 13) afin de faire obstacle aux pucerons portés par le mistral, en provenance du Nord-Ouest. Par conséquent les bandes ne font pas barrière aux pucerons arrivant d'Ouest ou d'Est.

Le vent est un facteur important ayant joué un rôle majeur dans cet essai. Après la plantation, les fortes rafales de mistral ont provoqué l'arrachage de nombreuses plantes et par conséquent, des pertes considérables allant jusqu'à 54% pour le traitement SN. Le rôle des bandes était de servir de stimuli visuels pour les pucerons, il fallait donc un couvert végétal homogène pour que les bandes soient efficaces. Or les dégâts occasionnés ont laissé des espaces vides, créant un contraste visuel entre le sol et la végétation, ce qui a pu attirer de façon irrégulière les pucerons (Astier et *al.*, 2011).

Un même essai avait été mis en place près de Moissac, servant de répétition dans un contexte écologique différent. Cet essai n'a cependant pas permis de confirmer les tendances observées sur la parcelle de St Paul, en raison d'un très faible nombre de plantes infectées. Nous avons constaté qu'après 2 mois de prélèvements, seules 10 plantes sur 180 étaient contaminées. A contrario en 2012, seul le ZYMV était absent sur la même parcelle. L'absence de virus cette année peut être à nouveau expliquée par les conditions climatiques assez rigoureuses de l'hiver dernier et par de faibles populations virales.



CONCLUSION

Deux essais au champ ont été réalisés afin de déterminer l'incidence du gène *Vat* sur la dissémination de 4 virus et de définir dans quelle mesure des paramètres agronomiques peuvent réduire la pression virale exercée par les plants de melons sur les pucerons. La situation que nous avons rencontrée cette année révèle la difficulté et le côté parfois aléatoire des observations réalisées sur les épidémies virales en plein champ. En effet, l'essai placé près de la ville de Moissac ne permet pas de confirmer les tendances observées sur la parcelle de St Paul, en raison du faible nombre de plantes infectées. De plus il est également impossible de comparer l'évolution épidémiologique du ZYMV du fait de son absence sur les parcelles cette année.

Le gène *Vat* a permis de réduire les contaminations par le CABYV, virus transmis selon le mode persistant, ce qui n'a pas été le cas pour le CMV et le WMV virus transmis selon le mode non-persistant. Cette efficacité partielle permet de confirmer les résultats observés l'année précédente. La présence de « bandes » en bordure de culture ne semble pas avoir montré son efficacité comme protection contre les pucerons virulifères. Toutefois ces études épidémiologiques doivent être répétées plusieurs années pour apporter des résultats valides, ce qui reste indispensable pour bien évaluer l'impact de gènes de résistances ou de pratiques culturales sur le développement des maladies virales. Ces résultats s'inscrivent donc dans une étude plus large, pluriannuelle et pluridisciplinaire. En particulier, ils apporteront des éléments très importants pour corrélérer épidémies virales et vols de pucerons. En effet, le dispositif expérimental comprenait aussi des pièges à pucerons dont les captures seront analysées ultérieurement. Une fois ces données acquises, il sera alors possible de rechercher des corrélations entre les épidémies virales observées et les vols des différentes espèces de pucerons.



BIBLIOGRAPHIE

- **Agreste Conjoncture** (2013). Agreste infos rapides, Légumes-Melon [document électronique] juillet 2013, n°2/5, <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/conjinfolleg201307melo.pdf>. Agreste.2013. Melon – N°2/5 : La campagne démarre à des niveaux modestes - Agreste Conjoncture – Légumes, pp.3-4.
- **Astier S., Albouy J., Maury Y., Lecoq H.** (2001). Principes de virologie végétale : génome, pouvoir pathogène, écologie des virus. INRA Editions. Paris, 444p.
- **Carles N.** (2012). Etude de la durabilité du gène de résistance *Vat* chez le melon. Mémoire de Master. Agrocampus Ouest centre d'Angers, 9p.
- **Clark M.F., A.M. Adams** (1977). Characteristics of the microplate method of ELISA for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475-483.
- **Desbiez C., Lecoq H.** (1997). Zucchini yellow mosaic virus. *Plant Pathology*, 46: 809-829.
- **Dogimont C., Bendahmane A., Chovelon V., Boissot N.** (2010). Host plant resistance to aphids in cultivated crops: Genetic and molecular bases, and interactions with aphid populations. *Comptes rendus biologies*, 333: 566-573.
- **Fereres A.** (2000). A barrier crops as a cultural control measure of non-persistently transmitted aphid-borne viruses. *Virus Research*, 71: 221-231.
- **Guérineau C.** (1998). Le Melon: pour un produit de qualité. CTIFL Editions. Paris, 167p.
- **Hooks C.R., Fereres A.** (2006). Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research*, 120: 1-7.
- **Inra** (2013). Qui sommes-nous? [En ligne] Disponible sur : <http://institut.inra.fr/> (9 mai 2013).
- **Lecoq H.** (1992). Les virus des cultures de melon et de courgette de plein champ (II). *Revue Horticole*, 324: 15-25.



- **Lecoq H.** (2003a). Cucurbits. In: Virus and Virus-Like Diseases of Major Crops in Developing Countries. Loebenstein G. & Thottappilly G. (eds). Kluwers Academic Publishers. Dordrecht, pp. 665-687.
- **Lecoq H.** (2003b). Epidemiology of Cucurbit aphid-borne yellows virus. In: *The Luteoviridae*. Smith H.G. & Barker H. (eds). CABI Publishing. Oxford, pp. 243-248.
- **Lecoq H., Cohen S., Pitrat M., Labonne G.** (1979). Resistance to cucumber mosaic virus transmission by aphids in *Cucumis melo*. *Phytopathology*, 69: 1223-1225.
- **Lecoq H., Desbiez C.** (2008). Watermelon mosaic virus and zucchini yellow mosaic virus. Mahy, B.W.J., Van Regenmortel, M.H.V. (eds). *Encyclopedia of virology*, Third Edition, 5: 433-440.
- **Lecoq H., Pitrat M., Pansart M.J.** (1982). La résistance au puceron du melon et son interaction avec les virus chez le melon. Les pucerons des cultures. ACTA éditions. Paris, pp 313-317.
- **Lecoq H., Wipf-Scheibel C., Chandeysson C., Desbiez C.** (2012). Une enquête riche d'enseignements. Melon/Courgette. *Réussir Fruit & Légume*, 318: 28-30.
- **Pitrat M., Lecoq H.** (1982). Relations génétiques entre les résistances par non-acceptation et par antibiose du melon à *Aphis gossypii*. Recherche de liaisons avec d'autres gènes. *Agronomie*, 2: 503-508.
- **Purcifull D., Hiebert E., Edwardson J.** (1984). Watermelon mosaic virus 2. CMI/AAB Description of plant viruses, No. 293, 7p.
- **Thomas S.** (2011). Pressions de sélections exercées par les résistances génétiques du melon sur les populations d'*Aphis gossypii*. Thèse Avignon : Université d'Avignon et des pays de Vaucluse; INRA. 177p.
- **Thomas S., Boissot N., Mistral P., Chareyron V., Vanlerberghe F., Dogimont C.** (2011). Combinaison gène majeur/QTL : Quel intérêt pour la résistance du melon à *Aphis gossypii* ? *Innovations Agronomiques*, 15: 45-54.
- **Whitaker T.W., Davis G.N.** (1962). Cucurbits: botany, cultivation, and Utilization. Interscience publishers. New York. 250p.

ANNEXES

Annexe 1 : Présentation détaillée du plan «Parcel-R».

Annexe 2 : Composition des différents produits utilisés pour le test ELISA & tableau des dilutions pour chacun des 4 virus étudiés.

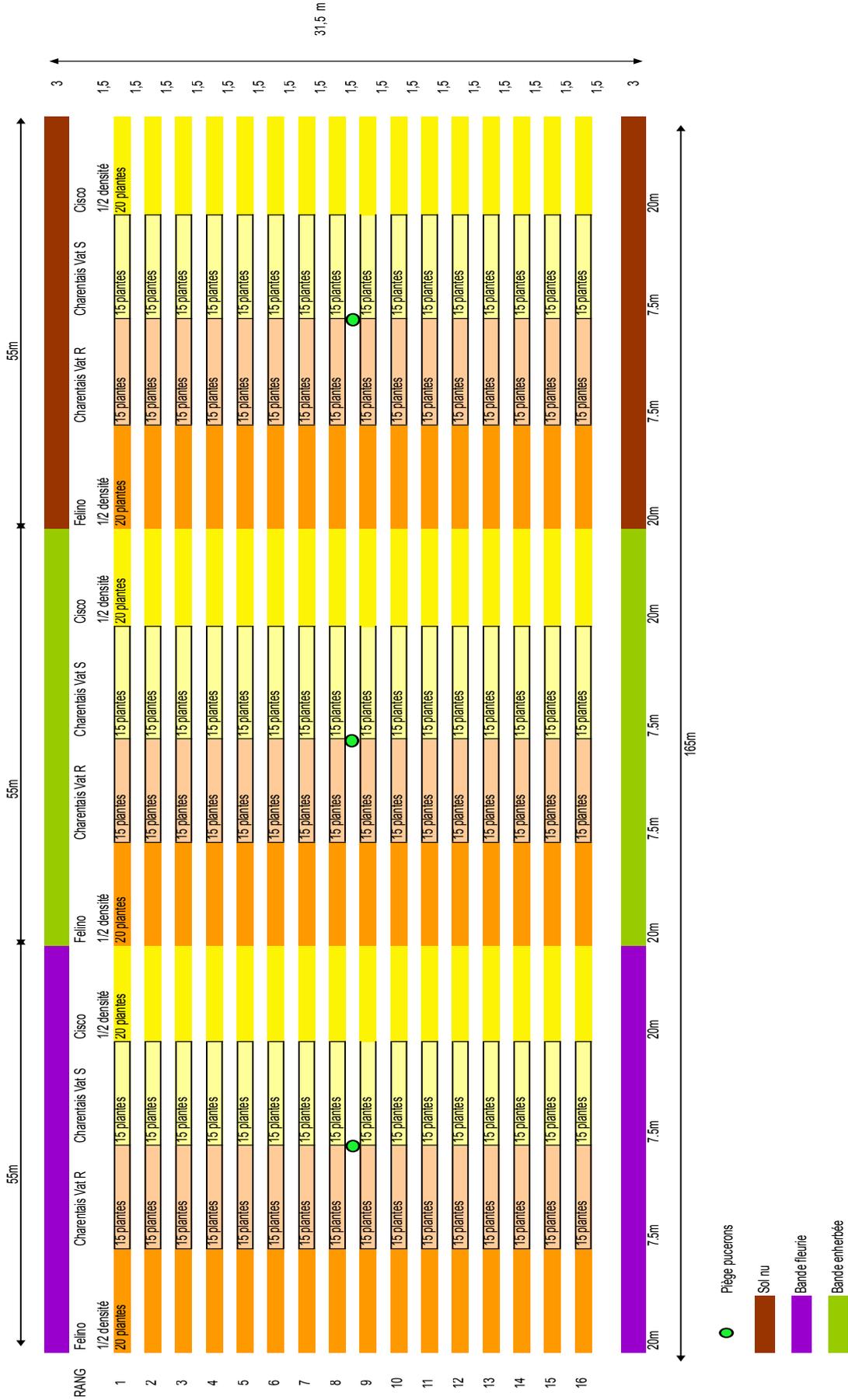
Annexe 3 : Plan d'une plaque de microtitration.

Annexe 4 : Tableaux représentant le nombre de plantes infectées (en pointillé) et le pourcentage de plantes infectées (blanc) pour chacun des prélèvements effectués.

Annexe 1 : Présentation détaillée du plan «Parcel-R».

Plan détaillé Parcel-R 2013 à St Paul

HAE DE CYPRES AU NORD



Annexe 2 : Composition des différents produits utilisés pour le test ELISA & tableau des dilutions pour chacun des 4 virus étudiés.

Tampon de dilution du conjugué	
H2O distillée	q.s.p 1L
NaCl	8 g
Na2HPO4 12H2O	2,9 g
KH2PO4	0,2 g
KCl	0,2 g
NaN3	0,2 g
PVP (Polyvinylpyrrolidone K25)	20 g
Ovalbumine	2 g

PBS 20X (pH 7,4)	
H2O distillée	q.s.p 5L
NaCl	800 g
Na2HPO4 12H2O	290 g
KH2PO4	20 g
KCl	20 g

Tampon de rinçage PBS-Tween (pH 7,4)	
H2O distillée	q.s.p 5L
PBS 20X	800 g
Tween 20 pH 7,4 (0,05%)	290 g

Tampon de dilution des IgG (pH 9,6)	
H2O distillée	q.s.p 1L
Na2CO2	1,6 g
NaHCO3	3 g

Tampon de Broyage : Test ELISA						
qsp H2O	50 ml	100 ml	200 ml	300 ml	500 ml	1 litre
Na2HPO4 12H2O	0,537 g	1,074 g	2,148 g	3,222 g	5,37 g	10,74 g
DIECA	0,1 g	0,2 g	0,4 g	0,6 g	1 g	2 g

Dilution des réactifs				
Virus :	CABYV	CMV	WMV	ZYMV
IgG	1/ 1000	1/2000	1/1000	1/1000
Conjugué	1/2000	1/4000	1/2000	1/4000

Annexe 3 : Plan d'une plaque de microtitration.

ELISA N° :

Tampon :

Date :

Nature :

Virus						
IgG:						
Conjugué:						

Volume / puits: μ l

Plaque: 1

	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

Annexe 4 : Tableaux représentant le nombre de plantes infectées (en pointillé) et le pourcentage de plantes infectées (blanc) pour chacun des prélèvements effectués.

CABYV						
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
	19/06/2013	26/06/2013	03/07/2013	10/07/2013	17/07/2013	24/07/2013
SN VAT S	0	6	14	20	26	28
SN VAT S	0,0%	19,0%	44,0%	63,0%	81,0%	88,0%
SN VAT R	0	2	8	13	19	24
SN VAT R	0,0%	6,0%	25,0%	41,0%	59,0%	75,0%
BE VAT S	0	10	21	29	30	31
BE VAT S	0,0%	31,0%	66,0%	91,0%	94,0%	97,0%
BE VAT R	0	4	11	13	17	26
BE VAT R	0,0%	13,0%	34,0%	41,0%	53,0%	81,0%
BF VAT S	2	8	21	31	31	32
BF VAT S	6,0%	25,0%	66,0%	97,0%	97,0%	100,0%
BF VAT R	1	6	10	17	19	21
BF VAT R	3,0%	19,0%	31,0%	53,0%	59,0%	66,0%

CMV						
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
	19/06/2013	26/06/2013	03/07/2013	10/07/2013	17/07/2013	24/07/2013
SN VAT S	13	29	29	32	32	32
SN VAT S	41,0%	91,0%	91,0%	100,0%	100,0%	100,0%
SN VAT R	4	16	29	32	32	32
SN VAT R	13,0%	50,0%	91,0%	100,0%	100,0%	100,0%
BE VAT S	14	29	32	32	32	32
BE VAT S	44,0%	91,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
BE VAT R	6	24	31	32	32	32
BE VAT R	19,0%	75,0%	97,0%	100,0%	100,0%	100,0%
BF VAT S	18	32	32	32	32	32
BF VAT S	56,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
BF VAT R	14	32	32	32	32	32
BF VAT R	44,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

Annexe 4 : Tableaux représentant le nombre de plantes infectées (en pointillé) et le pourcentage de plantes infectées (blanc) pour chacun des prélèvements effectués (Suite).

WMV						
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
	19/06/2013	26/06/2013	03/07/2013	10/07/2013	17/07/2013	24/07/2013
SN VAT S	0	0	1	10	29	32
SN VAT S	0,0%	0,0%	3,0%	31,0%	91,0%	100,0%
SN VAT R	0	0	0	15	32	32
SN VAT R	0,0%	0,0%	0,0%	47,0%	100,0%	100,0%
BE VAT S	0	2	6	26	32	32
BE VAT S	0,0%	6,0%	19,0%	81,0%	100,0%	100,0%
BE VAT R	0	0	1	20	32	32
BE VAT R	0,0%	0,0%	3,0%	63,0%	100,0%	100,0%
BF VAT S	0	0	1	2	25	30
BF VAT S	0,0%	0,0%	3,0%	6,0%	78,0%	94,0%
BF VAT R	0	0	1	12	26	31
BF VAT R	0,0%	0,0%	3,0%	38,0%	81,0%	97,0%