



HAL
open science

Durabilité de la résistance du melon à *A. gossypii*

Nathalie Boissot

► **To cite this version:**

| Nathalie Boissot. Durabilité de la résistance du melon à *A. gossypii*. [Contrat] 2009. hal-02815516

HAL Id: hal-02815516

<https://hal.inrae.fr/hal-02815516v1>

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.

Compte–rendu scientifique du projet sous Convention n°C06/02 melon
Final – Décembre 2010

Intitulé du projet de recherche

Durabilité de la résistance du melon à *A. gossypii*.

INRA-GAFL

Domaine Saint Maurice

BP 94

84143 Montfavet Cedex

Responsable du projet : Nathalie Boissot

Tutelle:

INRA – Centre d'Avignon
Domaine Saint-Paul Site Agroparc
84914 AVIGNON cedex 9

Résumé du projet

La protection des cultures maraîchères contre les insectes phytophages passe traditionnellement par l'utilisation de pesticides. L'utilisation de variétés résistantes permet une production plus respectueuse de l'environnement et du consommateur. Chez le melon, il existe une résistance à la colonisation par le puceron *Aphis gossypii*, ravageur majeur des Cucurbitacées. Cette résistance, conférée par un gène nommé *Vat*, est largement utilisée dans les variétés cultivées ; elle constitue un modèle économiquement intéressant.

La résistance exerce désormais une pression de sélection sur les populations d'*A. gossypii* à une échelle régionale. On peut craindre, de la même manière que des populations de pucerons résistantes aux insecticides ont été sélectionnées par l'usage intensif de certaines molécules actives, le développement de pucerons capables de surmonter la résistance conférée par *Vat*. En effet, depuis quelques années, des foyers d'*A. gossypii* capables de se développer sur des variétés de melon porteuses du gène *Vat* ont été observés sur le terrain.

Le projet a pour objectif de préciser les stratégies d'utilisation de la résistance conférée par *Vat* afin de lutter contre son contournement, en y associant des gènes de résistance partiels (appelés QTLs) autres que *Vat*. Dans le cadre du projet, des génotypes de melon associant le gène *Vat* et des QTLs seront construits puis mis en essai de plein champ dans différents bassins de production pour mesurer la pression de sélection qu'ils exercent sur les populations d'*A. gossypii*.

Résultats

1- Construction de populations combinant différents QTLs au gène majeur *Vat*

Dans le cadre de travaux préliminaires à ce projet, nous avons mis en évidence des QTLs de résistance, qui induisent la fuite d'*A. gossypii*, dans une population de lignées recombinantes issues du croisement Védrantais X PI 161375. Dans cette population le gène *Vat* est aussi en ségrégation. L'identification de ces facteurs de résistance a été conduite avec deux clones d'*A. gossypii*, le clone NM1-lab de génotype NM1 et le clone 4-104 de génotype C9.

Nous avons sélectionné les lignées recombinantes sur la base des allèles qu'elles portent au locus *Vat* et aux QTLs impliqués dans la fuite d'*A. gossypii* clone NM1-lab ou 4-104.

Nous avons constitué une première famille de résistance (appelée famille I) axée sur les loci contrôlant le clone NM1-lab et une deuxième famille de résistance (appelée famille II) axée sur les loci contrôlant le clone 4-104. Pour chacune des familles, les lignées recombinantes se répartissent en trois groupes de combinaison génétique de résistance : 1) Les lignées portant l'allèle de résistance au locus *Vat* et les allèles de sensibilité aux QTLs de fuite du puceron 2) Les lignées portant les allèles de résistance au locus *Vat* et aux QTLs de fuite du puceron et 3) Les lignées portant l'allèle de sensibilité au locus *Vat* et les allèles de résistance aux QTLs de fuite du puceron.

Afin d'homogénéiser le fond génétique entre les 3 groupes d'une même famille et d'obtenir des génotypes cultivables en plein champ (ce qui est difficile pour certaines lignées recombinantes) nous avons intercroisé les lignées recombinantes appartenant à un même groupe. Nous obtenons 3

populations par famille, chaque groupe est constitué d'un mélange de génotypes hybrides ayant tous la même combinaison génétique homozygote de résistance, les groupes d'une même famille ont un fond génétique homogène. La caractéristique des différentes populations est résumée dans le tableau 1.

Tableau 1 Fuite des clones NM1-lab and 4-104 d'*A. gossypii* (adultes restants 48h après l'infestation par 10 adultes) sur 6 populations combinant le gène *Vat* et des QTLs de résistance.

Population	Allèle de résistance au locus ^y				Fuite de 2 clones d' <i>A. gossypii</i>			
	<i>Vat</i> ^l	AgA-IX.1 ^m	AgA-VII.1-XI.1 ^m	AgA-IX.2 ⁿ	Valeurs prédites sur les populations		Valeurs observées sur les populations	
					NM1-Lab	4-104	NM1-lab	4-104
A	R	R	R	H	4.3	5.1	3.8 ^a	4.6 ^a
B	R	S	S	H	4.6	5.1	5.0 ^b	5.8 ^b
C	S	R	R	H	8	7.3	8.4 ^c	6.7 ^c
D	R	H	H	R	4.6	4.6	2.6 ^a	3.1 ^a
E	R	H	H	S	4.6	5.1	3.7 ^b	3.9 ^a
F	S	H	H	R	8.5	6.8	6.7 ^c	6.9 ^b

^l Déteçté pour les deux clones

^m QTL seulement déteçté avec le clone NM1-lab

ⁿ QTL seulement déteçté avec le clone 4-104

^y R: homozygote pour l'allèle de résistance, H: soit homozygote (allèles R ou S) soit hétérozygote, S homozygote pour l'allèle de susceptibilité

L'effet du gène *Vat* sera estimé en comparant les populations A vs C ou D vs F car elles diffèrent uniquement par leur allèle au locus *Vat*. L'effet des QTLs sera estimé en comparant les populations A vs B et D vs E car elles diffèrent uniquement par leurs allèles aux QTLs.

2- Evaluation des combinaisons de résistance dans différents bassins de production : effet des locus de résistance sur la densité des populations

Les essais mis en place avec les 2 familles sont résumés dans le **tableau 2**

	Montfavet		Aramon			Saint-Andiol		Moissac		Guadeloupe	
	2007	2008	2007	2008	2009	2008	2009	2007	2008	2008	2009
Famille 1	+	+	+	+	+		+				+
Famille 2		+				+	+	+	+	+	+

En 2007, à Montfavet (84) et Aramon (30), les essais ont subi un épisode de grêle sévère et long quatre semaines après la plantation ce qui a fortement endommagé le feuillage. Par conséquent, le suivi démographique des populations de pucerons n'a pu être conduit.

La densité des populations de pucerons dans les essais est présentée dans la figure 1. On constate que les niveaux de populations sont extrêmement variables d'une part d'une année sur l'autre et d'autre part d'un bassin de production à un autre. L'effet des combinaisons de résistance sur la densité de pucerons est significatif quand les populations sont supérieures à 10000 pucerons au m²

(densité sur le temps complet de la culture). C'est le cas à Moissac et en Guadeloupe en 2008, à St-Andiol et en Guadeloupe en 2009.

En comparant les populations A vs C et D vs F, on observe un effet significatif du gène *Vat* sur la densité de population à Moissac en 2008, en Guadeloupe et à St-Andiol en 2009. Par contre à Moissac en 2009 l'effet du gène *Vat* n'est pas significatif.

En comparant les populations A vs B et D vs E, on observe un effet significatif des QTLs uniquement en Guadeloupe en 2009 et sur la seule famille 1, les QTLs n'ayant pas d'effet dans la famille 2

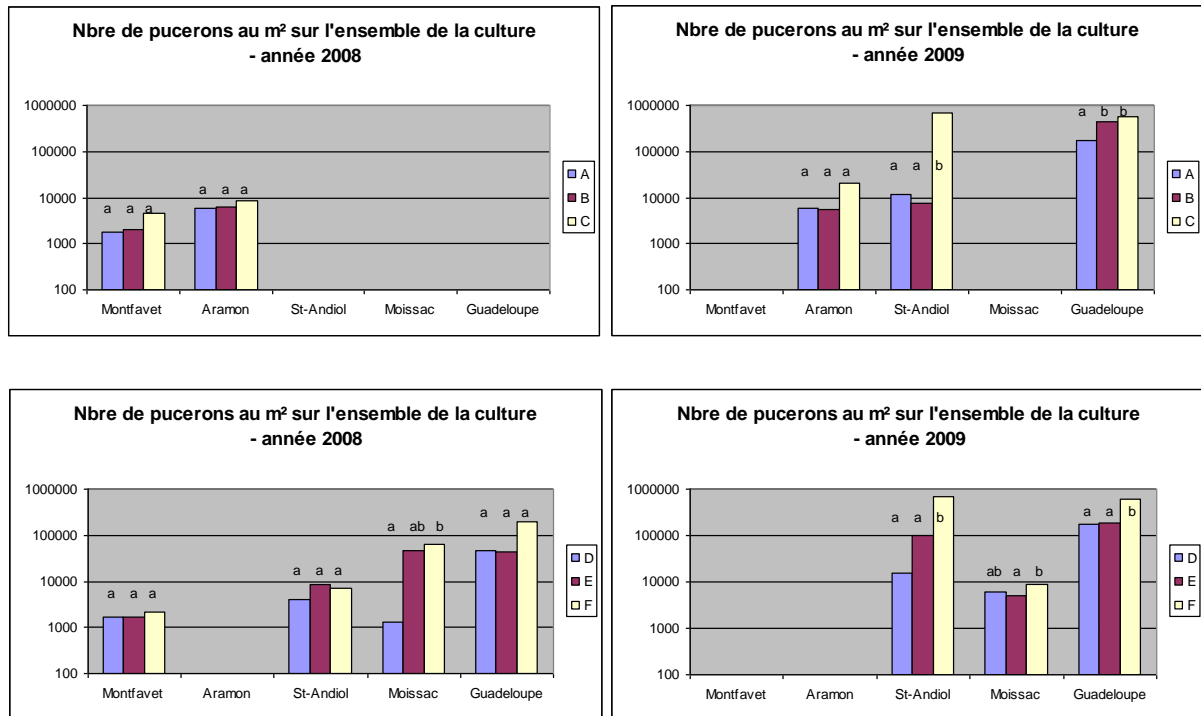


Figure 1 Densité des populations de pucerons dans les essais conduits en 2008 et 2009 sur les familles 1 (populations A, B, C) et 2 (populations D, E, F). Les populations A et D possèdent les allèles de résistance aux pucerons à tous les loci, les populations B et E possèdent l'allèle de résistance au locus *Vat* et les allèles de sensibilité aux QTLs, les populations C et F possèdent l'allèle de sensibilité au locus *Vat* et les allèles de résistance aux QTLs.

3- Structure des populations d'*A. gossypii* dans les différents bassins de production du melon et effet des loci de résistance sur la structure des populations

Nous avons échantillonné les populations de pucerons arrivant sur les essais, i.e. les populations ailées arrivant en début de culture, et les populations colonisant les différentes combinaisons de résistance, i.e. aptères en cours de culture. Tous les individus ont été génotypés à l'aide de 8 marqueurs microsatellites. Les analyses sur la structure des populations ont été conduites pour les populations prélevées en 2008, les individus génotypés en 2009 (prélevés en 2007 et 2009) sont en cours d'analyse.

En 2008 1474 individus ont été analysés (Tableaux 3 et 5). Dans les populations ailées, la diversité allélique aux 8 marqueurs microsatellites varie de 6 à 22 allèles par locus, 111 allèles ont été définis sur l'ensemble des loci. Dans les populations aptères, la diversité allélique varie de 4 à 12 allèles par locus avec 65 allèles identifiés sur l'ensemble des loci.

Caractérisation des populations ailées infestant les cultures de melon

Nous avons identifié 185 génotypes multilocus (MLG) (Tableau 3). Un ensemble d'indices (variant entre 0 et 1) a été calculé pour appréhender la diversité des populations. L'indice de richesse clonale, (R) le plus élevé est observé dans les populations du Sud-ouest de la France (Moissac). L'indice 'Unbiased Simpson's complement' (D^*), qui représente la probabilité que 2 individus choisis au hasard aient un génotype différent, est très élevé dans les populations du Sud-est et du Sud-ouest de la France ($0.83 < D^* < 0.90$) et faible dans les populations de Guadeloupe. L'indice 'Simpson evenness' (V), qui décrit la répartition et la quantité relative des clones dans une population, est le plus élevé dans les populations du Sud-est de la France ($V > 0.9$), intermédiaire dans les populations du Sud-ouest ($V = 0.65$) et plus faible dans les populations de Guadeloupe ($V = 0.5$).

Tableau 3 : Nombre de pucerons génotypés (n), nombre MLGs identifiés et indices de diversité clonale dans les populations ailées infestant les cultures de melon en France et en Guadeloupe

Localités	Sud-est		Sud-ouest	Antilles
	Aramon	Saint-Andiol	Moissac	Guadeloupe
n	108	141	123	119
n MLGs	15	29	42	14
R	0.12	0.24	0.34	0.11
D^*	0.86	0.9	0.83	0.57
V	0.89	0.88	0.65	0.5

L'ensemble de ces indices indique que la diversité des populations infestant les cultures de melon est faible en Guadeloupe. Dans le Sud-ouest de la France, on trouve beaucoup de clones différents mais nombreux sont ceux qui ont une très faible fréquence. Au contraire dans le Sud-est le nombre de clones différents est plus faible que dans le Sud-ouest mais ils sont plutôt bien représentés dans la population.

Les indices F_{st} permettent de comparer des populations par paires, par les allèles qu'elles partagent. Les populations ailées que nous avons collectées dans les différents bassins de production sont très différentes (Tableau 4). Par contre les populations échantillonnées Saint-Andiol et Aramon, deux localités dans le Sud-est de la France, sont très proches. L'équilibre d'Hardy-Weinberg, qui permet d'appréhender les écarts à la panmixie, n'est atteint pour aucune population quel que soit le bassin de production (Tableau 4), indiquant que les populations ailées échantillonnées ne dérivent *a priori* pas d'un cycle de reproduction sexuée, comme on pourrait l'attendre en France¹. Cependant ces

¹ *A. gossypi* pourrait passer l'hiver sous forme d'œufs issus d'un cycle de reproduction sexuée sur son hôte primaire *Hibiscus syriacus*

conclusions restent valides en l'absence d'effet Wahlung dans ces populations, ce que nous tentons de vérifier actuellement.

Tableau 4 : Différentiation génétique entre les populations ailées (comparaisons des indices Fst) et nombre de loci à l'équilibre Hardy-Weinberg dans les populations ailées infestant les cultures de melon dans différents bassins de production

P des Fst	Moissac	Saint Andiol	Aramon	Nb de loci à l'équilibre HW
Saint Andiol	0.03**			0/8
Aramon	0.04*	0		1/8
Guadeloupe	0.06**	0.09**	0.14**	0/8
Moissac				0/8

** P<0.01, * P<0.05

Caractérisation des populations aptères colonisant les cultures de melon

Les populations aptères qui colonisent les cultures le melon se multiplient par reproduction clonale. Nous avons observé 33 MLGs dans les populations aptères (Tableau 5). La plus forte richesse clonale a été observée dans les populations du Sud-est ($R > 0.07$) et du Sud-ouest de la France ($R = 0.04$) alors que la richesse clonale est très faible dans les populations de Guadeloupe ($R < 0.01$) avec seulement deux MLGs identifiés. Le plus fort index 'Unbiased Simpson's complement' (D^*) a été observé dans les populations du Sud-ouest de la France ($D^* > 0.8$). Cet indice est intermédiaire dans les populations du Sud-est ($0.6 < D^* < 0.7$) et très faible dans les populations de Guadeloupe ($V < 0.25$). De même le plus fort indice 'Simpson evenness index' (V) est observé dans les populations du Sud-ouest de la France ($V > 0.8$), cet indice est intermédiaire dans les populations du Sud-est ($0.6 < V < 0.7$) et faible dans les populations de Guadeloupe ($D^* < 0.15$).

Tableau 5 : Nombre de pucerons génotypés (n), nombre MLGs identifiés et indices de diversité clonale dans les populations aptères colonisant les cultures de melon en France et en Guadeloupe

Localités	Sud-Est		Sud-Ouest	Antilles
	Aramon	Saint Andiol	Moissac	Guadeloupe
n	176	151	225	231
n MLGs	15	20	10	2
R	0.074	0.12	0.04	0.004
D^*	0.816	0.887	0.636	0.114
V	0.851	0.909	0.676	0.214

Les indices Fst (Tableau 6) permettent de comparer des populations par paires par les allèles qu'elles partagent. Les populations collectées en Guadeloupe n'ont pas été intégrées dans l'analyse : elles ne comprennent que deux clones qui ne sont pas présents dans les bassins de production métropolitains. Les populations aptères que nous avons collectées dans les autres bassins de production sont très différentes. Par contre, les populations échantillonnées Saint-Andiol et Aramon, deux essais dans le Sud-est de la France sont proches mais moins que ne l'étaient les populations ailées ayant infesté ces parcelles.

Tableau 6: Différentiation génétique entre les populations aptères (comparaisons des indices Fst)

P des Fst	Moissac	Saint Andiol
Saint Andiol	0.06**	
Aramon	0.07**	0.01*

** P<0.01, * P<0.05

L'ensemble de ces indices indique que la diversité des populations colonisant les cultures de melon est faible en Guadeloupe. C'est dans le Sud-est de la France, que la diversité des populations est la plus élevée. La structuration des populations par bassins de production est très forte dans ces populations

Pression de sélection exercée par les combinaisons de résistances sur les populations infestant et colonisant le melon

La figure 2 représente la répartition des MLGs d'*A. gossypii* ailés prélevés sur des melons Vat (individus prélevés sur populations de melon A, D) ou non Vat (individus prélevés sur les populations de melon C, F). La distribution des génotypes est comparable sur les melons Vat et non Vat à l'exception des populations échantillonnées à Saint-Andiol en 2008. Ceci indique que les individus ailés se posent indifféremment sur les melons Vat et non Vat gène *Vat*.

La figure 3 représente la répartition des MLGs d'*A. gossypii* aptères sur des melons *Vat* (individus prélevés sur populations de melon A, D) ou non Vat (individus prélevés sur les populations de melon C, F) en prenant en compte les différences de densité de population sur les melons Vat et non Vat. Seuls les essais où les densités de populations étaient supérieures à 10000 pucerons/m² ont été pris en compte dans cette analyse. La sélection des populations aptères par le gène *Vat* est très forte, mais le jeu de données actuel est trop faible pour en faire l'analyse fine. Ce jeu de données devra être analysé avec les individus collectés en 2009 et dont le génotypage a été conduit dans ce projet. De même les effets des QTLs pourront être analysés quand l'ensemble des données sera disponible pour l'analyse statistique.

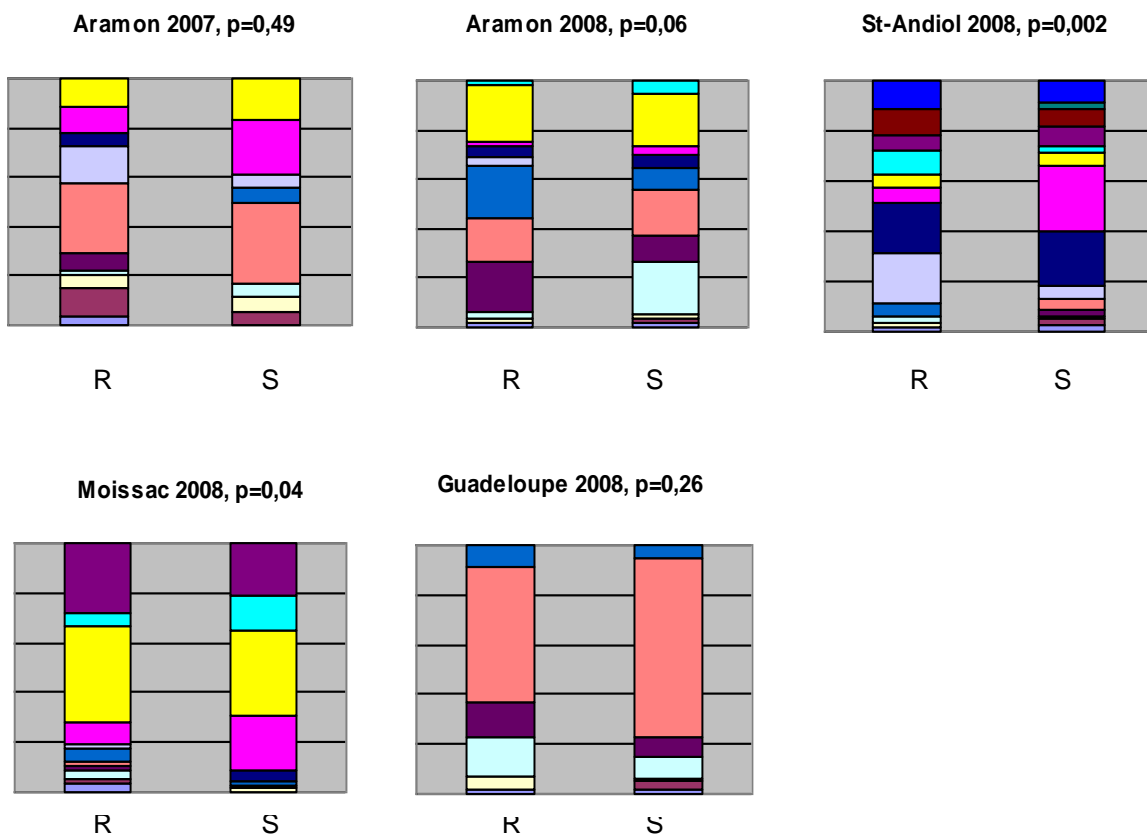


Figure 2 : Fréquence des différents MLGs dans les populations ailées infestant les melons Vat (R) ou non Vat (S) dans différents bassins de production de melon

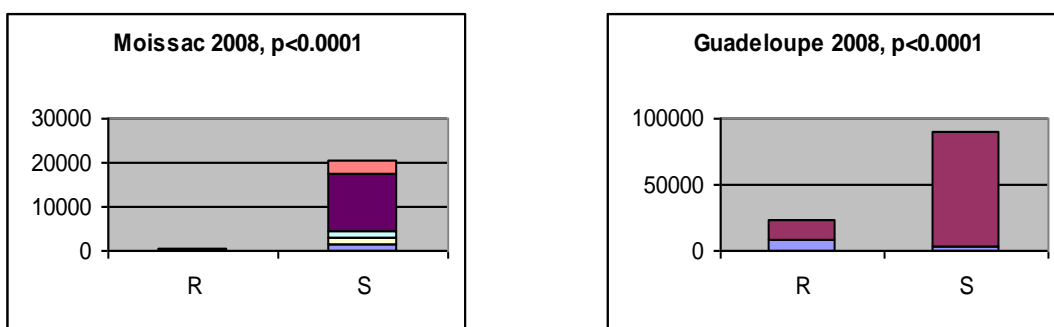


Figure 3 : Effectifs des différents MLGs dans les populations ailées infestant les melons Vat (R) ou non Vat (S) dans différents bassins de production de melon

Discussion - Conclusion

Les cultures de melon sont infestées par des populations d'*A. gossypii* ailées. Nous avons montré que ces populations ailées présentent une très forte diversité dans les bassins de production du Sud-est et du Sud-ouest alors que leur diversité est plus faible en Guadeloupe. Les populations infestant chacun des bassins de production apparaissent très différentes les unes des autres. Par contre les populations infestant les parcelles d'un même bassin de production apparaissent très proches. Les conséquences de ces résultats sur la durabilité des résistances sont les suivantes : i) La diversité disponible pour contourner les résistances est plus large en France métropolitaine qu'en Guadeloupe, ii) La diversité des populations étant structurée en fonction des bassins de production, il faudra raisonner la durabilité des résistances en fonction des bassins de production.

Les cultures de melon sont ensuite colonisées par des formes aptères. Ces populations aptères ont été montrées comme structurées par l'espèce hôte. Jusqu'alors, une douzaine de MLGs avaient été identifiés comme spécifiques des cultures de Cucurbitacées. Nous avons observé une diversité réduite dans les populations aptères en comparaison avec les populations ailées. Cette réduction de la diversité entre les 2 types de population est due à la sélection par la plante hôte, et seuls les individus ailés ayant un MLG leur permettant de se développer sur les Cucurbitacées auront une descendance dans les populations aptères. Au final, parmi la diversité présente dans les populations infestant les cultures (ailées) seule une partie des individus peut potentiellement se développer sur les cultures de melon, et c'est ce sous-échantillon qui contient la diversité dans laquelle peut se développer des individus contournant la résistance. Une première estimation nous conduit à penser que parmi les populations ailées 70% à 90% des individus sont *a priori* capables de coloniser les cultures de melon. Cependant la diversité que nous avons observée dans les populations aptères est beaucoup plus large que celle attendue : en effet nous avons observé 33 MLGs dans les populations aptères que nous avons prélevées sur les cultures de melon, contre une douzaine de MLGs connus jusqu'alors capables de coloniser les Cucurbitacées. Les conséquences de ces résultats sur la durabilité des résistances sont les suivantes : i) La diversité disponible pour contourner les résistances est plus large qu'attendue au moins en France métropolitaine. ii) Le potentiel adaptatif de cette diversité reste à mieux caractériser, actuellement les seuls MLGs capables de développer des foyers sur des melons Vat ont été échantillonnés en Guadeloupe (là où la diversité est très faible ...) et à Moissac.

Nous avons abordé la mesure de la pression de sélection exercée par différents loci de résistance sur les populations d'*A. gossypii*. Nous disposons à ce jour d'un jeu de données trop réduit pour tirer des conclusions claires de ce travail. Mais d'ores et déjà nous avons pu fixer le seuil minimal de densité de population nécessaire pour conduire ces analyses. L'effet du gène majeur *Vat* est, au-delà de ce seuil de populations, très marqué sur la densité des populations ; son effet sur la structure des populations reste à analyser. L'effet des QTLs sur la densité des populations est plus difficilement observable (les différences sont rarement significatives). Le jeu de données 2009 devrait permettre une avancée significative sur ces travaux, en effet nous disposerons d'échantillons prélevés dans 6 parcelles.

Publications

Cucurbitaceae 2008, IXth EUCARPIA meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae, Avignon
21-24 mai 2008.

Marker assisted selection of genes and QTLs for resistance combinations to *Aphis gossypii* in melon

S. Thomas, P. Mistral, V. Chareyron, and N. Boissot*

Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), UR1052, Unité de Génétique et
d'Amélioration des Fruits et Légumes, B.P. 94, F-84143 Montfavet cedex, France

* Corresponding author e-mail: Nathalie.Boissot@avignon.inra.fr

Keywords: Resistance durability, *Vat*, quantitative trait loci, aphid, *Cucumis melo*

Abstract

The *Vat* gene in melon confers resistance to both aphid colonization and aphid transmission of several viruses. QTLs that provide resistance to aphid were localized on the melon genome. We built genetic allelic combinations with/without the resistant allele at the *Vat* locus and QTLs. These combinations (homozygous for the resistance loci) had a homogeneous genetic background for 90 % of the genome. Plants with different allelic combinations were infested by two *Aphis gossypii* genotypes NM1 and C9, and observed for acceptance and biotic potential. The *Vat* gene reduced the acceptance by both aphid genotypes, but only reduced the biotic potential of NM1. QTLs had a complementary effect on acceptance. To predict the durability of the resistance we plan to investigate selection pressures that these combinations exert on aphid populations in field trials.

8th International Symposium on Aphids, Catania (Italy) 8-12 June 2009

GENETIC DIVERSITY OF THE MELON APHID *APHIS GOSSYPYII* GLOVER IN DIFFERENT MELON GROWING AREAS OF FRANCE

**S. THOMAS⁽¹⁾, P. MISTRAL⁽¹⁾, V. CHAREYRON⁽¹⁾, B. BARRAL, N. Boissot⁽¹⁾,
F. VANLERBERGHE-MASUTTI⁽²⁾**

⁽¹⁾INRA-GAFL, UR 1052, BP 94, F-84143 Montfavet, France

⁽²⁾INRA - UMR 1301, Equipe Biologie des Populations en Interaction, - BP 167,
F-06903 Sophia Antipolis, France

Abstract

In melon, the *Vat* gene confers resistance to colonization by the melon aphid species *Aphis gossypii*. The *Vat* gene has been present in several melon varieties produced in South East of France since fifteen years and its overcoming risk is increasing. The study of the genetic structure of melon aphid populations is crucial to understand the efficacy and durability of controlling pests through resistant plants. Therefore, we set up field trials in geographically distant melon-producing areas in France and French West Indies (FWI) using melon plants with and without the *Vat* gene. We collected samples of *A. gossypii* from these crops in the different regions. The genetic diversity of these samples was analyzed using eight microsatellite loci. We identified 33 multilocus genotypes (MLG) that were present in multiple copies, among which five were observed in several regions of France and two

MLGs were restricted to French West Indies. The genetic diversity was high in southeastern France, medium in southwestern and western France and low in Guadeloupe (FWI). Differentiation between pairs of geographical populations in mainland France estimated by multilocus F_{ST} was not significant. Some MLGs (NM1 and C9) were significantly less frequent on melon with *Vat* than on melon without *Vat* while the frequencies of others (C6, CUC1, CUC13 and CUC25) increased significantly on melon plants with *Vat*.