



HAL
open science

VIRUS COURGETTE -Amélioration de l'évaluation de la résistance de la courgette aux Cucumber mosaic virus (CMV), Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) et Watermelon mosaic virus (WMV)

Sophie Perrot, Sandrine Houdault, Valérie Grimault, Hervé Lecoq, Isabelle Justafré, Mireille Buisson, François Bertrand, Denis Losdat, Carole Constant, Guillaume Menet

► To cite this version:

Sophie Perrot, Sandrine Houdault, Valérie Grimault, Hervé Lecoq, Isabelle Justafré, et al.. VIRUS COURGETTE -Amélioration de l'évaluation de la résistance de la courgette aux Cucumber mosaic virus (CMV), Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) et Watermelon mosaic virus (WMV). *Innovations Agronomiques*, 2021, 84, pp.33-43. 10.15454/1grr-5s64 . hal-03263602

HAL Id: hal-03263602

<https://hal.inrae.fr/hal-03263602v1>

Submitted on 17 Jun 2021

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

VIRUS COURGETTE - Amélioration de l'évaluation de la résistance de la courgette aux *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) et *Watermelon mosaic virus* (WMV)

Perrot S.¹, Houdault S.¹, Grimault V.¹, Lecoq H.², Justafré I.³, Buisson M.⁴, Bertrand F.⁵, Losdat D.⁶, Constant C.⁷, Menet G.⁸

¹ GEVES, 25 rue Georges Morel, CS 90024, F-49071 Beaucouzé cedex

² INRAE, Domaine Saint-Maurice, BP 94, F-84143 Monfavet cedex

³ HM. Clause, Domaine de Maninet, F-26000 Valence

⁴ Gautier Semences, Route d'Avignon, F-13630 Eyragues

⁵ Monsanto, Mas de Rouzel, chemin des canaux, CS 17270, F-30918 Nîmes

⁶ Rijk Zwaan, La Vernède, BP 22, F-30390 Aramon

⁷ Sakata Vegetables Europe, Domaine de Sablas Rue du moulin BP11, F- 30620 Uchaud

⁸ Syngenta France, Domaine du Moulin, 346 chemin des Pasquiers, F-84260 Sarrians

Correspondance : sophie.perrot@geves.fr

Résumé

Trois virus transmis par les pucerons selon le mode non-persistant sont responsables d'importantes pertes de récolte dans les cultures de courgette en France et dans le monde : les *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) et *Watermelon mosaic virus* (WMV)

L'évaluation de la résistance de la courgette aux virus est complexe du fait du caractère partiel (ou non complet) de la résistance et des résultats quantitatifs observés. Il est important d'identifier les différents niveaux de résistance des variétés de courgette à ces virus, et de décrire les niveaux d'agressivité des souches permettant de mieux différencier les variétés. Actuellement, il n'existe pas de protocole harmonisé pour définir les différents niveaux de résistance partielle de la courgette à ces virus.

Le but de ce projet collaboratif entre le GEVES, l'INRAE et des sociétés semencières (HMClause, Gautier, Monsanto, Rijk Zwaan, Sakata, Syngenta) était d'acquérir de meilleures connaissances des niveaux de résistance de la courgette et de définir un protocole de test robuste pour ces virus. Basée sur la collection de souches de virus caractérisée par INRAE, trois souches par virus (avec différentes agressivités et appartenant à différents groupes) ont été sélectionnées. Ces souches et les différents protocoles de INRAE et des partenaires (stade d'inoculation, conditions optimales de test, échelle de notation) ont été comparées sur un panel composé de variétés commerciales avec différents niveaux de résistance afin de définir pour chaque virus un test de résistance robuste.

Une souche, permettant de différencier les différents niveaux de résistance des variétés, a été sélectionnée par virus. Pour chaque virus, un test de résistance et le matériel de référence (souches et témoins) ont été validés. La collection de référence du GEVES a été caractérisée pour les trois virus. Ces nouveaux protocoles, utilisés pour les tests d'inscription du CTPS, vont être proposés à l'OCVV et à l'UPOV pour une utilisation harmonisée.

Mots-clés : Courgette, Virus, Résistance partielle, Protocole

Abstract: Development of a resistance test of squash to *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) and *Watermelon mosaic virus* (WMV)

Three viruses transmitted by aphids (non-persistent transmission) are responsible of strong yield losses on squash crops in France and around the world: *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) and *Watermelon mosaic virus* (WMV). For each virus, different biological, serological and molecular groups were described. The resistance is polygenic for CMV, ZYMV and with a major gene for WMV but always with an intermediate resistance.

The evaluation of squash resistance to viruses and the assessment of symptoms are complex due to the partial and not complete resistance and the quantitative results observed. It is important to describe the different levels of virulence of virus strains and to identify the different levels of resistance of squash varieties. There are currently no harmonized protocols to define the levels of partial resistance of squash to these viruses.

The aim of this project, in collaboration between GEVES, INRAE and breeding companies (HMClause, Gautier, Monsanto, Rijk Zwaan, Sakata, Syngenta) was to acquire a better knowledge of levels of squash resistance and to define robust resistance tests to these viruses. Based on the INRAE's characterized collection of strains of viruses, three strains per virus (with different virulences and from different groups) were selected. These strains and different protocols from INRAE and partners (stage of inoculation, optimal conditions of test, notation scale) were compared, on a panel of commercial varieties with different levels of resistance, to define for each virus a robust resistance test.

One strain per virus, making it possible to differentiate the different levels of resistance of varieties, was selected. For each virus, a resistance test and reference materials (strain and controls) were validated. The reference collection of GEVES was characterized for the three viruses. These new protocols, used for CTPS registration, will be proposed to CPVO and UPOV for a harmonized use.

Keywords: Squash, Viruses, Partial resistance, Protocol

Introduction

Trois virus transmis par les pucerons selon le mode non-persistant sont aujourd'hui particulièrement dommageables aux cultures de courgette en France et dans le monde : les *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) et *Watermelon mosaic virus* (WMV) (Lecoq *et al.*, 1998). Une enquête épidémiologique réalisée auprès de la profession dans les principaux bassins de production français de 2004 à 2008 a permis de mettre en évidence la régularité et la précocité des épidémies de WMV. Les épidémies de CMV et ZYMV sont moins fréquentes et souvent plus tardives, mais les plantes deviennent improductives dès leur infection par ces virus. Sur plus de 1000 échantillons de courgette analysés, 93% étaient infectés par le WMV, 15% par le ZYMV et 6% par le CMV. Cette étude a également permis d'étudier la variabilité moléculaire de ces virus en France et de disposer d'un panel de souches représentatif des populations virales rencontrées au champ.

La France regroupe plusieurs établissements (7) sélectionnant la courgette pour l'union Européenne, le Bassin Méditerranéen, le Moyen Orient et les zones équivalentes des autres continents (Californie, Mexique, Australie,...). Les maladies à virus constituent l'une des principales menaces pesant sur la réussite des cultures de courgette en France comme dans le reste du monde. L'obtention de variétés résistantes aux virus est donc l'un des objectifs prioritaires de l'amélioration variétale chez cette espèce. Il existe aujourd'hui en France un pôle important d'expertise tant au niveau des établissements privés que des instituts de recherche publics sur les cucurbitacées. Cette compétence est très développée en matière de sélection variétale et de virologie (importantes connaissances épidémiologiques).

Notre pays est l'un des premiers pôles européens pour le flux d'homologation de nouvelles variétés de courgette et le premier en matière de sélection variétale de la courgette. C'est le second pays en nombre

d'homologation après les Pays Bas. La sélection s'oriente significativement vers l'évaluation des résistances génétiques quantitatives aux virus CMV, ZYMV et l'Oïdium, en particulier pour le Bassin Méditerranéen.

Du fait du caractère partiel de la résistance, il est important d'identifier les différents niveaux de résistance des variétés de courgette aux virus que sont le CMV, le ZYMV et le WMV, et de décrire les niveaux d'agressivité des souches permettant de mieux différencier les variétés. Ces étapes doivent permettre de définir une méthodologie de caractérisation des niveaux de résistance et des témoins représentatifs des différents niveaux de résistance et de sensibilité. Cette étude s'inscrit dans la continuité du groupe de travail de l'ESA sur la codification des niveaux de résistances (HR « haute résistance » vs IR « résistance intermédiaire »). A ce jour, l'harmonisation de l'affichage commercial, réalisé par l'ESA, des niveaux de résistance partielle de la courgette aux principaux virus ne se basait pas sur des méthodes de tests officielles, ni en France, ni dans les autres pays européens. Pour valider scientifiquement cette codification, il est nécessaire de définir du matériel de référence (témoins, hôtes différentiels et souches virales).

Ce projet a permis de mettre au point des tests de résistance reproductibles et basés sur une meilleure connaissance des niveaux de résistance. Le matériel de référence (souches et témoins) ainsi que des protocoles robustes (méthode d'inoculation, échelle de notation, règle de décision) ont été définis pour chacun des virus CMV, WMV et ZYMV.

Une partie de la collection de référence a été caractérisée permettant d'utiliser ces critères pour les études DHS menées pour le compte du CTPS.

1. Obtention et caractérisation de souches

Pour chaque virus, trois souches représentatives des épidémies naturelles observées en France ont été choisies au sein d'une collection virale de souches, pures et caractérisées, constituée préalablement à ce projet par l'INRAE. Les 9 souches ont été mises en conservation par le GEVES sous forme de Bos (feuilles symptomatiques déshydratées) à 4°C et à -80°C. Le GEVES a vérifié le maintien de la pathogénicité des souches après conservation pendant 6 mois, 12 mois, 24 mois (Figure 1).

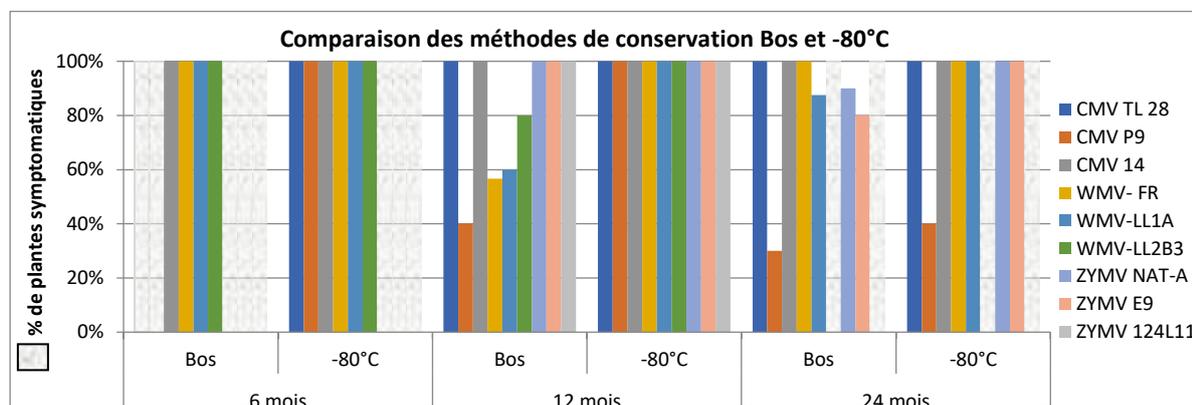


Figure 1 : Essai conservation des souches sélectionnées

Les résultats ont été obtenus après multiplication des souches sur la variété sensible Cora. L'ensemble des souches a montré une bonne conservation à -80°C et sous Bos jusqu'à 12 mois à l'exception de la souche CMV-P9 qui a montré un taux de multiplication faible après sortie de Bos. A partir de 24 mois de conservation, le mode de conservation -80°C a montré un meilleur taux de conservation que le Bos pour une majorité des souches testées.

Les deux méthodes de conservation ont été validées (Bos et -80°C) car la conservation à -80°C peut être dépendante des coupures d'électricité. De plus, il a été conseillé de renouveler les souches en conservation tous les 2-3 ans (au maximum 5 ans).

2. Comparaison des protocoles existants

Pour chacun des trois virus, les protocoles de chaque laboratoire ont été comparés sur les trois souches retenues et sur un panel constitué de variétés témoins candidates. En raison de la grande variabilité attendue des résultats pour les virus CMV et WMV, les protocoles des différents partenaires ont été comparés lors de tests inter-laboratoires (Tableaux 1 et 2). Pour le ZYMV, étant donné la faible variabilité attendue des résultats, la comparaison des souches et des témoins n'a été réalisée qu'au GEVES avec le protocole du laboratoire (Tableau 3).

Tableau 1 : Résultats des tests inter-laboratoires pour CMV

| Variété | Attendu | CMV-TL | | CMV-14 | | CMV-P9 | |
|----------|---------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
| | | Coty | 1ère feuille | Coty | 1ère feuille | Coty | 1ère feuille |
| Cora | S | 5 S | 7 S | 5 S | 7 S | 4 S / 1 IR | 3 S / 4 IR |
| Diamant | S | 4 S / 1 IR | 7 S | 5 S | 7 S | 5 S | 3 S / 4 IR |
| Venus | S | 3 S / 2 IR | 7 S | 5 S | 7 S | 5 S | 4 S / 3 IR |
| Pixar | R | 2 S / 3 IR | 7 S | 4 S / 1 IR | 3 S / 4 IR | 3 S / 2 IR | 2 S / 5 IR |
| Afrodite | R | 2 S / 3 IR | 3 S / 4 IR | 3 S / 2 IR | 1 S / 6 IR | 5 IR | 1 S / 6 IR |
| Epoca | R | 2 S / 3 IR | 4 S / 3 IR | 2 S / 3 IR | 1 S / 6 IR | 5 IR | 1 S / 6 IR |
| Syros | R | 5 IR | 7 IR | 5 IR | 7 IR | 5 IR | 7 IR |

S : sensible, IR : résistante intermédiaire, R : résistante

Tableau 2 : Résultats des tests inter-laboratoires pour WMV

| Variété | Attendu | WMV-FR | | WMV-LL2B3 | | WMV-LL1A | |
|----------|---------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
| | | Coty | 1ère feuille | Coty | 1ère feuille | Coty | 1ère feuille |
| Cora | S | 5 S | 5 S | 5 S | 5 S | 5 S | 5 S |
| Diamant | S | 5 S | 5 S | 4 S / 1 IR | 5 S | 5 S | 5 S |
| Venus | S | 5 S | 5 S | 5 S | 5 S | 5 S | 5 S |
| Mirza | R | 1 S / 4 IR | 1 S / 4 IR | 2 S / 3 IR | 1 S / 4 IR | 2 S / 3 IR | 3 S / 2 IR |
| Afrodite | R | 1 S / 4 IR | 1 S / 4 IR | 2 S / 3 IR | 2 S / 3 IR | 2 S / 3 IR | 2 S / 3 IR |
| Mikonos | R | 5 IR | 5 IR | 5 IR | 5 IR | 1 S / 4 IR | 1 S / 4 IR |

S : sensible, IR : résistante intermédiaire, R : résistante

Tableau 3 : Résultats des tests réalisés au GEVES pour ZYMV

| Variété | Attendu | Interprétation | | |
|----------|---------|----------------|--------------|------------|
| | | ZYMV-E9 | ZYMV-124-L11 | ZYMV-NAT-A |
| Cora | S | S | S | S |
| Venus | S | S | S | S |
| Afrodite | RI | RI | RI | S |
| Mikonos | RI | RI | RI | RI |
| Mirza | RI | RI | RI | S |

S : sensible, IR : résistante intermédiaire, R : résistante

A l'issue de ces premiers tests inter-laboratoires, 2 souches ont été retenues pour chaque virus (chacune avec un stade d'inoculation spécifique dépendant de l'agressivité des souches) ainsi que des variétés témoins candidates (sensibles et résistants intermédiaires) (Tableau 4).

Tableau 4 : Stade d'inoculation et matériel de référence retenus

| Virus | Souche | Stade d'inoculation | Témoins |
|-------|--------|--------------------------|---|
| CMV | CMV-14 | 1 ^{ère} feuille | Syros (Résistant intermédiaire bon niveau) |
| | CMV-P9 | cotylédons | Afrodite et Epoca (Résistant intermédiaire niveau moyen) Cora (sensible) |
| WMV | FR | cotylédons | Syros (Résistant intermédiaire bon niveau) |
| | LL1A | 1 ^{ère} feuille | Mirza (Résistant intermédiaire niveau moyen) Cora (sensible) |
| ZYMV | E9 | 1 ^{ère} feuille | Syros (Résistant intermédiaire bon niveau) |
| | NAT-A | 1 ^{ère} feuille | Mirza (Résistant intermédiaire niveau moyen) Cora (sensible) |

3. Evaluation de l'agressivité des souches et des niveaux de résistance intermédiaire des variétés : validation du matériel de référence et d'un protocole d'évaluation de la résistance intermédiaire

Les différentes souches choisies ont été testées sur un panel composé des variétés témoins candidates sélectionnées et de variétés avec différents niveaux de résistance intermédiaire, aux stades d'inoculation définis précédemment sur un effectif de 20 plantes minimum par variété et par condition. Les tests inter-laboratoires ont été réalisés chez les différents partenaires à deux périodes (printemps et automne) pour établir si les conditions climatiques pouvaient influencer l'expression des symptômes.

3.1 CMV

Pour le virus CMV, une échelle de notation et une règle de décision communes ont été définies lors d'un workshop organisé par INRAE d'Avignon préalablement aux tests inter-laboratoires.

- 0 : aucun symptôme
- 1 : quelques taches chlorotiques systémiques de petite taille
- 2 : nombreuses taches chlorotiques systémiques, parfois de grande taille
- 3 : mosaïque légère ou limitée à quelques feuilles
- 4 : mosaïque généralisée, symptômes faibles sur jeunes feuilles
- 5 : mosaïque généralisée, symptômes forts très déformants

Des tests complémentaires de comparaison de contenants (petit et grand volume) et de présence ou absence de fertilisation ont été réalisés chez deux partenaires (Figure 2).

Les résultats (Tableau 5) ont montré que seuls les facteurs souches et variétés agissaient significativement sur les résultats de test et pas les facteurs contenant et fertilisation.

Le comportement des témoins et le niveau d'agressivité des souches sélectionnées ont été globalement confirmés chez l'ensemble des partenaires. La souche CMV-P9 n'a pas été retenue (résultats non montrés) et CMV-14 a été retenue comme souche de référence candidate à un stade d'inoculation 1^{ère} feuille du fait de ses résultats plus concordants entre les laboratoires (Tableau 6).

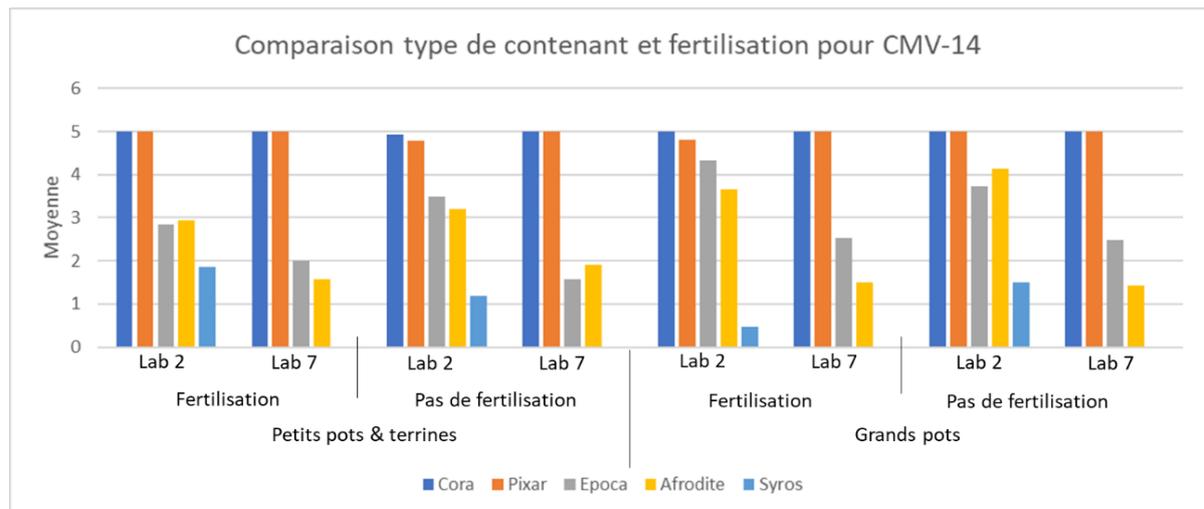


Figure 2 : Comparaison des modalités sur la souche CMV-14 retenue à l'issue du projet

Tableau 5 : Comparaison des modalités contenant et fertilisation sur CMV

| Facteur | Pr (>F) | Conclusion tous labos |
|-------------|------------------------|--|
| Variété | 6.16 ⁻⁰⁸ | *** hautement différents significativement |
| Souche | 3.64.10 ⁻⁰⁷ | *** hautement différents significativement |
| Contenant | 0.25 | Pas de difference significative |
| Fertilisant | 0.93 | Pas de difference significative |

Tableau 6 : Moyennes des notes par laboratoire avec l'échelle commune pour la souche CMV-14

| Stade 1 ^{ère} feuille | Attendu | Labo 1 | Labo 2 | Labo 3 | Labo 4 | Labo 5 | Labo 6 | Labo 7 | Labo 8 | Labo 9 |
|--------------------------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CORA | S | 5.00 | 4.90 | 4.91 | 5.00 | 3.50 | 4.00 | 5.00 | 4.25 | 5.00 |
| 6 | S | 5.00 | 2.40 | 4.20 | 5.00 | 3.00 | 4.00 | 5.00 | 4.25 | 5.00 |
| 2 (Diamant) | S | 5.00 | 4.25 | 4.93 | 6.00 | 4.80 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 |
| 1 | S | 4.35 | 2.76 | 4.14 | 4.33 | 1.60 | 5.00 | 5.00 | 4.75 | 5.00 |
| 9 | S | 3.65 | 3.72 | 4.33 | 5.00 | 1.00 | 2.00 | 4.70 | 3.65 | 5.00 |
| 27 | Faible RI | 3.90 | 4.74 | 4.73 | 5.00 | 2.83 | 5.00 | 5.00 | 4.65 | 5.00 |
| 22 (Pixar) | RI | 5.00 | 3.89 | 4.69 | 6.00 | 2.95 | 5.00 | 5.00 | 3.65 | 5.00 |
| 10 | RI | 3.70 | 3.67 | 4.69 | 6.00 | 2.55 | 3.00 | 4.85 | 4.44 | 5.00 |
| 14 | RI | 3.15 | 2.56 | 3.20 | 4.00 | 0.68 | 3.00 | 3.95 | 3.75 | 5.00 |
| 5 | RI | 2.40 | 0.71 | 3.08 | 2.42 | 1.95 | 2.00 | 2.80 | 2.60 | 5.00 |
| 13 | RI | 2.00 | 1.56 | 2.38 | 2.83 | 0.10 | 1.00 | 2.45 | 2.25 | 4.10 |
| 24 | RI | 1.80 | 1.10 | 0.47 | 2.83 | 1.50 | 0.00 | 2.65 | 0.60 | 1.00 |
| EPOCA | RI | 4.00 | 1.38 | 3.27 | 3.17 | 1.89 | 3.00 | 4.40 | 2.21 | 5.00 |
| AFRODITE | RI | 2.78 | 1.36 | 2.88 | 1.83 | 1.74 | 2.00 | 4.55 | 1.16 | 4.70 |
| SYROS | TR | 1.00 | 0.50 | 0.75 | 1.17 | 0.05 | 0.00 | 1.15 | 0.60 | 1.30 |

S : sensible ; RI : résistant intermédiaire ; TR : résistant fort

Le témoin EPOCA n'a pas été sélectionné en raison du retrait de la variété du catalogue national. Les variétés ont montré une meilleure reproductibilité entre les laboratoires avec l'échelle de notation définie lors du workshop et la règle d'interprétation communes (Figure 3).



Figure 3 : Règle de décision finale du CMV

Dans une grande majorité des laboratoires, les variétés proposées résistantes intermédiaires de faible niveau ont été jugées sensibles. La comparaison des périodes de test a montré qu'il était préférable de réaliser le test en serre au printemps ou bien avec un complément de lumière afin de favoriser l'expression des symptômes.

La section CTPS a validé le passage de classe 3 en classe 2 si les conclusions du projet étaient confirmées à l'issue de 2 sessions de tests avec déclaration CMV (tests réalisés en doublons chez l'obteneur et au GEVES avec le protocole défini dans le projet).

3.2 WMV

Pour le virus WMV, le comportement attendu des témoins et le niveau d'agressivité des souches sélectionnés ont été confirmés. Les résultats ont montré qu'un certain nombre de variétés étaient jugées différemment entre les laboratoires. La souche WMV-LL1A (Tableau 7) a été retenue comme souche de référence candidate au stade 1^{ère} feuille du fait de son agressivité plus forte et de sa représentativité sur le terrain (souche émergente) par rapport à la souche WMV-FR qui est plus ancienne et de moins en moins observée (Lecoq, comm pers).

Tableau 7 : Moyennes des notes par laboratoire avec l'échelle commune pour la souche WMV-LL1A

| Stade 1 ^{ère} feuille | Attendu | Labo 2 | Labo 3 | Labo 4 | Labo 6 | Labo 7 | Labo 8 |
|--------------------------------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CORA | S | 4.00 | 5.00 | 4.00 | 5.00 | 5.00 | 4.67 |
| 3 | S | 2.84 | 3.60 | 3.83 | 3.50 | 3.34 | 4.33 |
| 30 | Faible RI | 3.00 | 2.70 | 3.50 | 2.00 | 4.43 | 4.00 |
| 4 | Faible RI | 3.00 | 3.30 | 3.83 | 1.50 | 4.01 | 4.00 |
| 29 | RI | 2.95 | 4.00 | 4.00 | 2.50 | 3.96 | 4.33 |
| 32 | RI | 2.60 | 3.40 | 3.58 | 3.00 | 2.14 | 3.33 |
| 21 | RI | 2.35 | 2.70 | 3.75 | 1.50 | 3.38 | 2.83 |
| 25 | RI | 2.65 | 1.90 | 3.75 | 0.50 | 1.55 | 3.67 |
| 15 | RI | 2.50 | 4.20 | 3.67 | 2.00 | 2.48 | 3.47 |
| 19 | RI | 1.75 | 3.40 | 3.50 | 1.50 | 1.73 | 2.80 |
| 20 | RI | 1.50 | 2.70 | 3.58 | 0.50 | 2.56 | 3.00 |
| 33 | RI | 1.23 | 1.90 | 3.33 | 1.00 | 1.47 | 2.32 |
| MIRZA | RI faible | 2.47 | 3.10 | 3.50 | 3.00 | 3.93 | 3.67 |
| 28 (Mikonos) | RI fort | 1.67 | 2.90 | 3.42 | 1.00 | 2.46 | 2.67 |
| SYROS | RI fort | 1.00 | 2.10 | 3.00 | 1.50 | 1.14 | 2.67 |

S : sensible ; RI : résistant intermédiaire

Les membres du comité de pilotage ont relevé que, pour le virus WMV, le niveau de résistance intermédiaire du témoin retenu comme borne basse Mirza n'était pas représentatif du niveau observé chez des variétés actuelles qui est plus élevé. La conséquence serait qu'en test officiel, des variétés seraient jugées résistantes intermédiaires du même niveau que le témoin, malgré un mauvais comportement au champ. Ceci serait donc défavorable au progrès génétique prôné par le CTPS. Un nouveau test a été planifié dans tous les labos sur les témoins et des variétés candidates comme nouvelles bornes de résistance intermédiaire (issues de la collection de référence) avec la souche WMV LL1A. Les variétés Galactée et Sofia ont été retenues comme témoins candidats de borne basse de résistance intermédiaire.

Une règle de décision a été établie pour l'interprétation des résultats des tests (Figure 4) : les variétés avec un niveau de résistance plus faible que Galactée et/ou Sofia seront jugées sensibles, les variétés avec un niveau de résistance entre Galactée et/ou Sofia et Mikonos seront jugées résistantes intermédiaires faibles et les variétés avec un niveau de résistance entre Mikonos et Syros (ou supérieur) seront jugées résistantes intermédiaires fortes selon le schéma présenté ci-après. La variété Mirza est conservée en tant que témoin sensible dans le test.

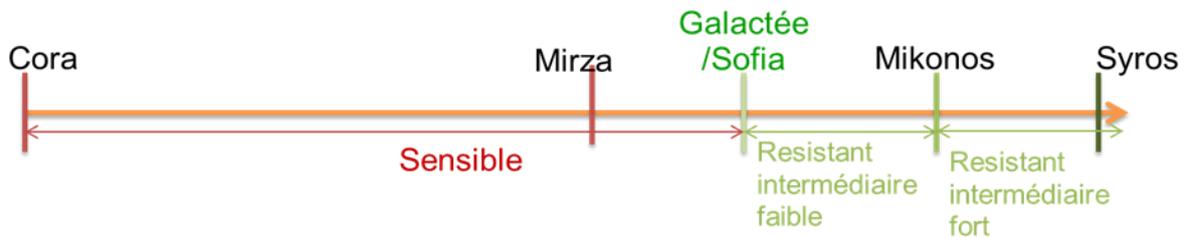


Figure 4 : Règle de décision pour l'interprétation des résultats WMV

Une échelle de notation commune a été définie (Figure 5) :

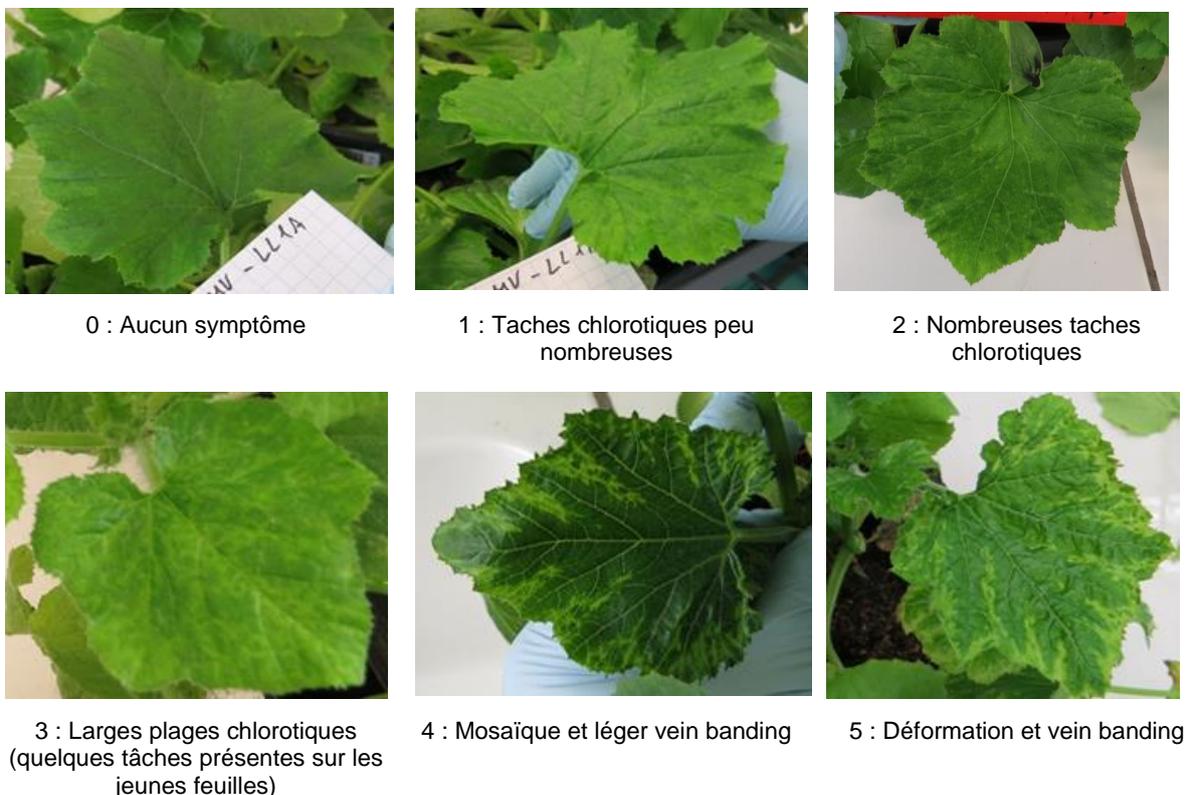


Figure 5 : Echelle de notation commune pour l'évaluation de la résistance des variétés de courgette au WMV

La section CTPS a validé le passage de classe 3 en classe 2 si les conclusions du projet étaient confirmées à l'issue de 2 sessions de tests avec déclaration WMV (tests réalisés en doublons chez l'obtenteur et au GEVES avec le protocole défini dans le projet).

3.2 ZYMV

Pour le virus ZYMV, le comportement attendu des témoins et le niveau d'agressivité des souches sélectionnés ont été confirmés (Tableau 9). Il a été décidé de ne conserver que la souche ZYMV E9 car la souche ZYMV NAT-A est peu présente au champ et si elle permet de différencier les niveaux de résistance intermédiaire en mettant en évidence les variétés dont la résistance est ou non contournée, elle ne permet de faire un tri entre variétés sensibles et variétés résistantes intermédiaires, ce qui est l'objectif de ce test.

Tableau 9 : Moyennes des notes par laboratoire avec l'échelle commune pour la souche ZYMV E9

| Stade 1ère feuille | Attendu | Labo 1 | Labo 3 | Labo 4 | Labo 5 | Labo 6 | Labo 7 | Labo 8 | Labo 9 |
|--------------------|---------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| CORA | S | 5.00 | 5.00 | 6.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 |
| 8 | S | 5.00 | 5.00 | 6.00 | 4.45 | 5.00 | 5.00 | 5.00 | 5.00 |
| 23 | RI | 5.00 | 4.63 | 6.00 | 5.00 | 4.00 | 5.00 | 4.50 | 3,5 |
| 18 | RI | 5.00 | 4.00 | 5.00 | 5.00 | 2.00 | 4.97 | 4.00 | 2,1 |
| 11 | RI | 4.60 | 4.13 | 5.00 | 4.10 | 3.00 | 4.83 | 3.10 | 2,4 |
| 31 | RI | 3.35 | 3.69 | 4.67 | 4.20 | 2.00 | 4.39 | 3.10 | 1,7 |
| 17 | RI | 1.88 | 2.00 | 3.92 | 1.37 | 1.00 | 3.82 | 2.10 | 1.00 |
| 16 | RI | 1.95 | 2.81 | 3.58 | 1.30 | 2.00 | 2.59 | 2.94 | 1,6 |
| 34 | RI | 2.00 | 2.25 | 5.00 | 1.63 | 1.00 | 1.52 | 2.00 | 1,1 |
| 26 | RI | 0.85 | 1.75 | 3.83 | 1.47 | 0.00 | 1.85 | 1.07 | 0,7 |
| 7 | RI | 1.05 | 2.06 | 2.67 | 0.10 | 1.00 | 0.67 | 2.00 | 0,8 |
| MIRZA | RI | 2.62 | 3.50 | 5.50 | 4.00 | 2.00 | 4.36 | 3.00 | 3,1 |
| 12 (Mikonos) | RI | 1.05 | 0.81 | 3.17 | 0.41 | 1.00 | 0.79 | 1.06 | 0,6 |
| SYROS | RI | 0.80 | 0.50 | 2.33 | 0.00 | 0.00 | 0.48 | 1.20 | 1.00 |

S : sensible ; RI : résistant intermédiaire

Sur la base des résultats obtenus, une règle de décision a été établie pour l'interprétation des tests selon le schéma présenté ci-dessous (Figure 6). Le témoin résistant intermédiaire fort Syros (d'un niveau supérieur à Mikonos) n'a pas été conservé car même s'il apportait une validation supplémentaire du niveau d'agressivité du test, il n'apportait pas d'information complémentaire par rapport au témoin Mikonos pour l'interprétation des variétés. Il a donc été retiré pour limiter le nombre de témoins dans les tests.



Figure 6 : Règle de décision ZYMV

La section CTPS a validé le protocole et le matériel de référence définis lors de ce projet pour le virus ZYMV et a acté son passage de classe 3 en classe 2 à partir du 1^{er} janvier 2017.

4. Caractérisation de la collection de référence

A partir de la collection de référence du GEVES (composée des variétés commerciales présentes sur le marché et dans les catalogues commerciaux et inscrites au catalogue européen, sur les listes de l'OCVV, de l'UPOV, OCDE et des variétés en APV), une core collection de 160 variétés a été constituée sur les critères suivants : des variétés inscrites au catalogue européen depuis 1995 non radiées, possédant une résistance à au moins un des trois virus, en supprimant les *Cucurbita pepo* autres que courgette ou courgette ronde (la date de 1995 correspondant à la date d'apparition des résistances en courgette). L'évaluation de la résistance de cette core collection a été réalisée selon les protocoles et avec le matériel de référence définis durant le projet (Figures 7, 8 et 9). Les résultats seront utilisés par le SEV (Secteur d'Etude des Variétés) dans le cadre des demandes d'inscription des variétés pour les études de DHS.

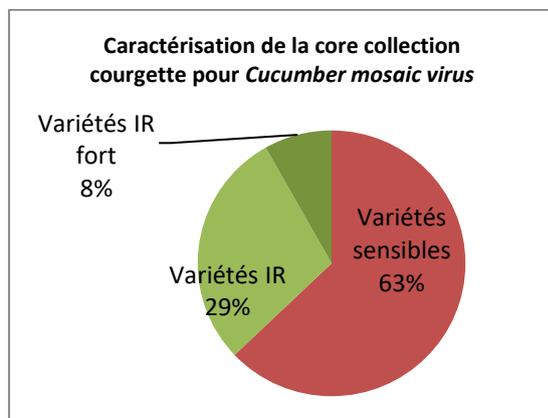


Figure 7 : Test réalisé avec le protocole validé

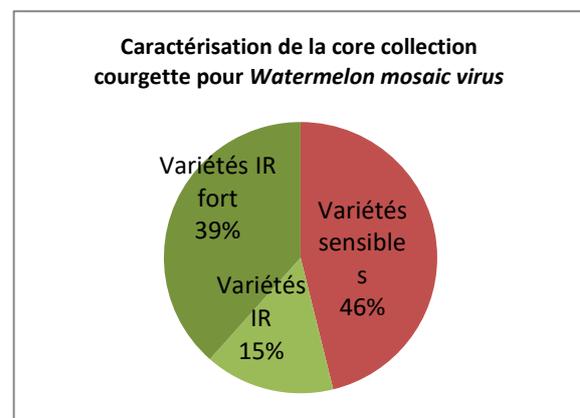


Figure 8 : Test réalisé avec le protocole validé

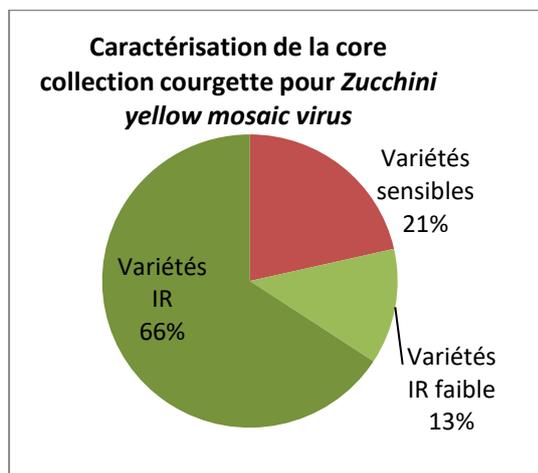


Figure 9 : Test réalisé avec le protocole validé

Remerciements

Ces travaux ont bénéficié du soutien financier du Ministère en charge de l'Agriculture, grâce au fond CASDAR semences (projet n° C2012-09).

Références bibliographiques

- Desbiez C., Lecoq H., 1997. *Zucchini yellow mosaic virus*. Plant Pathology, **46**, 809-829.
- Desbiez C., Gal-On A., Girard M., Wipf-Scheibel C., Lecoq H., 2003. Increase in *Zucchini yellow mosaic virus* symptom severity in tolerant zucchini cultivars is related to a point mutation in P3 protein and is associated with a loss of relative fitness on susceptible plants. Phytopathology **93**, 1478-1484.
- Desbiez C., Costa C., Wipf-Scheibel C., Girard M., Lecoq H., 2007. Serological and molecular variability of watermelon mosaic virus (genus Potyvirus). Arch. Virol. **152**, 775-781.
- Desbiez C., Joannon B., Wipf-Scheibel C., Chandeysson C., Lecoq H., 2009. Emergence of new strains of *Watermelon mosaic virus* in South-Eastern France: evidence for limited spread but rapid local population shift. Virus Res. **141**, 201-208.
- Lecoq H., 1992. Les virus des cultures de melon et de courgette de plein champ. PHM Revue horticole **323**, 23-28 ; **324**, 15-25
- Lecoq H., Wisler G., Pitrat M., 1998. Cucurbit viruses: the classics and the emerging. In 'Cucurbitaceae '98 Evaluation and Enhancement of Cucurbit Germplasm' (McCreight, J.D. ed.) ASHS Press Alexandria, VA pp. 126-142.
- Lecoq H., Wipf-Scheibel C., Chandeysson C., Le Van A., Fabre F., Desbiez C., 2009. Molecular epidemiology of *Zucchini yellow mosaic virus* in France: an historical overview. Virus Res. **141**, 190-200.

Pour en savoir plus

- Caranta C., Pflieger S., Lefebvre V., Daubeze A. M., Thabuis A., Palloix A., 2002. QTL's involved in the restriction of *Cucumber mosaic virus* (CMV) long-distance movement in pepper. Theor Appl Genet, **104**, 586-591.
- Dumas De Vaulx R., Pitrat M., 1979. Interspecific cross between *Cucurbita pepo* and *C. martinii*. Cucurbit Genetics Cooperative, **2**, 35.
- Lebeda A., Kristkova E., 1996. Resistance in *Cucurbita pepo* and *Cucurbita maxima* germplasms to *Cucumber mosaic virus*. Genetic Resources and Crop Evolution, **43**, 461-469.
- Luis Arteaga M.P., Quiot J.B., Leroux J., 1976. Mise en évidence d'une souche de watermelon mosaic virus (WMV2) dans le Sud-Est de la France. Ann. Phytopathol. **8**, 347-353.
- Palukaitis P., Garcia-Arenal F., 2003. Cucumoviruses. Adv. Vir. Res. **62**, 242-323.
- Paris H.S., Cohen S., 2000. Oligogenic inheritance for resistance to *Zucchini yellow mosaic virus* in *Cucurbita pepo*. Ann. Appl. Biol., **136**, 209-214.
- Provvidenti R., Gonsalves S.D., Humaydan H.S., 1984. Occurrence of *Zucchini yellow mosaic virus* in Cucurbits from Connecticut, New York, Florida and California. Plant Disease, **68**: 443-446.
- Rizos H., Gunn L.V., Pares R.D., Gillings M.R., 1992. Differentiation of *Cucumber mosaic virus* isolates using the polymerase chain reaction. Journal of General Virology, **73**: 2009-2103.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0).



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL).