

Projet ANR- 2010-STRA-001-01

VirAphid

Programme Systema 2010

A	IDENTIFICATION	2
B	RESUME CONSOLIDE PUBLIC	2
B.1	Résumé consolidé public en français.....	2
B.2	Résumé consolidé public en anglais.....	4
C	MEMOIRE SCIENTIFIQUE.....	5
C.1	Résumé du mémoire	6
C.2	Enjeux et problématique, état de l'art.....	6
C.3	Approche scientifique et technique.....	6
C.4	Résultats obtenus	7
C.5	Exploitation des résultats	9
C.6	Discussion.....	10
C.7	Conclusions	11
C.8	Références	11
D	LISTE DES LIVRABLES	12
E	IMPACT DU PROJET.....	15
E.1	Indicateurs d'impact.....	15
E.2	Liste des publications et communications	15
E.3	Bilan et suivi des personnels recrutés en CDD (hors stagiaires).....	19

A IDENTIFICATION

Acronyme du projet	VirAphid
Titre du projet	
Coordinateur du projet (société/organisme)	INRA-GAFL
Période du projet (date de début – date de fin)	01/2011 – 10/2015
Site web du projet, le cas échéant	

Rédacteur de ce rapport	
Civilité, prénom, nom	Nathalie Boissot
Téléphone	04 32 72 27 45
Adresse électronique	Nathalie.boissot@paca.inra.fr
Date de rédaction	07/2015

Si différent du rédacteur, indiquer un contact pour le projet	
Civilité, prénom, nom	
Téléphone	
Adresse électronique	

Liste des partenaires présents à la fin du projet (société/organisme et responsable scientifique)	INRA-GAFL (Nathalie Boissot); INRA pathologie Végétale (Benoît Moury), CBGP (Flavie Vanlerberghe)
---	---

B RESUME CONSOLIDE PUBLIC

B.1 RESUME CONSOLIDE PUBLIC EN FRANÇAIS

Déployer des cultures résistantes aux virus et aux pucerons : où et comment ?

Les résistances génétiques des plantes aux bioagresseurs permettent de réduire significativement l'utilisation des pesticides, répondant aux exigences réglementaires et aux attentes des agriculteurs et consommateurs. Leur utilisation est limitée par les possibilités d'adaptation des bioagresseurs et par la rareté des gènes de résistance à effets forts (gènes majeurs) parmi les ressources génétiques. Pour faire face à ces difficultés, VirAphid propose de nouveaux critères de création variétale intégrant la durabilité des résistances, ainsi que des stratégies pour gérer durablement les résistances présentes chez les variétés actuellement disponibles

Nous avons évalué l'impact de combinaisons de résistances aux pucerons sur la dynamique et la structure génétique de leurs populations, l'impact de combinaisons de résistances aux pucerons sur les populations de virus qu'ils transmettent, et l'impact de combinaisons de résistances aux virus sur leur populations. Nous avons défini des stratégies de gestion durable des résistances aux pucerons et aux virus qui prennent en compte des critères économique.

Des recherches *in situ*, au laboratoire et *in silico*

Des expérimentations ont été conduites en plein champ pour comprendre les processus impliqués dans l'adaptation du puceron *Aphis gossypii* à la résistance du melon. Des facteurs génétiques de l'adaptation ont été recherchés *in silico* et au laboratoire. Pour comprendre les processus impliqués dans l'adaptation de différents virus aux résistances chez le melon et le piment, les expériences ont été conduites soit en plein champ, soit au laboratoire. Les approches prédictives ont été développées *in silico*. Nous avons construit un modèle mathématique pour élaborer des stratégies de déploiement de variété résistantes aux virus visant soit (i) à minimiser les pertes de rendement dues aux virus sur le moyen terme, soit (ii) à réduire ces pertes autant que possible tout en évitant que les virus adaptés aux résistances diffusent dans les populations virales. Parmi les critères clés, deux sont manipulables (i) les caractéristiques moléculaires de l'interaction plante-virus, c'est-à-dire le choix du gène de résistance (ii) la connectivité du paysage agricole dans lequel le déploiement a lieu.

Résultats majeurs du projet

Les facteurs clés de l'évolution des populations de puceron vers une adaptation à la résistance chez le melon sont la disponibilité en Cucurbitacées dans l'agrosystème et le climat. Chez les pucerons adaptés plusieurs mécanismes sont sous-jacents à cette adaptation.

L'adaptation des virus à la résistance des plantes peut conduire à l'apparition de super-contournant. Cependant des gènes chez les plantes permettent de réduire la fréquence d'apparition des virus adaptés. Ces gènes peuvent être utilisés en sélection. Une résistance aux virus induite par *A. gossypii*, ne peut être contournée par les virus.

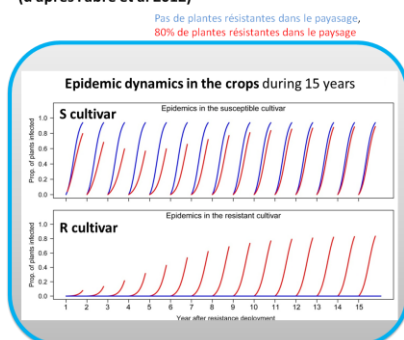
Les résistances des plantes aux virus et aux pucerons peuvent être utilisées à grande échelle dans certains agrosystèmes et garder leur efficacité à long terme si le déploiement est raisonné à l'échelle des bassins de production. Ceci nécessite une information précise sur les résistances contenues dans les variétés et une action concertée au niveau régional pour leur utilisation.

Production scientifique et brevets depuis le début du projet

VirAphid a produit à ce jour 9 articles publiés dans des revues scientifiques internationales et renommées. D'autres articles sont en préparation. Les chercheurs ont communiqué dans une dizaine de congrès internationaux. Les résultats ont été présentés auprès des professionnels 'créateurs de variétés maraîchères' en France pendant toute la durée du projet.

Illustration

Effet de la résistance aux virus sur les épidémies dans un paysage composé de plantes sensibles et résistantes (d'après Fabre et al 2012)



Informations factuelles

VirAphid est un projet de recherche fondamentale conduit par quatre unités de recherche basées à Avignon et Montpellier : UR Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, UR Pathologie Végétale, UR Biostatistiques des Processus Spatiaux et le Centre de Biologie pour la Gestion des Populations. Coordonné par Nathalie Boissot de l'INRA-GAFL, le programme a fédéré les travaux de 12 chercheurs permanents de l'INRA, accompagnés de 4 chercheurs en CDD. L'aide accordée par l'ANR a été de 979 000 euros pour un coût global estimé de 4 338 000 euros. Le projet a débuté en janvier 2011 et s'est terminé en septembre 2015.

B.2 RESUME CONSOLIDE PUBLIC EN ANGLAIS

Deployment of crop varieties resistant to virus and aphids: which strategies ?

Plant resistances to pests and pathogens significantly reduce pesticide use, meeting the regulatory requirements and expectations of farmers and consumers. Deployment of plant resistances is limited by the possibilities of adaptation of pests and pathogens and the scarcity of resistance genes having a strong impact (major genes) among the genetic resources. To face these challenges, VirAphid offers new breeding criteria integrating resistance durability, as well as strategies to sustainably manage the resistances present in the varieties currently available.

We evaluated the impact of combinations of resistance to aphids on the dynamics and genetic structure of aphid populations, the impact of combinations of resistance to aphids on the dynamics and genetic structure aphid-borne viruses, and the impact of combinations of resistance to viruses virus populations. We defined sustainable management strategies of resistance to aphids and viruses that take into account economic criteria.

In situ, in lab and *in silico* works

Experiments were conducted at the field and agrosystem levels to understand the processes involved in *Aphis gossypii* adaptation to the melon resistance. Genetics factors involved in this adaptation were investigated *in silico* and in laboratory. To understand the processes involved in adaptation of different viruses to melon and pepper resistances, the experiments were conducted either in the field or in the laboratory.

Predictive approaches have been developed by mathematical modelling. Strategies of virus resistant cultivar deployment were drawn (i) to minimize yield losses due to viruses in the medium term, or (ii) to reduce these losses as much as possible while avoiding adapted viruses to swamp the virus populations. Among the key criteria, two are manipulated (i) the molecular characteristics of the virus-plant interaction, that is to say the choice of the resistance gene and (ii) connectivity agricultural landscape wherein the deployment takes place.

Main results

Two bottlenecks were identified in the dynamics of adapted aphid clones colonizing melon crops, due to a low level of production of dispersal morphs and winter extinctions both depending on the climate and the Cucurbitaceae availability in the agro-ecosystem. In aphids adapted several mechanisms underlying this adaptation.

The virus adaptation to plant resistances can lead to the emergence of 'super clones' performing better on susceptible plants. However some genes in plants can reduce the

occurrence of adapted virus. These genes can be used in selection. Resistance to virus induced by *A. gossypii* cannot be overcome by viruses.

The plant resistance to viruses and aphids can be used on a large scale in some agricultural systems and keep their long-term effectiveness if the deployment is reasoned at the production area scale. This requires accurate information on the resistances contained in cultivars and concerted action at the regional level for their use.

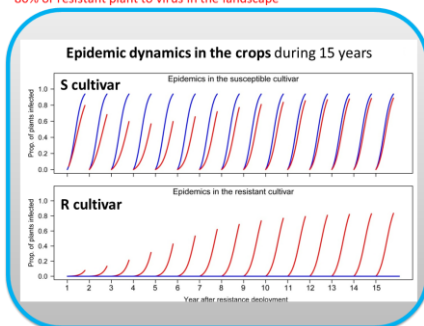
Scientific production

VirAphid produced up to date nine articles published in international and renowned journals. Other manuscripts are in preparation. Researchers reported in a dozen international conferences, the results were presented to seed companies in France for the duration of the project.

Pictures

Effect of resistance to virus on epidemics in a landscape of susceptible and resistant crops (d'après Fabre et al 2012)

No resistant plant to virus in the landscape,
80% of resistant plant to virus in the landscape



Factual Informations

VirAphid is a research project conducted by four research departments of INRA based in Avignon and Montpellier: UR Genetics and Improvement of Fruits and Vegetables (GAFL), UR Plant Pathology, UR Biostatistics and Spatial Processes and CBGP. Nathalie Boissot (GAFL) coordinated VirAphid, which federated the work of 12 permanent INRA researchers, accompanied by four contract researchers. The grant from the ANR was 979 000 for a total estimated cost of 4.3 million euros. The project started in January 2011 and ended in September 2015.

C MEMOIRE SCIENTIFIQUE

Mémoire scientifique confidentiel : Non

C.1 RESUME DU MEMOIRE

Les travaux décrivent la capacité des virus et des pucerons à s'adapter à différents types de résistance chez les plantes, limitation majeure à leur large utilisation en agriculture. Les travaux menés en laboratoire, *in silico* et *in situ* montrent que ces résistances peuvent être durables sous certaines conditions d'utilisation ou dans certains agrosystèmes. Des nouveaux critères de sélection pour des résistances durables aux virus sont proposés.

C.2 ENJEUX ET PROBLEMATIQUE, ETAT DE L'ART

Les résistances génétiques des plantes sont un moyen efficace de contrôler les bioagresseurs et permettent de réduire significativement l'utilisation des pesticides, répondant aux exigences réglementaires et aux attentes des agriculteurs et consommateurs. Les limites majeures à leur utilisation résident dans les possibilités d'adaptation des bioagresseurs et dans la rareté des gènes de résistance à effets forts (gènes majeurs) parmi les ressources génétiques. Pour faire face à ces difficultés, nous devons (i) développer de nouvelles méthodes de création variétale intégrant la durabilité des résistances, (ii) concevoir de nouvelles stratégies pour gérer durablement les résistances présentes chez les variétés actuellement disponibles et (iii) explorer les potentialités de gènes de résistance à effets partiels (QTL) beaucoup plus largement répandus parmi les ressources génétiques.

Jusqu'à récemment, les recherches sur les résistances génétiques ont porté sur l'identification des sources de résistance dans les collections d'espèces cultivées, l'étude de leur hérédité, l'identification des gènes responsables pour comprendre les bases moléculaires de la résistance dans des espèces cultivées ou modèles et enfin le développement d'outils moléculaires pour l'intégration de gènes de résistance dans des programmes de création variétale. Le concept de résistance durable a été proposé par (Johnson, 1981), mais les premiers résultats marquants sur les bases de la durabilité ont été publiés 20 ans plus tard (Vera Cruz et al., 2000). Une revue récente (Mundt, 2014) liste les nombreuses questions qui restent en suspens. Nous avons produits des résultats relatifs à plusieurs d'entre-elles :

- Quels sont les mécanismes sous-jacents à la résistance quantitative qui sont pertinents pour sa durabilité ?
- La résistance quantitative sera-t-elle érodée au niveau pratique du fait de l'adaptation des bioagresseurs ciblés? En combien de temps ?
- Pouvons-nous développer des tests expérimentaux de la durabilité de la résistance ?
- Pouvons-nous améliorer la prédiction de la durabilité de combinaisons de gènes de résistance ?
- Quelles stratégies spatio-temporelles de déploiement des résistances quantitatives à l'échelle des bassins de production permettront d'assurer leur durabilité ?

C.3 APPROCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE

Nos objets biologiques sont deux cultures maraîchères (melon et piment) et les pucerons et les virus qui les affectent. Nos objectifs ont été d'évaluer l'impact de combinaisons de résistances sur la dynamique et la structure génétique de ces deux types

d'agresseurs et de définir des stratégies de gestion durable des résistances aux pucerons et aux virus.

Des expérimentations ont été conduites en plein champ et au laboratoire pour comprendre les processus impliqués dans l'adaptation des virus et des pucerons à différentes combinaisons de résistance (gènes majeurs et QTL), à différentes échelles (depuis les génomes individuels jusqu'aux bassins de production agricole). Nos résultats ont été intégrés dans des modèles mathématiques du contournement des résistances par les virus et les pucerons.

C.4 RESULTATS OBTENUS

1/ Impact de combinaisons de résistances à *Aphis gossypii*, le puceron du melon, sur la dynamique et la structure génétique des populations de cette espèce

Le gène *Vat* chez le melon, vu jusqu'alors comme un gène majeur de résistance à *A. gossypii*, est en fait un cluster d'au moins deux gènes très proches *Vat-1* et *Vat-2*, chacun présentant plusieurs formes alléliques pour la résistance (Boissot et al., in revision). Ce cluster confère une résistance quantitative à *A. gossypii*, plus ou moins forte selon les clones de puceron considérés.

Le nombre d'*A. gossypii* qui visitent les cultures de melon est très variable selon les années et les bassins de production (D2.2). Remarquablement, le niveau initial d'infestation de la parcelle n'est pas déterminant pour l'importance des populations observées plus tard sur les plantes de melon (D1.1). En présence du cluster de gènes de résistance présent dans l'accession de melon PI 161375 (mais pas de celui présent dans l'accession 90625), les densités sont réduites dans les trois bassins de production de melon testés (la combinaison de QTL à effets mineurs ce cluster n'amplifie pas significativement cette réduction) (D1.1). Cependant si la réduction de la dynamique des pucerons est toujours suffisante dans le Sud-Ouest pour maintenir les niveaux de populations sous ou au niveau du seuil d'intervention chimique, cet effet n'est jamais suffisant en Guadeloupe (sauf en 2008), et suffisant seulement jusqu'en 2012 dans le Sud-Est mais pas après (D2.5). Les populations attaquant les cultures de melon sont géographiquement structurées (D2.4). En accord avec les tests en laboratoire (D4.1), au niveau de la parcelle, le cluster présent dans PI 161375 affecte un groupe génétique particulier d'*A. gossypii*. Dans le seul bassin de production où cette résistance a été largement déployée, nous avons révélé un déplacement graduel des populations en défaveur des clones assignés à ce groupe (D2.5) en analysant les données collectées depuis 2004 (D2.6).

Le gène *Vat-1* appartient à la famille des gènes de résistance NBS-LRR. Pour ce type de résistance, les adaptations des bioagresseurs décrites classiquement sont liées à des modifications du facteur d'avorulence qui déclenche la résistance (Rouxel and Balescent, 2011). Nous avons identifié une cinquantaine de candidats pour ce facteur d'avorulence chez *A. gossypii* (D4.3), ce qui ouvre la porte à son identification. *A. gossypii* peut déclencher la résistance *Vat* et y être plus ou moins adapté (D4.1 et D4.2).

2/ Impact de combinaisons de résistances à *A. gossypii* sur les populations de virus transmis par pucerons

Les espèces et le nombre de pucerons qui visitent les cultures sont variables selon les années et les bassins de production (D2.1 et D2.2). Dans le Sud-Est de la France, les pucerons visiteurs sont au moins 10 fois plus nombreux qu'en Guadeloupe et le nombre d'espèces est 10 fois plus grand qu'en Guadeloupe. La résistance *Vat* n'a d'effet que sur les virus transmis

par *A. gossypii*, espèce qui représente moins de 20% des pucerons visiteurs du Sud-Est et 50% ou plus des pucerons visiteurs en Guadeloupe (D2.1).

En Guadeloupe, les épidémies virales sont très limitées. Ce pourrait être dû au faible nombre de pucerons qui visitent les parcelles et qui assurent les inoculations primaires. Un très grand nombre de pucerons colonisent les plantes de melon (D1.1.), cependant ces individus sédentaires n'assurent que peu, voire pas, d'inoculations secondaires. Dans le Sud-Est, les épidémies de virus sont importantes, ce qui est probablement dû au grand nombre de pucerons qui visitent les parcelles (D2.2). En présence du cluster de gènes de résistance présent dans l'accession de melon PI 161375 les épidémies de CABYV et de CMV (mais pas celles de WMV) sont ralenties dans tous les essais suivis dans le Sud-Est, (D1.3). La structure génétique des populations virales n'est pas modifiée en présence quel que soit le cluster de résistance testé (D3.2). Les expériences d'évolution en laboratoire ont montré que le CMV et le WMV ne pouvaient pas évoluer pour contourner la résistance élicitee par *A. gossypii* (D5.1).

Quel que soit le mode de transmission des virus, la combinaison au cluster présent dans PI 161375 de QTL à effets faibles sur *A. gossypii* n'impacte pas le développement des épidémies virales.

3/ Impact de combinaisons de résistances aux virus sur les populations virales

L'aptitude de certaines souches de CMV à contourner une résistance constituée de plusieurs QTL est associée à la 1^{ère} moitié de l'ARN génomique 1. La mutation d'un acide aminé (substitution E355K dans la protéine 1a, réplicase) est vraisemblablement nécessaire mais non suffisante pour conférer la virulence. Un déterminant additionnel de la virulence existe certainement dans la même région ou dans une autre région du génome mais n'a pas été identifié.

Toujours face à une résistance polygénique et quantitative, nous avons montré que ce type de résistance peut être contourné par le PVY (D5.1). Ce contournement est associé à un coût chez la variété sensible. Plus surprenant, le contournement conduit à un niveau d'adaptation plus important chez la variété résistante que le virus n'était adapté au départ chez la variété sensible (ou après plusieurs passages successifs chez cette variété sensible) (D5.5). On observe donc en quelque sorte un « super-contournement » et l'utilisation de telles résistances peut donc être assez risquée. Le séquençage des populations virales n'a révélé que très peu de différences par rapport au virus initial, non adapté (D5.3). Seules deux substitutions non synonymes ont été identifiées dans le génome des 10 populations de PVY adaptées. Ces 2 substitutions sont localisées dans la protéine Nib (réplicase), en positions 12 et 465. Par génétique inverse, seule l'implication de la mutation en position 465 a été validée pour l'adaptation à la résistance polygénique.

Nous avons également évalué la durabilité d'une résistance au PVY combinant le gène majeur *pvr2³* et plusieurs QTL. Trois mécanismes augmentent très fortement la durabilité de *pvr2³* en présence des QTL : l'efficacité de la résistance, la nécessité d'accumuler davantage de mutations pour le contournement du gène *pvr2³* et une sélection plus lente des mutants par ce gène majeur (D5.5). Nous avons cartographié chez le piment 4 QTL de fréquence de contournement de *pvr2³*, 3 de ces QTL étant colocalisés avec des QTL de résistance partielle (diminuant l'accumulation virale et/ou l'intensité des symptômes) chez les lignées porteuses du gène majeur (D5.6). En l'absence du gène majeur, l'un de ces QTL à effet majeur n'est plus significatif, suggérant une forte interaction entre ce QTL d'accumulation virale et le gène majeur de résistance *pvr2³*.

4/ Stratégies de gestion durable des résistances aux pucerons et aux virus.

Nous avons identifié deux facteurs clé pour l'invasion des populations de pucerons par des clones contournant la résistance du cluster de gènes présent dans PI 161375: 1/ la capacité à produire des morphes dispersantes sur les plantes résistantes, 2/ la capacité à se maintenir d'une année sur l'autre, liée à la présence de cultures plus ou moins permanentes de cucurbitacées dans l'agrosystème. Le déploiement des variétés résistantes devrait être décidé en fonction de ces deux critères (D6.2).

Nous avons développé un modèle mathématique permettant de proposer des stratégies de gestion durable des résistances qualitatives aux virus de cultures annuelles (D6.1). Ce modèle simule la dynamique démo-génétique d'une population virale à l'échelle d'un paysage agricole. Ce paysage est composée d'un compartiment cultivé, composé de nombreuses parcelles agricoles implantées et sujet à des dynamiques épidémiques saisonnières, et d'un compartiment sauvage, hébergeant les populations virales entre les saisons de culture. Le modèle est basé sur un système d'équations différentielles ordinaires couplé à un formalisme semi-discret reproduisant la saisonnalité des systèmes agricoles considérés.

Sur la base de ce modèle, nous avons identifié des stratégies optimales de gestion des résistances (D6.2). Ces stratégies reposent sur l'utilisation de mélanges de variétés sensibles et résistantes (au sein d'une saison de culture) et sur l'évolution de la proportion de variétés résistantes dans les mélanges d'une année à la suivante. Ces stratégies cherchent soit (i) à minimiser les pertes de rendement dues aux virus sur le moyen terme, soit (ii) à réduire ces pertes autant que possible tout en évitant que les virus adaptés aux résistances diffusent dans les populations virales.

Nous avons montré que les stratégies optimales de gestion des résistances dépendent principalement de trois facteurs : (i) les caractéristiques moléculaires de l'interaction plante-virus, (ii) l'intensité des épidémies virales avant le déploiement et (iii) la connectivité du paysage agricole dans lequel le déploiement a lieu.

C.5 EXPLOITATION DES RESULTATS

Nous avons mis en évidence en évidence de réponses différentielles de résistance du melon face à différents clones d'*A. gossypii*. Les nouvelles sources de résistance sont d'ores et déjà utilisées par les entreprises privées. Les modalités d'évaluation des variétés pour ce critère lors de l'inscription au catalogue reposant sur une évaluation avec un seul clone, elles ne permettent pas de juger complètement de la résistance et elles devraient être revisitées.

Pour assurer la durabilité de la résistance aux pucerons, si la manipulation de l'agrosystème pour favoriser l'extinction locale est irréaliste, augmenter la durabilité d'un gène majeur en lui associant des QTL qui diminuent la production de morphes dispersants peut-être envisagé. Cependant la production de morphes dispersantes est difficilement phénotypable. Nous passerons donc par la modélisation des processus de développement des populations de pucerons pour identifier les phases clés qui conduisent à l'apparition de morphes

dispersantes en utilisant les données de terrain et de laboratoire obtenus au cours de VirAphid (reprise de D6.4).

Concernant la résistance aux virus, la première cartographie de loci affectant directement la durabilité d'une résistance ouvre de nouvelles voies en sélection (PVY). Enfin, l'exploration dans une core collection de piment a montré que les fonds génétiques renforçant la durabilité de gènes majeurs (*pvr2³* et *pvr2⁴*) sont assez fréquents dans les ressources génétiques et associés à la résistance quantitative dans ces ressources génétiques (Quenouille et al., 2015). Les spécimens de pucerons récoltés et identifiés dans VirAphid constituent le jeu de données de référence d'une étude développée au CBGP sur l'identification des pucerons par métabarcoding. Cet outil nous permettra d'identifier de manière concomitante l'ensemble des spécimens capturés dans un piège. L'identification moléculaire massive de ce type d'échantillonnage sera une avancée majeure pour les études de dynamique des populations et de phytovirologie.

C.6 DISCUSSION

28 livrables ont été produits sur 33 initialement prévus plus 3 livrables non prévus.

Nous avons identifié deux verrous :

1/ la capacité à établir des mesures quantitatives de l'adaptation chez les virus et les pucerons. Ce verrou a été levé comme en témoigne la mesure reproductible de la durabilité d'un gène majeur associé à des fonds génétiques variés. En effet, la forte héritabilité de ce caractère a permis la cartographie de 4 QTL de durabilité. De plus, la cohérence de ces QTL a été confirmée par :

- la colocalisation de deux d'entre-eux avec des QTL contrôlant l'accumulation virale, hypothèse que nous avons formulée au préalable ;
- la colocalisation étroite du QTL majeur avec un gène codant pour un eFiso4E, de même famille que le gène majeur, ouvrant la voie à la compréhension des mécanismes moléculaires en jeu dans la durabilité du gène majeur ;
- la mise en évidence du même QTL majeur par une approche indépendante (génétique d'association ; Quenouille et al. 2015).

Ces résultats soulignent la pertinence de l'étude de la durabilité des résistances par des approches d'évolution expérimentale en laboratoire.

2/ Nous avons très largement étendu notre compréhension du fonctionnement de la résistance aux pucerons d'un point de vue génétique en utilisant des plantes transgéniques (non prévu au départ). Ceci nous a permis d'avoir une démarche plus précise pour la recherche d'un gène d'avirulence correspondant chez le puceron. Le choix de produire de novo un transcriptome pour contourner le manque de données de référence chez le puceron a été très porteur et nous espérons identifier le 'bon candidat' d'avirulence dans les années à venir (projet déjà engagé). Notre vue partagée de la résistance aux virus, transmis selon le mode non persistant, élicitee par puceron nous a permis de montrer que cette résistance était durable.

Le modèle démo-génétique des populations de pucerons sur melons résistants n'est pas abouti, en partie du fait des différences d'échelle pour les paramètres collectés. Nous pensons pouvoir le conduire à son terme. L'utilisation d'une méthodologie récemment

présentée pour tester l'évolution au laboratoire de populations de pucerons (Turcotte et al., 2015) pourrait permettre de lever les derniers verrous.

Nous avons prévu de coupler ce modèle à un modèle d'évolution des virus dans l'agrosystème. Nous envisageons maintenant d'utiliser directement les données d'épidémiologie des virus transmis sur le mode persistant obtenues sur les plantes résistantes aux pucerons sur le terrain pour tester l'apport de cette résistance pour la durabilité de la résistance aux virus. En effet, si l'effet de la résistance aux pucerons est de réduire l'intensité des dynamiques épidémiques, il est possible d'évaluer l'intérêt de pyramider une résistance aux pucerons vecteurs et une résistance aux virus avec le modèle « virus ». En effet, l'intensité des épidémies virales est un paramètre dont l'effet est majeur dans le modèle « virus ». La limite d'un tel couplage est toutefois qu'il ne tiendra pas compte de la dynamique d'érosion de la résistance aux pucerons.

C.7 CONCLUSIONS

VirAphid a montré que les résistances des plantes aux virus et aux pucerons peuvent être durables sous certaines conditions d'utilisation ou dans certains agrosystèmes. De nouvelles perspectives sont proposées à la sélection variétale pour prendre en compte la durabilité des résistances. L'utilisation de résistances des plantes sélectionnées avec des QTL de durabilité et déployées dans les meilleures conditions doit permettre d'assurer leur efficacité à long terme.

C.8 REFERENCES

- Johnson R. (1981) Durable resistance: definition of, genetic control, and attainment in plant breeding. *Phytopathology* 71:567-568.
- Mundt C. (2014) Durable resistance: A key to sustainable management of pathogens and pests. *Infection, Genetics and Evolution* 27:446-455.
- Rouxel T., Balescent M.-H. (2011) Avirulence genes, in: J. S. Wiley (Ed.), *Encyclopedia of Life sciences*, Chichester.
- Turcotte M.M., Lochab A.K., Turley N.E., Johnson M.T. (2015) Plant domestication slows pest evolution. *Ecology Letter* 18:907-915.
- Vera Cruz C.M., Bai J., Ona I., Leung H., Nelson R.J., Mew T.-W., Leach J.E. (2000) Predicting durability of a disease resistance gene based on assessment of the fitness loss and epidemiological consequences of avirulence gene mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13500-13505.

D LISTE DES LIVRABLES

Date de livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
M33	D1.1	Demography of <i>A. gossypii</i> colonizing plants with combinations of resistance to <i>A. gossypii</i> in different areas.	Données	GAFI N. Boissot	Disponible dans (Thomas et al., Submitted)
M33	D1.2	Virus occurrence on plants with combinations of resistance to <i>A. gossypii</i> .	Données	Pathologie Végétale H. Lecoq	Annexe D1.2
M33	D1.3	Virus dynamics on combinations of resistance to <i>A. gossypii</i> in Provence-Alpes-Côte d'Azur.	Données	Pathologie Végétale A. Schoeny	Annexe D1.3
M32	D1.4	Collection of alate aphids (different species) from different areas.	Matériels	Pathologie Végétale A. Schoeny	Disponible pour les chercheurs impliqués dans VirAphid
M32	D1.5	Collection of apterous <i>A. gossypii</i> sampled on resistance combinations. Available to other researchers participating to VirAphid.	Matériels	GAFI N. Boissot	Disponible pour les chercheurs impliqués dans VirAphid
M32	D1.6	Collection of 25 clones of <i>A. gossypii</i> alive, sampled on resistance combinations Kept at Unit of Inra Avignon.	Matériels	GAFI N. Boissot	Disponible sur demande, 5- 10 demandes /an Compagnies semencières privée + Offices de certification variétale européenne
M33	D1.7	Collection of virus isolates sampled on resistance combinations and their RNA.	Matériels	Pathologie Végétale H. Lecoq	Disponible pour les chercheurs impliqués dans VirAphid
M50	D2.1	Identification and frequency distribution of aphid species visiting melon crops.	Données	Pathologie Végétale CBGP A. Schoeny	Annexe D2.1
M50	D2.2	Dynamics of aphid species visiting melon crops in Provence-Alpes-Côte d'Azur and Guadeloupe.	Données	Pathologie Végétale CBGP A. Schoeny	Annexe D2.2
Partiel	D2.3	Contribution of sexual reproduction to diversity of <i>A. gossypii</i> species through time will be determined.	Données	CBGP/GAFI F. Vanlerberghe	Annexe D2.3

Date de livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
M48	D2.4	Genetic structure of <i>A. gossypii</i> populations in different geographical areas	Données	CBGP/GAFL F. Vanlerberghe	Disponible dans (Thomas et al., 2012; Thomas et al., Submitted)
M48	D2.5	Selective effect of resistance combinations on <i>A. gossypii</i> populations will be determined.	Données	CBGP/GAFL F. Vanlerberghe	Disponible dans (Thomas et al., Submitted)
M52	D2.6	Database on <i>A. gossypii</i> collection (~ 12000 individus, lieu et date collecte, genotype multilocus ...)	Base de données Access	GAFL N. Boissot	Non prévu dans la liste initiale Regroupe des données d'individus collectées depuis 1991 (CBGP + GAFL)
M48	D2.7	Gènes candidats pour l'adaptation d' <i>A. gossypii</i> aux Cucurbitacées	Publication en préparation	GAFL N. Boissot	Non prévu dans la liste initiale Dérivé de D4.2 et D4.3 Annexe D2.7
M36	D3.1	Partial sequences of viral isolates (CMV, ZYMV, WMV, CABYV) from melon fields	Données	Pathologie Végétale C. Desbiez	Disponible pour les chercheurs impliqués dans VirAphid
M44	D3.2	Results on the factors affecting the genetic differentiation of virus populations in melon fields	Données	Pathologie Végétale C. Desbiez	Annexe D3.2
Abandonné	D3.3	Candidate amino acid positions of viral proteins for adaptation to <i>Vat</i> -mediated resistance		Pathologie Végétale M. Jacquemond	Pas d'adaptation de virus à <i>Vat</i> (D3.2 et D 5.1)
M48	D4.1	Fitness of <i>A. gossypii</i> clones.	Données Available in (Boissot et al., in revision)	GAFL N. Boissot	Disponible dans (Boissot et al., in revision)
M52	D4.2	Mechanism of resistance breakdown: overcoming the recognition step or the plant defence responses.	Données	GAFL N. Boissot	Disponible dans (Boissot et al., in revision)
M48	D4.3	List of candidate proteins potentially involved in aphid avirulence	Données	GAFL C. Dogimont	Voir Annexe D2.7
M40	D4.4	Sequence of candidate gene orthologs in <i>A. gossypii</i> .	Données	GAFL C. Dogimont	Voir Annexe D2.7
En cours	D4.5	Polymorphism of the candidate avirulence genes within <i>A. gossypii</i> populations.	Données In prep	GAFL C. Dogimont	Annexe D4.5
En cours	D4.6	Generation of	Data in progress. Data will be	GAFL	Non prévu dans

Date de livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
		transcriptomic data from heads of <i>A. gossypii</i>	deposited in Aphidbase after analysis	C. Dogimont	projet initial Annexe D4.6
M40	D5.1	Results on the ability of CMV, ZYMV and PVY isolates to adapt to different combinations of plant resistances	Données	Pathologie Végétale B. Moury	Disponible dans (Boissot et al., in revision; Montarry et al., 2012; Quenouille et al., 2013; Quenouille et al., 2014)
M18	D5.2	Collection of virulent virus variants kept at the Plant Pathology Unit of Inra Avignon. Available upon request.	Matériels Base de données Access	Pathologie Végétale B. Moury	Disponible pour les chercheurs impliqués dans VirAphid
M30	D5.3	A list of the mutations in the virus genomes involved in adaptation to different plant resistance combinations.	Données	Pathologie Végétale B. Moury	Disponible dans (Montarry et al., 2012; Quenouille et al., 2013)
Abandonné	D5.4	Mechanisms of virus adaptation to the <i>Vat</i> -mediated resistance.	Données	Pathologie Végétale H. Lecoq	Pas d'adaptation de virus à <i>Vat</i> (D3.2 et D5.1)
M36	D5.5	Results on competitiveness of adapted virus variants.	Données	Pathologie Végétale B. Moury	Disponible dans : (Quenouille et al., 2013)
M24	D5.6	A list of QTLs influencing the durability and efficiency of a major resistance gene (<i>pvr2³</i>) and their location in the pepper genome..	Données	GAFL A. Palloix	Disponible dans : (Quenouille et al., 2014)
M20	D6.1	Model of the demo-genetic dynamics of a viral population in heterogeneous agro-ecosystems.	Modèle	Pathologie Végétale F. Fabre	Disponible dans (Fabre et al., 2012) le code source du programme est à la disposition des partenaires du projet
M48	D6.2	Strategies for deploying combinations of aphid and/or virus resistance genes in space (agro-ecosystems scale) and time (several years).	Stratégie	BioSP Pathologie Végétale GAFL F. Fabre	Pour les pucerons disponibles dans (Thomas et al., Submitted) Pour les virus, disponibles dans (Fabre et al., 2015)
En cours	D6.3	Model of the demo-genetic dynamics of <i>A. gossypii</i> on melon crops. The source code program of the	Modèle	BioSP Pathologie Végétale GAFL	Annexe D6.3

Date de livraison	N°	Titre	Nature (rapport, logiciel, données, ...)	Partenaires (souligner le responsable)	Commentaires
		model will be available to the partners of the program in late 2015.		F. Fabre	
Partiel	D6.4	Decision rules for combining aphid and/or virus resistance genes in a breeding programme. The strategies and their analysis will be published in a peer review international journal.		BioSP Pathologie Végétale GAFL F. Fabre	Annexe D6.4

E IMPACT DU PROJET

E.1 INDICATEURS D'IMPACT

Nombre de publications et de communications (à détailler en E.2)

		Publications multipartenaires	Publications monopartentaires
International	Revue à comité de lecture	7	2
	Ouvrages ou chapitres d'ouvrage		
	Communications (conférence)	6	4
France	Revue à comité de lecture		
	Ouvrages ou chapitres d'ouvrage		
	Communications (conférence)	1	5
Actions de diffusion	Articles vulgarisation	2 en préparation	
	Conférences vulgarisation		7
	Autres		

Autres valorisations scientifiques (à détailler en Erreur ! Source du renvoi introuvable.)

E.2 LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Revue à comité de lectures

Boissot N., Thomas S., Chovelon V., Lecoq H. (in revision) NBS-LRR-mediated resistance triggered by aphids: viruses do not adapt; aphids adapt via different mechanisms. BMC Plant Biology.

Multipartentaires

Fabre F., Rousseau E., Mailleret L., Moury B. (2012) Durable strategies to deploy plant resistance in agricultural landscapes. New Phytologist 193:1064-1075.

- Fabre F., Rousseau E., Mailleret L., Moury B. (2015) Epidemiological and evolutionary management of plant resistance: optimizing the deployment of cultivar mixtures in time and space in agricultural landscapes. *Evolutionary Applications* In press.
- Montarry J., Cartier E., Jacquemond M., Palloix A., Moury B. (2012) Virus adaptation to quantitative plant resistance: erosion or breakdown? *Journal of Evolutionary Biology* 25:11.
Multipartenaires
- Quenouille J., Montarry J., Palloix A., Moury B. (2013) Farther, slower, stronger: how the plant genetic background protects a major resistance gene from breakdown. *Molecular Plant Pathology* 14:109-118.
Multipartenaires
- Quenouille J., Paulhiac E., Moury B., Palloix A. (2014) Quantitative trait loci from the host genetic background modulates the durability of a resistance gene: a rational basis for sustainable resistance breeding in plants. *Heredity* 112:579-587.
Multipartenaires
- Quenouille J., Saint-Felix L., Moury B., Palloix A. (2015) Diversity of genetic backgrounds modulating the durability of a major resistance gene. Analysis of a core collection of pepper landraces resistant to Potato virus Y. *Molecular Plant Pathology*.
Multipartenaires
- Thomas S., Boissot N., Vanlerberghe-Masutti F. (2012) What do spring migrants reveal about sex and host selection in the melon aphid? *BMC Evolutionary Biology* 12:
Multipartenaires
- Thomas S., Vanlerberghe-Masutti F., Mistral P., Loiseau A., Boissot N. (Submitted) Insight into the durability of aphid resistance from the demo-genetic study of *Aphis gossypii* populations in melon crops.
Multipartenaires

Communications à des conférences (* Internationales)

- * Boissot N., Thomas S., Mistral P., Chareyron V., Rittener V. (2014): Insights into the genetic control of resistance to *Aphis gossypii* in melon: what we learnt from the diversity of aphids. Presented at: 2nd international Hemipteran-Plant interactions symposium, Riverside, USA. Présentation orale
 - * Boissot N., Thomas S., Chareyron V., Mistral P. (2012). Characterization of adaptation to a resistance gene with a pleiotropic effect, the *Vat* gene in melon. Presented at Plant Resistance Sustainability 2012 International Conference, La Colle-Sur-Loup, France. Présentation orale
 - * Dutartre L., Boissot N. (2013). Which strategies to search for avirulence factor in resistance plant/aphid interaction. Presented at 6. Effectome meeting, Lauret, France. Présentation orale
 - * Dutartre-Fricaux L., J.-P. Bouchet, Beucher, C., Boissot N, Dogimont C (2014) Identification by a RNAseq approach of virulence gene candidates in the non-model species *Aphis gossypii*. Presented at 2nd international Hemipteran-Plant interactions symposium: 2014; Riverside, USA. Poster
- Dutartre 2013 Utilisation des NGS pour la recherche des gènes d'avirulence d'une espèce non modèle : *Aphis gossypii*. Présenté aux journées du réseau 'Biologie adaptative des pucerons et Organismes associés'. Montpellier, France. Présentation orale.
- * Fabre F, Rousseau E, Mailleret L, Moury B 2012. Sustainable plant resistance management in agricultural landscapes. Presented at Plant Resistance Sustainability 2012 International Conference, La Colle-Sur-Loup, France. Présentation orale
- Fabre F, Rousseau E, Mailleret L, Moury B 2012. Durable strategies to deploy plant resistance in agricultural landscapes. 8ème colloque de la Société Française de Phytopathologie. Paris, France Présentation orale.
- * Fabre F, Rousseau E, Mailleret L, Moury B 2013. Sustainable plant resistance management in agricultural landscapes. In: 12. International Symposium on Plant Virus Epidemiology. Evolution, Ecology & Control of Plant Viruses. Program and Book of Abstracts (p. 33). Communication présentée à 12ième IPVE Symposium, Arusha, Tanzanie (2013-01-28 - 2013-

- 02-01) 12. IPVE Symposium, Arusha, Tanzanie (2013-01-28 - 2013-02-01). Ibadan, NGA : International Institute of Tropical Agriculture. Présentation orale invitée.
- * Quenouille-Lederer, J., Paulhiac, E., Mistral, P., Nemouchi, G., Sage-Palloix, A.-M., Savio, B., Simon, V., Moury, B., Palloix, A. 2012. Identification of a genetic factor determining the durability of a plant major resistance gene and quantitative resistance to virus accumulation. Presented at Molecular Plant - Microbe Interaction. Kyoto, Japan. Poster
 - * Quenouille-Lederer, J., Paulhiac E, Mistral P, Nemouchi G, Sage-Palloix AM, Savio B, Simon V, Moury B, Alain Palloix 2012. The durability of a major resistance gene is affected by quantitative trait loci which also confer quantitative resistance to virus. Presented at Plant Resistance Sustainability 2012 International Conference, La Colle-Sur-Loup, France. Présentation orale
- Rousseau E, Moury B, Fabre F, Mailleret L. 2013. Sustainable plant resistance management in agricultural landscapes. Communication présentée à 14. Rencontres de Virologie Végétale (RVV2013), Aussois, France (2013-01-13 - 2013-01-17). Présentation orale.
- * Thomas S., Vanlerberghe-Masutti F., Boissot N. (2013). Effects of genetic resistance combinations in melon on density and genetic diversity of *Aphis gossypii* populations in fields. Presented at 9. International Symposium on Aphids (9ISA 2013), Beijing, China. Présentation orale
Multipartenaires
 - * Thomas S., Vanlerberghe-Masutti F., Chareyron V., Mistral P., Boissot N. (2012). Effects of resistance combinations in melon on *Aphis gossypii* field populations. Presented at Plant Resistance Sustainability 2012 International Conference, La Colle-Sur-Loup, France. Présentation orale
Multipartenaires
- Thomas S., Boissot, N., Vanlerberghe-Masutti, F. (2012). Que révèle l'étude de populations migratrices de printemps sur le sexe et le choix de l'hôte chez le puceron du melon. Presented at 34. Réunion annuelle du Groupe d'Etude de Biologie et Génétique des Populations (Petit Pois Dérivé 2012), Avignon, France. Poster
Multipartenaires
- Thomas S. 2012 Effets des combinaisons de résistance du melon sur les populations d'*Aphis gossypii*. Présenté aux journées du réseau 'Biologie adaptative des pucerons et Organismes associés'. Lyon, France. Présentation orale.
- Thomas S. 2013. Estimation du taux de clonalité chez les populations d'*Aphis gossypii*. Présenté aux journées du réseau 'Biologie adaptative des pucerons et Organismes associés'. Montpellier, France. Présentation orale.

Actions de diffusion

- Boissot N. 2015 Impact des résistances des plantes sur les populations de pucerons et de virus : projet VirAphid. Fiche présentée au colloque Ecophyto Recherche, Paris.
- Boissot N. 2015 Evolution des populations d'*A. gossypii* dans les bassins de production de melon. Présentation orale à la journée INRA- GAFL / Sélectionneurs privés plantes marâchères
- Dutartre L. 2014 Caractérisation des bases moléculaires de la virulence chez le puceron *Aphis gossypii*. Présentation orale à la journée INRA- GAFL / Sélectionneurs privés plantes marâchères
- Quenouille J, 2011. Why a polygenic resistance is more durable than a monogenic one ? Présentation orale à la journée INRA- GAFL / Sélectionneurs privés plantes marâchères.
- Quenouille-Lederer J, 2013: Fréquences de contournement d'un gène majeur versus résistance partielle du fonds génétique: des critères de sélection pour la durabilité des résistances. Présentation orale à la journée INRA- GAFL / Sélectionneurs privés plantes marâchères.
- Tamisier L. 2015: Adaptation des populations virales aux résistances variétales et exploitation des ressources génétiques des plantes pour contrôler cette adaptation. Présentation orale à la journée INRA- GAFL / Sélectionneurs privés plantes marâchères.
- Thomas S. 2013 Effets de combinaisons de résistance du melon sur les populations d'*Aphis gossypii* du sud-est de la France. Présentation orale à la journée INRA- GAFL / Sélectionneurs privés plantes marâchères.

En préparation pour 2 articles pour fin 2015 vers Innovations agronomiques (valorisation en français) et Scientia (valorisation en anglais). Ces revues diffusent des résultats de recherche vers les acteurs de l'innovation et du développement agricole. Elles visent aussi les étudiants de l'enseignement agronomique et agricole.

E.3 BILAN ET SUIVI DES PERSONNELS RECRUTES EN CDD (HORS STAGIAIRES)

Ce tableau dresse le bilan du projet en termes de recrutement de personnels non permanents sur CDD ou assimilé. Renseigner une ligne par personne embauchée sur le projet quand l'embauche a été financée partiellement ou en totalité par l'aide de l'ANR et quand la contribution au projet a été d'une durée au moins égale à 3 mois, tous contrats confondus, l'aide de l'ANR pouvant ne représenter qu'une partie de la rémunération de la personne sur la durée de sa participation au projet.

Les stagiaires bénéficiant d'une convention de stage avec un établissement d'enseignement ne doivent pas être mentionnés.

Identification			Avant le recrutement sur le projet				Recrutement sur le projet				Après le projet				
Nom et prénom	H/F	Adresse email (1)	Date des dernières nouvelles	Dernier diplôme obtenu au moment du recrutement	Lieu d'études (France, UE, hors UE)	Expérience prof. Antérieure, y compris post-docs (ans)	Partenaire ayant embauché la personne	Poste dans le projet (2)	Durée missions (mois) (3)	Date de fin de mission sur le projet	Devenir professionnel (4)	Type d'employeur (5)	Type d'emploi (6)	Lien au projet ANR (7)	Valorisation expérience (8)
Beucher Coralie	F		Juin 2013	Master 2	France	/	GAFL	Ingénieur d'études	10	30/09/2013					
Duarte-Fricaux Leslie	F			Doctorat	France	/	GAFL	Post-doc	21	28/08/2014	CDI	Enseignement public	Professeur		
Pauline Millot	F	Pauline.millot@paca.inra.fr	2015	Master 2	France	13 mois	Pathologie Végétale	Assistant ingénieur	33	31/12/2013	CDI	INRA	Technicien	Oui	Oui
Elsa Rousseau	F	Elsa.rousseau7@gmail.com	2015	Ingénieur	France		BioSP/GAFL	Ingénieur	12		CDD		Doctorant	Non	Oui
Jeremy Exposito	M	je.exposito@laposte.net		Master2	France		GAFL	ATP (MOO)	4	31/07/2012					
Julie Quenouille	F	julie.leder@hmclause.com	2015	M2	France		GAFL	Doctorant puis IE	22	31/01/2013	CDD	Recherche privée	Ingénieur pathologiste	Non	Oui
Sophie Thomas	F	sophie.thomas@hotmail.fr	2015	phD	France		CBGP	IR	16	31/12/2013	Création d'entreprise	Exploitante agricole	Eleveuse	Non	Non
Lederer Baptiste	M	Baptiste.leder@paca.inra.fr	2015	Master 1	France	4 mois	Pathologie Végétale	Technicien	16	30/09/2014	CDD	INRA GAFL	Assistant Ingénieur	Oui	Oui
Lauvernay Antoine	M	Antoine.lauvernay@paca.inra.fr	Juin 2015	DUT	France	4 mois	Pathologie Végétale	Technicien	6	30/09/2015					