

Evaluation expérimentale de stratégies de déploiement de gènes de résistance pour la gestion durable des nématodes à galles

C. Djian-Caporalino^a, A. Palloix^b, A. Fazari^a, N. Marteu^a, A.M. Sage-Palloix^b, T. Mateille^c, J. Tavoillot^c, B. Martiny^c, S. Risso^d, R. Lanza^d, C. Taussig^e, P. Castagnone-Sereno^a

^aINRA PACA (Provence Alpes Côte d'Azur), UMR1355 INRA/UNSA/CNRS, Institut Sophia Agrobiotech, BP167, F-06903 Sophia Antipolis, France

^bINRA PACA, UR1052, Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes, F-84143 Montfavet, France

^cIRD, UMR CBGP (Centre de Biologie pour la Gestion des Populations), Campus de Baillarguet, CS30016, F-34988 Montpellier-sur-Lez Cedex, France

^dChambre d'agriculture des Alpes Maritimes, MIN Fleurs 17 - Box 85, 06286 Nice Cedex, France

^eAPREL (Association Provençale de Recherche et d'Expérimentation Légumière), Route de Mollégès, 13210 Saint-Rémy de Provence, France

Correspondance : caroline.caporalino@sophia.inra.fr

Résumé

Dans le cadre de projets soutenus par l'ANR Systerra et le GIS PICLeg (projets «Sysbiotel» et «Neoleg») menés en collaboration entre l'INRA PACA, l'IRD, l'APREL, la Chambre d'Agriculture du 06 et des entreprises privées de sélection de semences, plusieurs stratégies de déploiement de gènes de résistance ont été évaluées pendant 3 ans sur le terrain en conditions agronomiques pour mettre au point une gestion raisonnée des cultivars résistants permettant de gérer de manière durable les problèmes de nématodes à galles des racines. L'alternance des gènes de résistance dans la rotation et le «pyramiding» de gènes dans un même cultivar se sont révélés extrêmement efficaces pour supprimer l'émergence de populations virulentes et réduire les taux d'infestation du sol de plus de 80% en 3 ans. Un nouveau projet INRA «Gedunem», mis en place dans le cadre du Métaprogramme INRA SMaCH (Sustainable Management of Crop Health), vise maintenant à associer ces innovations variétales aux autres méthodes de lutte disponibles (gestion de l'interculture, plantes non hôtes, prophylaxie) afin de maintenir une pression parasitaire faible, tout en évaluant ces nouveaux systèmes de culture du point de vue agronomique et socio-économique.

Mots-clés : durabilité des résistances, innovations variétales, virulence, agrosystème maraîcher, *Meloidogyne* spp.

Abstract : Experimental evaluation of resistance genes deployment strategies for the sustainable management of root-knot nematodes

Within the framework of ANR Systerra and GIS PICLeg (projects "Sysbiotel" & "Neoleg"), in collaboration between INRA PACA, IRD, APREL, the Chambre of Agriculture 06 and private seed companies, several resistance genes deployment strategies were evaluated for 3 years in field agronomic conditions to develop a rational management of resistant cultivars for the sustainable control of root-knot nematodes. The alternation of resistance genes in the rotation and the «pyramiding» of such genes in a single cultivar proved to be extremely efficient in suppressing the emergence of virulent populations and decreasing the amount of pathogens in the soil by more than 80% in 3 years. A new project (named "Gedunem") launched in the framework of the INRA Metaprogram SMaCH (Sustainable Management of Crop Health) is now in progress, associating these new varieties to other available control methods (i.e., intercultural management, non-host plants, prophylaxis), to maintain a low

parasite pressure, while assessing these new cropping systems for agronomic and socio-economic aspects.

Keywords: sustainable crop protection, varietal innovations, virulence emergence, vegetable agroecosystem, *Meloidogyne* spp.

Introduction

Le retrait du marché quasi-général des nématicides chimiques (Plan Ecophyto 2018, publié en 2009, et Loi "Grenelle 2" du 12/07/2010) et la spécialisation des systèmes maraîchers européens ont contribué à augmenter les problèmes de parasites telluriques dont les nématodes à galles, vers microscopiques extrêmement polyphages du genre *Meloidogyne* (Wesemael et al., 2011). Une enquête récente, conduite par l'Inra dans la région PACA, souligne l'importance particulière de ces nématodes dans plus de 40% des exploitations conventionnelles et en agriculture biologique (Djian-Caporalino et al., 2010 & 2012).

Associées à une prophylaxie rigoureuse, diverses stratégies alternatives de lutte contre les nématodes à galles peuvent être envisagées, parmi lesquelles des méthodes physiques (désinfection à la vapeur, solarisation), ou l'utilisation d'auxiliaires naturels (champignons nématophages, bactéries parasites), de plantes « nématicides » (biofumigation) ou de plantes « pièges ». Ces méthodes sont encore expérimentales, voire utilisées en pratique (à une échelle limitée) pour certaines d'entre elles, mais toutes font preuve d'une efficacité très variable et souvent limitée (Djian-Caporalino et al., 2009 ; Collange, 2011 ; Collange et al., 2011).

Cette situation a motivé la mise en place récente et massive de programmes de sélection de variétés et porte-greffe résistants (Figure 1).



Figure 1 : Piments résistants (R) et sensibles (S) aux nématodes à galles. Les racines des plantes sensibles présentent des dégâts typiques, les galles, alors que celles des plantes résistantes sont indemmes. Dans l'expérimentation sous abri froid, les piments ont été mis en place dans un tunnel fortement infesté. Trois mois après le repiquage, des différences très importantes de croissance sont observées entre les deux génotypes (Photos INRA)

Toutefois, les gènes de résistance identifiés à ce jour sont rares et limités à quelques familles botaniques (Djian-Caporalino et al., 2008). De plus, les risques de contournement de ces gènes par des populations de nématodes dites virulentes ont été montrés au laboratoire (Jarquin-Barberena et al. 1991; Castagnone-Sereno et al. 1994, 1996, 2001, 2002; Meher et al. 2009; Djian-Caporalino et al., 2011) et ce phénomène observé de plus en plus fréquemment en conditions de culture (Hendy et al.,

1983 ; Chen et Roberts, 2003 ; Tzortzakakis et al. 2005, 2008 ; Petrillo et al., 2006 ; McKenry et Anwar, 2007 ; Verdejo-Lucas et al. 2009 ; Devran and Söğüt 2010 ; Thies 2011). Ceci peut réduire significativement la durée d'exploitation des variétés résistantes commercialisées et accroître les problèmes de nématodes. Dans ce contexte, il apparaît crucial d'élaborer des stratégies de gestion des gènes disponibles dans un objectif de résistance durable.

L'équipe « Interactions Plantes-Nématodes » du Centre INRA PACA à Sophia Antipolis, en collaboration avec divers partenaires (chercheurs, organisations professionnelles, agriculteurs, sélectionneurs privés), a mis en place depuis plusieurs années un programme de recherche visant à mieux comprendre les déterminants génétiques de la résistance des Solanées aux nématodes à galles, pour 1) orienter les sélectionneurs vers la création de nouveaux porte-greffes ou cultivars résistants à long terme ; et 2) conseiller les producteurs pour une gestion optimale de leur utilisation dans le temps et l'espace, afin de limiter les risques de contournement des résistances, et donc de préserver leur durabilité.

La plupart des résultats obtenus sur la durabilité des résistances dans le cadre des contrats CTPS (MAAP, convention N° C06/03) et du Réseau Européen ENDURE (FP6-NoE ENDURE) l'ont été en pièces climatisées avec des inoculums contrôlés. Ils ont montré 1/ l'importance cruciale du choix des géniteurs à l'origine des croisements pour diminuer les risques d'adaptation rapide des populations de nématodes à ces nouvelles résistances, 2/ un effet fort du fond génétique sur la durabilité des résistances, 3/ l'absence d'effet significatif du dosage d'allèles, 4/ une spécificité de la virulence permettant d'envisager l'alternance des gènes dans les rotations, et 5/ l'intérêt du «pyramiding» de 2 gènes à mécanisme d'action différent dans un même cultivar (Castagnone-Sereno et al. 2001 ; Castagnone-Sereno et al., 2007 ; Castagnone-Sereno & Djian-Caporalino, 2011 ; Djian-Caporalino et al., 2011 ; Barbary et al., soumis ; Djian-Caporalino et al., en préparation). Ces données permettent d'orienter les sélectionneurs qui introgressent actuellement des gènes majeurs dans leurs cultivars. Des marqueurs moléculaires liés à ces gènes de résistance ont été transférés aux sociétés privées pour leur utilisation en sélection assistée (Djian-Caporalino et al., 2001, 2007 ; Fazari et al., 2012).

L'étape ultime de validation de ces résultats consiste en une évaluation du déploiement des génotypes résistants en conditions de production, dans des rotations traditionnellement mises en place dans les exploitations maraîchères. Dans le cadre des projets ANR Systerra «Sysbiotel» et GIS PICLeg « Neoleg», un essai a été réalisé par un producteur maraîcher sur le site expérimental de la Chambre d'Agriculture du 06 géré par l'APREL et les techniciens de la Chambre, dont le sol était naturellement infesté par des nématodes à galles. Le piment (diverses lignées et combinaisons génétiques produites par l'UGAFL de l'INRA de Montfavet) a été choisi comme plante résistante implantée en culture d'été dans la rotation, alors que des salades sensibles étaient cultivées en hiver. Les objectifs de cet essai étaient multiples :

- évaluer le comportement de divers génotypes résistants (homozygotes ou hybrides, associant gène majeur et fond génétique sensible ou non, cumulant plusieurs gènes de résistance ou non) en conditions naturelles d'infestation et selon des procédés de conduite culturale conventionnels, tout en vérifiant leur nocuité vis-à-vis de la nématofaune totale du sol avec l'appui de l'UMR CBGP de l'IRD ;
- estimer le risque de contournement de la résistance au champ ;
- quantifier le potentiel d'assainissement du sol (réduction des parasites sous leur seuil de nuisibilité) par les génotypes résistants en fonction du nombre de cycles de culture.

1. Méthodes

1.1. Conduite de l'expérimentation

L'expérimentation a été réalisée dans le Sud-Est de la France. Une parcelle de 250 m² sous abri froid, naturellement infestée avec les 2 espèces de nématodes à galles les plus répandues en France, *Meloidogyne arenaria* et *M. incognita*, a été subdivisée en 52 microparcelles de 1 m², espacées d'1 m, accueillant chacune 5 plants de chaque modalité (Figure 2).

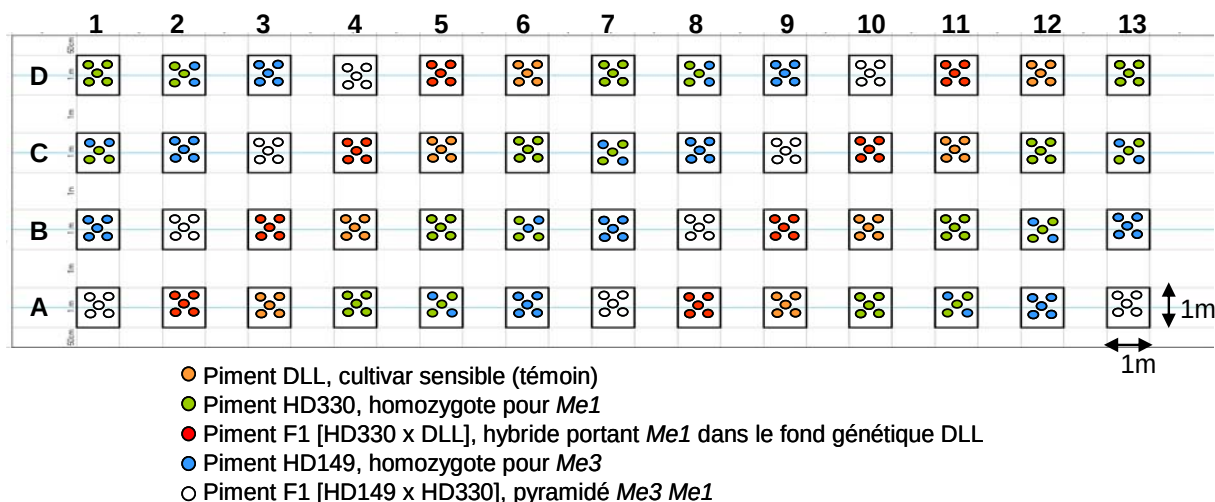


Figure 2 : Plan d'expérimentation dans le tunnel de 250 m² de la CA06 près de Nice (SE France). Six modalités ont été testées : 1/ le cultivar sensible DLL comme témoin, 2/ la lignée totalement résistante HD330 (*Me1Me1*), 3/ l'hybride F1 [DH330 x DLL] portant *Me1* à l'état hétérozygote dans le fond génétique sensible DLL, 4/ la lignée totalement résistante HD149 (*Me3Me3*) en alternance avec la lignée HD330 dans la rotation, 5/ le mélange de 3 plants HD330 et 2 plants HD149, 6/ l'hybride F1 [DH149 x DH330] combinant les 2 gènes de résistance *Me3* et *Me1*. Les piments étaient repiqués en mai et arrachés en octobre. Une rotation avec une salade sensible était réalisée de novembre à Février.

Six modalités ont été testées : 1/ le cultivar sensible Doux Long des Landes (DLL) comme témoin, 2/ la lignée totalement résistante HD330, homozygote pour le gène *Me1* (*Me1* induit une réaction tardive empêchant le développement du site nourricier du nématode ; Bleve-Zacheo et al., 1998), 3/ l'hybride F1 [DH330 x DLL] portant *Me1* à l'état hétérozygote dans le fond génétique sensible DLL, 4/ la lignée totalement résistante HD149, homozygote pour le gène *Me3* à mécanisme d'action différent de *Me1* (*Me3* induit une réaction d'hypersensibilité précoce bloquant la pénétration des larves ; Bleve-Zacheo et al., 1998) en alternance avec la lignée HD330 dans la rotation, 5/ le mélange de 3 plants HD330 et 2 plants HD149, 6/ l'hybride F1 [DH149 x DH330] combinant les 2 gènes de résistance *Me3* et *Me1* («pyramiding»). Les piments étaient repiqués en mai et arrachés en octobre. Une rotation avec une salade sensible était réalisée en hiver pour se conformer aux conditions classiques des systèmes maraîchers sous abri en France, la culture sensible étant également utilisée dans la rotation comme marqueur de l'efficacité attendue du piment en terme d'assainissement du sol.

Les plants de piments ont été cultivés individuellement dans des pots de 100 ml contenant du sol sableux stérilisé à la vapeur recouvert d'une couche de 1 cm de terreau, maintenus dans des chambres climatiques à 24 °C (± 2 °C) avec un cycle de lumière de 12 h et à une humidité relative de 60 -70%. Des plants de 7 à 8 semaines (8-10 feuilles vraies) ont été transplantés dans les microparcelles.

1.2. Mesures et notations

Divers paramètres biologiques caractérisant la multiplication des nématodes et l'évolution du potentiel infectieux du sol après chaque culture ont été analysés au cours des 3 années de culture ; en parallèle, l'évolution des patrons de communautés de la nématofaune résiduelle a été déterminée par l'IRD à Montferrier-sur-Lez, afin de mesurer les déséquilibres globaux éventuels pouvant résulter de l'utilisation des génotypes résistants :

- IG = indice de galle sur piments ou salades,
- PR = potentiel reproducteur des nématodes virulents (nombre d'œufs par ponte) sur les génotypes de piments testés,
- IS = taux d'infestation du sol obtenu par l'indice de galles sur tomates sensibles repiquées sur 1 kg de sol prélevé dans chaque microparcelle et maintenues en conditions contrôlées ($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$),
- PC = patron de communautés de la nématofaune globale associée (analyses nématologiques concernant les autres espèces de nématodes phytoparasites et non phytoparasites).

2. Principaux résultats obtenus et applications envisageables

2.1. Robustesse et durabilité des résistances

La Figure 3 donne la moyenne des indices de galles (IG) sur 40 à 45 plants de piment en fin de culture chaque année.

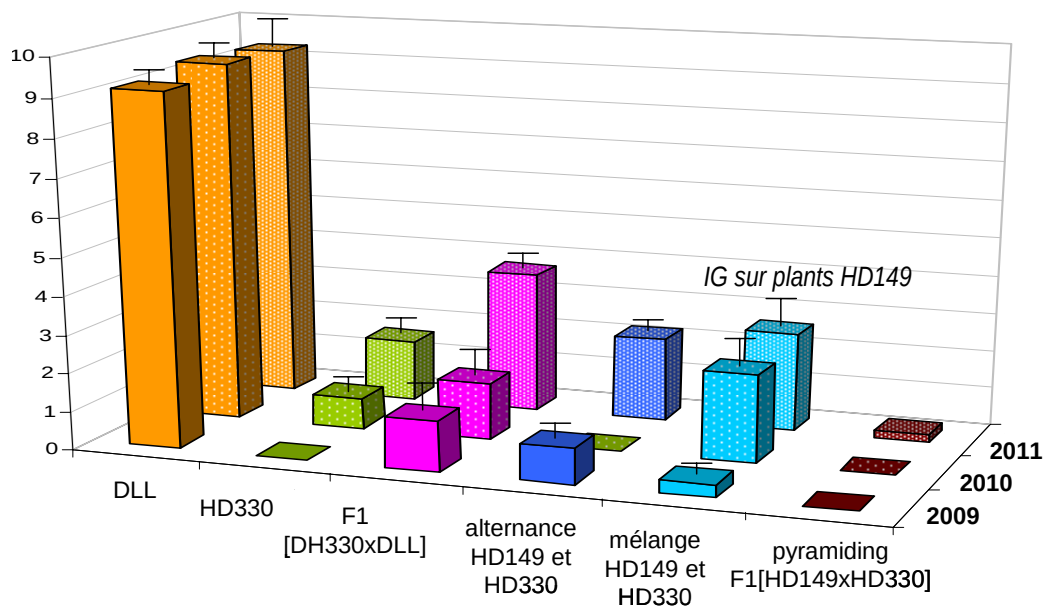


Figure 3 : Moyenne des indices de galles (IG) sur piments après 5 mois de culture (40 à 45 répétitions $\pm$ erreur standard)

Les résultats ont tout d'abord montré l'importance cruciale du choix des géniteurs à l'origine des croisements sur la durabilité des résistances. Seuls les piments sensibles DLL étaient très infestés (IG supérieurs à 9 sur une échelle de 0 à 10). Ils ont eu des difficultés à se développer (Figure 1) du fait des très fortes infestations de nématodes dans le sol (succession de plantes sensibles dans les microparcelles correspondantes) et ne produisaient plus de fruits dès la 2^{ème} année. Me1 s'est révélé robuste durant les 3 années de culture : quelques galles ont été obtenues à partir de la 2^{ème} année sur

les racines des piments HD330 (*Me1Me1*) cultivés chaque année, mais aucune population virulente n'a été obtenue (PR_{17} et $PR_{28} = 0$). *Me3* a été contourné dès la 1^{ère} année par des populations naturelles dans les zones très infestées. Après 3 re-inoculations successives sur plants HD149 (*Me3Me3*), le nombre moyen d'oeufs par ponte (PR) était de 866.7 ± 43.1 (18 répétitions).

Les résultats ont ensuite montré un effet fort du fond génétique. En effet, *Me1* à l'état hybride dans le fond génétique sensible F1 [HD330xDLL] s'est révélé moins résistant que dans son fond génétique d'origine : un isolat virulent a été obtenu la 3^{ème} année et est en cours de multiplication sur plants HD330 (PR non encore déterminé).

La spécificité de la virulence démontrée en conditions contrôlée (Djian-Caporalino et al., 2011) a été confirmée en conditions naturelles : les nématodes virulents pour le gène *Me3* n'ont pu se développer sur piments porteurs du gène *Me1*. Ce résultat permet d'envisager l'alternance des gènes dans les rotations pour contrôler les populations virulentes.

Le mélange de génotypes résistants a mis en évidence un léger effet protecteur des lignées *Me1* sur les lignées *Me3* la 1^{ère} année, lorsque les plants étaient bien fertilisés et les racines intercroisées. Associés en mélange avec les piments HD330, les piments HD149 avaient quelques galles mais significativement moins que lorsque les plants HD149 étaient cultivés seuls. Cet effet n'a pas été observé les années suivantes.

Enfin, cette expérimentation sur 3 ans a démontré l'intérêt du «pyramiding» de 2 gènes dans un même cultivar, les plants n'étant alors jamais infestés même dans les microparcelles montrant de très forts niveaux de populations de *Meloidogyne* à T0.

Les 2 modalités, piments *Me3Me1* pyramidés et alternance *Me3* puis *Me1* dans la rotation, ont permis une bonne protection de la culture sensible d'hiver, très significative comparativement à la succession de piments sensibles (données non montrées). Ces résultats sont confirmés par les résultats des taux d'infestation du sol ci-après.

2.2. Réduction du potentiel infectieux du sol (action « plante-piège »)

A T0, les analyses des IS (Figure 4) indiquent une infestation moyenne à forte de la totalité de la parcelle avec une certaine hétérogénéité spatiale. Une succession de plantes sensibles chaque année (piments DLL en été, salades en hiver) a fortement augmenté les IS dans les microparcelles correspondantes. Après 2 mois de sol nu, aucune évolution significative des IS n'a pu être observée. Les piments résistants portant *Me1*, *Me1* dans le fond sensible DLL ou en mélange avec des piments portant *Me3* n'ont pas permis de réduire significativement les IS au bout des 3 ans d'expérimentation. En revanche, les résultats mettent en évidence les effets bénéfiques de deux stratégies de gestion des résistances : la culture d'hybrides combinant deux facteurs de résistance et l'alternance dans la rotation de variétés portant chacune une résistance différente. Avec ces 2 modalités, une réduction de 80 à 90% du taux d'infestation du sol a été obtenue, et la culture sensible d'hiver qui a suivi a été protégée. Les piments pyramidés *Me3Me1* ont réduit le plus fortement les populations de nématodes dans le sol, cette réduction étant quasi-totale dans certaines microparcelles même très infestées à T0. Cette action "plante-piège" a été renforcée la première année d'expérimentation lorsque les chevelus racinaires des piments étaient particulièrement développés grâce à une bonne fertirrigation.

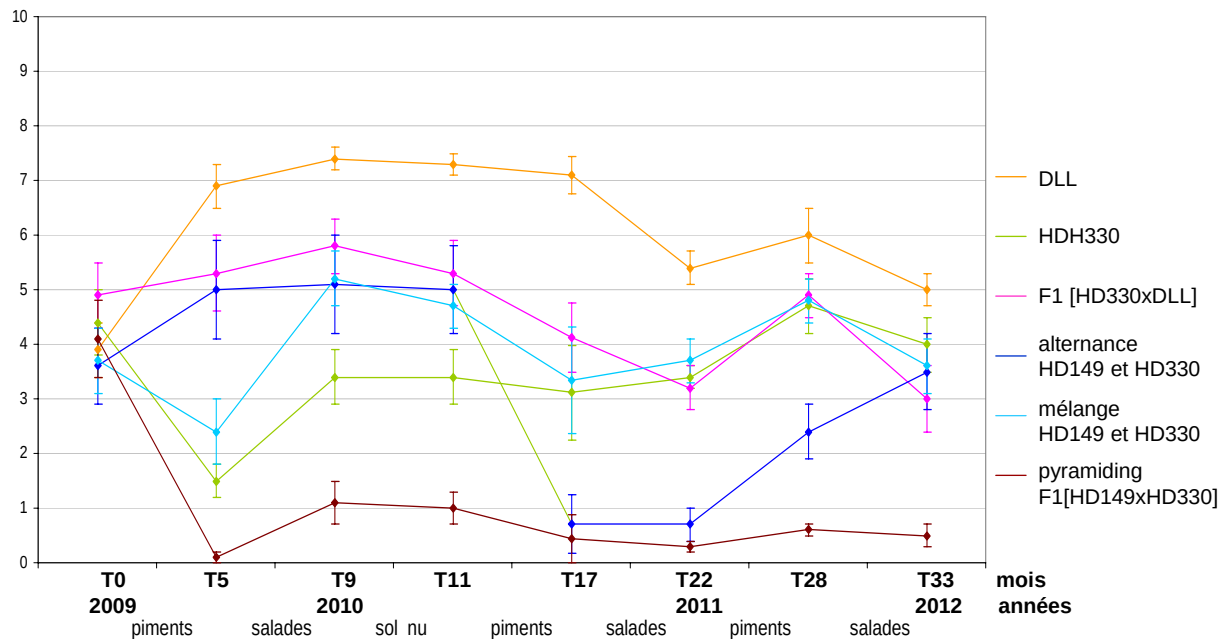


Figure 4: Moyenne des taux d'infestation du sol (IS) obtenu par l'indice de galles sur tomates sensibles repiquées sur 1 kg de sol prélevé dans chaque microparcelle et maintenues en conditions contrôlées (8 à 9 répétitions $\pm$ erreur standard)

2.2. Effet des plantes résistantes sur la nématofaune globale (impact écologique)

Quatre taxons de nématodes phytoparasites seulement ont été majoritairement détectés dans la parcelle expérimentale: le genre *Meloidogyne*, le genre *Pratylenchus*, le genre *Tylenchorhynchus*, et le genre *Filenchus*. Les niveaux des populations des divers taxons détectés étaient relativement faibles, exceptés ceux des populations de *Meloidogyne* spp. considérées comme très abondantes. Ce genre représentait environ 99% de la nématofaune phytoparasite. Si on note un déséquilibre écologique de la communauté en faveur de genres persistants et sensibles aux perturbations (*Meloidogyne*, et dans une moindre mesure *Pratylenchus*) au détriment des genres colonisateurs et opportunistes (*Tylenchorhynchus* et *Filenchus*) sur toute la parcelle, on note l'absence de différences significatives entre modalités et aucune modification significative des patrons des communautés après culture de piments sensibles ou résistants (Figure 5). Il est à noter que ces données ne sont donc en rien comparables avec celles des IS qui représentent le taux d'infestation réel du sol en *Meloidogyne* (œufs éclochant en larves infestantes). En effet, les méthodes d'extraction utilisées pour les analyses nématologiques PC ne permettent pas de détecter les œufs, seules les juvéniles présents au moment de l'extraction sont dénombrées.

Les mêmes observations ont été réalisées concernant les nématodes non phytoparasites (Figure 5), participant à l'équilibre biologique des sols, à savoir l'absence d'incidence significative des modalités comparées sur la composition des communautés de nématodes associées.

2.4 Applications, lien au plan Ecophyto

L'évolution récente de la législation européenne en matière d'homologation et d'usage des pesticides et l'objectif Ecophyto 2018 en France créent un contexte nouveau où les agriculteurs doivent adopter les principes de la protection intégrée en introduisant des méthodes de lutte alternatives leur permettant de réduire leur dépendance à l'usage des pesticides de 50% à l'horizon 2018 sans pour autant grever leur rentabilité économique. Mais ils ne disposent pas encore de moyens techniques efficaces pour le contrôle des nématodes. Répondre à ces exigences accrues est un défi et nécessite recherches et innovations en partenariat avec les acteurs du monde agricole.

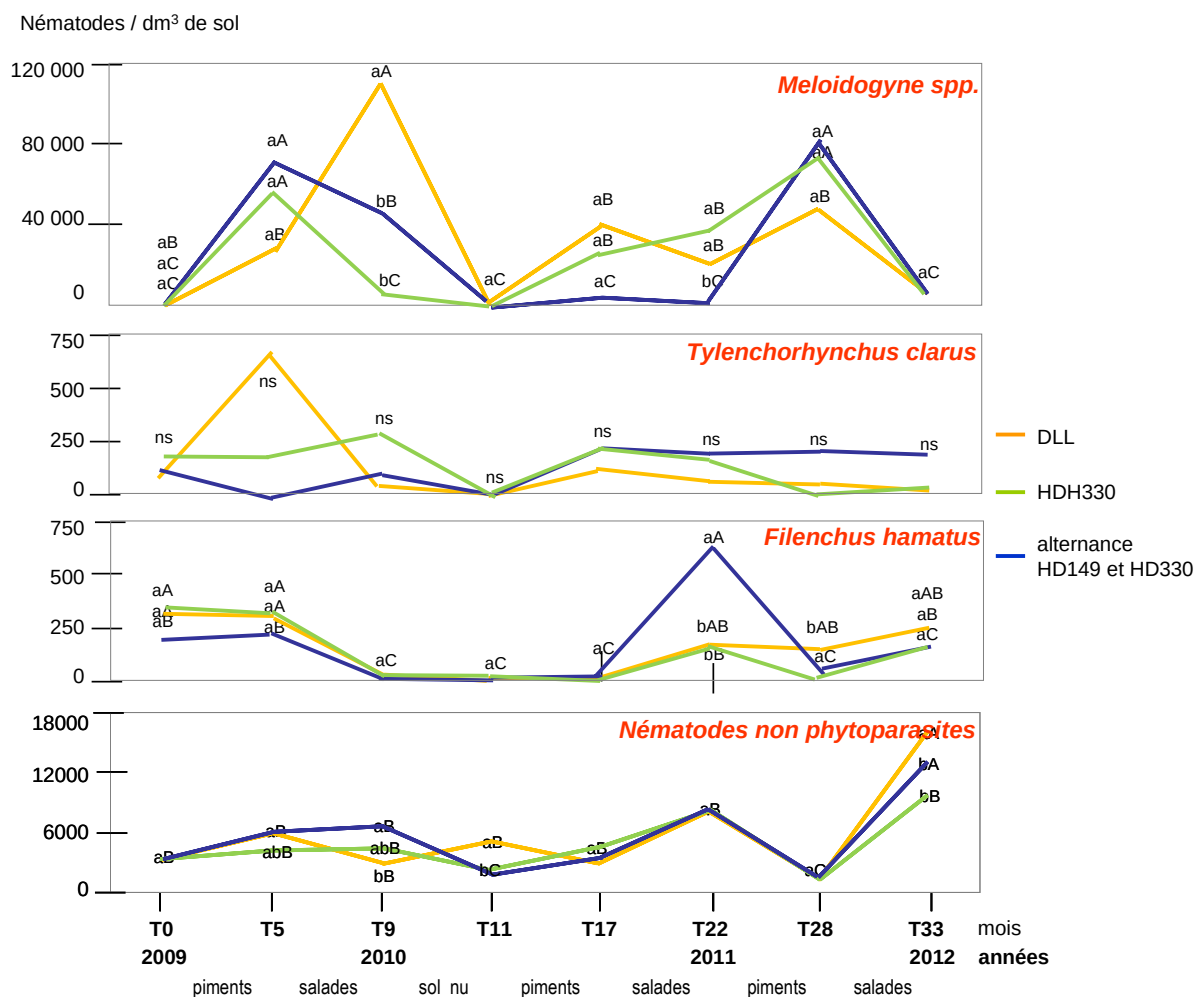


Figure 5: Dynamique des nématodes phytoparasites et non-phytoparasites dans le sol au cours de l'expérimentation. Les lettres différentes représentent des différences significatives entre les modalités (majuscules) et entre les dates (en minuscules) avec $p \leq 0,05$; ns = différences non significatives. NB: le genre *Pratylenchus*, trop faiblement représenté, n'est pas figuré.

L'expérimentation décrite ci-dessus, réalisée en conditions agronomiques pour définir des stratégies permettant de gérer les problèmes nématologiques et renforcer et prolonger la durabilité des résistances, valide les résultats obtenus en conditions contrôlées de laboratoire, à savoir 1/ que le choix des gènes de résistance, le choix du fond génétique dans lequel ils sont introgressés par les sélectionneurs et la combinaison de 2 gènes majeurs de résistance de même spectre mais à mécanisme d'action différent dans un même cultivar sont des facteurs importants pour prévenir la sélection de nématodes virulents, 2/ que la diversification des gènes de résistance, c'est-à-dire l'alternance des gènes de résistance dans la rotation culturale, est importante pour réduire la pression de sélection de la résistance sur les pathogènes, et 3/ que des plantes combinant 2 gènes de résistance peuvent également être utilisées comme plantes-pièges pour réduire significativement les niveaux de populations de pathogènes dans le sol, l'effet pouvant être accru avec une bonne fertilisation pour augmenter la taille du chevelu racinaire-piège.

Ces résultats sont en accord avec des concepts récemment développés à partir de l'analyse de diverses interactions plantes-pathogènes : piment-virus, colza-champignon, riz-bactérie (Yoshimura et al. 1995 ; Hittalmani et al. 2000 ; Singh et al., 2001 ; Palloix et al., 2009 ; Zhou et al., 2009 ; Brun et al.,

2010 ; Montarry et al., 2011) et même drogues-bactéries ou HIV et pesticides-insectes (REX consortium, sous presse). Ils pourraient donc être généralisables à d'autres espèces (aubergine, cucurbitacées, salades) pour la lutte contre les nématodes, mais également à d'autres modèles plantes-pathogènes.

L'expérimentation a fait l'objet de visites, interviews, communiqués de presse, posters, vidéo, communications lors de congrès scientifiques et de réunions de la filière Fruits et Légumes et les résultats sont en cours de publication (Barbary et al., soumis; Djian-Caporalino et al., en préparation). Ils permettent d'orienter les sélectionneurs qui introgressent actuellement ces gènes majeurs dans leurs cultivars grâce à des marqueurs moléculaires des gènes de résistance qui leur ont été transférés (Djian-Caporalino et al., 2001, 2007 ; Fazari et al., 2012), de conseiller les exploitants dans la meilleure façon de gérer les génotypes résistants dans le temps et l'espace afin de limiter les risques de contournement, et montrent l'intérêt des plantes résistantes comme alternative à la lutte chimique en remplacement de traitements de sol non spécifiques et polluants pour gérer des problèmes de parasites telluriques.

3. Perspectives et conclusion

La prise en compte de manière systématique de la résistance aux nématodes en tant que critère d'amélioration variétale des espèces maraîchères par les sélectionneurs est un phénomène relativement nouveau, en lien direct avec l'émergence de problèmes nématologiques sérieux en culture suite à l'abandon de l'utilisation de nématicides chimiques. Dans le même temps, le contournement de plus en plus fréquent du gène majeur *Mi-1* de la tomate, déployé à l'échelle mondiale depuis plus de 50 ans et utilisé sans discernement, a conduit à la mise en place de programmes de recherche visant à proposer de nouvelles stratégies pour améliorer la durabilité de la résistance. Au vu des résultats obtenus en conditions contrôlées et validés sur le terrain en conditions agronomiques, les pistes les plus prometteuses visent à cumuler des résistances majeures et quantitatives dans un même cultivar, et à raisonner l'utilisation de ces cultivars au champ, en évitant toute monoculture systématique.

Cependant, pour diminuer la quantité d'agents pathogènes et accroître ainsi la durabilité des gènes de résistance, la combinaison de plantes et de techniques culturales doivent aussi être testés. En effet, l'effet bénéfique de stratégies intégrées (associant résistance variétale, successions d'espèces diversifiées, interventions culturales, lutte biologique, etc.) sur l'efficacité et la durabilité des systèmes de protection a été montré par exemple pour le soja contre le nématode *Xiphinema americanum* et le virus du rabougrissement sévère du soja (Evans et al., 2007), pour le colza contre *Leptosphaeria maculans* (West et al., 2001, 2002 ; Aubertot et al., 2004, 2006 ; Macroft et al., 2004 ; Lô-Pelzer, 2008 ; Brun et al., 2010), pour le blé contre *Puccinia tritici*, *Septoria tritici*, et *Pseudocercospora herpotrichoides* (Meynard et al., 2003 ; Loyce et al., 2008). De nouveaux projets de lutte intégrée : Expe DEPHY Ecophyto n°21 « GEDUBAT » et MétaProgramme INRA- SMaCH (Gestion durable de la santé des cultures) « GEDUNEM », labellisés par le PEIFL (Pôle Européen d'Innovation Fruits et Légumes) et le GIS PICLeg (Groupement d'Intérêt Scientifique Protection Intégrée des Cultures Légumières), ont donc été lancés en 2012 pour 4 à 6 ans visant à associer les innovations variétales aux autres méthodes de lutte disponibles en cultures légumières contre les bioagresseurs telluriques (gestion de l'interculture, solarisation, biofumigation, antagonistes naturels, prophylaxie) afin de maintenir une pression parasitaire faible permettant de réduire les indices de fréquence de traitement (IFT) de 50%, tout en évaluant ces systèmes de culture innovants du point de vue agronomique et socio-économique à partir de données issues des filières professionnelles. Ces projets associent nématologistes, pathologistes, écologistes, généticiens, sélectionneurs, modélisateurs, agronomes, socio-économistes, expérimentateurs de stations expérimentales et de réseaux de fermes, et producteurs. Ils fourniront les bases nécessaires pour raisonner de manière plus poussée les démarches de sélection conduisant à l'obtention de variétés plus durablement résistantes aux nématodes et valorisant l'effet de stratégies

intégrées et de réorganisation de l'agroécosystème sur l'efficacité et la durabilité des systèmes de protection. Il s'agit de projets pilotes et démonstratifs, dont le but n'est pas uniquement de valider les résultats de la recherche, mais aussi de déterminer si les innovations proposées sont économiquement praticables sous climat méditerranéen et en conditions de production sous abri. Il s'agira aussi d'évaluer dans quelle mesure les résultats obtenus sur la durabilité des résistances piment et tomate (choix des gènes et du fond génétique, pyramidage de gènes et alternance des gènes dans les rotations...) et leur rôle dans la diminution du potentiel infectieux du sol, sont généralisables à d'autres espèces (aubergine, cucurbitacées, salades) et agir en synergie avec les autres méthodes de lutte.

Remerciements

Ces recherches ont bénéficié du soutien financier de l'ANR (Agence Nationale de Recherche) pour le projet Systerra « Sysbiotel : Gestion intégrée des bioagresseurs telluriques en systèmes de culture légumiers » (2009-2013) et de l'INRA pour le projet PICLeg (Production Intégrée des Cultures légumières) « Neoleg2 : Vers une nouvelle configuration des agrosystèmes maraîchers méditerranéens sous abri pour une gestion durable des bioagresseurs telluriques » (2008-2012).

Références bibliographiques

- Aubertot J. N., West J. S., Bousset-Vaslin L., Salam M. U., Barbetti M. J., Diggle A. J., 2006. Improved Resistance Management for Durable Disease Control: A Case Study of Phoma Stem Canker of Oilseed Rape (*Brassica napus*). *European Journal of Plant Pathology* 114 (1), pp. 91-106.
- Aubertot J.N., Schott J.J., Penaud A., Brun H., Doré T., 2004. Methods for sampling and assessment in relation to the spatial pattern of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans*) in oilseed rape. *European Journal of Plant Pathology* 110, 183–192.
- Barbary A., Palloix A., Fazari A., Marteu N., Castagnone-Sereno P., Djian-Caporalino C. The durability of plant major resistance genes to nematode depends on the genetic background : experimental evidence and consequences for breeding strategies. *Soumis*.
- Bleve-Zacheo T., Bongiovanni M., Melillo M.T., Castagnone-Sereno P., 1998. The pepper resistance genes *Me1* and *Me3* induce differential penetration rates and temporal sequences of root cell ultrastructural changes upon nematode infection. *Plant Science* 133, 79-90.
- Brun H., Chèvre A.-M., Fitt B.D.L., Powers S., Besnard A.-L., Ermel M., Huteau V., Marquer B., Eber F., Renard M., Andrivon D., 2010. Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to *Leptosphaeria maculans* in *Brassica napus*. *New Phytologist* 185, 285–299.
- Castagnone-Sereno P., Wajnberg E., Bongiovanni M., Leroy F., Dalmasso A., 1994. Genetic variation in *Meloidogyne incognita* virulence against the tomato *Mi* resistance gene: Evidence from isofemale line selection studies. *Theoretical and Applied Genetics* 88, 749-753.
- Castagnone-Sereno P., Bongiovanni M., Palloix A., Dalmasso A., 1996. Selection for *Meloidogyne incognita* virulence against resistance genes from tomato and pepper and specificity of the virulence/resistant determinants. *Eur J Plant Pathol* 102, 585–590.
- Castagnone-Sereno P., 2002. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes? *Euphytica*, 124, 193-199.
- Castagnone-Sereno P., Bongiovanni M., Djian-Caporalino C., 2001. New data on the specificity of the root-knot nematode resistance genes *Me1* and *Me3* in pepper. *Plant Breeding* 120, 429-433.
- Castagnone-Sereno P., Bongiovanni M., Wajnberg E., 2007. Selection and parasite evolution: a reproductive fitness cost associated with virulence in the parthenogenetic nematode *Meloidogyne incognita*. *Evolutionary Ecology* 21, 259-270.
- Castagnone-Sereno P., Djian-Caporalino C., 2011. Lutte contre les nématodes à galles en cultures maraîchères : des recherches pour promouvoir la durabilité des résistances variétales. *Innovations Agronomiques* 15, 55-64.
- Chen P.C., Roberts P.A., 2003. Genetic analysis of (a)virulence in *Meloidogyne hapla* to resistance in bean (*Phaseolus vulgaris*). *Nematology* 5, 687-697 DOI: 10.1163/156854103322746869.

- Collange B., 2011. Vers une gestion agronomique des bioagresseurs telluriques en maraîchage sous abri : évaluation de systèmes de culture. Thèse de Doctorat Université de la Méditerranée Aix-Marseille II.
- Collange B., Navarrete M., Peyre G., Mateille T., Tchamitchian M., 2011. Root -knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis, *Crop Protection* 30, 1251-1262.
- Devran Z., & Söğüt M.A., 2010. Occurrence of virulent root-knot nematode isolates on tomatoes bearing the *Mi* gene in protected vegetable-growing areas of Turkey. *Phytopathology Mediterranea*, 38, 245-251.
- Djian-Caporalino C., 2010. Nématodes à galles, des ravageurs de plus en plus préoccupants. Résultats de 3 ans d'enquête dans quinze régions françaises. *Phytoma La défense des végétaux*, novembre 2010, 638, 43-49.
- Djian-Caporalino C., 2012. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), a growing problem in French vegetable crops. *EPPO Bulletin*. 42 (1), 127-137.
- Djian-Caporalino C., Bourdy G. et Cayrol J.C., 2008. Plantes nématicides et plantes résistantes aux nématodes, p. 125-185. Dans: *Biopesticides d'origine végétale : potentialités phytosanitaires*. C. Regnault-Roger et al, Editions Tec & doc, Lavoisier, Paris, 546 pp. (ancienne édition 2002: 352 pp).
- Djian-Caporalino C., Fazari A., Arguel M. J., Vernie T., VandeCastele C., Faure I., Brunoud G., Pijarowski L., Palloix A., Lefebvre V., Abad P., 2007. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) *Me* resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theoretical and Applied Genetic* 114, 473-486.
- Djian-Caporalino C., Molinari S., Palloix A., Ciancio A., Fazari A., Marteu N., Ris N. & Castagnone-Sereno P., 2011. The reproductive potential of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* is affected by selection for virulence against major resistance genes from tomato and pepper. *European Journal of Plant Pathology* 131 (3), 431-440.
- Djian-Caporalino C., Palloix A., Fazari A., Marteu N., Sage-Palloix A.M., Mateille T., Tavoillot J., Martiny B., Risso S., Lanza R., Taussig C. and Castagnone-Sereno P. Experimental evidence of the efficiency of two resistance genes deployment strategies - pyramiding or alternating - for sustainable management of plant pests. En préparation.
- Djian-Caporalino C., Pijarowski L., Fazari A., Samson M., Gaveau L., O'Byrne C., Lefebvre V., Caranta C., Palloix A., Abad P., 2001. High-resolution genetic mapping of the pepper (*Capsicum annuum* L.) resistance loci *Me3* and *Me4* conferring heat-stable resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Theoretical and Applied Genetic* 103, 592-600.
- Djian-Caporalino C., Védie H., Arrufat A., 2009. Nématodes à galles, l'atout des plantes-pièges. *Phytoma la défense des Végétaux* septembre 2009, 624-625, 21-25.
- Evans T.A., Miller L.C., Vasilas B.L., Taylor L.W., Mulrooney R.P., 2007. Management of *Xiphinema americanum* ans Soybean Severe Stunt in Soybean using Crop Rotation. *Plant Disease* 91, 216-219.
- Fazari, A., Palloix, A., Wang, L.H., Hua, M.Y., Sage-Palloix, A.M., Zhang, B.X., Djian-Caporalino, C., 2012. The root-knot nematode resistance *N*-gene co-localizes in the *Me*-genes cluster on the pepper (*Capsicum annuum* L.) P9 chromosome. *Plant Breeding* 131, 665-673
- Hendy H., Pochard E., Dalmasso A., 1983. Transmission héréditaire de la résistance aux nématodes *Meloidogyne Chitwood* (Tylenchida) portée par deux lignées de *Capsicum annuum* L. : étude de descendances homozygotes issues d'androgénèse. *Agronomie* 5, 93-100.
- Hittalmani S., Parco A., Mew T.V., Zeigler R.S. and Huang N. 2000. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of three major genes for blast resistance in rice. *Theoretical and Applied Genetic* 100, 1121–1128.
- Jarquin-Barberena H., Dalmasso A., Guiran G. de, Cardin M.C., 1991. Acquired virulence in the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. I. Biological analysis of the phenomenon. *Revue de Nématologie*, 14 (2), 299–303.
- Loi "Grenelle 2" (2010). Engagement national pour l'environnement, workshop "Biodiversité Conservation", Conclusions du gouvernement français pour le Grenelle de l'Environnement . Article

- 31, loi No. 2009-967 (3/08/2009) de programmation relative à la mise en œuvre du Grenelle de l'Environnement, Partie II: Biodiversité, écosystèmes et habitats naturels ; Article 104, loi No. 2010-788 (12/07/2010), Titre: Biodiversité. <http://www.legrenelle-environnement.fr/-Loi-Grenelle-2-.html>
- Lô-Pelzer E., 2008. Modélisation des effets des systèmes de culture et de leur répartition spatiale sur le phoma du colza et l'adaptation des populations pathogènes responsables de la maladie (*Leptosphaeria maculans*) aux résistances variétales. Mémoire pour l'obtention du diplôme de docteur d'AgroParisTech, 146 p.
- Loyce C., Meynard J.M., Bouchard C., Rolland B., Lonnet P., Bataillon P., Bernicot M.H., Bonnefoy M., Charrier X., Debote B., Demarquet T., Duperrier B., Félix I., Heddadj D., Leblanc O., Leleu M., Mangin P., Méausoone M., Doussinault G., 2008, Interaction between cultivar and crop management effects on winter wheat diseases, lodging, and yield. *Crop protection* 27, 1131-1142.
- Marcroft S.J., Sprague S.J., Pymer S.J., Salibusry P.A., Howlett B.J., 2004. Crop isolation, not extended rotation length, reduces blackleg (*Leptosphaeria maculans*) severity of Canola (*Brassica napus*) in south-eastern Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44, 601-606.
- McKenry M.V., Anwar S.A., 2007. Virulence of *Meloidogyne* spp. and induced resistance in grape rootstocks. *Journal of Nematology* 39 (1), 50-54.
- Meher H.C., Gajbhiye V.T., Chawla G., Singh G., 2009. Virulence development and genetic polymorphism in *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood after prolonged exposure to sublethal concentrations of nematicides and continuous growing of resistant tomato cultivars. *Pest Management Science* 65, 1201-1207.
- Meynard J.M., Doré T., Lucas P., 2003. Agronomic approach: cropping systems and plant diseases. *C.R. Biologies* 326, 37-46.
- Montarry J., Doumayrou J., Simon V., Moury B., 2011. Genetic background matters: a plant-virus gene-for-gene interaction is strongly influenced by genetic contexts. *Molecular Plant Pathology* 12 (9), 911-920.
- Palloix A., Ayme V., Moury B., 2009. Durability of plant major resistance genes to pathogens depends on the genetic background, experimental evidence and consequences for breeding strategies. *New Phytologist* 183, 190-199.
- Petrillo M.D., Matthews W.C., Roberts P.A., 2006. Dynamics of *Meloidogyne incognita* virulence to resistance genes *Rk* and *Rk(2)* cowpea. *Journal of Nematology* 38 (1), 90-96.
- Plan Ecophyto 2018 de réduction des usages de pesticides 2008-2018, 2009. PNSE 2 (Second Plan National Santé Environnement). http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/PLAN_ECOPHYTO_2018-2-2.pdf
- REX consortium. Heterogeneity of selection and the evolution of resistance. *Trends in Ecology and Evolution*, sous presse.
- Singh S., Sidhu J.S., Huang N., Vikal Y., Li Z., Brar D.S., Dhaliwal H.S. and Khush G.S. 2001. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. *Theoretical and Applied Genetics* 102, 1011-1015.
- Thies J.A. 2011. Virulence of *Meloidogyne incognita* to expression of *N* gene in pepper. *Journal of Nematology*. 43(2), 90-94.
- Tzortzakakis E.A., Adam M.A.M., Blok V.C., Paraskevopoulos C., Bourtzis K., 2005. Occurrence of resistance-breaking isolates of root-knot nematodes on tomato in Greece. *European Journal of Plant Pathology*, 113, 101-105.
- Tzortzakakis E.A., da Conceicao I.L.P.M., dos Santos M.C.V., Abrantes I.M. de O., 2008. Selection of virulent *Meloidogyne* individuals within mixed isolates by continuous cultivation on a *Mi* gene resistant tomato genotype. *Journal of Plant Diseases and Protection* 115, 234-237.
- Verdejo-Lucas S., Cortada L., Sorribas F.J., & Omat C., 2009. Selection of virulent isolates of *Meloidogyne javanica* by repeated cultivation of *Mi* resistance gene tomato rootstocks under field conditions. *Plant Pathology* 58, 990-998.
- Wesemael W.M.L., Viaene N., Moens M., 2011. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology* 13 (1), 3-16.

- West J.S., Fitt B.D.L., Leech P.K., Biddulph J.E., Huang Y.J., Balesdent M.H., 2002. Effect of timing of *Leptosphaeria maculans* ascospore release and fungicide regime on phoma leaf spot and phoma stem canker development on winter oilseed rape (*Brassica napus*) in southern England. *Plant Pathology* 51, 454-463.
- West J.S., Kharbanda P.D., Barbetti M.J., Fitt B.D.L., 2001. Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe. *Plant Pathology* 50, 10–27.
- Yoshimura S., Yoshimura A., Iwata A., McCouch S. R., Abenes M. L., Baraoidan M. R., Mew T. W., Nelson R. J., 1995. Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. *Molecular Breeding* 1, 375—387.
- Zhou Y., Cao Y., Huang Y., Xie W., Xu C., Li X., Wang S., 2009. Multiple gene loci affecting genetic background-controlled disease resistance conferred by R gene *Xa3/Xa26* in rice. *Theoretical and Applied Genetic* 120, 127–138.