

Identification de sources de résistance au puceron du pois chez des *Medicago* annuelles

I. Badenhausser¹, R. Bournoville¹,
S. Carré¹, D. Fortini^{2*}

La sélection de *Medicago* annuelles a été développée en Australie pour la résistance à diverses espèces de pucerons, mais peu de résultats concernent le puceron du pois, espèce dominante sur les légumineuses pérennes en France. D'où l'idée de rechercher au sein des *Medicago* annuelles de nouvelles sources de résistance à ce puceron et de les confronter à différentes souches aphidiennes françaises.

RÉSUMÉ

Un test d'évaluation de la résistance des plantules de luzerne (*M. sativa*) au puceron du pois a été adapté à différents écotypes et cultivars de *Medicago* annuelles (*M. truncatula*, *M. italica*, *M. littoralis*). La mortalité des plantules et la matière sèche des plantules survivantes à la fin du test constituent les critères de résistance. Les niveaux de résistance de certains cultivars de *Medicago* annuelles apparaissent très élevés, meilleurs que ceux des cultivars dits résistants de luzerne. Cependant, le niveau de résistance est à moduler selon l'origine des pucerons. En effet, les populations de puceron du pois prélevées sur la luzerne diffèrent sur le plan génétique (allozymes) de celles prélevées sur le pois, et les niveaux de résistance des cultivars soumis à ces races d'hôte peuvent différer. Les paramètres biologiques des aphides sont affectés par les accessions résistantes.

* avec la collaboration technique de D. Raboteau² et M. Vandier¹

MOTS CLÉS

Acyrtosiphon pisum, *Medicago* ssp. annuelles, méthode d'estimation, puceron du pois, variabilité génétique

KEY-WORDS

Acyrtosiphon pisum, annual medicks, estimation method, genetic variation, pea aphid

AUTEURS

1 : I.N.R.A., Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, Laboratoire de Zoologie, F-86600 Lusignan

2 : I.N.R.A., Unité d'entomologie, Le Magneraud, BP 52, F-17700 Surgères

CORRESPONDANCE

I. Badenhausser, INRA, UGAPF, Laboratoire de Zoologie, F-86600 Lusignan ;
Isabelle.Badenhausser@lusignan.inra.fr

En Australie, suite à l'introduction accidentelle de plusieurs espèces d'aphides nuisibles au genre *Medicago* (*Acyrtosiphon Kondoï* Shinji, *Therioaphis trifolii* forme *maculata* Buckton et *Acyrtosiphon pisum* Harris, le puceron du pois), des programmes de sélection ont été entrepris pour la résistance à ces pucerons. C'est essentiellement sur *Medicago truncatula* Gaertn. qu'ont porté ces travaux (LAKE, 1993), mais sa proximité génétique avec *Medicago littoralis* Rhode a permis également de transférer la résistance envers *A. kondoï* et *T. trifolii* à cette dernière espèce (LAKE et al., 1997). Les sources de résistance au puceron du pois sont peu rapportées dans les travaux australiens. Ainsi, ORAM (1982) rapporte la résistance du cultivar Paraggio de *M. truncatula* à trois espèces d'aphides (*T. trifolii*, *A. kondoï*, *Aphis craccivora* Koch), mais sa sensibilité au puceron du pois. **En France, c'est *A. pisum* qui est de loin l'espèce aphidienne dominante du genre *Medicago*.**

Dans une investigation antérieure portant sur la tolérance des plantules de *Medicago* à l'infestation aphidienne (LANDRÉ et al., 1999), nous avons trouvé que le cultivar Murrayland de *Medicago italica* Miller (selon la taxonomie de SMALL et JOMPHE, 1989) présentait un niveau de résistance très élevé à un clone d'*A. pisum* prélevé sur la luzerne. Ensuite, nous avons montré le caractère résistant du cultivar Harbinger de *M. littoralis* (BOURNOVILLE et al., 2004) que ce soit en considérant la tolérance des plantules aux aphides, le taux de reproduction des aphides ou leur comportement alimentaire évalué par les techniques d'électropénétrographie.

Le présent travail s'intéresse à des bases génétiques élargies, avec la **recherche de sources de résistance au puceron du pois majoritairement chez *M. truncatula***. Il rassemble également des éléments méthodologiques et examine les effets de la résistance sur les paramètres biologiques du puceron **en considérant l'origine génétique des pucerons**.

1. Méthode de criblage de *Medicago* annuelles pour la résistance au puceron du pois

■ Le test de résistance au stade plantule

La disponibilité d'une méthodologie pour évaluer la résistance au puceron du pois obtenue sur la luzerne *M. sativa* nous a conduits à l'appliquer à des *Medicago* annuelles. Nous nous référerons aux modalités de mise en pratique de ce test sur *M. sativa*, réalisé en conditions contrôlées (20°C, photophase 16 heures), telles que nous les avons publiées (BOURNOVILLE et al., 1999). Des barquettes contenant 50 plantules sont infestées au stade «cotylédons ouverts» avec une biomasse de 150 mg de pucerons. Une seconde infestation avec la même quantité d'aphides se situe six jours après. Cette infestation est arrêtée par un traitement insecticide au 13^e jour. La notation de l'état des plantules se fait le 27^e jour. La matière verte épigée des plantes survivantes est séchée durant 48 heures à 60°C avant d'être pesée. Le critère de survie des plantules caractérise la résistance. Le

pois sec des plantes survivantes est également un indice de résistance, qui conduit à considérer le rapport de poids des matières sèches des lots infestés et des lots témoins non infestés.

■ Détermination du nombre de répétitions nécessaires pour séparer des cultivars

Afin d'élargir le test aux *Medicago* annuelles, dans une première étape, nous avons déterminé le **nombre de barquettes de 50 plantules permettant de différencier deux génotypes végétaux avec une précision fixée**. Dans cette recherche préliminaire, nous avons utilisé un clone de puceron dominant dans les populations d'*A. pisum* de la luzerne. Nous l'avons porté dans les conditions qui viennent d'être rapportées ci-dessus sur le cultivar Jemalong de *M. truncatula*, d'origine australienne, qui est sensible à *A. Kondoï* (EDWARDS *et al.*, 2004) comme à *A. pisum* (RIDLAND *et BERG*, 1981) dans ce pays. Il en est de même d'après nos tests préliminaires en France pour le cas du puceron du pois.

Nous avons calculé le nombre de répétitions nécessaires selon la formule de DAGNÉLIE (1980) en considérant comme variables le nombre de plantules mortes par barquette de 50 plantules et le poids sec des plantules survivantes par barquette. Sur la base des variances observées du nombre de plantules mortes par barquette pour lesquelles une variabilité existe, et **pour des risques de 1^{er} et de 2^e espèce** ($\alpha=0,05$ et $\beta=0,10$), **six répétitions sont nécessaires** pour mettre en évidence une différence absolue de dix plantules mortes par barquette de cinquante plantules entre deux génotypes végétaux. La considération du poids de matière sèche des plantules survivantes conduit à un nombre voisin de répétitions pour les mêmes précisions relatives. Pour les mêmes risques, des différences absolues de 0,05 g entre deux cultivars nécessitent trente deux répétitions. Six répétitions permettent de mettre en évidence, quant à elles, des différences absolues de 0,12 g.

2. Recherches d'accessions de *Medicago* annuelles résistantes face aux races d'hôtes de l'aphide

■ Le choix du matériel végétal

La recherche de *Medicago* annuelles résistantes s'est faite en plusieurs étapes. La première a été **un tri préliminaire** face à un clone du puceron du pois provenant d'une souche aphidienne originaire de la luzerne et maintenue depuis plusieurs années en élevage sur la féverole. Cette plante est communément admise comme propice à la multiplication d'*A. pisum* provenant des Fabacées. Cette investigation, effectuée sur une seule barquette de 50 plantules par accession, a eu pour but de classer les accessions par catégorie majeure de niveaux de résistance (tableau 1). Nous avons observé une grande amplitude des réponses des accessions au puceron du

TABLEAU 1 : Evaluation de la résistance des accessions de *Medicago truncatula*, *M. littoralis* et *M. italica* dans le test préliminaire.

TABLE 1 : Assessment of the resistance of the accessions of *M. truncatula*, *M. littoralis* and *M. italica* in the preliminary test.

Espèce	Accession	Type	Origine	Mortalité (%)	MS lots infestés/ MS lot témoin
<i>M. truncatula</i>	Parabinga	Cultivar	Australie	100	0,000
<i>M. truncatula</i>	GRC.020	Ecotype	Grèce	100	0,000
<i>M. truncatula</i>	DZA.045-5	Lignée	Algérie	100	0,000
<i>M. truncatula</i>	Borong	Cultivar	Australie	98	0,003
<i>M. truncatula</i>	Mogul	Cultivar	Australie	98	0,006
<i>M. truncatula</i>	F83.005-9	Lignée	France	98	0,001
<i>M. truncatula</i>	DZA.055	Ecotype	Algérie	96	0,023
<i>M. truncatula</i>	CV108-RII18	Ecotype	Israël	96	0,005
<i>M. truncatula</i>	DZA.315-26	Ecotype	Algérie	96	0,009
<i>M. truncatula</i>	CRE.007	Ecotype	Crète	94	0,015
<i>M. truncatula</i>	Paraggio	Cultivar	Australie	94	0,012
<i>M. truncatula</i>	Sephi	Cultivar	Australie	94	0,006
<i>M. truncatula</i>	GRC.064	Ecotype	Grèce	92	0,028
<i>M. italica</i>	ESP.050	Ecotype	Espagne	90	0,012
<i>M. truncatula</i>	DZA.315-AC7	Lignée	Algérie	88	0,019
<i>M. truncatula</i>	Jemalong	Cultivar	Australie	88	0,019
<i>M. truncatula</i>	Cyprus	Cultivar	Australie	80	0,014
<i>M. littoralis</i>	F20.026	Ecotype	France	78	0,045
<i>M. truncatula</i>	GRC.043	Ecotype	Grèce	62	0,093
<i>M. truncatula</i>	ESP.039	Ecotype	Espagne	56	0,054
<i>M. truncatula</i>	F34.042	Ecotype	France	48	0,052
<i>M. truncatula</i>	DZA.327	Ecotype	Algérie	44	0,247
<i>M. truncatula</i>	F20.047	Ecotype	France	44	0,041
<i>M. littoralis</i>	PTR.180	Ecotype	Portugal	40	0,072
<i>M. littoralis</i>	DZA.032A	Ecotype	Algérie	38	0,104
<i>M. truncatula</i>	Salernes	Cultivar	France	30	0,130
<i>M. truncatula</i>	ESP.171	Ecotype	Espagne	30	0,150
<i>M. truncatula</i>	PRT.180-21	Lignée	Portugal	28	0,196
<i>M. truncatula</i>	F20.061	Ecotype	France	26	0,093
<i>M. truncatula</i>	Caliph	Cultivar	Australie	20	0,120
<i>M. truncatula</i>	DZA.105	Ecotype	Algérie	18	0,198
<i>M. truncatula</i>	DZA.233	Ecotype	Algérie	14	0,133
<i>M. truncatula</i>	DZA.220	Ecotype	Algérie	12	0,286
<i>M. truncatula</i>	F11.005	Ecotype	France	10	0,310
<i>M. littoralis</i>	GRC.036	Ecotype	Grèce	10	0,315
<i>M. truncatula</i>	F20.089	Ecotype	France	8	0,180
<i>M. truncatula</i>	F83.005.5	Lignée	France	6	0,345
<i>M. truncatula</i>	F11.013	Ecotype	France	4	0,360
<i>M. truncatula</i>	ESP.165	Ecotype	Espagne	4	0,448
<i>M. truncatula</i>	ESP.105	Ecotype	Espagne	2	0,350
<i>M. littoralis</i>	F34.024A	Ecotype	France	2	0,342
<i>M. littoralis</i>	ESP.027	Ecotype	Espagne	2	0,421
<i>M. truncatula</i>	ESP.175.2	Lignée	Espagne	0	0,338
<i>M. littoralis</i>	Harbinger	Cultivar	Australie	0	0,385
<i>M. truncatula</i>	ESP.158	Ecotype	Espagne	0	0,299
<i>M. truncatula</i>	ESP.159	Ecotype	Espagne	0	0,271

pois, puisque le pourcentage de plantules saines varie de 0 à 100%. La considération de ce pourcentage mais également du poids de matière sèche des plantules survivantes nous a fait retenir pour la suite de l'étude **dix accessions parmi les plus résistantes.**

■ Prise en considération de la variabilité aphidienne

Nous avons utilisé pour les tests deux origines de pucerons, le pois et la luzerne. Selon notre expérience, les populations du puceron du pois présentent en France des biotypes qui sont des races d'hôtes, c'est-à-dire des populations isolées partiellement sur le plan reproductif des autres populations en conséquence directe de leur adaptation à

un hôte végétal spécifique. C'est ainsi que **nous avons distingué, sur la base de critères biochimiques (allozymes), comportementaux et biologiques, les populations d'*A. pisum* provenant de la luzerne et du pois** (BOURNOVILLE *et al.*, 2003a). La comparaison des populations de pucerons issues de ces deux Fabacées est intéressante dans l'étude des rapports du puceron avec ses hôtes végétaux car il s'agit de deux espèces végétales qu'*A. pisum* colonise facilement. C'est sur la base d'une codification prenant en compte les fréquences alléliques de 4 systèmes polymorphes d'allozymes et la couleur des aphides (verte ou rose), que nous avons caractérisé les populations de pucerons utilisées pour les tests décrits plus loin. Le tableau 2 montre que **les pucerons prélevés sur le pois sont caractérisés par la présence d'un génotype majoritaire**, voire unique, **tandis qu'il n'y a pas de génotype dominant dans les populations issues de la luzerne** puisqu'au moins trois génotypes sont représentés à plus de 10% chacun. Le génotype 21 qui domine sur le pois n'est pas retrouvé sur la luzerne, ce qui est conforme à nos résultats antérieurs ; de même, tous les génotypes cités sur la luzerne ont déjà été mentionnés sur cette plante auparavant (BOURNOVILLE *et al.*, 2003a).

TABLEAU 2 : Répartition des génotypes multilocus du puceron du pois dans les élevages utilisés pour les tests d'évaluation de la résistance des accessions de *Medicago* annuelles.

TABLE 2 : *Distribution of the multilocus genotypes of pea aphid in the batches used in the tests assessing the resistance of annual medick accessions.*

Plante hôte d'origine des pucerons	Code des génotypes de pucerons	Répartition (%) des génotypes dans les souches	
		Test 1	Test 2
Pois	21	87	100
	Autres	13	0
Luzerne		Test 3	Test 4
	11	0	11
	16	29	0
	17	0	51
	32	12	0
	48	0	11
	53	21	0
55	18	0	
	Autres	20	27

■ Dispositif expérimental et traitement statistique utilisés

Quatre tests indépendants (tableaux 2 et 3) ont été mis en œuvre en utilisant pour chacun une même référence de sensibilité : le cultivar Jemalong. Dans chaque test, on a comparé la réponse de 5 accessions soumises à l'infestation standardisée de pucerons provenant soit du pois (test 1 pour les accessions 1 à 5, et test 2 pour les accessions 6 à 10), soit de la luzerne (test 3 pour les accessions 1 à 5 et test 4 pour les accessions 6 à 10), à celle du cultivar de référence Jemalong. Au sein d'un test, 6 barquettes de chaque accession ou cultivar ont été infestées et une barquette de chaque accession ou cultivar a servi de témoin non infesté. Pour chaque test, des pucerons étaient prélevés dans un champ de luzerne ou de pois à Lusignan (Vienne), isolés pour éliminer tout risque de parasitisme au sein des élevages et multipliés sur la plante hôte d'origine. Ce dispositif expérimental en **4 tests indépendants** a été justifié par la taille de la **chambre climatisée** et par la disponibilité des graines et des souches aphidiennes. Sur le plan statistique, il impose

Accession	Mortalité des plantules* (%)	Matière Sèche lot infesté / MS lot témoin* correspondant	Mortalité des plantules* (%)	MS lot infesté / MS lot témoin* correspondant
Test 1 : Aphides du pois		Test 3 : Aphides de la luzerne		
1 : ESP 105	2,0	0,872 c	8,0 ab	0,587 d
2 : ESP175-2	10,0	0,612 c	2,7 a	0,432 c
3 : ESP 158	3,7	0,361 ab	39,3 d	0,254 b
4 : F11.005	15,0	0,438 bc	26,0 cd	0,409 c
5 : F34.024 A	10,0	0,535 bc	20,3 bc	0,199 ab
Jemalong	6,0	0,286 a	92,4 c	0,097 a
ANOVA	ddl=5 ; 23 ; F=2,12 ; Pr(F)=0,10	ddl=5 ; 23 ; F=33,35 ; Pr(F)<0,01	ddl=5 ; 29 ; F=65,74 ; Pr(F)<0,01	ddl=5 ; 29 ; F=21,55 ; Pr(F)<0,01
Test 2 : Aphides du pois		Test 4 : Aphides de la luzerne		
6 : F83.005-5	6,7 b	0,607 b	95,6 cd	0,012 a
7 : F11.013	0,7 a	0,696 b	42,6 b	0,273 bc
8 : ESP 027	1,0 a	0,654 b	18,0 a	0,356 c
9 : ESP 159	1,3 a	0,572 b	29,6 ab	0,256 b
10 : ESP 165	3,0 ab	0,690 b	37,0 ab	0,201 b
Jemalong	7,0 b	0,259 a	98,6 d	0,002 a
ANOVA	ddl=5 ; 30 ; F=3,12 ; Pr(F)=0,02	ddl=5 ; 30 ; F=12,83 ; Pr(F)<0,01	ddl=5 ; 30 ; F=62,45 ; Pr(F)<0,01	ddl=5 ; 30 ; F=25,85 ; Pr(F)<0,01
* Dans chaque colonne et pour chaque test, les valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement entre elles au seuil de 5% (test de Schaeffe)				

de traiter les résultats des 4 tests de manière indépendante. Une analyse de variance à un facteur (accession) a été réalisée au sein de chaque test, ainsi qu'une comparaison entre les accessions testées et le cultivar de référence Jemalong quand l'analyse de variance était significative au seuil de 5% (test de comparaison de moyennes de Schaeffe). Les analyses ont porté, au bout de 27 jours, sur le nombre de plantules mortes par barquette et sur le rapport de la matière sèche de chaque barquette infestée et de celle de la barquette témoin non infestée.

■ Les interactions entre races d'hôtes et niveau de résistance

Les résultats des tests de résistance des plantules soumises à la **souche aphidienne provenant du pois** (tests 1 et 2) fournissent **des mortalités de plantules extrêmement faibles**, inférieures ou égales à 15% (tableau 3), même dans le cas de Jemalong, témoin de sensibilité. En considérant les rapports des matières sèches des plantules infestées survivantes et de leur témoin non infesté, on remarque que, **même si la mortalité des plantules est faible, les pucerons agissent sur la production de matière sèche en la réduisant**. Les matières sèches des accessions testées sont presque toutes supérieures à celle de Jemalong qui, dans les lots infestés, ne produit qu'environ 30% de matière sèche par rapport au lot non infesté.

Pour les tests réalisés **avec la souche aphidienne provenant de la luzerne** (tests 3 et 4), on observe **des niveaux de résistance très différents d'une accession à l'autre** puisque la plus forte mortalité observée est de 95,6% pour l'accession F83.005-5 et la plus faible est

TABLEAU 3 : Evaluation de la résistance des accessions de *Medicago* annuelles au stade plante vis-à-vis de deux origines du puceron du pois.

TABLE 3 : Assessment of the resistance of annual medick accessions at the seedling stage to pea aphids of two origins.

obtenue pour l'accession ESP175-2 avec 2,7% de mortalité. D'autres accessions présentent des taux de mortalité intermédiaires. Le témoin de sensibilité, Jemalong, présente quant à lui une mortalité extrêmement élevée (92,4% dans le test 3 et 98,6% dans le test 4) (tableau 3). Ces tests fournissent des résultats différents de ceux obtenus lors du criblage préliminaire pour la majorité des accessions. La valeur relative du poids de matière sèche des plantes survivantes par rapport au témoin correspondant est particulièrement faible pour les accessions sensibles. Une différence significative existe entre les résultats du cultivar Jemalong des tests 3 et 4, imputable certainement à la différence du clone dominant dans chacun de ces tests, sans qu'elle ait une réelle importance pratique.

La considération des races d'hôtes est essentielle pour apprécier l'intérêt des résistances des *Medicago* annuelles au puceron du pois, puisque les résistances des accessions diffèrent selon l'origine des aphides. Avec la souche aphidienne provenant du pois, les niveaux de résistance restent élevés et proches de ceux obtenus dans le classement préliminaire. Cela concerne même le cultivar Jemalong qui est résistant au clone 21 dominant dans les populations du puceron provenant du pois. Antérieurement, Jemalong s'était pourtant révélé sensible vis-à-vis d'un clone codé 75 qui est également un clone fréquent sur le pois (BOURNOVILLE *et al.*, 2004). Par rapport au test préliminaire, les modifications de classement sont importantes avec les populations prélevées sur la luzerne puisque 50% d'entre elles ont des taux de mortalité qui dépassent 30% de plantules. Malgré un **fort impact de la race d'hôte du puceron prélevée sur la luzerne**, quelques accessions de *Medicago* annuelles maintiennent une résistance élevée. On soulignera que **le meilleur classement de résistance est obtenu avec une lignée, ESP 175.2.**

3. Les critères biologiques aphidiens affectés par des *Medicago* annuelles résistantes

■ Méthode d'étude

L'appréciation de l'effet de la résistance des plantes sur les pucerons nécessite qu'on s'intéresse à **des plantes développées sur lesquelles on peut élever les insectes**. Sur la base des résultats que nous avons acquis sur la luzerne (GIROUSSE et BOURNOVILLE, 1994), nous avons opéré en pièce climatisée (20°C, 16 h de photophase), en nous intéressant à une population aphidienne de la luzerne qui comporte trois génotypes majeurs : 17 (pour 72%), 48 (pour 8%) et 60 (pour 18%). Cette structuration aphidienne n'est pas très éloignée de ce qui est observé dans le test 4 (tableau 2). Le test suivant a été réalisé sur les accessions 6 à 10 (tableau 3), avec 10 répétitions par accession.

Le jour J-3, on isole des larves de 4^e stade des souches d'aphides produites sur leur plante d'origine. Le jour J, on prélève les individus qui sont devenus adultes et on les pèse individuellement afin

de constituer des lots de dix individus homogènes en poids entre eux. On note pour chaque plante le nombre d'entre-nœuds (et éventuellement la présence d'organes floraux). On enserre chaque plante par une bonnette de polypropylène micro-perforé. On dépose un adulte identifié par plante à tester, sur la partie supérieure de la plante, après quoi le sommet de la bonnette est thermo-soudé. L'ensemble des plantes est placé de façon aléatoire sur les tables de la pièce climatisée.

Le jour J+7, on retire la bonnette, on fait chuter l'ensemble des pucerons de chaque plante sur du papier filtre, en coupant la plante à la base. L'adulte, s'il est toujours en vie, est isolé, pesé puis congelé dans un tube Eppendorf étiqueté, afin de caractériser ultérieurement son génotype (quatre systèmes allozymiques + couleur). De même, on compte les larves vivantes que l'on pèse et congèle, et on compte les larves mortes. La phénologie de chaque plante est évaluée par son nombre d'entre-nœuds.

On dispose de séries de données relatives au poids des pucerons adultes les jours J et J+7, au poids des larves à J+7, à la mortalité à J+7 des adultes et des larves, et au taux net de reproduction à J+7. Concernant les plantes, on a les phénologies à J et J+7. On réalise l'analyse statistique par analyse de variance à un facteur (accession) et de comparaison de moyennes avec le test de Schaeffe quand l'analyse de variance est significative au seuil de 5%. Les mortalités imaginaires sont analysées avec le test de χ^2 .

■ Effet de la résistance sur les pucerons

Le poids des adultes vivants est élevé (de 3,12 à 4,94 mg), tant au jour J qu'au jour J+7, leur mortalité se situe dans l'intervalle 0-50% avec des différences significatives entre accessions ($\text{proba}(\chi^2) < 0,001$). Les taux nets de reproduction à sept jours varient dans un rapport de un à deux avec des moyennes supérieures élevées (64,6 larves) ; les biomasses larvaires produites suivant la même tendance (tableau 4). **La décroissance des paramètres biologiques des pucerons suit l'accroissement de la résistance des plantules exprimée dans le test relatif à celles-ci.** Ainsi, les mortalités des plantules et celle des adultes des tests homologues sont corrélées ($P=0,005$).

TABLEAU 4 : Critères biologiques de la population d'*A. pisum* provenant de la luzerne, élevée sur quelques accessions de *Medicago* annuelles.

TABLE 4 : *Biological criteria of the A. pisum population from lucerne, grown on a few accessions of annual medicks.*

Variable	F83.005-5	F11.013	ESP027	ESP159	ESP165	Jema-long	ANOVA		
							ddl	F	Pr(F)
Jour J*									
Poids moyen des adultes (mg)	4,60 a	4,50 a,	4,64 a	4,07 a	4,27 a	4,63 a	5 ; 50	0,66	0,65
Jour J+7*									
Mortalité des adultes (%)	0	11	50	44	40	0	-	-	-
Poids moyen des adultes vivants (mg)	4,58 ab	4,50 ab	3,12 a	3,88 ab	3,32 a	4,94 b	5 ; 37	4,55	0,002
Taux net de reproduction (larves/adulte)	64,6 b	35,6 a	29,8 a	45,4 ab	35,9 a	59,0 b	5 ; 50	7,42	<0,001
Biomasse des larves (mg)	55,7 bc	32,4 ab	25,6 a	45,2 abc	35,4 abc	48,8 bc	5 ; 50	3,99	0,004

* Sur une ligne, les valeurs suivies d'une même lettre ne diffèrent pas entre elles au seuil de 5% (test de Schaeffe).

4. Discussion, conclusion

■ Un test applicable aux *Medicago* annuelles

Nous avons appliqué à trois espèces de *Medicago* annuelles une méthodologie d'évaluation de la résistance au puceron du pois, initialement développée pour la luzerne cultivée *M. sativa*. Cette extension est valable, puisque la gamme de comportement des diverses accessions se répartit dans une fourchette qui va de la totale sensibilité à la résistance maximale. Le nombre de répétitions nécessaire à un criblage, tel que nous l'avons calculé dans notre expérience pratiquée avec le cultivar Jemalong de *M. truncatula* est compatible avec les moyens qu'on peut mettre en œuvre en sélection végétale. Dans les travaux de RIDLAND et BERG (1981), la résistance de cultivars de diverses légumineuses incluant *M. truncatula* et *M. littoralis* au puceron du pois utilise aussi un test pratiqué au stade plantules. Il est réalisé sous serre, avec des unités d'infestation de 300 plantules, un stade d'infestation plus tardif (une feuille unifoliée), une référence volumique (2 ml) pour les infestations aphidiennes renouvelées en fonction de l'évolution du témoin de sensibilité, et une durée de test variable. Les modalités de notre test réalisé en chambre climatisée comportent une durée d'infestation fixe, un renouvellement systématique de l'infestation aphidienne et une durée constante du test. Cette standardisation est donc plus complète et de ce fait étend les possibilités de comparaisons de résultats obtenus par exemple par divers expérimentateurs, en plusieurs lieux.

■ Des sources de résistance élevée au puceron du pois chez les *Medicago* annuelles

Les références australiennes font essentiellement mention des progrès de la sélection pour la résistance à *A. Kondoï* et *T. trifolii* : LAKE (1998) signale que l'évaluation de 12 000 accessions de diverses espèces de *Medicago* annuelles a permis de ne retenir que 0,1% d'entre elles pour leur résistance aux aphides. Le déterminisme monogénique de la résistance (EDWARDS *et al.*, 2001) à *A. Kondoï* a permis la création de cultivars de *M. truncatula* résistant à cet aphide (Jester, Caliph, Mogul). Les éléments publiés en Australie sur la résistance à *A. pisum* ne font guère mention que de résistances faibles : le cultivar Harbinger de *M. littoralis* est flétri par les infestations de puceron du pois selon RIDLAND et BERG (1981) mais présente peu de mortalité des plantules. Dans notre test préliminaire, comme dans une publication antérieure (BOURNOVILLE *et al.*, 2004) utilisant un même clone aphidien provenant de luzerne (code 48), **Harbinger est très résistante** puisque la survie des plantules se situe entre 90,7% et 100%. Dans les dix accessions que nous avons retenues pour l'évaluation plus complète de la résistance, **deux accessions de *M. littoralis* se situent également à un niveau élevé de résistance**. Il s'agit de ESP 027 et F.34024. Nos résultats montrent de plus des résistances importantes dans **des accessions de *M. truncatula***. Le meilleur classement de résistance est obtenu avec un matériel végétal stable, puisqu'il s'agit d'une lignée (ESP 175.2). Ces résistances se situent souvent à un niveau supérieur à ce que nous avons trouvé chez la

luzerne cultivée, où notre référence de résistance est le cultivar CUF-101, d'origine américaine dont le taux moyen de survie des plantules est de 79,4% lorsqu'on les confronte à des populations d'*A. pisum* provenant de zones géographiques représentatives de la luzerne en France (BOURNOVILLE *et al.*, 2003b).

■ Une interaction importante à considérer entre la race d'hôte des pucerons et l'expression de la résistance

Nos résultats montrent que, dans la mise en œuvre de tests de résistance, on doit porter une attention particulière à l'origine des pucerons utilisés pour infester les plantules. Cela concerne le végétal sur lequel ils ont été prélevés, mais aussi le clone aphidien dans le cas où l'élevage est mono-clonal. En effet, pour ce dernier point, il est important de retenir un génotype bien représenté dans la population aphidienne considérée. Dans notre cas, c'est l'utilisation de populations aphidiennes provenant de la luzerne et non du pois qui permet de mettre en évidence des différences de résistance entre les accessions testées. Nous avons montré que **la résistance des plantes passe par une décroissance de la survie et du taux de reproduction des pucerons**. Nous pouvons rapprocher ces éléments de ceux publiés par EDWARDS *et al.* (2004) qui, dans leur étude des relations biologiques d'*A. Kondoï* avec la résistance de *M. truncatula*, signalent la décroissance de la survie et du taux de croissance pondérale des aphides sur des lignées résistantes. Précédemment, en utilisant deux clones d'*A. pisum*, et les techniques d'enregistrement électropénétrographique de leur comportement alimentaire (BOURNOVILLE *et al.*, 2004), nous avons montré le rejet des *Medicago* annuelles par le clone d'*A. pisum* provenant du pois. De plus, pour le clone venant de la luzerne, les pucerons élevés sur des accessions sensibles atteignent les tissus phloémiens rapidement, et y ingèrent longtemps la sève élaborée. Sur les accessions résistantes, le phloème est atteint plus tardivement et la durée de l'ingestion de sève est diminuée. EDWARDS *et al.* (2004) signalent que la résistance du cultivar Jester résistant à *A. Kondoï* est liée à une période accrue de non-pénétration des tissus végétaux et à des manques d'ingestion phloémienne. L'ensemble des résultats que nous avons acquis sur **la résistance** de *M. truncatula* et des espèces proches au puceron *A. pisum* montre qu'elle **est de nature alimentaire ou nutritive**.

Accepté pour publication, le 16 octobre 2005.

Remerciements : Nous remercions notre collègue J.M. Prospero, de l'INRA de Montpellier pour le choix initial et la fourniture des accessions de *M. truncatula* et *M. littoralis*. Ces recherches ont bénéficié pour partie du soutien de l'Action transversale structurante de l'INRA «Génétique et génomique de la légumineuse modèle *Medicago truncatula*»

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOURNOVILLE R., LANDRÉ B., AUPINEL P., GIROUSSE C., BADENHAUSSER I. (1999) : «Tests en conditions contrôlées de la résistance variétale de la luzerne au puceron du pois», *Fourrages*, 158, 157-168.
- BOURNOVILLE R., CARRÉ S., JACQUARD M., MEUNIER N. (2003a) : «Puceron du pois : des populations spécialisées sur la luzerne et le pois», *Phytoma*, 559, 25-27.
- BOURNOVILLE R., CARRÉ S., LANDRÉ B., AUPINEL P., GRIMAUD E., EPARDAUD M. (2003b) : «Effets de populations françaises du puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera : Aphididae) sur la résistance d'un cultivar de luzerne», *Phytoprotection*, 84, 1, 9-17.
- BOURNOVILLE R., BADENHAUSSER I., CARRÉ S., GERBAUD S. (2004) : «Evaluation of medics resistance to pea aphid clones of two host-races», *Aphids in a new millennium*, J.C. Simon, C.A. Dedryver, C. Rispe et M.Hullé éd., INRA éditions, 421-426.
- DAGNÉLIE P. (1980) : *Théorie et méthodes statistiques*, Les Presses Agronomiques de Gembloux.
- EDWARDS O., ANDERSSON C., RIDSDILL-SMITH J., SINGH K. (2001) : «*Medicago truncatula* as a model for studying sap-sucking insect-plant interactions», *4th Workshop on Medicago truncatula*, Madison, Wisconsin, 60.
- EDWARDS O., RIDSDILL-SMITH J., HORBURY R. (2004) : «Bluegreen aphid resistance in breeding lines of the model legume *Medicago truncatula*», *Aphids in a new millennium*, J.C. Simon, C.A. Dedryver, C. Rispe et M. Hullé éd., INRA éditions, 435-440.
- GIROUSSE C., BOURNOVILLE R. (1994) : «Biological criteria of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* Harris and varietal resistance of Lucerne», *Eucarpia/FAO meeting : Management and breeding of perennial lucern for diversified purposes*, Lusignan, 251-253.
- LAKE A.W.H. (1993) : «Register of Australian herbage cultivars : *Medicago truncatula* Gaertn. (barrel medics) cvs. Calliph, Mogul», *Aus. J. Exp. Agri.*, 33, 821-824.
- LAKE A.W.H. (1998) : «Breeding and selection of annual medics for resistance to pests, particularly alfalfa aphids», *Report 36th North American alfalfa improvement conference*, Bozeman, Montana, 8.
- LAKE A.W.H., HOWIE J.H., DREWRY R.E., HILL J.R., ROBINSON S.S., SCUTZ P.R., HAMMER A., HEINRICH N.B. (1997) : «*Medicago littoralis* Rhode cv. Herald», *Aus. J. Exp. Agri.*, 37, 609-610.
- LANDRÉ B., BOURNOVILLE R., AUPINEL P., CARRÉ S., BADENHAUSSER I., GIROUSSE C., JULIER B. (1999) : «Ranking of some lucerne and medics cultivars for pea aphid resistance», *Proc. XIth Eucarpia Medicago spp. Group Meeting*, Perugia, Italy, 231-238.
- ORAM R.N. (1982) : «Register of Australian herbage plant cultivars. 9. Annual medics. *Medicago truncatula* Gaertn. Var. *truncatula* (barrel medic). Cv Paraggio (Reg. No B-9a-9)», *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, 48, 239-240.
- RIDLAND P.M., BERG G.N. (1981) : «Seedling resistance to pea aphid of Lucerne, annual medic and clover species in Victoria», *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 21, 506-511.
- SMALL E., JOMPHE. (1989) : «A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae)», *Can. J. Bot.*, 67: 3260-3294.

SUMMARY

Identification of sources of resistance to the pea aphid in annual medicks

A standardized seedling test of lucerne (*Medicago sativa* L.) resistance to the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum* Harris) was applied to several annual *Medicago* species. A unit consisted in a tray containing a soil mixture in which 50 seedlings of the same accession were transferred at the cotyledon stage. A fixed biomass of 150 mg aphids at D and at D+7 was used to infest the seedlings, and aphid multiplication was stopped at D+13. At the end of the test, at D+27, accessions were ranked according to two criteria, seedling survival and dry matter of the surviving seedlings. We calculated that 6 replicates (6 units) per accession were enough to distinguish accessions differing by 20% in seedling mortality. In a preliminary test, 46 accessions of *Medicago truncatula*, *Medicago littoralis*, *Medicago italica* were tested on the basis of 1 replicate per accession. Ten accessions were then chosen among the most resistant accessions to investigate the effect of aphid host plant (lucerne, pea) on plant resistance. Previous studies had shown the existence of host races in *A. pisum*. Taking into account allozyme polymorphism at four loci and colour polymorphism, we have shown that aphid populations on pea were composed of one predominant genotype, while aphid populations on alfalfa were composed of 3 to 4 genotypes different from the one observed on pea. Seedling tests with aphids from pea revealed that all accessions were resistant to the pea aphid (seedling mortality < 15%), while variability of accession resistance was high with aphids collected in alfalfa (seedling mortality ranged from 2,7% to 98,6%). Biological tests on the effect of the resistant accessions on aphid survival and reproduction showed that these criteria were both affected by plant resistance.