

Résistance du PUCERON VERT DU PECHER (*Myzus persicae*) aux pyréthriinoïdes et aux carbamates en culture de colza

RESUME DES ETUDES SUR LA RECHERCHE DES RESISTANCES DE CIBLE ET PLAN DE SURVEILLANCE 2010

Résumé

Les études réalisées sur les résistances de cible aux carbamates et aux pyréthriinoïdes chez *Myzus persicae* dans les cultures de colza du nord-est de la France ont révélé l'existence d'une résistance de cible aux pyréthriinoïdes inédite chez *M. persicae* liée à la mutation M918L (Skdr atypique). Des outils moléculaires ont permis la recherche de trois mutations responsables de résistances de cible : Mace affectant la sensibilité vis-à-vis des carbamates (S431F), kdr (L1014F) et Super-kdr atypique (M918L), ces deux dernières entraînant une résistance aux pyréthriinoïdes. Cette étude montre un bouleversement du génotype de résistance dominant sur colza qui était jusqu'à récemment représenté par un génotype essentiellement résistant aux pyréthriinoïdes (grâce à une surproduction d'estérases complétée par une résistance de cible liée à la mutation kdr). Les prélèvements de 2009 et 2010 montrent un nouveau génotype omniprésent équipé de résistances de cible aux carbamates (Mace) et aux pyréthriinoïdes (S-kdr atypique). Ce génotype est compromettant pour la lutte contre ce ravageur en culture de colza qui, de fait, ne repose plus que sur une seule famille : celle des néonicotinoïdes.

Mots-clés : *Myzus persicae*, résistances de cible, kdr, super kdr atypique, Mace.



I. Présentation-Contexte

L'étude des résistances aux pyréthriinoïdes et aux carbamates chez le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) est un travail qui a été initié en 2009 par l'unité Résistance aux produits phytosanitaires. Chez ce puceron, deux grands types de mécanismes de résistances aux insecticides ont été bien identifiés et étudiés dans la littérature :

- Des résistances de type métabolique qui sont induites par la duplication d'un gène et qui engendrent une synthèse accrue de la protéine correspondante. La protéine surexprimée est une enzyme capable de dégrader une ou des substance(s) active(s). Chez *M. persicae*, deux types d'enzymes sont connus pour être impliqués dans des résistances métaboliques :
 - les carboxylestérases E4 ou FE4 qui confèrent une résistance modérée vis-à-vis d'un large spectre d'insecticides (carbamates, pyréthriinoïdes, organophosphorés) (Field *et al.*, 1993).
 - un cytochrome à P450 (Puinean *et al.*, 2010) qui est impliqué uniquement dans une résistance modérée aux néonicotinoïdes.
- Des résistances dites de cible ont également été détectées chez cet insecte. Elles sont dues à une modification de la protéine ciblée par l'insecticide et elles sont responsables d'une très forte baisse d'efficacité des insecticides concernés. Trois grandes familles d'insecticides sont concernées par ce type de résistance : les pyréthriinoïdes, les carbamates et plus récemment les néonicotinoïdes.
 - Pour les pyréthriinoïdes, deux mutations, parfaitement décrites chez *M. persicae*, affectent la cible de l'insecticide : le canal sodium. Ces mutations diminuent l'affinité de l'insecticide vis-à-vis de sa cible. Ces résistances sont nommées kdr (pour knock down resistance) et super kdr (s-kdr) (Martines-Torres *et al.*, 1999). La mutation kdr se traduit au niveau protéique par le remplacement d'une leucine par une phénylalanine en position 1014 de la protéine (L1014F). La mutation s-kdr, qui se traduit par la substitution d'une thréonine à la place d'une méthionine en position 918 de la protéine (M918T), est toujours trouvée en association avec la mutation kdr (L1014F).
 - Concernant les carbamates, une mutation, responsable d'un fort niveau de résistance, a été identifiée sur le gène codant pour l'acétylcholinestérase 2 (Nabeshima *et al.*, 2003), la cible de cette famille d'insecticide. Cette mutation, nommée Mace pour « modified acétylcholinestérase », se traduit au niveau protéique par la substitution d'une serine par une phénylalanine au niveau de l'acide aminé 431 de l'acétylcholinestérase 2 (S431F).
 - Pour les néonicotinoïdes, une mutation, responsable d'un haut niveau de résistance, a été récemment décrite (Bass *et al.*, 2011). Cette mutation affecte le gène codant pour le récepteur nicotinique et elle se traduit par la substitution d'une thréonine par une arginine au niveau de l'acide aminé 81 de la sous unité $\beta 1$ du récepteur.



L'étude menée en 2010, à partir de prélèvements effectués à l'automne 2009 dans des populations de *M. persicae* vivant sur colza, portaient uniquement sur les mutations Mace et kdr impliquées respectivement dans une résistance de cible aux carbamates et aux pyréthriinoïdes (suite à des suspicions de résistance au terrain vis-à-vis de ces deux familles). Des analyses complémentaires, portant sur une trentaine d'individus (kdr^{SS} ; $Mace^{+}$) ont également été réalisées pour rechercher d'éventuelles autres mutations de cible vis-à-vis des pyréthriinoïdes. Il s'agissait de séquencer la portion du gène du canal sodium, correspondant à un fragment où se trouve la majeure partie des mutations impliquées dans une résistance aux pyréthriinoïdes chez les insectes. Chez tous les pucerons séquencés, un polymorphisme affectant l'acide aminé 918 a été détecté. Cet acide aminé est connu pour être impliqué dans le phénotype super kdr (s-kdr) chez *M. persicae* ainsi que chez d'autres espèces. Cette mutation s-kdr est toujours trouvée en association avec la mutation kdr et induit le remplacement de la méthionine par une thréonine (M918T). Or chez les individus analysés dans notre étude, la mutation détectée est inédite chez *Myzus* et est responsable de la substitution d'une méthionine en une leucine en position 918 de la protéine (M918L) (Fontaine et al. 2011).

Les études menées en 2011 ont eu pour objectifs, d'une part, de déterminer l'impact de cette mutation M918L sur la sensibilité des *M. persicae* vis-à-vis des pyréthriinoïdes, d'autre part de mettre au point un outil moléculaire pour détecter en routine ce mécanisme et compléter les analyses de 2009 afin d'avoir une vision plus complète de la prévalence, au sein des populations de *M. persicae* parasitant le colza, des trois mutations considérées dans cette étude (Mace, kdr et s-kdr M918L).

Ce bilan est une synthèse des données contenues dans les documents placés en annexe 1 et 2 (publication et acte de colloque). Aussi, les détails concernant l'échantillonnage et les méthodes d'analyses ne seront que très brièvement abordés dans ce document.

II. Caractérisation de l'impact de la mutation M918L sur la sensibilité vis-à-vis des pyréthriinoïdes

Le détail des analyses réalisées pour déterminer l'impact de cette mutation M918L sur la sensibilité aux pyréthriinoïdes est présenté dans l'article placé en annexe 1 (Fontaine et al^a ; Fontaine et al^b, 2011)

1. Description brève des matériels et méthodes

- Clones de *M. persicae* utilisés

Des élevages de lignées clonales de pucerons sont maintenus au laboratoire afin de réaliser les analyses biologiques, enzymatiques et moléculaires. Ainsi cinq lignées clonales ont été utilisées pour cette étude :

- deux clones porteurs de la mutation M918L (sans kdr) issus de prélèvements de terrain sur colza : clones 384c et Ssym,
- un clone dénué de mutation au niveau du canal sodium et surexprimant fortement (R3) une carboxylestérase (référence « résistant métabolique ») : clone 4916A



- deux clones sensibles à tous les insecticides, dénués de surexpression de carboxylases et de mutations de cible (références « sensibles ») : clones 4106 et VBNL.

- Tests biologiques

La sensibilité des clones 384c et SSym porteurs de la mutation M918L et dénués de L1014F vis à vis des pyréthrinoïdes a été évaluée grâce à des tests biologiques au laboratoire par pulvérisation de pyréthrinoïdes (lambda cyhalothrine) à l'aide d'une tour de Potter Burgerjon.

- Tests métaboliques

Les résistances métaboliques observées chez *M. persicae* vis-à-vis des pyréthrinoïdes et des carbamates reposant sur la surexpression d'une ou deux carboxylestérases sont identifiables par des tests biochimiques (E4 et/ou FE4, Field *et al.*, 1993, 1994). La mesure de l'expression des carboxylestérases totales est réalisée selon la méthode publiée par Devonshire *et al.* (1992).

Ces tests enzymatiques ont été réalisés afin de mesurer l'activité enzymatique des carboxylestérases entre les références sensibles (4106A), la référence résistante métabolique (4916A) et les clones du laboratoire issus du terrain (384c et SSym).

2. Résultats obtenus

- Tests biologiques

Les tests de pulvérisation de pyréthrinoïdes permettent de comparer le pourcentage de mortalité obtenu avec des clones de référence sensibles aux pyréthrinoïdes (4106A et VBNL), à celui des clones 384c et SSym porteurs de la mutation M918L et dénués de L1014F.

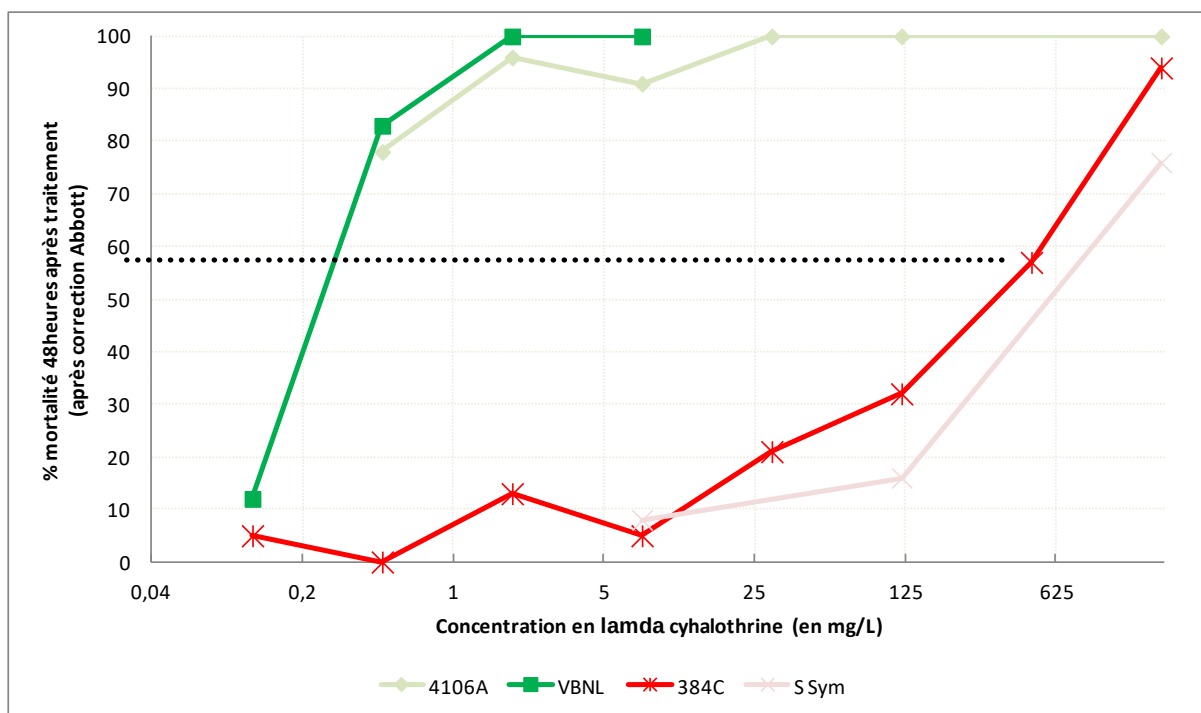
Les clones sensibles et les clones mutés M918L présentent une réponse différente à l'application de pyréthrinoïdes. En effet, les clones mutés résistent à l'application de doses élevées de lambda cyhalothrine et un écart important est enregistré entre les DL₅₀ des deux types de clones (Figure 1 et tableau I). Un tel écart conforte la suspicion d'une résistance de cible induite par la présence de la mutation M918L.

Tableau I : DL₅₀ estimées par le logiciel Probit pour les clones testés

Clone	DL50 (en mg.l ⁻¹)	Intervalle de confiance
4106A	3,07 x 10 ⁻²	[3,29 x 10 ⁻⁶ - 2,47 x 10 ⁻¹]
VBNL	2,49 x 10 ⁻¹	[1,29 x 10 ⁻¹ - 3,48 x 10 ⁻¹]
384C	237,61	[166,53 - 336,46]
SSym	662,00	[329,00 - 1238,00]



Figure 1 : Comparaison du pourcentage de mortalité Abbott entre clones sensibles (4106A et VBNL) et clones mutés M918L (384c et SSym) en fonction de la concentration en pyréthréinoïdes (lambda cyhalothrine, Karaté® Zéon) appliquée.



- Tests métaboliques

L'activité enzymatique du clone 384c reste bien inférieure à celle de la référence résistante métabolique 4916A avec $2,34 \pm 0,88$ pour le ratio 384c/4106A contre $9,52 \pm 0,62$ pour le ratio 4916A/4106A. Ces analyses confirment bien que le clone 384c ne doit pas sa résistance élevée à la lambda cyhalothrine à un unique mécanisme de type métabolique.

III. Mise au point d'un outil qPCR pour la détection de la mutation M918L

La recherche de la mutation M918L sur un large échantillon a été possible grâce à la mise au point d'une méthode d'analyse par qPCR (PCR quantitative). Seul le principe de la méthode et un exemple de résultats d'analyse seront présentés dans cette synthèse (les détails techniques de la mise au point de cet outil seront précisés dans une publication en préparation).

Le principe de la PCR quantitative en temps réel repose sur le suivi, cycle par cycle, de la réaction d'amplification enzymatique d'ADN. Ce suivi de la multiplication des produits PCR (amplicons) est possible grâce à la mesure, à chaque cycle PCR, d'un signal de fluorescence. L'augmentation du rayonnement fluorescent est proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction PCR. Pour la recherche de la mutation M918L, la technologie choisie repose sur l'utilisation de sondes Taqman. Une sonde Taqman est une petite séquence d'ADN complémentaire

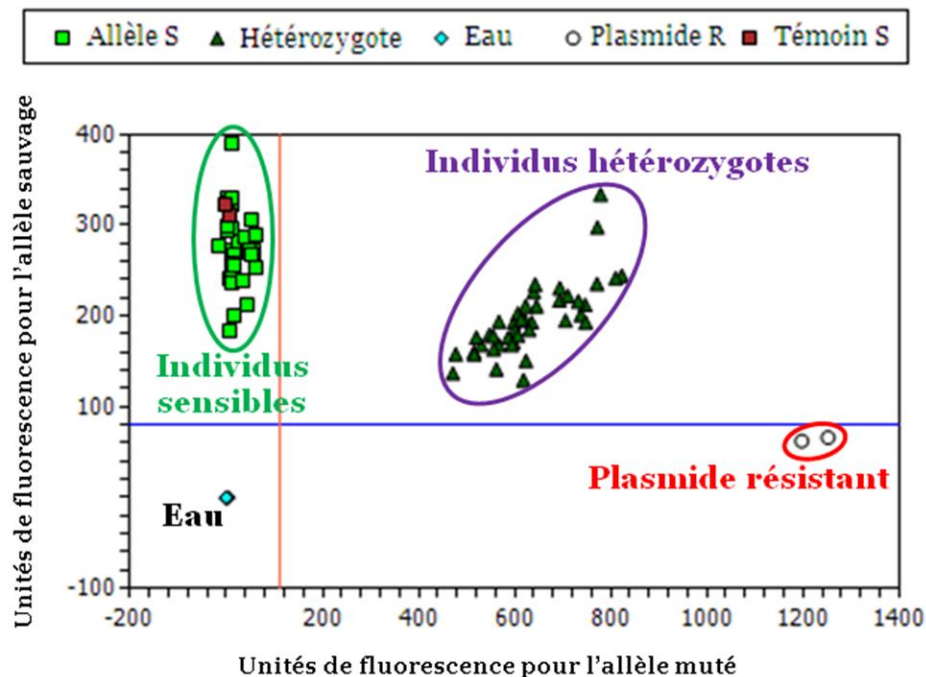


de la séquence ciblée. Les sondes sont marquées à leur extrémité 5' par un fluorochrome émetteur (reporter) et à leur extrémité 3' par un fluorochrome suppresseur (quencher) qui inhibe l'émission du reporter lorsqu'ils sont à proximité. Au cours de la PCR, si la sonde s'hybride sur sa séquence cible, elle est hydrolysée par la Taq polymérase. Le reporter, ainsi séparé du quencher, émet alors un signal (proportionnel au nombre de sondes hydrolysées) qui est mesurable au moment de l'élongation (Annexe 3). Dans notre cas, deux sondes sont utilisées simultanément pour génotyper les individus :

- une sonde (avec un reporter FAM et un quencher BHQ1) qui est spécifique de l'allèle muté 918L. La mesure de la fluorescence FAM est directement liée à l'amplification de l'allèle de résistance,
- une sonde (avec un reporter Cy3 et un quencher BHQ2) qui est spécifique de l'allèle sauvage 918M. La mesure de la fluorescence Cy3 est directement liée à l'amplification de l'allèle sensible.

L'appareil de qPCR mesure, à chaque cycle, la fluorescence émise par chacun des fluorochromes. Les données sont ensuite analysées grâce à l'utilisation du logiciel Bio-Rad iQ5 et présentées sous forme de graphique (Figure 2).

Figure 2 : Représentation graphique de la fluorescence de la sonde de l'allèle sauvage (marquée Cy3) par rapport à la fluorescence de la sonde de l'allèle muté (marquée FAM) obtenues lors de l'analyse en qPCR des ADN extraits des individus.





IV. Prévalence de résistance de cible aux pyréthréinoïdes et aux carbamates au sein des populations de *M. persicae* parasitant le colza pour les prélèvements réalisés à l'automne 2009 et 2010

Au total, environ 1000 pucerons ont été analysés (80% d'entre eux ont été échantillonnés en 2009 et le reste en 2010). Ils provenaient de 24 parcelles de production de colza et de 15 parcelles d'expérimentation. Sur les parcelles d'expérimentation, plusieurs modalités ont parfois été prélevées. Ainsi, 26 prélèvements, au total, issus de sites d'expérimentation ont été testés.

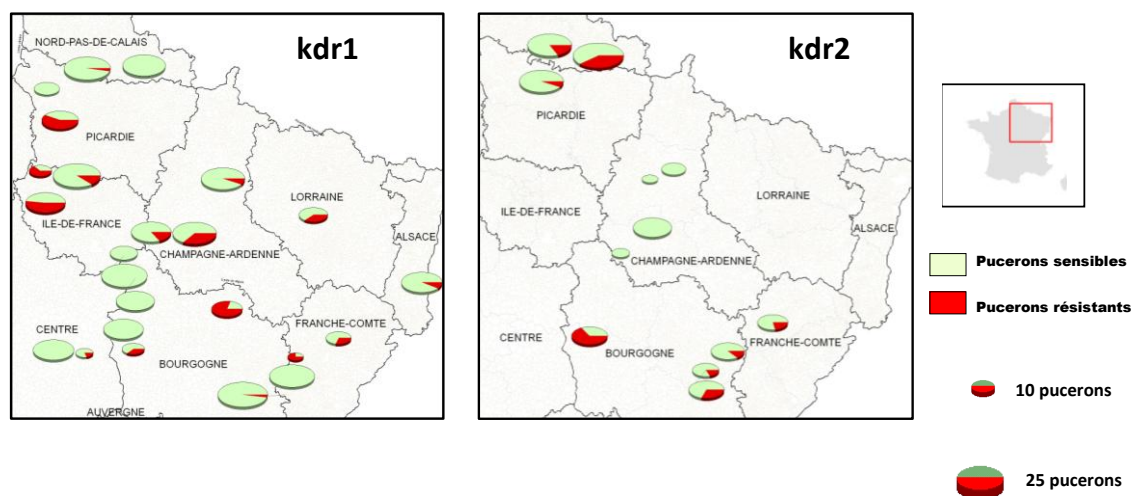
Pour la présentation du monitoring et la cartographie des mutations (Mace, kdr et s-kdr M918L), lorsque plusieurs prélèvements de pucerons ont été réalisés sur le même site – cas des essais – seule la modalité TNT (témoin non traité insecticide) a été retenue (soit 12 parcelles).

1. Répartition géographique des mutations impliquées dans la résistance aux pyréthréinoïdes (kdr L1014F et s-kdr M918L), dans le Nord-est de la France.

Allèle kdr L1014F (Figure 3) : l'allèle muté a été détecté dans 60 % des populations testées. Au sein des échantillons prélevés dans les parcelles de production, la proportion d'individus porteurs de l'allèle muté kdr est très variable (de 2,56 % à 80 % des individus analysés). Pour cinq parcelles, cette proportion est supérieure à 50 %. La plus forte occurrence de cet allèle de résistance (80 %) a été observée dans un prélèvement réalisé en Bourgogne sur culture non traitée. C'est en Ile-de-France (trois cultures sur quatre) et en Champagne-Ardenne (trois sur trois) que l'allèle kdr a été le plus souvent observé.

Pour les modalités non traitées des essais, dans huit cas sur les douze, la mutation a été détectée (de 6 à 65 % des pucerons testés sont porteurs de l'allèle kdr) et dans quatre cas, la mutation n'a pas été détectée (essais tous situés en région Champagne-Ardenne).

Figure 3 : Cartographie des proportions d'individus porteurs de l'allèle kdr dans les échantillons analysés (kdr-1, parcelles de production; kdr-2, modalités non traitées des essais).

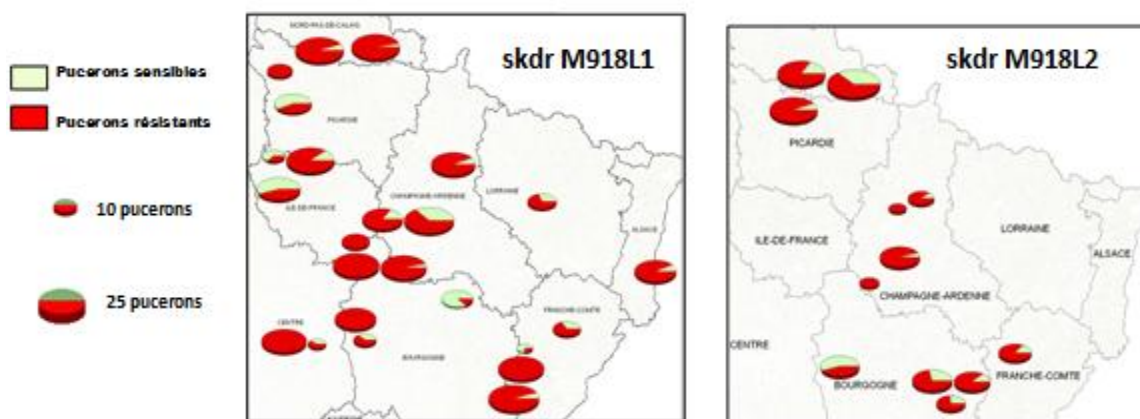




Allèle S-kdr M918L (Figure 4) : l'allèle muté est présent dans toutes les parcelles/modalités échantillonnées. Selon les échantillons, il est détecté chez 13 à 100 % des individus testés. Pour 19 des 24 parcelles de production, il est rencontré chez au moins 50 % des individus testés. Toutes les régions sont concernées de façon semblable. Pour six parcelles, tous les individus testés sont porteurs de cet allèle (trois en Bourgogne et une pour chacune des régions suivantes : Centre, Franche-Comté et Picardie).

Pour les modalités d'essai non traitées, la situation est comparable à celle observée dans les parcelles de production : dans 11 cas sur 12, plus de la moitié des individus sont porteurs de l'allèle s-kdr M918L.

Figure 4 : Cartographie des proportions d'individus porteurs des allèles résistants s-kdr M918L dans les échantillons analysés (s-kdr M918-L1, parcelles de production; s-kdr M918-L2, modalités non traitées des essais).



2. Répartition géographique de l'allèle muté *Mace* impliquée dans la résistance aux carbamates, dans le Nord-est de la France

La répartition de l'allèle muté *Mace*, responsable de la résistance aux carbamates, est identique à celle que nous avons observée pour s-kdr M918L. Ceci s'explique par le fait que la quasi-totalité des pucerons porteurs de l'allèle muté s-kdr M918L sont également porteurs de l'allèle muté *Mace* (cf § V).

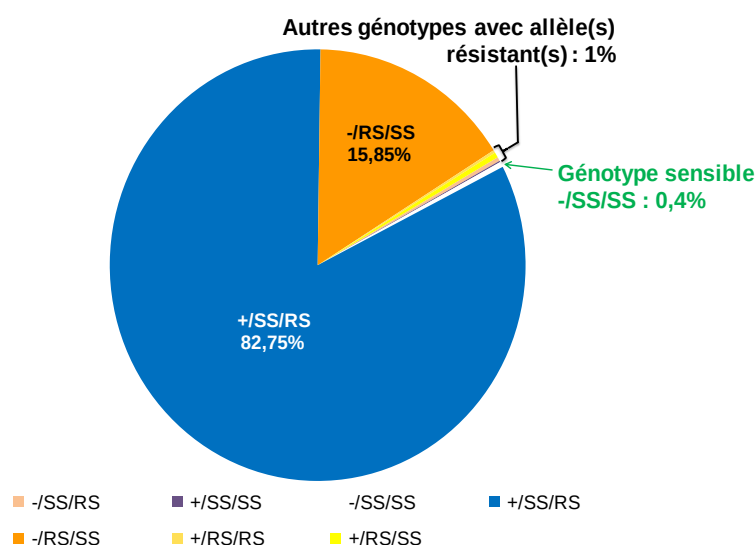


V. Association entre les allèles de résistance Super-kdr M918L, Mace et kdr

L'étude de l'association des allèles de résistance révèle qu'environ 82,75 % des individus, analysés pour les trois allèles (998 pucerons *M. persicae*), possèdent conjointement la mutation s-kdr M918L et la mutation Mace sans posséder la mutation kdr. La nouvelle mutation s-kdr M918L, toujours trouvée à l'état hétérozygote dans notre étude, se différencie bien de la mutation s-kdr classique (M918T) puisqu'elle n'est qu'exceptionnellement associée à la mutation kdr (seulement 0,2% des individus testés possèdent les deux allèles kdr et s-kdr M918L). Ces données issues de l'ensemble des analyses réalisées sur les prélèvements de 2009 et 2010 confirment les résultats du séquençage réalisé en 2010 sur un échantillon très restreint d'individus (31 *M. persicae*). Concernant la mutation kdr, 15,9% des pucerons (sur l'ensemble des régions) possèdent uniquement cet allèle de résistance. Comme pour l'allèle s-kdr M918L, ils sont tous hétérozygotes pour cet allèle.

Il est également intéressant de noter que, parmi les 18 autres combinaisons de génotypes possibles, seulement six combinaisons ont été identifiées sur la totalité des pucerons testés (figure 5).

Figure 5 : Proportion des différents génotypes de résistance



Deux génotypes représentent plus de 98% des génotypes trouvés. Il s'agit de : [Mace⁺ / kdr L1014F^{RS} / s-kdr M918L^{RS}] noté (+/SS/RS) et [Mace⁻ / kdr L1014F^{RS} / s-kdr M918L^{SS}] noté (-/RS/SS).

Les quatre autres génotypes se répartissent comme suit :

- 0,1% ne possèdent que l'allèle de résistance Mace [Mace⁺ / kdr L1014F^{SS} / s-kdr M918L^{SS}] noté (+/SS/SS)
- 0,4% ne possèdent aucun des trois allèles de résistance [Mace⁻ / s-kdr M918L^{SS} / kdr L1014F^{SS}] noté (-/SS/SS)



- 0,3% ne possèdent que l'allèle de résistance s-kdr à l'état hétérozygote [$\text{Mace}^- / \text{kdr L1014F}^{\text{SS}} / \text{s-kdr M918L}^{\text{RS}}$] noté (-/SS/RS)
- 0,4% possèdent les allèles Mace et kdr [$\text{Mace}^+ / \text{kdr L1014F}^{\text{RS}} / \text{s-kdr M918L}^{\text{SS}}$] noté (+/RS/SS)
- 0,2% cumulent les trois allèles de résistance [$\text{Mace}^+ / \text{kdr L1014F}^{\text{RS}} / \text{s-kdr M918L}^{\text{RS}}$] noté (+/RS/RS)

L'ensemble de ces résultats permet de rendre compte de la présence et de la composition des allèles de résistances de cible aux carbamates et pyréthrinoïdes dans les populations de *M. persicae* parasitant les cultures de colza. Notre étude est à mettre en lien avec une précédente étude réalisée à partir de pucerons collectés à l'automne 2001 (Zamoum *et al.*, 2005) sur des cultures de colza situées approximativement dans les mêmes régions. La comparaison de ces deux études montre que les allèles de résistance présents dans les populations de *M. persicae* ont fortement évolué en moins de dix ans. Ainsi, un génotype résistant combinant deux mutations de cible associées à de très hauts niveaux de résistance aux carbamates et aux pyréthrinoïdes (respectivement Mace : S431F sur l'acétylcholinestérase 2 et s-kdr M918L sur le canal sodium dépendant du voltage) s'avère omniprésent en 2009-2010 alors qu'en 2001, le génotype omniprésent était celui porteur uniquement de l'allèle kdr. En parallèle, entre 2001 et 2009, l'allèle de résistance Mace est passé d'une fréquence inférieure à 1% à une fréquence supérieure à 80%.

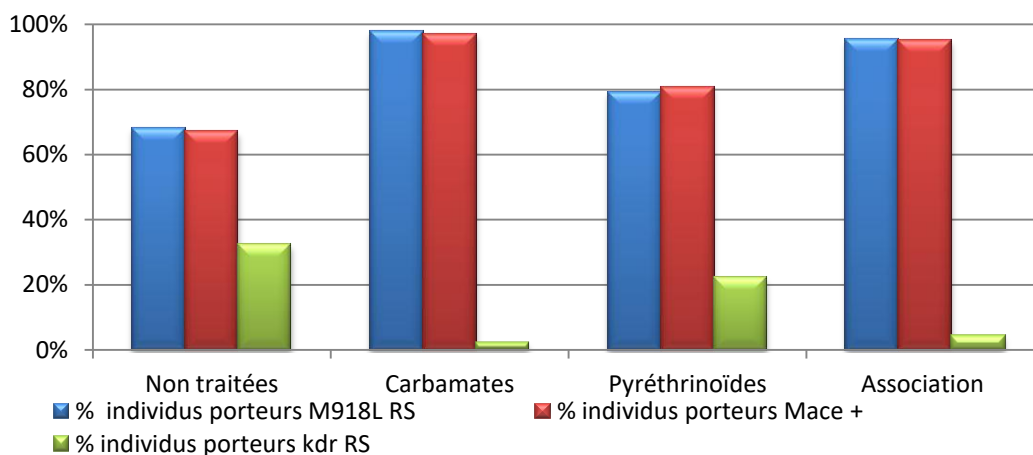
La forte association entre deux allèles de résistance (Mace et s-kdr M918L) à deux familles d'insecticides différentes et le bouleversement concernant la composition des allèles de résistance dans les populations de *M. persicae* vivant sur colza sont surprenants et restent difficiles à expliquer sans études complémentaires.

L'association entre deux allèles de résistance pourrait être la conséquence de pratiques phytosanitaires utilisant les deux familles chimiques en mélange pour la protection des cultures de colza. Le fait que plus de 80 % des individus testés dans notre étude soient porteurs des allèles Mace et s-kdr 918L indique également que la lutte avec les deux plus anciennes familles chimiques utilisées sur colza peut se révéler difficile. En fait, ce génotype [$\text{Mace}^+ ; \text{s-kdr M918L}^{\text{RS}}$] est très largement présent et se retrouve à des taux élevés (68%) même dans les parcelles témoin des essais (TNT) et dans les zones non traitées (ZNT) des parcelles commerciales (Figure 6), donc sans pression de sélection sur colza au moins au cours de l'année de prélèvement.

L'extrême polyphagie de *Myzus persicae* pourrait aussi expliquer en partie cette situation. En effet, ce puceron est retrouvé sur de nombreuses autres espèces d'arbres fruitiers ou de plantes herbacées sauvages ou cultivées. Sachant que les substances actives utilisées, en grandes cultures (betterave, pomme de terre...), pour lutter contre *Myzus persicae*, sont les mêmes que celles appliquées sur colza, les populations migrant sur colza pourraient arriver avec leurs cortèges de mécanismes de résistance. Ces populations pourraient avoir été soumises à des traitements insecticides avant leur arrivée sur colza à l'automne. Le mode de reproduction des populations de *M. persicae* sur colza où la parthénogénèse serait largement majoritaire et les événements de recombinaison par reproduction sexuée relativement rares pourraient également expliquer l'omniprésence du génotype [$\text{Mace}^+/\text{s-kdr M918L}^{\text{RS}}$].



Figure 6: proportion d'individus porteurs des allèles de résistance Mace, kdr L1014F et s-kdr M918L en fonction des substances actives appliquées sur colza (au cours de l'année de prélèvements)



VI. Conclusions-Perspectives

L'ensemble de nos résultats indique que les populations de *Myzus persicae* vivant sur colza sont très bien équipées en termes d'allèles de résistance vis-à-vis des deux anciennes familles d'insecticides autorisées sur cet usage : les carbamates et les pyréthriinoïdes. La protection des cultures de colza repose désormais uniquement sur la nouvelle famille d'insecticides, les néonicotinoïdes, mise sur le marché en 2009 pour l'usage pucerons du colza. Or, vis-à-vis de cette famille chimique, le premier cas de résistance de cible dans des populations de *M. persicae* vivant sur pêcher a été mis en évidence en 2010 dans le sud de la France. Notre étude va donc se poursuivre afin de déterminer la prévalence de la résistance de cible aux néonicotinoïdes chez *M. persicae* vivant sur des plantes herbacées cultivées ou dans des vergers.

VII. Partenariat scientifique et technique

Ce projet a été réalisé avec l'aide de Yannick Ballanger du CETIOM et grâce à la participation aux prélèvements du réseau des DRAAF-SRAL et du CETIOM.

VIII. Bibliographie

Bass C, Puinean AM, Andrews M, Culter P, Daniels M, Elias J, *et al*, Mutation of a nicotinic acetylcholine receptor β subunit is associated with field evolved resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *BMC Neurosci* 12:51 (2011).

Devonshire AL, Devine GJ and Moores GD. Comparison of microplate esterase assays and immunoassay for identifying insecticide resistant variants of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Bull entomol res* 82: 459-463 (1992).



Field, L M, Williamson, M S, Moores, G D, and Devonshire, A L. Cloning and analysis of the esterase genes conferring insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem J*, 294, 569–574 (1993)

a-Fontaine S, Caddoux L, Brazier C, Bertho C, Bertolla P, Micoud A, Roy L^a, Uncommon associations in target resistance among French populations of *Myzus persicae* from oilseed rape crops, *Pest Manag Sci*, online DOI 10.1002/ps.2224 (2011)

b-Fontaine S, Caddoux L, Brazier C, Mottet C, Bertho C, Bertolla P, Morignat E, Micoud A, Roy L^b, Les résistances de cible aux carbamates et pyréthréinoïdes chez le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) sur colza Etat des lieux en 2009 et 2010, AFPP-Neuvième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture-Montpellier-26 et 27 octobre 2011

Martinez-Torres D, Foster SP, Field LM, Williamson MS and Devonshire AL, A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and insecticides in the peach potato aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Insect Mol Biol* 8:339–346 (1999).

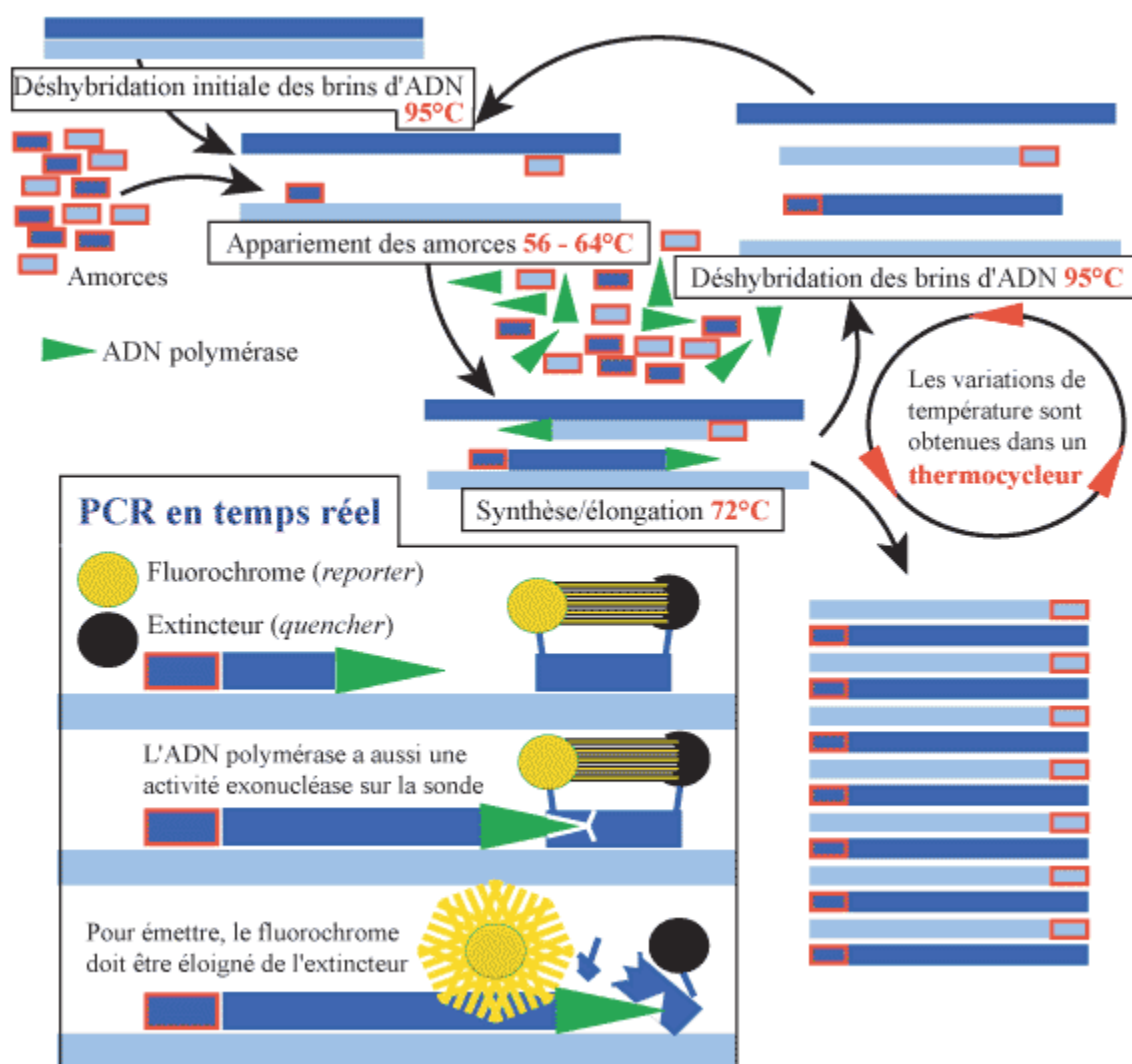
Martinez-Torres D., Foster S.-P., Field L.-M., Devonshire A.-L., Williamson M.-S., 1999 - A sodium channel point mutation is associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid. *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *Insect Mol Biol*, 8, 3, 339-346.

Nabeshima T, Kozaki T, Tomita T and Kono Y, An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb-resistant strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Biochem biophys res commun* 307: 15–22 (2003).

Puinean AM, Foster SP, Oliphant L, Denholm I, Field LM, Millar NS, *et al*, Amplification of a cytochrome P450 gene is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *PLoS Genet* 6:1–11 (2010).



Annexe 1 : principe fondamental de la PCR et de la qPCR Taqman



Source JM Huraux Nov 2006 via www.chups.jussieu.fr