

**AFPP – 8^{ème} CONFERENCE INTERNATIONALE
SUR LES RAVAGEURS EN AGRICULTURE
MONTPELLIER – 22 ET 23 OCTOBRE 2008**

**RESISTANCE DU CARPOCAPSE DES POMMES (*Cydia pomonella*)
AU DIFLUBENZURON ET AUX PYRETHRINOÏDES : LE POINT EN 2007**

C. BRAZIER¹, S. FONTAINE¹, A. MICOUD¹, C. MOTTET¹, P. SPEICH¹, R. MARMEISSE², D. MELAYAH², L. FRAYSSINET-TACHET², B. SAUPHANOR³, P. FRANCK³

¹ Service Régional de la Protection des Végétaux, DRAF Rhône-Alpes, 165 rue Garibaldi, B.P. 3202, F-69 401 LYON Cedex 03, France. christine.brazier@agriculture.gouv.fr - severine.fontaine@agriculture.gouv.fr - annie.micoud@agriculture.gouv.fr

² Université de Lyon, Université Lyon 1, Ecologie Microbienne, UMR CNRS 5557, USC INRA 1193, Bâtiment André Lwoff, 43 Boulevard du 11 Novembre 1918, F-69 622 VILLEURBANNE Cedex, France. roland.marmesse@univ-lyon1.fr

³ UR1115, Plantes & Systèmes de cultures Horticoles INRA, F-84914 AVIGNON Cedex 9, France. pfranck@avignon.inra.fr - sauphano@avignon.inra.fr

RESUME

La résistance du Carposcapse des Pommes et des Poires, *Cydia pomonella*, au diflubenzuron et aux pyrèthrénoïdes est connue depuis une douzaine d'années.

Des études de sensibilité de cette espèce vis à vis de ces familles d'insecticides ont été depuis réalisées régulièrement par différentes méthodes. Ces travaux ont eu pour objectif, à la fois de suivre la progression de la résistance au cours du temps, au sein des populations des différentes régions arboricoles françaises et de mieux connaître les mécanismes responsables de cette résistance (résistance métabolique et/ou modification de cible).

Les résultats obtenus confirment la généralisation en France de la résistance métabolique (résistance croisée entre pyrèthrénoïdes et autres familles d'insecticides impliquant principalement une activité accrue des cytochromes P450) et montrent une répartition hétérogène de l'allèle *kdr* (mutation de la cible canal sodium des pyrèthrénoïdes impliquée dans la résistance) dans les différents bassins de production suivis.

Mots-clés : *Cydia pomonella*, diflubenzuron, résistance métabolique, pyrèthrénoïdes, résistance de cible

SUMMARY

RESISTANCE OF THE CODLING MOTH (*Cydia pomonella*) TO DIFLUBENZURON AND TO PYRETHRINOIDS : SITUATION IN 2007

Resistance to diflubenzuron and pyrethroids in the codling moth has been known for about twelve years.

The susceptibility of *Cydia pomonella* populations to these insecticide families has been analyzed regularly throughout these past years using different methods. These studies were done both to follow the resistance progression over time in populations coming from different apple production areas and to better understand the mechanisms behind this resistance (metabolic resistance and/or target resistance).

The results confirm the spread of the metabolic resistance in France, (cross resistance between pyrethroids and others insecticides families that involves mostly an increased cytochrome P450 activity). They also show a heterogeneous distribution of the *kdr* (knocked Down Resistant) allele (a mutation of the sodium channel, which is the pyrethroids target) across the sampled areas of France.

Key-words : *Cydia pomonella*, diflubenzuron, metabolic resistance, pyrethroids, target resistance

INTRODUCTION

Les difficultés rencontrées dans la maîtrise des populations de carpocapse (*Cydia pomonella*) au début des années 90 dans le sud-est de la France, ont conduit à suspecter une résistance chez ce ravageur vis à vis de certains insecticides. Cette suspicion a marqué le point de départ d'un ensemble d'études de la part de l'INRA à Avignon en lien avec la Protection des Végétaux, auquel le Laboratoire d'Etudes des Résistances du Service Régional de la Protection des Végétaux (SRPV) de Lyon est associé depuis 1997.

Après l'identification, en région Provence-Alpes-Côte-d'Azur (PACA), d'un premier cas de résistance au diflubenzuron (benzoylurées) (Sauphanor *et al.*, 1994), des investigations ont été menées à partir de souches de *C. pomonella* sélectionnées. La mise au point de tests biologiques a révélé que cette résistance concerne non seulement les benzoylurées mais également les produits de la famille des pyréthrinoides, ainsi que certains organophosphorés et régulateurs de croissance (RCI) (Bouvier *et al.*, 1995 ; Sauphanor *et al.*, 1995). Les travaux conduits par la suite sur les mécanismes responsables de la résistance à la deltaméthrine ont montré que cette résistance croisée est d'origine métabolique, impliquant des mécanismes de détoxification, avec une augmentation de l'activité des monooxygénases à cytochrome P450 (Sauphanor *et al.*, 1997 ; Bouvier *et al.*, 1998). Plus récemment, l'implication d'une mutation *kdr* (known down resistant) au niveau du canal sodium, cible des pyréthrinoides, a été mise en évidence (Brun-Barale *et al.*, 2005). Cette mutation induit une résistance aux pyréthrinoides environ 15 fois supérieure à celle liée aux seuls mécanismes de détoxification (Sauphanor *et al.*, 1997).

Un programme national de surveillance annuelle des résistances a été mis en place par le Service de la Protection des Végétaux. L'objectif de ce programme est de suivre l'évolution de la résistance et de redéfinir les bases des stratégies de lutte. La détection de la résistance, réalisée dans le cadre de cette surveillance, s'appuie sur des tests biologiques et, depuis 2006, sur la détection de la mutation *kdr* à l'aide de tests biomoléculaires.

Dix ans après un premier bilan sur la résistance au diflubenzuron et à la deltaméthrine des populations françaises de carpocapse (Sauphanor *et al.*, 2000), nous dressons un nouvel état des lieux de ces résistances.

MATERIEL ET METHODES

POPULATIONS ANALYSEES

Populations de référence :

Une population sensible de *C. pomonella*, issue de l'INRA du Magneraud, est élevée au laboratoire du SRPV Rhône-Alpes, sur milieu artificiel, en conditions standard (T. : 25°C ; H. : 60% ; Photopériode : 16/8). Elevée en continu depuis plusieurs décennies, cette population de référence ne présente plus de stade de diapause. Il est donc nécessaire pour les tests biologiques sur larves diapausantes d'induire à nouveau ce stade. Aussi, les larves sont élevées en photopériode 12/12 et à la température de 21°C. Lorsqu'elles atteignent le 5^{ème} stade, elles sont conditionnées dans des bandes de carton ondulé et stockées au réfrigérateur (4°C) pendant au moins 3 mois avant d'être utilisées pour les tests.

Des individus issus des souches d'élevage de l'INRA, homozygotes sensibles ou résistants pour l'allèle *kdr*, ont été utilisés comme référence pour les tests biomoléculaires.

Populations de terrain :

Les SRPV sont sollicités chaque année pour assurer la collecte des populations de terrain en fonction du programme annuel de surveillance de la résistance du carpocapse. Le choix des parcelles est effectué directement avec les producteurs ou en relation avec les partenaires locaux (Chambres d'Agriculture, Coopératives, Groupements de producteurs,...), en fonction des profils phytosanitaires ou d'un défaut de maîtrise du ravageur. Au cours des 6 années, les différents bassins arboricoles ont été échantillonnés avec plus ou moins d'intensité. Dans les parcelles retenues, les larves diapausantes sont capturées au moyen de bandes pièges en carton ondulé relevées à l'automne. Les larves récoltées sont ensuite reconditionnées avant d'être expédiées au laboratoire du SRPV de Rhône-Alpes, où elles sont conservées à 4°C.

CARACTERISATION DE LA RESISTANCE AU DIFLUBENZURON

La mise en évidence de la résistance au diflubenzuron s'appuie essentiellement sur des tests biologiques. Ces tests s'effectuent par application topique de diflubenzuron (97.3% - UNIROYAL CHEMICAL) sur larves diapauses, à la dose de 25 000 mg/L (solvant : tétrahydrofuran), correspondant à la DL 95 d'une population sensible (Sauphanor *et al.*, 2000). Après au moins trois mois à 4°C, les larves diapauses sont placées, 24 heures avant le traitement, à 25°C, photopériode 16/8 pour lever la diapause. Sur le dos de chaque chenille est déposé 1 µL de la solution ci-dessus. Les témoins sont traités avec 1 µL de tétrahydrofuran seul. Les larves sont ensuite installées dans du carton ondulé sous conditions standard d'élevage (25°C – 16/8) jusqu'à l'émergence des adultes.

Les tests sont conduits simultanément sur les populations de terrain et la population sensible du laboratoire. Lorsque, pour un échantillon, le nombre de larves disponibles est suffisant, le témoin est constitué de 40 larves ; sinon un nombre équivalent de larves entre la modalité témoin et la modalité traitée est retenu. Dans la mesure du possible, une répartition homogène des deux sexes est assurée. La lecture des tests est réalisée par dénombrement des individus émergés dans chaque modalité.

CARACTERISATION DE LA RESISTANCE DE CIBLE AUX PYRETHRINOIDES

Pour toutes les populations analysées, les carpocapses adultes ont été récoltés et placés individuellement dans l'alcool à 96° puis conservés à température ambiante. Une patte par insecte a été prélevée et placée individuellement dans un tube. Ce dernier est ensuite placé à 4°C jusqu'à l'extraction de l'ADN.

Dans chaque tube, à la patte de l'insecte ont été ajoutés 200 µL de solution de Chelex 100 à 10% et 6 µL de protéinase K à 10 mg/mL. Les tubes, incubés une nuit à 55°C, sont ensuite placés à deux reprises à 100°C pendant 15 minutes en agitant les tubes au vortex entre les deux périodes. Pour les amplifications par PCR, le milieu réactionnel de 25 µL contenait 2 unités de Taq polymérase (Euromedex), 2.5 µL de tampon 10x, 2 mM de MgCl₂, 1.5 µg de BSA, 0.4 µM de chaque amorce (CpNa F : 5'-tagagagcatgtggattgc-3' et CpNa R : 5'-aatttcgtagcccttgatcg-3' ; Franck *et al.*, 2007) et 2 µL d'extrait d'ADN génomique pur ou dilué au 1/10. L'amplification a été réalisée dans un thermocycler 9700 (Applied biosystem) selon les conditions suivantes : dénaturation initiale de 3 min à 94°C, suivis de 30 cycles de 30 s à 94°C, 60 s à 54°C, 45 s à 72°C puis d'une elongation finale de 3 min à 72°C.

La mutation *kdr* crée un site de restriction supplémentaire (AATT) reconnu par *TasI* (Fermentas). La digestion de 10 µL de produit PCR a été réalisée en présence de 5 unités de *TasI* dans son tampon, dans un volume réactionnel de 25 µL. Les produits de restriction ont été séparés par électrophorèse en gel d'acrylamide à 8% (2h 30 de migration à 150V). Les produits ont été visualisés sur table U. V. après coloration des gels au bromure d'éthidium à 1 mg/L. Dix à 30 carpocapses ont été ainsi individuellement analysés pour chaque population.

ANALYSE DES DONNEES

Tests biologiques :

Pour les populations de terrain et la population de référence sensible, le pourcentage de survivants observés est corrigé en fonction du taux de survivants enregistrés dans les témoins selon la formule de Abbott. Ces données sont complétées par un test binomial, réalisé année par année, comparant le taux de survivants de chaque population de terrain avec celui obtenu parallèlement pour la population de référence sensible.

Tests biomoléculaires :

Les écarts entre les distributions génotypiques observées et celles attendues à l'équilibre de Hardy-Weinberg (en l'absence de pression de sélection) ont été testés pour chacune des populations analysées avec le logiciel GENEPOP (Genepop 4.0, Rousset, 2008).

RESULTATS

RESISTANCE PAR APPLICATION TOPIQUE

Dans le cadre du plan de surveillance annuel, 60 parcelles ont été suivies dans 9 régions arboricoles différentes. Certaines parcelles ont été prélevées sur plusieurs années successives. Ce sont ainsi 85 populations de larves diapausantes (prélevées de 2001 à 2006) qui ont été analysées entre 2002 et 2007.

De 2001 à 2004, ces prélèvements ont essentiellement concerné les régions Alsace (11 parcelles), Nord-Pas de Calais (3) et Languedoc Roussillon (2). Entre 2005 et 2006, ce sont les régions Aquitaine (11), Midi-Pyrénées (10), Haute-Normandie (1), Limousin (3) et Lorraine (3) qui ont été essentiellement ciblées. En Rhône-Alpes, des prélèvements annuels ont été effectués dès 2001 et jusqu'en 2006 sur une quinzaine de parcelles principalement situées dans le département du Rhône. La région PACA ne figure pas parmi les régions ciblées car les données sont connues par ailleurs avec les divers travaux conduits par l'INRA d'Avignon. Par contre, aucune population n'a pu être analysée par manque de prélèvement en régions Centre et Pays de Loire.

Les résultats sont présentés dans le tableau I. Seules ont été retenues les populations répondant aux deux critères suivants : (i) nombre de larves testées au moins égal à 18 individus par modalité, (ii) pourcentage d'émergence dans les témoins au moins égal à 70%. Un tiers des analyses ne figurent donc pas dans cette synthèse en raison soit de la difficulté d'obtention au terrain de lots importants de larves, soit d'un taux naturel d'émergence trop faible (variable selon les parcelles voire, pour une même parcelle, selon les années).

Les tests statistiques confirment l'évidence des résultats obtenus : la majorité des populations testées présente un taux élevé d'individus survivants (>70%), constat particulièrement vrai sur les prélèvements effectués au cours des années 2005 - 2006 dans les régions **Aquitaine, Midi-Pyrénées, Lorraine et Rhône- Alpes**. Quant à l'**Alsace**, où la plupart des prélèvements ont été réalisés au cours d'années antérieures, les deux parcelles de Bennwihr présentaient déjà des proportions très élevées d'individus résistants. En **Rhône-Alpes**, les résultats des suivis sur plusieurs années permettent de mieux cerner l'évolution des populations. Les taux d'individus survivants augmentent nettement au cours du temps. Dans cette région, la proportion d'individus résistants est toujours supérieure à 75% en 2005-2006 alors qu'elle était toujours inférieure à 55% en 2001-2002. La parcelle provenant de la région **Haute Normandie** montre un taux moyen de survivants inférieur à 55% en 2006. Les parcelles échantillonnées en **Languedoc-Roussillon et Nord-Pas de Calais** présentent des pourcentages plus faibles mais ces résultats ne peuvent être considérés comme représentatifs de la situation actuelle car les prélèvements datent respectivement de 2001 et 2002. Les deux parcelles qui présentent des fréquences très faibles d'individus résistants (<10%) correspondent à des parcelles d'Alsace peu ou pas soumises à des traitements chimiques, telles que la parcelle de Geudertheim (conduite en agriculture biologique).

RESISTANCE DE CIBLE PAR PCR

En 2006, 23 populations, issues de parcelles situées dans les régions Aquitaine (6), Haute Normandie (1), Lorraine (1), Midi-Pyrénées (7), PACA (3) et Rhône-Alpes (5) ont été analysées via des tests moléculaires.

A l'exception des échantillons provenant de PACA, les tests moléculaires ont été menés après que les populations aient été soumises, au préalable, à un test d'application topique sur larves diapausantes ; d'où la possible existence d'un biais dans l'évaluation de la fréquence de la résistance de cible.

Les résultats sont regroupés dans le Tableau II. Les principales données présentées par population sont : (i) la proportion d'individus porteurs de la mutation *kdr*, (ii) la proportion d'allèle *kdr*, (iii) la proportion de génotypes homozygotes résistants (*kdr/kdr*), (iv) les résultats du test d'équilibre d'Hardy Weinberg (p-value).

Tableau I – Résultats des tests biologiques par application topique sur larves diapausantes (diflubenzuron - 25 000mg/L)
 Bioassay results of topical application on diapausing larvae (diflubenzuron – 25 000mg/L)

Région	Année Référence Echantillon (1)	Commune - Parcelle	TRAITE			TEMOIN		Résultat Test binomial	
			Nb (2)	% Em (3)	% surv Abbott (4)	Nb	%Em	P-value	(5)
AL	2002	67170 Geudertheim	160	3%	4%	40	70%		S
	2003		43	0%	0%	33	79%		S
	2003	68210 Bailleursdorf	64	6%	8%	42	74%	0,41	S
	2003	67560 Rosheim	210	12%	15%	60	83%	4,25 E-04	R ***
	2004	68630 Bennwihr (B)	20	65%	82%	19	79%	0,00	R ***
	2004	68630 Bennwihr (W)	50	80%	100%	20	70%	0,00	R ***
AQ	2006-3	47320 Bourran	65	58%	76%	30	77%	0,00	R ***
	2006-4	47360 Frégimont	24	71%	74%	22	95%	4,44 E-16	R ***
	2006-6	47360 Madailhan	27	78%	93%	25	84%	0,00	R ***
	2006-8	47160 St Léger	51	73%	84%	22	86%	0,00	R ***
	2006-10	47000 Donzac	141	65%	89%	40	73%	0,00	R ***
	2006-11	33450 St Loubès	64	75%	100%	30	70%	0,00	R ***
HN	2006-13	27400 Le Mesnil Jourdain	132	43%	53%	39	82%	0,00	R ***
LR	2001	34 (non renseigné)	20	40%	44%	20	90%	4,87 E-04	R ***
LI	2005	87500 St Yriex La Perche	36	50%	66%	25	76%	5,62 E-13	R ***
LO	2006-22	57530 Laquenexy	77	61%	79%	40	78%	0,00	R ***
MP	2006-17	82000 Montauban	72	82%	87%	32	94%	0,00	R ***
	2006-18	82200 Moissac	76	78%	100%	30	70%	0,00	R ***
	2006-19	31320 Auzeville Tolosane	76	72%	81%	38	89%	0,00	R ***
	2006-20	82000 Montauban	88	80%	100%	29	76%	0,00	R ***
	2006-21	82100 Castelsarrasin	75	65%	86%	41	76%	0,00	R ***
	2006-23	82200 Moissac	78	72%	83%	29	86%	0,00	R ***
	2006-38	82340 Lepin	121	75%	92%	39	82%	0,00	R ***
	2006-39	82210 St Arroumex	192	75%	88%	40	85%	0,00	R ***
	2006-40	82000 Montauban	175	65%	74%	40	88%	0,00	R ***
NPC	2002	59270 Meteren	18	33%	40%	18	83%	2 E-03	R ***
RA	2001	69440 Mornant	134	40%	53%	40	75%	0,00	R ***
	2003	69510 Messimy	220	60%	76%	40	80%	0,00	R ***
	2004		68	75%	94%	20	80%	0,00	R ***
	2005		180	80%	84%	40	95%	0,00	R ***
	2004	69390 Charly	360	69%	77%	41	90%	0,00	R ***
	2006-29		154	81%	87%	38	92%	0,00	R ***
	2005	69510 Soucieu en Jarrest	270	80%	94%	40	85%	0,00	R ***
	2002	69510 Thurins	23	48%	55%	23	87%	1,16 E-06	R ***
	2003		138	43%	50%	40	88%	0,00	R ***
	2005		84	63%	74%	34	85%	0,00	R ***
	2006-34		100	61%	77%	39	79%	0,00	R ***
	2001	69440 St Laurent d'Agnay	58	28%	36%	30	77%	3,92 E-06	R ***
	2003		42	29%	36%	20	80%	3,96 E-05	R ***
	2005		71	76%	100%	33	76%	0,00	R ***
	2006-32		163	69%	81%	39	85%	0,00	R ***
	2004	69630 Chaponost	131	55%	73%	40	75%	0,00	R ***
	2006-30		72	93%	100%	32	81%	0,00	R ***
	2005	69440 St Didier s/s Riverie (A)	150	74%	82%	42	90%	0,00	R ***
	2006-33	69440 St Didier s/s Riverie (B)	60	78%	91%	37	86%	0,00	R ***
	2003	74580 Chevrier	40	30%	42%	24	71%	3,07 E-06	R ***

Légende : (1) Référence échantillon = année de prélèvement + n° d'ordre du test biomoléculaire – (2) Nb = nombre de papillons testés – (3) %Em. = % de papillons émergés – (4) % surv. Abbott = % d'individus survivants corrigés en fonction de la mortalité observée dans le témoin (selon la formule de Abbott) – (5) Résultat du test binomial avec S pour sensible, R pour résistant, * pour résultat significatif, ** pour résultat hautement significatif, *** pour résultat très hautement significatif.

Pour les trois parcelles de **PACA**, au moins la moitié des individus testés sont porteurs de l'allèle *kdr*. La fréquence des carpocapses homozygotes résistants *kdr/kdr* atteint 73% dans l'une des trois parcelles. En région **Midi-Pyrénées**, la mutation *kdr* est également détectée dans toutes les populations étudiées. Le taux de carpocapses résistants homozygotes est souvent très élevé (79% des individus testés dans un verger à Lepin) et n'est nul que dans une seule des 7 parcelles testées. Pour la région **Aquitaine**, la situation apparaît plus hétérogène. Selon les parcelles, la mutation *kdr* est détectée dans 8% à 75% des individus testés. La proportion d'individus homozygotes résistants est généralement faible ou nulle, à l'exception d'une parcelle à Madaillan où elle atteint 25%. Concernant la région **Rhône-Alpes**, dans les parcelles où la mutation est détectée, la fréquence de l'allèle *kdr* est relativement faible (inférieure à 12%). Les individus homozygotes résistants sont extrêmement rares et n'ont été détectés que dans une des 5 parcelles, à Charly. Enfin, la mutation n'a pu être détectée ni dans la population de **Lorraine**, ni dans celle de **Haute Normandie**.

Tableau II – Résultats des tests biomoléculaires pour recherche de la mutation *kdr*
Biomolecular results to detect *kdr* mutation

Région	Année - référence échantillon	Commune	Nombre testés	Proportion d'individus porteurs de l'allèle <i>kdr</i>	Proportion d'allèle <i>kdr</i>	Proportion d'homozygotes résistants <i>kdr/kdr</i>	Test d'équilibre d'Hardy Weinberg (p- value)
Aquitaine	2006-3	47 320 Bourrann	18	11%	6%	0%	1
	2006-4	47 360 Frégimont	15	33%	17%	0%	1
	2006-6	47 360 Madaillan	16	75%	50%	25%	1,00
	2006-8	47 160 Saint Léger	19	42%	21%	0%	0,537
	2006-10	47 340 Donzac	20	10%	5%	0%	1
	2006-11	33 450 St Loubès	24	8%	6%	4%	0,063
Haute Normandie	2006-13	27 400 Le mesnil Jourdan	21	0%	0%	0%	-
Lorraine	2006-22	57 530 Laquenexy	11	0%	0%	0%	-
Midi Pyrénées	2006-17	82 000 Montauban	10	80%	55%	30%	1,00
	2006-18	82 200 Moissac	18	39%	22%	6%	1,00
	2006-20	82 000 Montauban	16	75%	56%	38%	0,348
	2006-21	82 100 Castelsarrasin	25	20%	10%	0%	1
	2006-23	82 200 Moissac	14	100%	57%	14%	0,021*
	2006-38	82 340 Lepin	28	96%	88%	79%	0,346
	2006-40	82 000 Montauban	20	85%	65%	45%	0,635
Rhône Alpes	2006-29	69 390 Charly	17	18%	12%	6%	0,18
	2006-30	69 630 Chaponost	24	4%	2%	0%	-
	2006-32	69 440 Saint Laurent d'Agny	24	0%	0%	0%	-
	2006-33	69 440 Saint Didier sur Riverie	26	0%	0%	0%	-
	2006-34	69 510 Thurin	28	4%	2%	0%	-
Provence Alpes Côte d'Azur	2006-25	13 570 Barbentanne	30	70%	42%	13%	0,467
	2006-26	84 250 Le Thor	28	57%	45%	32%	0,023*
	2006-27	84 460 Cheval Blanc	22	95%	84%	73%	0,430

Deux populations parmi les 23 analysées présentent des distributions génotypiques significativement différentes de celles attendues à l'équilibre d'Hardy Weinberg (tableau II : Moissac [2006-23] avec $p = 0.021$ et Le Thor [2006-26] avec $p = 0.023$). Pour la parcelle de Moissac, le déséquilibre s'explique par un excès d'hétérozygotes ($p = 0.013$). Aucun homozygote sensible n'a été observé dans cette population alors que la proportion d'hétérozygotes atteint 86%. Pour la parcelle du Thor, le déséquilibre s'explique par un déficit en hétérozygotes ($p = 0.014$). Ces derniers ne représentent que 25% des individus analysés, alors que les individus homozygotes sensibles et résistants représentent respectivement 43% et 32% des carpocapses testés.

DISCUSSION

Les analyses conduites à l'aide des tests biologiques par application topique depuis 2002, confortent les premiers résultats annoncés en 1997 concernant la résistance métabolique et témoignent d'une évolution certaine. Des individus résistants au diflubenzuron sont détectés dans au moins 44 des 46 parcelles présentées. Dans toutes les analyses réalisées depuis 2005, les taux de résistance sont élevés, voire très élevés (toujours supérieurs à 50%, atteignant parfois 100% en Aquitaine, Midi-Pyrénées et Rhône-Alpes), alors que les populations collectées en 2001-2003 présentaient globalement des taux de résistance plus faibles.

Bien que très peu des échantillons analysés aient été récemment collectés dans les régions de production les plus septentrionales, nos résultats confirment, qu'au cours des dix dernières années, la résistance métabolique a progressé largement dans les populations d'une grande partie des régions arboricoles françaises. Elle est maintenant répartie sur l'ensemble du territoire français.

Les analyses d'activité enzymatique des cytochromes P450 (qui sont largement impliqués dans la résistance métabolique) semblent indiquer que les variations de taux de résistance entre les parcelles sont davantage liées à l'hétérogénéité des pratiques d'utilisation des insecticides chimiques qu'à des différences géographiques (Franck *et al.*, 2007 ; Reyes *et al.*, 2007). Des études menées en laboratoire montrent en effet que la résistance métabolique, liée à l'augmentation de l'activité des cytochromes P450, est associée à un coût physiologique important en l'absence de traitement insecticide chimique (Boivin *et al.*, 2003 a). En témoignent les populations des parcelles sans traitement chimique qui, comme les parcelles conduites en agriculture biologique, restent majoritairement sensibles. En parcelles conduites en protection raisonnée, l'utilisation de la lutte par confusion (quand cette dernière est possible), en permettant de limiter le recours aux insecticides chimiques, pourrait ralentir la propagation de la résistance métabolique.

Les tests moléculaires entrepris depuis 2006 pour détecter la résistance de cible spécifique aux pyréthrinoides, permettent de poursuivre la cartographie de la mutation *kdr* sur l'ensemble du territoire français (Reyes *et al.*, 2007 ; Franck *et al.*, 2007). Ces études antérieures ont révélé l'implantation de l'allèle *kdr* (i) à de fortes fréquences dans les populations issues des régions Midi-Pyrénées et PACA, (ii) à des fréquences beaucoup plus faibles (inférieures à 8%) en Rhône-Alpes et en Aquitaine et (iii) sa quasi absence dans les populations de Pays de Loire et de Normandie.

Dans la présente étude, nous confirmons la répartition très hétérogène de la résistance de cible aux pyréthrinoides en France. Comme dans les études précédentes, l'allèle *kdr* reste très fréquent en Midi-Pyrénées et PACA. Pour Rhône-Alpes, les résultats sont également assez similaires à ceux des précédentes études : l'allèle *kdr* n'est observé que dans 3 parcelles sur 5 et à des fréquences relativement faibles (inférieures à 12%). Pour Aquitaine, les fréquences de l'allèle *kdr* reportées dans cette étude sont globalement plus élevées que dans les études précédentes. Ces différences s'expliquent probablement par les localisations géographiques des parcelles. Les échantillons analysés ont été collectés le long de la vallée de la Garonne alors qu'ils provenaient de Dordogne dans les études antérieures. La proportion d'allèle *kdr* dans les populations n'est que partiellement expliquée par les applications actuelles de pyréthrinoides pour lutter contre le carpocapse.

Des écarts significatifs à l'équilibre de Hardy-Weinberg (qui permettent en théorie de suspecter la sélection de génotypes résistants sur la génération testée, suite à l'application de pyréthriinoïdes) n'ont été observés que pour les échantillons de deux parcelles, au Thor en région PACA et à Moissac [2006-23] en région Midi-Pyrénées. Les 3 parcelles de la région PACA analysées correspondaient à des parcelles abandonnées en 2006. Il est donc probable que la sélection de génotypes résistants dans la parcelle du Thor puisse être la conséquence de traitements pyréthriinoïdes dans des parcelles avoisinantes. Pour Midi-Pyrénées, les calendriers de traitements de 2006 révèlent de 1 à 5 applications de pyréthriinoïdes selon les vergers, dans le cadre de la lutte contre le carpocapse. Néanmoins, il n'a pas été possible d'établir un lien clair entre le nombre de traitements pyréthriinoïdes et l'importance de l'allèle *kdr* au sein de ces populations. Notons toutefois que la parcelle de Moissac se caractérisait par un nombre de traitements aux pyréthriinoïdes plus élevé que la moyenne (5 vs 2,3 en moyenne pour les parcelles analysées de cette région). Or, outre l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg observé, l'ensemble des individus de l'échantillon de cette parcelle était porteur de l'allèle *kdr*.

Les calendriers de traitements des parcelles analysées dans cette étude n'ont malheureusement pas pu être obtenus pour des années antérieures à 2006. Toutefois, nous supposons que le développement de la résistance de cible dans les grandes régions de production du sud de la France s'explique surtout par l'importance des traitements pyréthriinoïdes dans ces régions à la fin des années 1990. Le relâchement de la pression pyréthriinoïde actuelle ne semble pas permettre une diminution de la proportion d'allèle *kdr*. C'est sans aucun doute le fait du faible coût de la résistance conféré par la mutation de cible *kdr* (Boivin *et al.*, 2003 b), mais aussi peut-être d'une sélection indirecte par des traitements pyréthriinoïdes sur d'autres ravageurs que le carpocapse, comme la zeuzère ou les pucerons (Franck *et al.*, 2007).

CONCLUSION

Les études, réalisées au cours de ces dernières années, sur la sensibilité du carpocapse des pommes et des poires vis à vis de différentes familles d'insecticides font apparaître une situation assez largement détériorée. Les différents types de tests utilisés montrent en effet une généralisation de la résistance métabolique (impliquant une résistance croisée entre différentes familles chimiques, notamment entre benzoylurées et pyréthriinoïdes).

Parallèlement, la résistance de cible spécifique aux pyréthriinoïdes est importante dans la majorité des parcelles des régions Midi-Pyrénées et PACA. Sa répartition est plus hétérogène en Aquitaine. En Rhône-Alpes par contre, l'allèle de résistance apparaît comme beaucoup moins présent (probablement en lien avec une volonté de moindre emploi des pyréthriinoïdes chez l'ensemble des producteurs de la zone ciblée). La quasi-absence de données pour les régions du nord de la France, notamment Centre et Pays de Loire ne permet pas d'avoir une vision complète de la répartition de ces résistances en France. A ce jour, avec un échantillonnage très restreint, l'allèle *kdr* n'a toutefois pas été observé dans les régions françaises les plus septentrionales (Normandie et Lorraine).

Au travers de ces résultats, malgré la connaissance souvent partielle des calendriers de traitements qui leur sont associés, il ressort que le rôle des pressions de sélection exercées sur les populations de carpocapse est primordial dans l'apparition de ces résistances au sein des différents bassins de production. Ce constat conforte les recommandations énoncées vis à vis de la gestion des résistances, axées sur l'intégration de méthodes alternatives.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier toutes les personnes qui ont participé à la collecte et à l'envoi des échantillons : agents des SRPV et Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles, techniciens des Chambres d'Agriculture, techniciens de la Coopérative de la SICOLY, producteurs. Leurs remerciements s'adressent également à Elise DAVID et Jérôme OLIVARES pour leur aide précieuse.

BIBLIOGRAPHIE

- Bouvier J.C., Brosse V., Sauphanor B., 1995 – Insecticides. La résistance du carpocapse. *L'arboriculture fruitière*, 479, 21-23.
- Bouvier J.-C., Cuany A., Monier C., Brosse V., Sauphanor B., 1998 – Enzymatic diagnosis of resistance to deltamethrin in diapausing larvae of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, 39, 55-64.
- Boivin T., Bouvier J.-C., Chadœuf J., Beslay D., Sauphanor B., 2003 a - Constraints on adaptive mutations in the codling moth : measuring fitness trade-offs and natural selection. *Heredity* 90, 107-113.
- Boivin T., Bouvier J.C., Beslay D., Sauphanor B., 2003 b - Phenological segregation of insecticide resistance alleles in the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae) : a case study of ecological divergences associated with adaptive changes in populations. *Genetics Research*, 81, 169-177.
- Brun-Barale A., Bouvier J.-C., Pauron D., Bergé J.-B., Sauphanor B., 2005 - Involvement of a sodium channel mutation in pyrethroid resistance in *Cydia pomonella* L., and development of diagnostic test. *Pest Manag. Sci.*, 61, 549-554.
- Franck P., Reyes M., Olivares J., Sauphanor B., 2007 - Genetic architecture in codling moth populations comparison between microsatellite and insecticide resistance markers. *Mol. Ecol.*, 16, 3554-64.
- Reyes M., Franck P., Charmillot P.-J., Ioriatti C., Olivares J., Pasqualini E., Sauphanor B., 2007- Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European population of the codling moth, *Cydia Pomonella*. *Pest. Manag. Sci.*, 63, 890-902.
- Rousset F., 2008 - Genepop'007 : a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 103-106.
- Sauphanor B., Benoit M., Bouvier J.-C., Perron G., Malezieux S., Fremond J.-C., 1994 - Un cas de résistance du carpocapse des pommes au diflubenzuron dans le sud est de la France. *Phytoma*, 458, 46-49.
- Sauphanor B., Bouvier J.C., 1995 – Cross-resistance between benzoylureas and benzolhydrazines in the codling moth, *Cydia pomonella* L. *Pestic. Sci.*, 45, 369-375.
- Sauphanor B., Cuany A., Bouvier J.-C., Brosse V., Amichot M., Bergé J. B., 1997 - Mechanism of resistance to Deltamethrin in *Cydia pomonella*(L.) (Lepidoptera Tortricidae). *Pestic Biochem. and Physiol.*, 58 , 109-117.
- Sauphanor B., Brosse V., Bouvier J.-C., Speich P., Micoud A., Martinet C., 2000 - Monitoring resistance to diflubenzuron and deltamethrin in French codling moth populations. *Pest Manag. Sci.*, 56, 74-82.