

**AFPP – 11<sup>e</sup> CONFÉRENCE INTERNATIONALE  
SUR LES RAVAGEURS ET AUXILIAIRES EN AGRICULTURE  
MONTPELLIER – 25 ET 26 OCTOBRE 2017**

**SUIVI DES RESISTANCES DES POPULATIONS D'ALTISES D'HIVER (PSYLLIODES CHRYSOCEPHALA) ET  
DE CHARANÇON DU BOURGEON TERMINAL (CEUTORHYNCHUS PICITARSIS) AUX PYRETHRINOÏDES  
EN FRANCE EN CULTURE DE COLZA**

C. ROBERT <sup>(1)</sup>, L. RUCK <sup>(2)</sup>, J. CARPEZAT <sup>(1)</sup>, A. LAUVERNAY <sup>(1)</sup>, M. SIEGWART <sup>(3)</sup>, M. LEFLON <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Terres Inovia, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval Grignon, France

<sup>(2)</sup> Terres Inovia, Chambre d'Agriculture Marne, Complexe agricole du Mont Bernard, Route de Suippes, CS 90525, 51009 CHALONS EN CHAMPAGNE cedex, France

<sup>(3)</sup> INRA – Département Santé des Plantes et Environnement, 228 route de l'aérodrome - CS40509-Domaine St Paul - Site Agroparc, 84914 Avignon Cedex 09, France  
Mèl : c.robert@terresinovia.fr

## RÉSUMÉ

La gestion au champ de populations d'altises d'hiver (*Psylliodes chrysocephala*) et de charançons du bourgeon terminal (*Ceutorhynchus picitarsis*) dans les cultures de colza est devenue difficile depuis quelques années. Ce constat a conduit Terres Inovia et ses partenaires, dans le cadre du groupe de travail « Résistance » de l'AFPP (Association Française de Protection des Plantes) à réaliser un monitoring des résistances aux insecticides sur ces deux ravageurs. Les données produites depuis 2015 révèlent l'existence de résistance aux pyréthrinoïdes en France chez ces deux espèces, à des niveaux variables. Le phénomène n'est sans doute pas récent étant donné la diversité des mécanismes impliqués.

Dans les populations d'altises d'hiver, la mutation kdr sur le gène codant pour la cible moléculaire des pyréthrinoïdes est très présente sur tout le territoire. Dans l'Est de la France (secteur de l'Yonne), une autre mutation : super kdr, a été mise en évidence à des fréquences importantes.

Dans les populations de charançon du bourgeon terminal la mutation kdr a également été trouvée en fortes proportions, notamment dans le Centre et l'Est de la France, mais pas la mutation skdr.

Chez ces deux espèces, nous montrons que des capacités accrues de détoxification cohabitent avec ces mutations de cible dans les mêmes populations.

Les premiers résultats de cette étude tendent à montrer que les mutations kdr conféreraient un faible niveau de résistance chez les grosses altises, contrairement à la mutation super kdr qui semble bien expliquer cette résistance.

**Mots-clés :** colza, *Psylliodes chrysocephala*, *Ceutorhynchus picitarsis*, résistance, pyréthrinoïdes.

## ABSTRACT

**PYRETHROIDS RESISTANCE MONITORING IN FRENCH CABBAGE STEM FLEA BEETLE (PSYLLIODES CHRYSOCEPHALA) AND RAPE WINTER STEM WEEVIL (CEUTORHYNCHUS PICITARSIS) POPULATIONS IN OILSEED RAPE;**

Cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*) and rape winter stem weevil (*Ceutorhynchus picitarsis*) field management in oilseed rape has become difficult for some years. Terres Inovia and its partners, as part of the AFPP (French Association for Plant Protection) “Resistance” working group, have monitored these two species to detect resistant populations to pyrethroids. Available data collected since 2015 show the presence of cabbage stem flea beetle and rape winter stem weevil

resistant populations to pyrethroids over the whole French area. This is probably not a new phenomenon considering the diversity of involved mechanisms.

For cabbage stem flea beetle, a mutation in the sodium channel gene known to be linked to the knock-down resistance (kdr) phenotype was discovered. This mutation is well spread in the French territory. Moreover, another mutation known as Super-knock down resistance (skdr) was detected too. It is very present in the East of France, mainly in the Yonne region.

For rape winter stem weevil, the kdr mutation was found in the Center and in the East of France but not skdr.

Resistance by detoxification are combined with these mutations in the two species.

The first results of this work show that kdr mutations would confer a low resistance level to cabbage stem flea beetle. However, there is a good correlation between mortality rate in laboratory and the proportion of individuals with skdr mutations.

**Keywords:** oilseed rape, *Psylliodes chrysocephala*, *Ceutorhynchus picitarsis*, resistance, pyrethroids.

## INTRODUCTION

Le colza est une culture visitée par de nombreux insectes ravageurs, pollinisateurs et auxiliaires. Les principaux ravageurs appartiennent à la famille des coléoptères, parmi lesquels l'altise d'hiver ou grosse altise (*Psylliodes chrysocephala*), le charançon du bourgeon terminal (*Ceutorhynchus picitarsis*), le charançon de la tige du colza (*Ceutorhynchus napi*), le méligrèthe (*Meligethes aeneus*) et le charançon des siliques (*Ceutorhynchus assimilis*). La lutte contre ces insectes repose en grande partie sur l'utilisation d'insecticides et dans une moindre mesure sur des solutions agronomiques, aucune solution de biocontrôle n'étant efficace aujourd'hui sur ces espèces. Les Indices de Fréquence de Traitements (IFT) insecticides moyens (2.02) représentent près d'un tiers des IFT appliqués sur la culture (Agreste, 2014). Depuis la fin des années 70, les pyréthrinoïdes constituent l'une des principales familles chimiques utilisées.

Ces dernières années, plusieurs ravageurs du colza ont développé des résistances à cette famille chimique en France : le puceron vert du pêcher vers 1997 (Ballanger 1999) suivi en 1999 des méligrèthes (Ballanger & Detourne 2011). En 1999 a ainsi été créé le groupe de travail de l'Association Française de Protection des Plantes (AFPP) « Résistances », ayant comme principal objectif de réaliser un suivi (monitoring) de l'évolution de la sensibilité sur les méligrèthes. Grâce à ces travaux, le niveau de résistance des populations de méligrèthes est aujourd'hui bien connu. Depuis 2015, le GT « Résistances » a étendu son domaine d'investigation à d'autres ravageurs des grandes cultures.

Depuis quelques années, 2 principaux ravageurs du colza d'automne, l'altise d'hiver et le charançon du bourgeon terminal sont en recrudescence en France. Le premier est présent principalement sur toute la bordure maritime du pays tandis que le second est surtout présent dans le Centre, l'Est et le Sud-Ouest de la France. Toutes les régions françaises sont ainsi concernées par l'un ou l'autre de ces ravageurs. Alerté par nos partenaires de terrain rencontrant des difficultés de gestion de ces insectes, Terres Inovia a engagé des travaux sur ces espèces afin d'évaluer si ces difficultés étaient liées à l'apparition de phénomènes de résistance, auquel cas les mécanismes impliqués seraient étudiés.

Il existe de nombreux mécanismes de résistance aux pesticides (R4P et al. 2016). Les plus communs responsables de résistances aux insecticides peuvent être classés en 3 groupes(Liu 2012) :

- La résistance métabolique : l'insecte surproduit en plus ou moins grande quantité des enzymes capables de dégrader ou d'inhiber les insecticides. 3 familles d'enzymes sont impliquées : les monooxygénases à cytochrome P450 (P450s), les hydrolases et les glutathion-S-transferases (GSTs) et les carboxylestérases (CbEs).
- La résistance de cible : des mutations dans la cible moléculaire entraînent des modifications structurelles sur le site de fixation de l'insecticide. Pour les pyréthrinoïdes cette cible est le canal sodium voltage dépendant responsable de la transmission de l'influx nerveux au niveau de l'axone..
- Une réduction de la pénétration de l'insecticide à travers la cuticule.

Cet article vise à présenter un état des lieux des niveaux de résistance et des mécanismes impliqués sur altises d'hiver et charançons du bourgeon terminal, sur la base des données acquises depuis 2015.

## MATERIEL ET MÉTHODE

### ECHANTILLONS ANALYSES :

Des populations d'altise d'hiver (*Psylliodes chrysocephala*) ou de charançons du bourgeon terminal (*Ceutorhynchus picitarsis*), ont été prélevées de février 2015 à avril 2017, grâce à une mobilisation de nombreux acteurs locaux, dans l'objectif de couvrir au maximum le territoire français. Différents

tests ont été réalisés sur ces populations, afin de caractériser les niveaux et les mécanismes sous-jacents de résistance des altises d'hiver et des charançons du bourgeon terminal vis-à-vis des pyréthrinoïdes :

- des tests de mortalité induite par l'exposition à différentes doses de lambda-cyhalothrine au laboratoire, en présence ou non d'inhibiteurs des enzymes responsables de la détoxicification des pyréthrinoïdes par l'insecte. Si, en présence de ces inhibiteurs, le taux de mortalité des insectes mis en contact avec l'insecticide augmente plus que sur nos références sensibles, alors la population présente une résistance de type métabolique.
- l'analyse des mutations de cible par des méthodes moléculaires.

Quelques populations d'insectes proviennent de parcelles d'essais où l'efficacité des produits aux champs a été testée.

Sur altises d'hiver, les analyses de résistance par mutation de cible ont été réalisées sur 246 populations. Vingt cinq populations d'adultes ont été caractérisées par des biotests avec insecticide uniquement, dont 11 avec et sans inhibiteur.

Sur charançon du bourgeon terminal, les analyses de résistance par mutation de cible ont été réalisées sur 98 populations, parmi lesquelles 9 ont été caractérisées également par des biotests avec insecticide uniquement, et 6 avec et sans inhibiteurs.

#### **METHODES D'ANALYSES :**

##### Analyse des résistances par mutation de cible (analyses moléculaires) :

De 5 à 20 individus, au stade adulte ou larvaire, ont été analysés pour chaque population (moyenne de 18 individus par population). Les individus ont été transférés individuellement dans des tubes de 1,5 ml contenant une bille en métal de 3 mm de diamètre, et broyés 30 secondes à l'aide d'un broyeur Precellys (OZYME). Après centrifugation, 100 µl de tampon d'extraction Tris/KCl/EDTA (Délye et al. 2009) ont été ajoutés dans chaque tube. Les réactions PCR d'amplification du gène du canal sodium ont été réalisées dans un volume réactionnel de 20µL, dont 5µL de broyat dilué au 1/50<sup>e</sup>. Un couple d'amorce spécifique du gène du canal sodium a été utilisé pour chacune des deux espèces. Le produit d'amplification a été alors séquencé (séquençage SANGER). Les chromatogrammes ont été alignés avec un témoin sensible à l'aide du logiciel ChromasPro (Technelysium Pty Ltd) afin d'identifier des substitutions d'acides aminés traduits entre les positions protéiques 906 à 1015 pour les altises d'hiver et 917 à 1015 pour les charançons du bourgeon terminal.

##### Biotests flacons (tests biologiques) :

Une gamme de concentration de lambda-cyhalothrine, ainsi que des solutions de butoxyde de pipéronyle (PBO), inhibiteur des monooxygénases à cytochrome P450 (MFOs), de diethyl maleate (DEM), inhibiteur des carboxylestérases, et de S, S, S-tributyl phosphorotriithioate (DEFs), inhibiteur des glutathion-S-transférases (GSTs), ont été réalisées par dilution dans de l'acétone. Des flacons en verre ont ensuite été traités avec 200 µl de ces solutions : la λ-cyhalothrine seule, la λ-cyhalothrine additionnée d'un inhibiteur, la λ-cyhalothrine additionnée des 3 inhibiteurs et l'acétone seule (témoin). Les flacons ont été placés sur un agitateur roulant pour répartir de façon homogène la solution sur la surface interne. L'acétone a été ensuite éliminée par évaporation sous sorbonne.

Une vingtaine d'individus pleinement actifs sont déposés par flacon (le test est réalisé pour 2 flacons par dose de λ-cyhalothrine). Pour chaque population, 2 flacons témoins ont également été utilisés afin de déterminer la mortalité naturelle. Les flacons sont incubés à 20 °C pendant 24h avec une photopériode de 12h d'éclairement pour 12h d'obscurité. Les insectes vivants et morts dans chaque flacon sont ensuite dénombrés.

Pour chaque population, la dose de 15 ng/cm<sup>2</sup> a été testée en priorité. Cette dose a été choisie comme référence car les premières années du monitoring, elle permettait de tuer 98% des individus dans les populations les plus sensibles et était considérée comme la plus discriminante (comm. pers. Siegwart).

Lorsque nous avons eu assez d'individus pour tester au moins 4 doses de λ-cyhalothrine pour une population, nous avons pu calculer la dose létale permettant de tuer 50% de la population (DL50) et ce à l'aide du logiciel Win DL V2.0 (CIRAD).

## RESULTATS

### ALTISES D'HIVER

#### Analyses des résistances par mutation de cible (analyses moléculaires) :

Des mutations du gène codant pour le canal sodium et connues pour conférer de la résistance chez les altises d'hiver (Zimmer et al. 2014) et sur d'autres espèces (Rinkevich et al. 2013) ont été observées dans toutes les populations analysées, à l'exception de 3 populations de l'Est (en Meurthe et Moselle, Haute-Saône, et Jura).

La mutation majoritairement observée est la mutation kdr – knock-down resistance (L1014F), observée à l'état hétérozygote ou homozygote dans 94% des populations analysées (Figure 1), et qui semble fixée (100% d'homozygotes) dans 10% des populations (notamment dans des populations normandes, picardes, ou de Charente-Maritime).

La mutation skdr – super knock-down resistance (M918L) est également observée sur altises d'hiver dans 30% des populations analysées, toutes prélevées dans un secteur restreint centré sur l'Yonne (Yonne, Aube, Côte-d'Or et Nièvre- Figure 1). La mutation skdr est toujours associée dans les individus à la mutation P909S (non référencée), et n'est jamais associée à la mutation kdr.

Deux autres mutations répertoriées comme induisant de la résistance, ont également été détectées : les mutations T929N et L925I sont observées seules ou en mélange avec d'autres mutations au sein des populations dans 26% des échantillons ; elles sont retrouvées un peu partout sur le territoire, et sont très fréquentes dans les populations du Sud-Ouest.

## Résultats des analyses moléculaires sur altises d'hiver (prélèvements 2015-2017)

246 échantillons analysés

(carte réalisée le 31/05/2017)

### Expression des mutations kdr et super kdr (% de populations par catégorie)

Nombre de populations



- Population où aucune mutation n'est présente
- Pop. où SKDR n'est pas présente et KDR est présente avec RR<30%
- Pop. où SKDR n'est pas présente et KDR est présente avec 30%<=RR<80%
- Pop. où SKDR n'est pas présente et KDR est présente avec 80%<=RR
- Pop. où SKDR est présente avec RR<30%
- Pop. où SKDR est présente avec 30%<=RR<80%
- Pop. où SKDR est présente avec 80%<=RR
- Populations analysées ou en cours au 31/05/2017

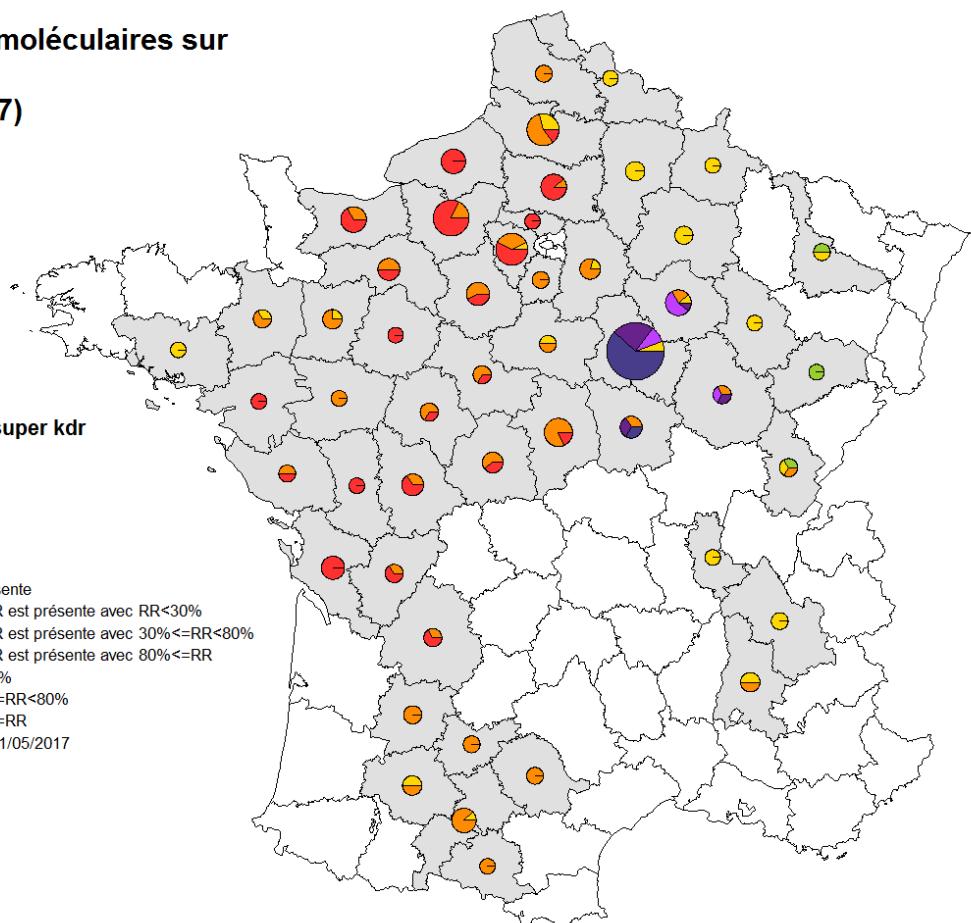


Figure 1 : Fréquence de détection de mutations kdr et skdr dans les populations d'altises d'hiver. RR= individus homozygotes résistants.

Detection frequency of kdr and skdr mutations in cabbage stem flea beetles populations.  
RR= homozygous resistant insects.

### Biotests flacons (tests biologiques) :

Des tests biologiques de résistance aux pyréthrinoïdes ont été réalisés sur un total de 25 populations d'adultes, dont 6 pour lesquelles les effectifs ont permis de mesurer des DL50. Le taux de mortalité observé dans ces tests, après 24H d'exposition à la dose de 15 ng/cm<sup>2</sup> de λ-cyhalothrine est très variable entre populations : alors que les populations de l'Yonne ont des taux de mortalité faibles, variant de 0 à 28%, et des DL50 avoisinant ou supérieures à 100 ng/cm<sup>2</sup>, les populations prélevées dans d'autres secteurs apparaissent plus sensibles, avec des taux de mortalité variant entre 70 et 100% à la dose de 15 ng/cm<sup>2</sup> et des DL50 inférieures à 10 ng/cm<sup>2</sup> (Figure 2).

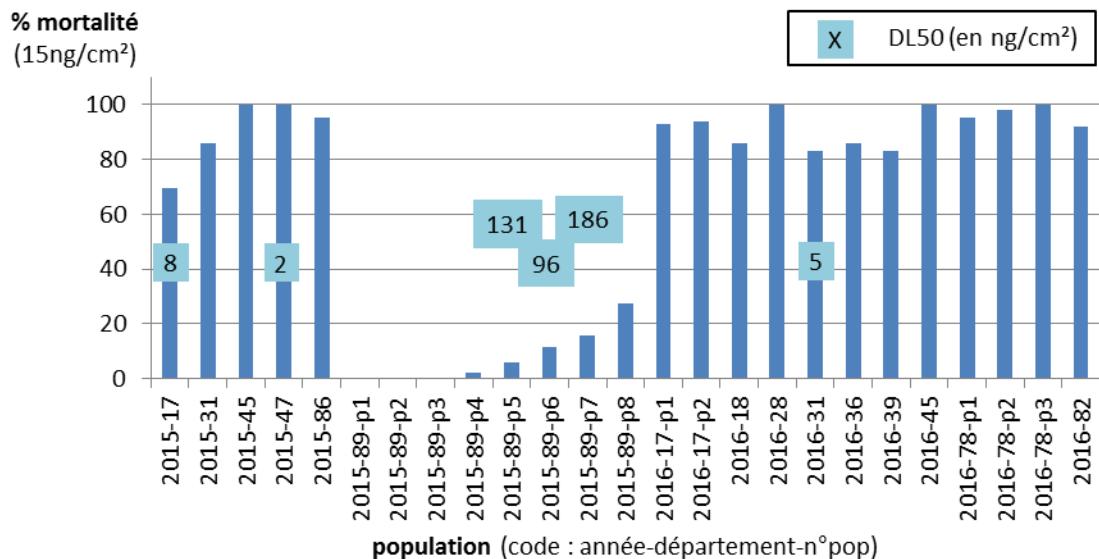


Figure 2 : Taux de mortalité des populations d'altises d'hiver mesurés en test flacon après 24h d'exposition à la dose de référence de 15 ng/cm<sup>2</sup> de λ-cyhalothrine  
Mortality rate of cabbage stem flea beetle populations, in vial tests, after a 24 hours exposure at 15 ng/cm<sup>2</sup> of λ-cyhalothrin.

Afin d'identifier si des populations étaient résistantes par la voie métabolique, différents tests en flacons ont été réalisés sur 3 populations de l'Yonne avec ajout d'inhibiteurs PBO, DEF et DEM. Parmi ces 3 populations, le taux de mortalité des altises d'hiver a atteint 100% avec ajout de PBO à la λ-cyhalothrine (à la dose de 15 ng/cm<sup>2</sup>) pour 2 des trois populations (2015-89-P6 et 2015-89-P7 ; Figure 3), mais sans effet observé par l'ajout de DEM ou de DEF. Sur la 3<sup>e</sup> population (2015-89-P1), aucun des trois inhibiteurs testés n'a eu d'effet.

D'autres tests ont été alors réalisés sur 12 populations supplémentaires avec soit l'ajout de PBO seul, soit l'ajout d'un mélange de PBO, DEM et DEF et pour différentes doses de λ-cyhalothrine. Pour toutes les populations ayant un taux de mortalité intermédiaire (entre 10 et 90%) à une dose d'insecticide donnée (points inclus dans le cercle rouge), l'ajout de PBO ou du mélange d'inhibiteurs permet d'augmenter considérablement le taux de mortalité des insectes dans deux populations résistantes et donc de restaurer au moins en partie l'efficacité de la λ-cyhalothrine (Figure 3). Pour les populations ayant un taux de mortalité très faible ou très fort à une dose donnée (points inclus respectivement dans les cercles bleus et verts), le test ne permet pas de montrer un effet de PBO ou des inhibiteurs. Ce test a mis en évidence l'importance des mécanismes de détoxification dans deux populations mais n'est pas suffisamment robuste pour pouvoir tirer des conclusions sur les autres faute d'insectes disponibles qui nous permettraient de passer des gammes de dose insecticides.

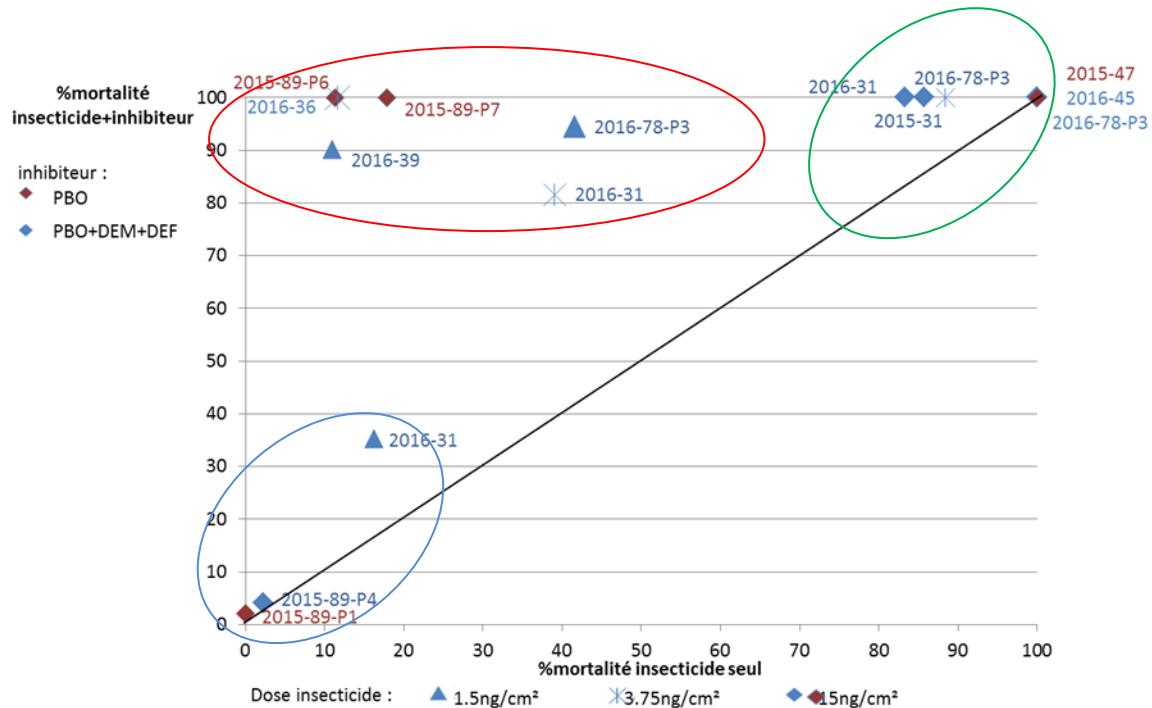


Figure 3 : Résultats des tests de détection de la résistance métabolique sur populations d'altises d'hiver. *Une mortalité accrue induite par l'ajout d'inhibiteurs à l'insecticide est révélatrice de mécanismes de résistance par détoxification.*

Test results to detect detoxification resistance in cabbage stem flea beetle populations. *An increased mortality that is induced by the addition of insecticide inhibitors reveals detoxification resistance.*

Corrélations entre biotests flacons (tests biologiques) et résistance liée à la cible (test moléculaire) :

La recherche de mutations de cibles a été réalisés sur 12 des populations sur lesquelles le test biologique a été fait. Ces populations présentent soit la mutation kdr à l'état homozygote (RR) à une fréquence variant entre 40 et 88%, soit la mutation s-kdr à une fréquence variant entre 47 et 100%. L'analyse de la corrélation entre la proportion d'individus porteurs des mutations kdr ou s-kdr et le taux de mortalité observé dans les tests flacons montre une mauvaise corrélation entre la mutation kdr et le taux de mortalité (Figure 4). En revanche, la mutation skdr semblent conférer une plus grande immunité à la lambda-cyhalothrine ( $R^2=0.84$ ).

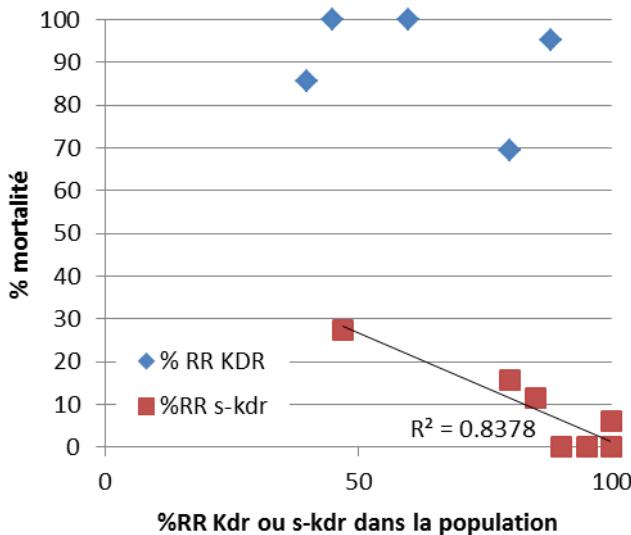


Figure 4 : Corrélation entre la fréquence des mutations kdr ou s-kdr dans les populations d'altises d'hiver et leur sensibilité à l'insecticide (dose de 15 ng/cm<sup>2</sup> de λ-cyhalothrine).

Correlation between kdr/skdr frequency in cabbage stem flea beetle populations and their sensitivity to insecticide (at 15ng/cm<sup>2</sup> de λ-cyhalothrin).

#### CHARANÇONS DU BOURGEON TERMINAL :

##### Analyses des résistances par mutation de cible (analyses moléculaires) :

Des mutations du gène codant pour le canal sodium et connues pour conférer la résistance sur d'autres espèces (Rinkevich et al. 2013) ont été observées dans 77% des populations analysées, et apparaissent fixées dans 25% des populations analysées (Figure 5) : la mutation kdr (L1014F) est très majoritairement observée à l'état homozygote ou hétérozygote, mais d'autres mutations (L925M, T929N et L1014H) ont été retrouvées sporadiquement dans quelques populations (6 populations au total). La mutation skdr (M918L) n'a quant à elle jamais été observée.

## Résultats des analyses moléculaires sur charançon du bourgeon terminal (prélèvements 2015-2017)

98 échantillons analysés

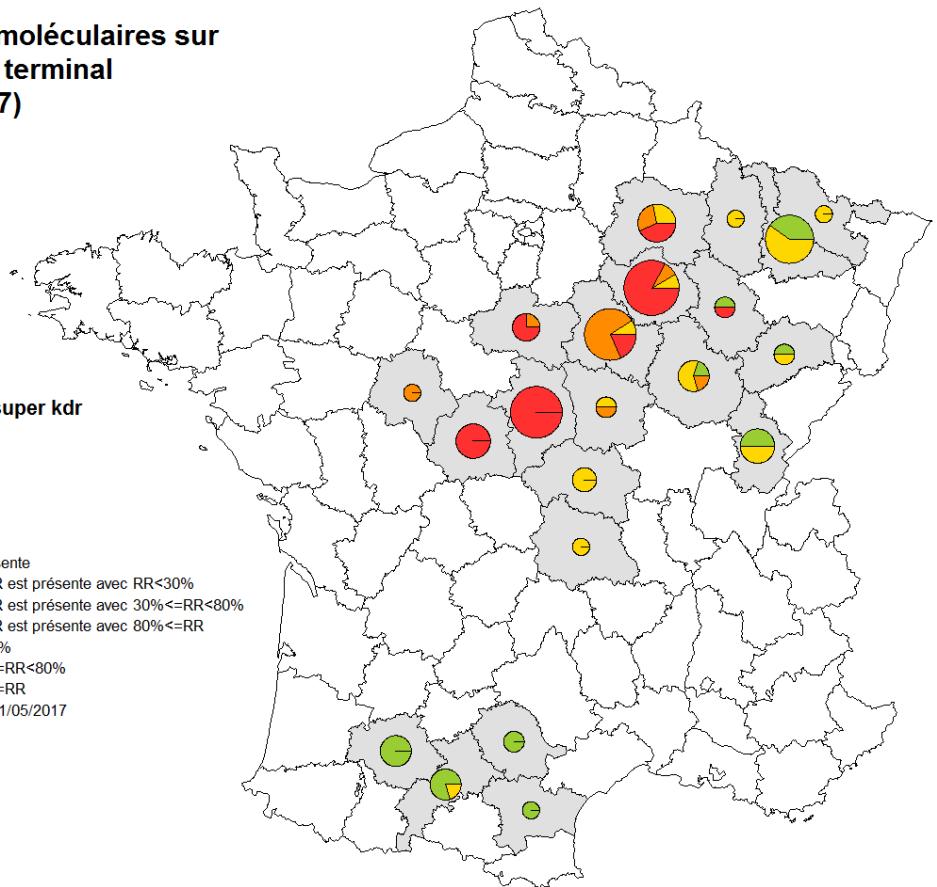
(carte réalisée le 31/05/2017)

### Expression des mutations kdr et super kdr (% de populations par catégorie)

Nombre de populations



- Population où aucune mutation n'est présente
- Pop. où SKDR n'est pas présente et KDR est présente avec RR<30%
- Pop. où SKDR n'est pas présente et KDR est présente avec 30%<=RR<80%
- Pop. où SKDR n'est pas présente et KDR est présente avec 80%<=RR
- Pop. où SKDR est présente avec RR<30%
- Pop. où SKDR est présente avec 30%<=RR<80%
- Pop. où SKDR est présente avec 80%<=RR
- Populations analysées ou en cours au 31/05/2017



**Figure 5 : Fréquence de détection de mutations kdr dans les populations de charançons du bourgeon terminal.**  
**Detection frequency of kdr mutations in rape winter stem weevil populations.**

### Biotests flacons (tests biologiques) :

Des tests biologiques de résistance aux pyréthrinoïdes ont été réalisés sur un total de 15 populations d'adultes. Le taux de mortalité observé dans ces tests, après 24H d'exposition à la dose de 15 ng/cm<sup>2</sup> de  $\lambda$ -cyhalothrine varie de 17% pour les populations les plus résistantes (dans le Cher et l'Aube) à 100% pour les populations les plus sensibles du Puy-de-Dôme ou du Gers (Figure 6).

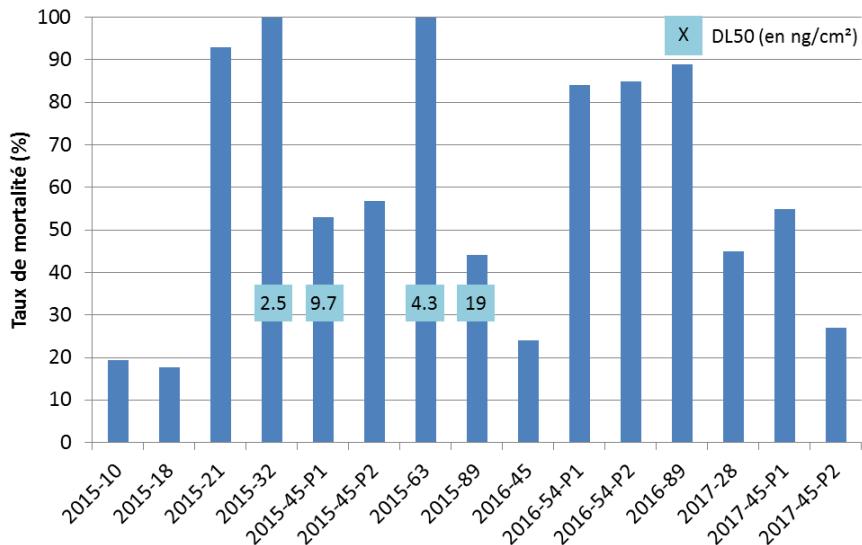


Figure 6 : Taux de mortalité des populations de charançons du bourgeon terminal mesurés en test flacon après 24h d'exposition à la dose de référence de 15 ng/cm<sup>2</sup> de λ-cyhalothrine.  
Mortality rate of rape winter stem weevil populations, in vial tests, after a 24 hours exposure to 15 ng/cm<sup>2</sup> of λ-cyhalothrin.

Afin d'identifier si des populations étaient résistantes par voie métabolique, des tests ont été réalisés sur 6 d'entre elles avec ajout d'inhibiteurs PBO, DEF et DEM en mélange et pour différentes doses de λ-cyhalothrine. Pour 5 populations sur 6 (points dans le cercle rouge), l'ajout d'inhibiteurs permet de restaurer au moins en partie la sensibilité du ravageur à l'insecticide (Figure 7) : le taux de mortalité en présence de l'insecticide et de l'inhibiteur est plus important que celui en présence de l'insecticide seul. Pour une population prélevée dans le Loiret en 2017 (2017-45-PE1), le test réalisé ne met en évidence de résistance par détoxification par aucune de ces 3 voies. Ce test met donc en évidence des différences de mécanismes de résistance entre populations.

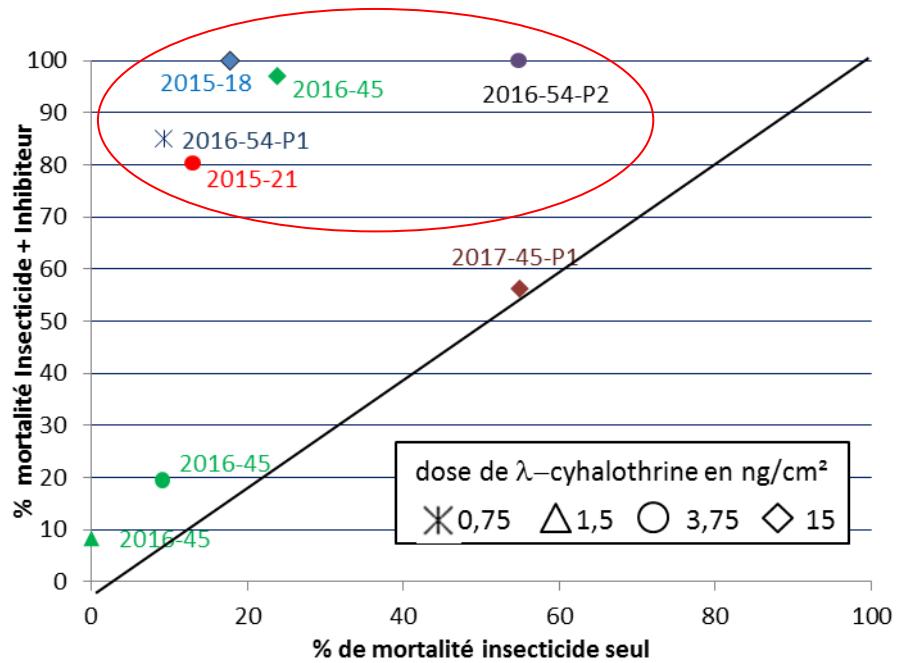


Figure 7 : Résultats des tests de détection de la résistance métabolique sur populations de charançons du bourgeon terminal. *Une mortalité accrue induite par l'ajout d'inhibiteurs (PBO+DEM+DEF) à la dose d'insecticide est révélatrice de mécanismes de résistance par détoxification.*

Test results to detect detoxification resistance in rape winter stem weevil populations. *An increased mortality that is induced by the addition of insecticide inhibitors (PBO+DEM+DEF) reveals detoxification resistance.*

Corrélations entre tests flacons (tests biologiques) et résistance liée à la cible (analyses moléculaires) :

Les tests biologiques et les recherches de mutations de cibles ont été réalisés simultanément sur 10 populations. Malgré ce faible effectif, et l'existence de mécanismes de résistance métabolique, la résistance liée à la cible semble avoir un effet visible sur la résistance de l'insecte à l'insecticide observée dans les tests flacons ( $R^2=0,75$  ; Figure 8).

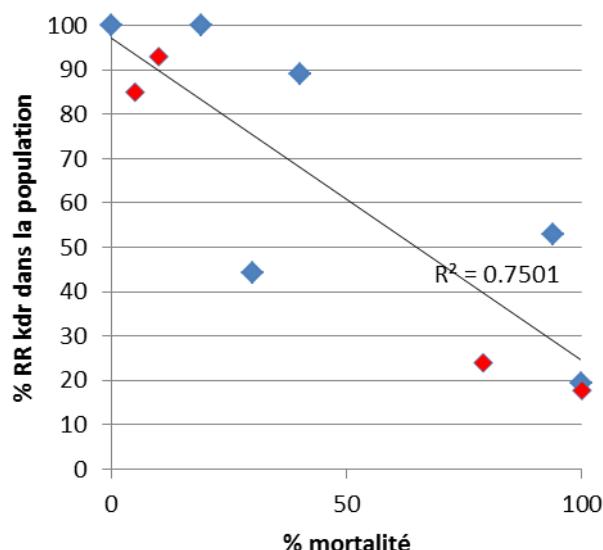


Figure 8 : Corrélation entre la fréquence de la mutation kdr dans les populations de charançons du bourgeon terminal et leur sensibilité à l'insecticide (dose de 15 ng/cm<sup>2</sup> de λ-cyhalothrine). *Les marques en rouge indiquent les populations pour lesquelles de la résistance par détoxification a été observée (pas d'information sur les populations représentées en bleu).* Correlation between kdr frequency in rape winter stem weevil populations and their sensitivity to insecticide (at 15 ng/cm<sup>2</sup> of λ-cyhalothrin). *Red signs indicates populations in which detoxification resistance is involved (no available information for populations that are marked in blue).*

## DISCUSSION, CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les travaux de monitoring réalisés ces dernières années ont mis en évidence l'existence de populations d'altises d'hiver et de charançons du bourgeon terminal résistantes aux pyréthrinoïdes, à des niveaux variables, sur l'ensemble du territoire. L'apparition de populations résistantes n'est sans doute pas récente au vue de l'ampleur du phénomène et de la diversité des mécanismes impliqués.

Sur altises d'hiver, les données obtenues révèlent la forte fréquence de la mutation kdr, mais aussi l'existence d'autres mutations, et notamment d'un foyer skdr dans l'Est de la France.

Sur charançon du bourgeon terminal, la mutation kdr est également très présente.

Le peu de données disponibles semblent révéler une incidence de ces mutations (skdr sur altise d'hiver et kdr sur charançons du bourgeon terminal) sur le niveau de résistance des populations ; toutefois, les tests réalisés ne permettent pas de découpler l'effet de ces résistances liées à la cible de celui lié à de la résistance métaboliques. A noter, qu'il est difficile de classer les populations les unes par rapport aux autres en fonction de leur niveau de résistance métabolique. Cela nécessiterait de tester chaque population avec une large gamme de doses d'insecticides (plus inhibiteurs), ce qui est aujourd'hui impossible du fait de la difficulté à récupérer des adultes vivants dans les champs.

La diversité des mécanismes de résistance impliqués dans les populations d'altises d'hiver semble être une particularité française. En Allemagne, au Royaume-Uni et au Danemark, des populations résistantes aux pyréthrinoïdes de cet insecte sont également présentes. La mutation de cible kdr a été mises en évidence (Heimbach & Brandes 2016) mais il n'est fait mention d'aucune autre mutation dans la littérature. Au Royaume-Uni, le niveau de résistance est plus fort, avec de la résistance métabolique est également présente (Højland et al. 2015). En Allemagne, il existe une bonne corrélation entre le taux de mortalité des insectes après exposition à la  $\lambda$ -cyhalothrine et la fréquence de la mutation kdr, ce qui est moins vrai au Royaume-Uni et serait d'après les auteurs lié à la présence de résistance métabolique.

Les résultats obtenus en France montrent également une mauvaise corrélation entre les taux de mortalité à la dose de 15 ng/cm<sup>2</sup> et le pourcentage d'individu exprimant la mutation kdr ce qui tendrait à confirmer les conclusions de Højland et al. (2015). D'après cet auteur, les mutations kdr ne conferreraient qu'un faible niveau de résistance par rapport à la détoxicification.

Dans notre étude, nous trouvons une bonne corrélation entre les fréquences de la mutation skdr et le taux de mortalité à la lambda-cyhalothrine et ce malgré la présence de résistance métabolique à des niveaux importants dans au moins certaines populations. Nous concluons donc qu'en France, la cause principale de résistance de l'altise d'hiver aux pyréthrinoïdes est la mutation skdr (M918L) associée à la mutation P909S non référencée à ce jour. Ce mécanisme de résistance par mutation de cible confère de la résistance à toute la famille des pyréthrinoïde (hors pyréthrinoïdes particuliers) mais n'a généralement pas d'incidences sur les autres familles chimiques. L'alternance est donc une stratégie possible pour faire face aux populations d'insectes résistants. En revanche, la résistance métabolique est plus difficile à gérer dans la mesure où elle s'accompagne souvent de phénomènes de résistance croisée vis-à-vis d'autres familles chimiques.

Les données disponibles aujourd'hui sont encore insuffisantes pour déterminer précisément le lien entre la perte d'efficacité des pyréthrinoïdes observée au champ et les mesures réalisées en laboratoire : en effet, dans les essais d'efficacité de produits insecticides menés en parcelles agricoles par Terres Inovia depuis 2014 (15 essais), l'efficacité moyenne de la référence pyréthrinoïde (deltaméthrine) appliquée en novembre sur grosse altises présente une grande variabilité selon les essais (de 0 à 75% de réduction du nombre de larves par plante en sortie hiver par rapport au témoin non traité), avec une moyenne à 41%. Toutefois, il n'a pas été possible de réaliser des tests biologiques sur ces populations (difficulté de récupérer des grands effectifs), et donc nous ne pouvons à ce jour déterminer si cette variabilité d'efficacité est liée à la résistance intrinsèque des insectes (par mutation ou par voie métabolique) ou à d'autres facteurs tels que le positionnement du traitement, ses conditions d'applications, ou l'activité et l'état physiologique des insectes. Cependant, bien que les données d'essais restent insuffisantes, les populations d'altises d'hiver situées au cœur de la zone super kdr (Yonne) sont aujourd'hui extrêmement difficile à gérer : le niveau d'attaque est très important et les traitements ne suffisent pas à limiter les dégâts. Les retours alarmés des agriculteurs et techniciens locaux concordent avec les résultats obtenus en laboratoire et semblent confirmer que le niveau de résistance dans ce secteur est très élevé.

L'effort d'échantillonnage doit donc être maintenu afin de suivre l'évolution des niveaux de résistances et renforcer la compréhension des mécanismes impliqués. La difficulté de piéger des adultes vivants en grand nombre reste un frein dans ces opérations de monitoring. Des travaux vont être menés pour mettre au point des méthodes de tests efficientes sur larves, ce qui permettrait de multiplier les références. Le secteur de l'Yonne est surveillé de près afin de suivre l'évolution de la zone où des résistances fortes de populations d'altises d'hiver sont observées en pratique.

La connaissance des niveaux de résistance mais également des mécanismes impliqués est nécessaire afin de conseiller au mieux les producteurs. Des traitements inutiles peuvent ainsi être évités dans des secteurs où les pyréthrinoïdes sont inefficaces. Dans les zones où les résistances, en particulier par mutation, ne sont pas installées dans les populations, la diminution des traitements par la famille chimique concernée, peut permettre de ralentir l'évolution du phénomène afin de conserver une efficacité des produits le plus longtemps possible. Enfin, la connaissance des mécanismes impliqués devrait permettre en théorie de raisonner les interventions, notamment en terme d'alternance de produits. Cependant, la difficulté rencontrée aujourd'hui pour gérer ces résistances est le faible nombre d'alternatives disponibles. Seuls les organophosphorés (seuls ou en association avec des pyréthrinoïdes) à court terme seront utilisables en remplacement des pyréthrinoïdes sur ces deux espèces et aucun produit de biocontrôle testé n'est suffisamment efficace. Dans ce contexte, Terres Inovia poursuit ses efforts afin d'étudier et de promouvoir les leviers agronomiques (date de semis, fertilisation, colza associé avec des légumineuses...) qui permettent de réduire la nuisibilité des attaques de ces insectes d'automne ainsi que les leviers favorables à la régulation naturelle. L'ensemble de ces leviers constituent un complément indispensable à la lutte chimique.

## REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à l'AFPP, l'IRAC, l'INRA Avignon – département santé des plantes et environnement pour l'appui méthodologique, aux co-financeurs avec Terres Inovia et aux collecteurs (RSBT, Chambres d'agricultures, coopératives, SRAL, GEDA, négocies, firmes phytosanitaires, enseignement agricole, Laboratoire d'EcoEntomologie, collaborateurs de TI ...); aux agriculteurs ayant mis à disposition leurs parcelles.

## BIBLIOGRAPHIE

- Agreste, 2014. Indicateurs de fréquence des traitements (IFT) grandes cultures en 2014. Available at: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/enquetes/pratiques-culturales/grandes-cultures-prairies/>.
- Ballanger, Y., 1999. Evolution in the difficulties related to aphids in winter oilseed rape crops in France. In *GCIRC-10th International Rapeseed Congress*. p. 10p.
- Ballanger, Y. & Detourne, D., 2011. Résistance des méligrèthes du colza (*Meligethes aeneus* F.) aux pyréthrinoïdes de synthèse : bilan de 12 années d'enquête. In *AFPP – 9ème conférence internationale sur les ravageurs en agriculture montpellier*. Montpellier, France.
- Delye, C. et al., 2009. Variation in the gene encoding acetolactate-synthase in *Lolium* species and proactive detection of mutant, herbicide-resistant alleles. *Weed Research*, 49, pp.326–336.
- Heimbach, U. & Brandes, M., 2016. Pyrethroid resistance of insect pest in oilseed rape in Germany since 2005. In *Integrated Control in Oilseed Crops IOBC-WPRS Bulletin*. pp. 17–22.
- Højland, D.H. et al., 2015. Incidence , Spread and Mechanisms of Pyrethroid Resistance in European Populations of the Cabbage Stem Flea Beetle , *Psylliodes chrysocephala* L . ( Coleoptera : Chrysomelidae ). *PLOS ONE*, pp.1–11.
- Liu, N., 2012. Pyrethroid Resistance in Insects : Genes , Mechanisms , and Regulation. In F. Perveen, ed. *Insecticides - Advances in Integrated Pest Management*. pp. 457–468. Available at: <https://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/pyrethroid-resistance-in-insects-genes-mechanisms-and-regulation>.
- R4P et al., 2016. Trends and Challenges in Pesticide Resistance Detection. *Trends in plant Science*.
- Rinkevich, F.D., Du, Y. & Dong, K., 2013. Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pesticide biochemistry and physiology*, 106, pp.93–100.
- Zimmer, C.T. et al., 2014. Target-site resistance to pyrethroid insecticides in German populations of the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, 108, pp.1–7.