



dossier

Carpocapse des pommes cas de résistance au virus de la granulose en vergers biologiques

Devant des cas de résistance dans des vergers du Sud-Est, il est fortement recommandé de diversifier les moyens de lutte

Benoît Sauphanor*, Marie Berling*, Jean-François Toubon*, Maritza Reyes*, Julien Delnatte* et Philippe Allemoz**

On le sait, le carpocapse des pommes et des poires *Cydia pomonella* montre une fâcheuse tendance à résister aux insecticides chimiques.

Mais qu'en est-il du virus de la granulose, bio-insecticide autorisé depuis près de 15 ans en France ? Il en est qu'aujourd'hui, on commence à voir des individus résistants. Nous allons montrer ici que cette résistance est avérée mais qu'elle ne touche aujourd'hui que des vergers traités quasi exclusivement et de nombreuses fois par an avec ce produit par certains arboriculteurs en agriculture biologique (AB). Et nous verrons, concrètement, ce qu'il faut faire face à elle. Avec déjà un maître mot, celui de diversification.

Dégâts dus au carpocapse : les pommes infestées sont perdues pour le producteur. Il s'agit d'un des « quelques cas d'échecs de protection avec le CpGV » évoqués dans cet article.



ph. Sauphanor

Insecticides microbiologiques et résistance

Ce mode d'utilisation entraîne une sélection continue pouvant aboutir au développement de résistances, déjà largement répandues vis-à-vis d'un autre agent de lutte micro-biologique, *Bacillus thuringiensis*. Le potentiel d'acquisition de résistance des insectes aux virus entomopathogènes a par ailleurs été démontré par sélection en conditions de laboratoire (Briese et Mende, 1983). Enfin des cas de perte de sensibilité du carpocapse des pommes au CpGV ont récemment été observés en Allemagne (Fritsch *et al.*, 2005).

Bien que les défauts d'efficacité des mesures de protection résultent bien souvent de mauvaises conditions de mise en œuvre (réglage des pulvérisateurs, conditions de stockage des produits, compatibilité des associations), les quelques cas d'échec de protection avec le CpGV relatés dans le Sud de la France pourraient être liés à une perte de sensibilité des populations. Une rencontre internationale organisée par la société Arysta LifeScience au printemps 2005 a confirmé la nécessité d'approfondir cette question. Des tests de laboratoire ont été entrepris sur différentes populations collectées à l'automne 2004, puis pendant la campagne 2005 en se focalisant sur les exploitations en agriculture biologique du sud-est de la France.

Par leur absence d'effet néfaste sur l'environnement et sur les facteurs naturels de régulation des insectes phytophages, les insecticides microbiologiques constituent une alternative intéressante aux insecticides chimiques.

Le virus de la granulose du carpocapse, ou *Cydia pomonella Granulosis Virus* (CpGV), fut découvert il y a une quarantaine d'années (Tanada, 1964). Une formulation commerciale, la *Carpovirusine*, est homologuée en France depuis 1991 et aujourd'hui appliquée sur près de 30 000 ha développés du verger de pommiers-poiriers national. Son efficacité sur le carpocapse en fait un outil approprié dans la maîtrise des populations et la gestion des résistances aux insecticides chimiques.

Avec la confusion sexuelle, homologuée en France en 2000, le CpGV constitue le principal moyen de lutte contre le carpocapse en agriculture biologique (AB). Cet insecticide microbiologique a pour cela longtemps fait l'objet d'une utilisation quasi-exclusive dans les vergers en AB, et est aujourd'hui fréquemment appliqué sur l'ensemble de la période de risque.

* PSH - Équipe Écologie de la production intégrée. Domaine Saint-Paul, Site Agroparc. 84914 - Avignon Cedex 9. mail : sauphanor@avignon.inra.fr

** Arysta LifeScience. Route d'Artix. 64150 Noguères.

Tests de sensibilité au virus de la granulose

Le matériel biologique est constitué de souches carpocapse de laboratoire, sensible et résistantes aux insecticides chimiques, de larves diapauses prélevées à l'automne 2004 dans une zone à populations résistantes aux insecticides chimiques, et de larves collectées dans les fruits pendant la campagne 2005 dans des vergers en agriculture biologique (AB). Le produit utilisé est la *Carpovirusine 2000* à 10^{13} GV/l fournie par NPP (Natural Plant Protection, filiale d'Arysta LifeScience), dilué à l'eau distillée.

Des tests préliminaires indiquent que la sensibilité ne peut être évaluée directement sur larves diapauses, y compris par injection directe de la solution virale dans le tube digestif. L'ensemble des tests est donc réalisé sur larves néonates (L1) issues de la reproduction en laboratoire des insectes collectés sur le terrain. Les adultes obtenus au printemps 2005 à partir des larves diapauses sont introduits dès l'émergence dans des manchons en tulle pourvus d'une alimentation en eau sucrée et de supports de ponte.

Pour la génération de printemps, on pallie le faible échantillon disponible et la faible fécondité en laboratoire des populations naturelles en accouplant individuellement des adultes de ces populations avec des adultes de la souche sensible de laboratoire (Sauphanor *et al.*, 2000). En cas de résistance dominante, la descendance d'un individu résistant d'une population de terrain croisé avec un individu sensible survivra à la dose de diagnostic de l'insecticide. Ce test sur descendance individuelles permet en outre d'estimer le taux de parents résistants dans la population et de détecter des résistances en cours d'installation, voire d'obtenir des indications sur la structure génétique de la population vis-à-vis de la résistance (le parent est homozygote résistant si les descendants survivent majoritairement à la dose de diagnostic, hétérozygote s'ils survivent partiellement).

Une nouvelle méthodologie de tests de laboratoire est mise au point pour cette analyse. La solution insecticide est appliquée à l'aide d'une micro-pipette à la surface du milieu artificiel, contenu dans une plaque de microtitration de 96 puits, à raison de 150 µl de milieu et 6 µl de solution par puits. Une larve néonate âgée de 0-12 h est déposée dans chaque puits à la surface du milieu traité à l'aide d'un pinceau. Les puits sont fermés au moyen de parafilm, et les tests incubés à 23 °C pendant 7 jours.

L'étalonnage sur souche sensible permet d'établir une relation concentration-réponse, calculer la CL₅₀, et établir une concentration de diagnostic létale pour 98 % des individus sensibles. Selon l'échantillon disponible, les populations naturelles sont soumises à la concentration de diagnostic ou à une gamme de concentrations pour définir la CL₅₀ et d'établir une concentration de diagnostic.

Tableau 1 - Sensibilités à la *Carpovirusine* et à l'azinphos méthyl, et activité monooxygénase (mfo) de larves néonates (L1) de carpocapse issues de la reproduction de populations naturelles collectées à l'automne 2004 sous forme de larves diapauses.

Population (département)	Antécédent de protection	n	Mortalité à la concentration de diagnostic		Activité mfo rapport/souche S
			granulovirus	azinphos	
Sensible labo	-	208	97,8	97,0	1
St Andiol (13)	CpGV	106	13,8	72,4	3,7
Arles (13)	confusion	52	92,0		
Bonpas (13)	chimique	38	96,8	0,0	12,3
Cavaillon V (84)	chimique	72	90,1	12,5	6,0
Cavaillon J (84)	chimique	76	91,8	14,3	8,4
Caumont T (84)	chimique	38	94,7	1,0	8,6
Caumont G (84)	chimique	70	100		
La Morinière (49)	CpGV	46	85,1		

Virus et insecticides chimiques : pas de résistance croisée

L'exposition de néonates de la souche sensible de laboratoire à des concentrations croissantes de CpGV indique une CL₅₀ de 47,2 GV/µl de solution (intervalle de confiance à 95 % compris entre 35,6 et 61,1 GV/µl). La relation dose réponse indique une mortalité proche de 98 % à la concentration retenue comme concentration de diagnostic de 2 500 GV/µl (Tableau 1).

Les premières analyses effectuées sur des souches de laboratoire sélectionnées pour la résistance aux insecticides chimiques et dotées de mécanismes de détoxification accrus (monooxygénases, glutathion-S transférase) ou de mutations de cibles moléculaires spécifiques de certaines familles d'insecticides indiquent l'absence de relation entre la résistance à ces insecticides et la sensibilité au virus de la granulose.

Ce résultat confirme les premières expérimentations réalisées précédemment par Biache *et al.* (1997).

Pour une majorité de populations collectées à l'automne 2004 dans la région d'Avignon, la mortalité des larves néonates soumises à la concentration de diagnostic est toujours supérieure à 90 % (Tableau 1). Une population en provenance du Val-de-Loire, avec un fort antécédent de traitement au CpGV, exprime toutefois une mortalité de 85 %, significativement inférieure à celle de la souche de laboratoire. L'analyse parallèle de la sensibilité de ces populations à l'insecticide chimique azinphos-méthyl (Tableau 1) réalisée par application topique d'une concentration de diagnostic sur les larves diapauses, indique comme précédemment que la sensibilité au CpGV n'est pas corrélée avec la sensibilité à cet insecticide, ni avec l'activité des monooxygénases qui constituent le principal système enzymatique de détoxification rencontré dans les populations françaises de carpocapse.

Pièges à phéromones

Cultures fruitières :
capsule COMBO® pour
vergers confusés,
bande-piège,
piège croisé...

Détection
et surveillance



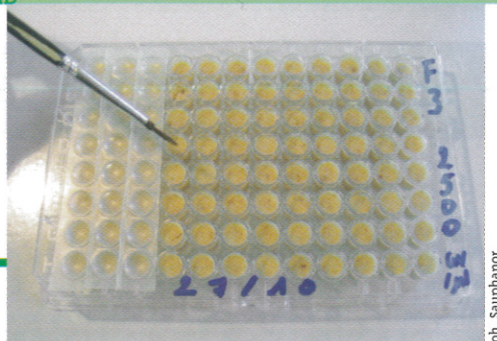
BIOSYSTÈMES FRANCE
S.A.R.L.

Parc d'Activités des Bellevues
B.P. 227 - Eragny
95614 CERGY-PONTOISE CEDEX FRANCE

Téléphone : 01.34.48.99.26
Télécopie : 01.34.48.99.27
www.biosystemesfrance.com

® Marque Déposée Trécé inc.

Dispositif du test de sensibilité au CpGV : elle est évaluée en exposant des larves néonates de carpocapse au milieu artificiel contenu dans des puits de microplaques et préalablement traité avec la solution virale.



ph. Sauphanor

Des résistances au virus dans des vergers en agriculture biologique

Le fort effectif de larves diapauses collectées sur la parcelle Saint-Andiol permet d'obtenir une descendance suffisante pour établir une relation dose-réponse pour les néonates de cette population.

La CL₅₀ s'établit alors à 6,08 x 10⁵ GV/μl, soit une sensibilité 13 000 fois moindre que celle de la souche de référence de laboratoire (Figure 1).

À la concentration de diagnostic, la mortalité est de 13,8 %. Mais la non linéarité de la relation concentration-mortalité indique la présence d'individus sensibles dans cette population, et que la mortalité des individus homozygotes résistants à 2 500 GV/μl est très certainement inférieure à la valeur observée. Cette parcelle en AB, protégée avec le CpGV depuis une quinzaine d'années (10 à 15 appli-

cations par an), subissait depuis 2003 une infestation par le carpocapse supérieure à 50 % malgré le recours simultané à la confusion sexuelle. Chez cette population, l'activité mfo et la survie à l'azinphos (Tableau 1) sont sensiblement plus élevées que celles attendues pour une population sensible.

Un échange de populations avec les parcelles des exploitations voisines, en protection chimique, est donc très probable. Mais l'abandon sur cette parcelle de la mention AB et le recours à une protection chimique se traduisent en 2005 par l'absence d'infestation à la récolte.

Au cours de la campagne 2005, le prélèvement de fruits infestés dans des parcelles en AB des environs d'Avignon, et ponctuellement de Valence et Barillonnette, permet une analyse complémentaire sur une quinzaine de populations. Sur 6 de ces parcelles, l'efficacité de la protection ne permet pas l'obtention d'adultes à partir de larves collectées dans les fruits.

Figure 1 - Sensibilité au CpGV d'une souche de laboratoire (Sensible) et d'une population d'un verger en AB (Saint-Andiol)

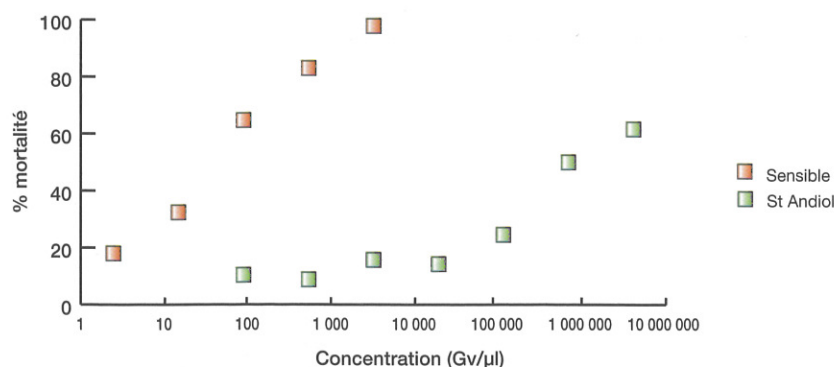


Tableau 2 - Sensibilité à la Carpovirusine de larves néonates (L1) issues de croisements individuels entre carpocapses sensibles et carpocapses de populations naturelles collectés pendant la première génération 2005 sur des parcelles en agriculture biologique. Le taux d'adultes résistants correspond aux taux d'adultes dont la descendance hybride L1 survit significativement plus à la concentration de diagnostic que la souche sensible.

Population (département)	Nb individus testés Adultes / L1	Mortalité moyenne des larves à la concentration de diagnostic (%)	Taux d'adultes résistants
Saint-Rémy (13)	2/111	83,4	50
Molleges M (13)	11/485	43,5	100
Molleges G (13)	4/130	40,2	100
Molleges C (13)	14/551	40,4	93
Molleges R (13)	1/71	92,5	0
Maillane (13)	2/76	97,1	0
Graveson (13)	1/66	96,7	0
Cheval Blanc (84)	8/260	62,0	100
Barillonnette (04)	3/103	83,9	33

Pour les 9 autres parcelles, l'exposition des descendance hybrides à la concentration de diagnostic du CpGV permet de caractériser la sensibilité des individus obtenus (Tableau 2).

La mortalité des descendants de certains individus sauvages n'excède pas 10 %, indiquant le caractère « héritable » de la résistance et sa forte dominance. Pour trois parcelles d'une exploitation en agriculture biologique de Mollèges et une parcelle de Cheval Blanc, la mortalité des descendants de plus de 90 % des adultes est significativement inférieure à la valeur de 98 % observée chez la souche sensible.

Deux autres individus résistants sont également détectés à Saint-Rémy et Barillonnette. Pour ces deux localités, outre la non représentativité des résultats, le faible effectif d'adultes disponibles traduit probablement une bonne efficacité du traitement *Carpovirusine* en verger. En incluant la parcelle de Saint-Andiol, 5 des 16 vergers en AB échantillonnés dans cette région hébergent donc des populations à sensibilité réduite au CpGV. Il s'agit dans chaque cas de populations ayant un historique de protection continue au CpGV depuis plus de 10 ans (depuis 20 ans pour une parcelle de Mollèges ayant servi de support à des essais mis en place par l'INRA dès 1985).

Préserver l'avenir

Son hérabilité assimile le phénomène observé à la définition OMS de la résistance. Comme pour les autres insecticides, elle résulte probablement d'une mutation pré-existante à très faible fréquence sélectionnée par une pression continue sur un grand nombre de générations. Le processus s'accélère ensuite à la faveur des migrations. Les principes généraux de la gestion des populations et des résistances doivent pour cela s'appliquer également au CpGV :

- alterner les produits entre générations. Ce principe doit s'étendre au CpGV pour éviter une sélection continue. Compte tenu de sa meilleure efficacité en G₁ (Arthurs et Lacey, 2004), on peut appliquer le virus sur l'ensemble de cette génération, seul ou en relais de la lutte chimique. Dans le cas d'une protection chimique en G₁, par exemple lorsque des inhibiteurs ou régulateurs de croissance d'insectes sont privilégiés pour leur action sur mineuses et tordeuses de la pelure, on peut choisir de n'appliquer le virus qu'en G₂ ;
- réduire le nombre de traitements, et donc la pression de sélection de la résistance, par raisonnement des interventions à l'échelle locale par les contrôles visuels et le piègeage sexuel. Les capsules mixtes *Combo* de la firme Trécé associant phéromone et ester de poire conservent un pouvoir attractif dans les parcelles en confusion. À l'échelle de la petite région, la modélisation du risque diffusée par les *Avertissements agricoles* doit également guider la stratégie ;
- substituer ou associer la confusion sexuelle à la protection insecticide en se plaçant en situation favorable à son efficacité. Notamment des actions collectives de quartier assurant la continuité des zones sous confu-

sion sont à même de limiter l'immigration de femelles fécondées ;
— étendre les mesures prophylactiques, par destruction des fruits infestés lors de l'éclaircissage manuel ainsi que des fonds de cueille, voire par pose systématique de bandes-pièges en cas de forte infestation.

Ces principes sont à appliquer avec une grande rigueur dans les vergers en AB. Les forts taux de résistance au CpGV dans les vergers conduits de longue date en AB témoignent en effet du risque que fait courir son utilisation continue sur la pérennité de ce moyen de lutte.

Malheureusement peu de spécialités (hormis les formulations de *Bacillus thuringiensis*) peuvent entrer dans l'alternance. De nouveaux insecticides déjà homologués en Europe (*Spinosad*), ou des voies complémentaires de protection développées à l'étranger comme le kaolin (Unruh *et al.*, 2000 ; Sackett *et al.*, 2005) ou les huiles minérales (Fernandez *et al.*, 2005) seraient mobilisables à court terme après définition de leurs conditions d'application. Contrairement aux insecticides chimiques, les virus ont par ailleurs la faculté d'évoluer au même titre que leur hôte, et des travaux sont entrepris pour identifier des souches de CpGV virulentes sur les populations résistantes de carpocapse.

Remerciements. Nous remercions la société Arysta LifeScience et sa filiale NPP (Natural Plant Protection) pour son appui financier, ainsi que

les conseillers du réseau PFI-Provence-Alpes-Côte-d'Azur et les producteurs qui ont grandement facilité la collecte des échantillons analysés dans cette étude.

La bibliographie de cet article est disponible auprès de ses auteurs.

Résumé

Le virus de la granulose du carpocapse des pommes (CpGV) est un moyen de lutte efficace et sélectif contre cette espèce, permettant à ce titre de réduire l'impact environnemental de la protection du verger. Cet insecticide microbiologique est parfois utilisé de façon quasi-exclusive dans les vergers en agriculture biologique (AB), et des échecs de protection enregistrés ces dernières années dans le sud de la France faisaient craindre l'apparition de carpocapses résistants au CpGV. Des analyses de laboratoire conduites sur échantillons prélevés dans une vingtaine de localités confirment la perte de sensibilité au virus de populations soumises à une sélection continue depuis plus de dix ans.

Bien que ce phénomène semble très localisé, il convient de prendre rapidement des mesures pour prévenir son extension. La

première d'entre elles consiste à n'exposer qu'une génération annuelle de carpocapse à la sélection par le CpGV, dans une stratégie globale de gestion des résistances aux insecticides chimiques et microbiologiques.

Summary

CASES OF RESISTANCE TO GRANULOSIS VIRUS IN THE CODLING MOTH

The *Cydia pomonella granulosis virus* (CpGV) is a highly effective and selective tool allowing harmless control of codling moth. However cases of control failure with CpGV were recently observed in a few organic apple orchards of Southern France. Laboratory analysis conducted on samples collected in 20 locations revealed a complete loss of susceptibility in some populations exposed to continuous protection with CpGV for more than 10 years. The resistance seems highly dominant and not related to resistance to chemical insecticides. This phenomenon is still confined, but resistance management measures on the same basis as for chemical insecticides must be undertaken to prevent its extension.



Votre allié naturel contre le Carpocapse en protection fruitière intégrée.

- Efficacité directe et différée
- Équilibre naturel du verger préservé

Carpovirusine 2000®, la protection directe et différée de vos vergers.

Le virus de la granulose contenu dans Carpovirusine 2000® se transmet de génération en génération aux larves de carpocapse entraînant à terme une réduction des populations du ravageur. Carpovirusine 2000® s'intègre parfaitement dans les différents programmes de protection en Production Fruitière Intégrée (P.F.I.). Grâce à sa spécificité d'action, il est respectueux de la faune auxiliaire et des abeilles.

Tél. : 33 (0) 5 59 60 92 92
www.arysta-eame.com



Arysta LifeScience

Harmonie & Croissance

PRODUIT POUR LES PROFESSIONNELS : RESPECTER LES CONDITIONS D'EMPLOI