

Bilan : Plan de surveillance 2018

Myzus persicae / Betterave / carbamates

Objectif : recherche première résistance

Rédacteurs : Séverine Fontaine, Laëticia Caddoux, Benoît Barrès

Résumé :

Cette étude visait à rechercher des résistances aux insecticides de la famille des carbamates, dans des populations de puceron vert du pêcher, *Myzus persicae*, présentes dans des cultures de betteraves. Une mutation, nommée Mace, a déjà été décrite chez cette espèce ; elle affecte le codon 431 du gène de l'acétylcholinestérase 2, la cible des carbamates. L'objectif principal était d'estimer, à l'aide d'outils de biologie moléculaire, la fréquence de cette mutation impliquée dans une résistance aux carbamates, dans les populations étudiées. Seules deux populations de *M. persicae* ont été analysées. Elles provenaient des Hauts de France. Seuls 7 individus ont pu être analysés par population. Pour un prélèvement, la quasi-totalité (6) des individus testés ne possédaient pas la mutation et ne sont donc pas porteur d'une résistance de cible aux carbamates. Pour l'autre prélèvement, plus de la moitié des individus testés ont été en échec. Les 3 autres individus sont porteurs de la mutation à l'état hétérozygote.

Mots clés : *Myzus persicae*, betterave, résistance, carbamates.

Contexte

Cette surveillance de la résistance aux carbamates dans les populations de *M. persicae*, le puceron vert du pêcher, vivant sur betterave est un thème du plan de surveillance initié en 2018 à la demande de la filière. Suite au retrait de l'autorisation des néonicotinoïdes, la lutte chimique contre ce ravageur repose désormais uniquement sur l'utilisation de produits phytosanitaires à base de substance active de la famille des pyréthriinoïdes couplé ou non à la famille des carbamates.

M. persicae est une espèce extrêmement polyphage, ravageur de nombreuses cultures annuelles (colza, betterave, tabac...) et pérennes (pêchers, pruniers etc..). Il est responsable de dégâts directs, par ses piqûres, et indirects, par la transmission de viroses. Cette espèce est connue pour avoir développée des résistances à de nombreux insecticides (organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes, néonicotinoïdes) *via* des mécanismes de résistances de types métaboliques et / ou liés à une modification de la cible. L'existence de résistance aux carbamates impliquant une modification de la cible est déjà bien documentée dans les populations françaises de *M. persicae* collectées sur colza et pêcher (Fontaine *et al.*, 2011)

La mutation recherchée affecte le codon 431 du gène de l'acétylcholinestérase 2, la cible des carbamates, où une sérine est substituée par une phénylalanine. La mutation est dominante (un puceron hétérozygote est résistant). Elle entraîne une perte de l'affinité entre la substance active et l'acétylcholinestérase. et est responsable d'un niveau élevé de résistance aux carbamates. Jusqu'en 2018, la lutte contre ce ravageur dans les cultures de betteraves était facilitée par l'utilisation de semences enrobées avec des substances actives de la famille des néonicotinoïdes. Initiée une surveillance de la résistance aux carbamates impliquant les mutations de la cible déjà identifiées chez *M. persicae*, permet d'avoir une connaissance de l'occurrence de l'allèle de résistances dans les populations de *M. persicae* infestant les cultures de betteraves et d'initier un suivi de l'évolution de cet allèle dans un contexte où la pression de sélection avec les carbamates risque de s'accroître.

Matériels et Méthodes

1) Prélèvements

Les populations échantillonnées ont été prélevées dans des parcelles où il existait une pression de sélection aux substances actives de la famille des carbamates. Le nombre de prélèvements par région est précisé dans l'annexe 3 de l'instruction technique **DGAL/SDQSPV/2018-21**. Les prélèvements ont été réalisés selon les consignes de la fiche de prélèvement située en Annexe 1. Sur 20 prélèvements prévus, seuls deux prélèvements ont été reçus (Figure 1). Ils provenaient des Hauts de France (Annexe 2).

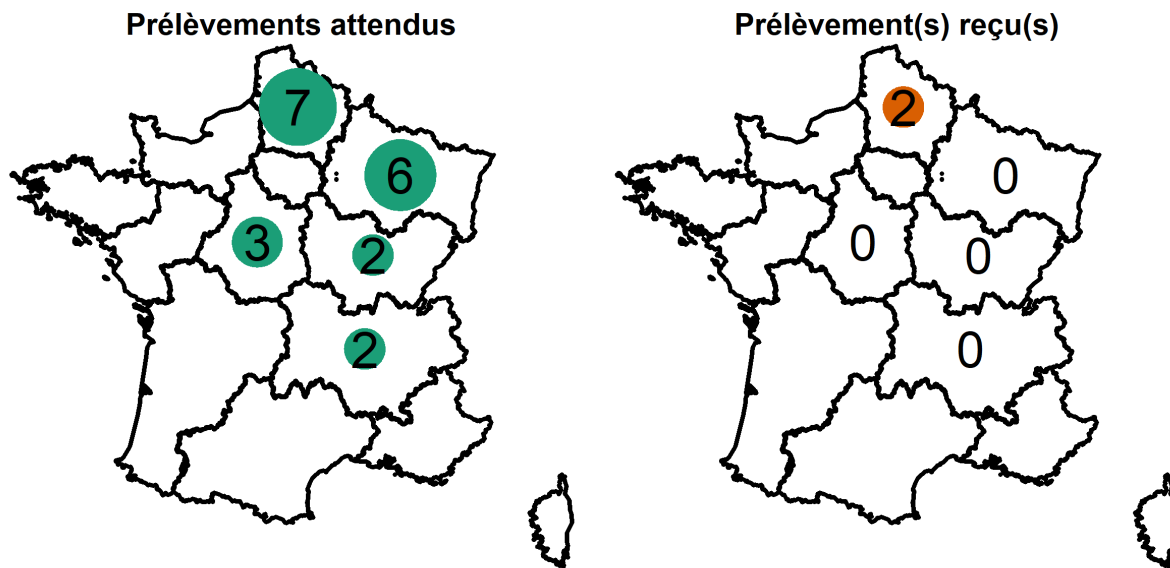


Figure 1 : Répartition des prélèvements prévus et reçus en fonction des régions pour le plan de surveillance 2018 sur la résistance vis-à-vis des carbamates de *M. persicae*.

2) Protocole de Test

Pour la résistance aux carbamates, la détection de cette résistance se fait par PCR-RFLP dCAPs afin de détecter la mutation Mace, responsable de la résistance aux carbamates, en position 431 de l'acétylcholinestérase 2. La méthode d'analyse nécessite l'extraction de l'ADN du puceron, suivi du PCR qui permet l'amplification d'un fragment de l'acétylcholinestérase 2 tel qu'il comprend le codon 431. Une digestion par un enzyme de restriction du fragment amplifié permet de la distinction entre une séquence d'ADN non muté, qui sera digéré (c'est-à-dire coupé), et muté, qui ne sera pas digéré (Figure 2).

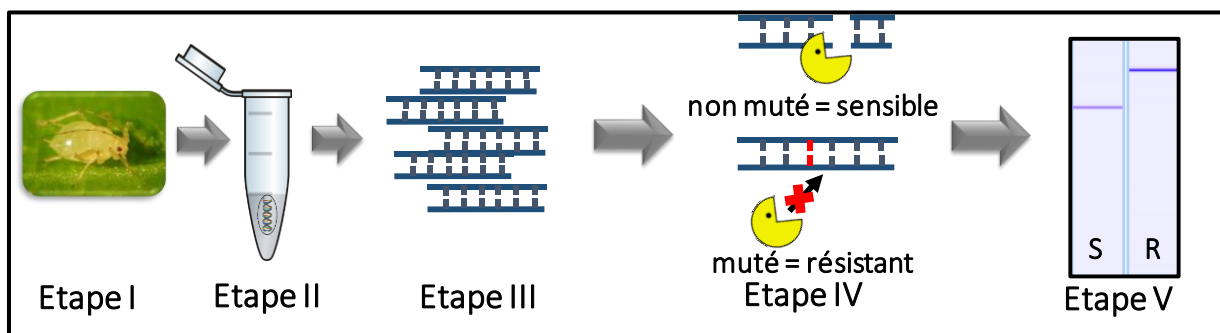


Figure 2 : Représentation des principales étapes pour rechercher une résistance aux carbamates liée à la modification de la cible de l'insecticide. Etape I : échantillonnage du puceron dans le prélèvement reçu- Etape II : extraction de l'ADN du puceron – Etape III :

amplification d'une portion du gène du canal sodium susceptible de contenir des mutations impliquées dans la résistance aux carbamates – Etape IV : digestion par une enzyme coupant les fragments sans mutation – Etape V : électrophorèse des fragments afin de différencier les individus sensibles (ADN digéré) des résistants (ADN non digéré).

Résultats et Interprétations

L'objectif était d'échantillonner 30 pucerons par prélèvement. En raison d'une très faible infestation, seuls 7 individus ont pu être échantillonnés et analysés sur chacun des prélèvements.

Tableau 1 : Résultats de séquençage pour les prélèvements reçus.

Référence échantillon Anses	Référence échantillon Expéditeur	Résultats				ECHEC
		Nombre d'individus analysés	Nombre d'individus homozygotes sensibles	Nombre d'individus hétérozygotes résistants	Nombre d'individus homozygotes résistants	
18-0197	18-62-01	7	0	3	0	4
18-0198	18-62-02	7	6	1	0	0

Pour la parcelle 18-0198, la quasi-totalité (6) des individus testés ne présente pas la mutation. Ils sont donc sensibles aux carbamates. Pour la parcelle 18-0197, plus de la moitié des individus testés est en échec. Les 3 autres individus présentent la mutation à l'état hétérozygote. Ils sont donc résistants aux carbamates.

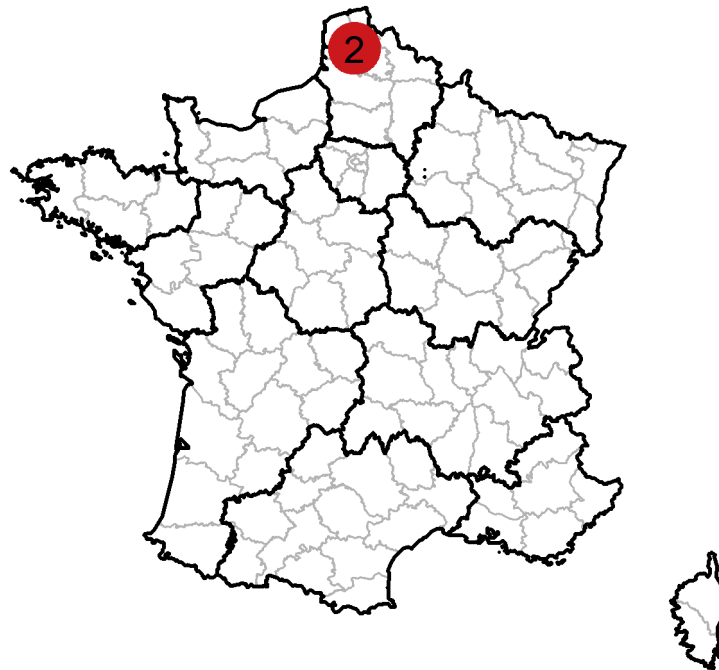


Figure 3 : Cartes des résultats de la recherche de mutation(s) liée(s) à la résistance aux carbamates chez *M. persicae*. La couleur bleue représente les prélèvements dans lesquels aucune résistance n’a été détectée. La couleur rouge représente les prélèvements dans lesquels une résistance a été détectée selon le protocole utilisé. L’aire des camemberts est proportionnelle au nombre de prélèvements reçus. Celui-ci est indiqué à l’intérieur de chaque camembert.

Conclusions

Ce suivi sur betterave était une nouvelle thématique inscrite au plan de surveillance sur demande de la filière suite au retrait de l’autorisation des néonicotinoïdes. Les autres années, la surveillance concernait les cultures colza et pêcher. Nous avons détecté dans une parcelle sur deux, la présence de la mutation responsable d’une résistance aux carbamates. Cette première surveillance bien que concernant un très faible nombre de prélèvements et un nombre limité d’individus dans une zone géographique restreinte, est inquiétante et indique que les allèles de résistance aux carbamates peuvent être présents dans les populations de *M. persicae* trouvés sur betterave.

Partenaires

Nous remercions Marc Delos, expert national grandes cultures, Jacques Grosman, expert national vigne et animateur du réseau des experts nationaux de la protection des végétaux ainsi que l'Institut Technique de la betterave du Nord Pas de Calais pour la réalisation et l'envoi des prélèvements du terrain.

Références

Fontaine S, Caddoux L, Brazier C, Mottet C, Bertho C, Bertolla P, et al., editors. Les résistances de cible aux carbamates et pyréthrinoïdes chez le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) sur colza état des lieux en 2009 et 2010. AAFP - 9ème Conférence Internationale sur les ravageurs en Agriculture ; 2011 26-27 octobre ; Montpellier, France.

Instruction technique **DGAL/SDQSPV/2018-21** :

<https://info.agriculture.gouv.fr/gedei/site/bo-agri/instruction-2018-21>

Date de validation / dernière édition : 05/06/2020

Annexe 1

Annexe 1 : Fiche de prélèvement

PROTOCOLE DE PRÉLÈVEMENT

Myzus persicae / Betterave / carbamates (pyrimicarbe)

Objet : Identifier, chez le puceron vert du pêcher, des phénomènes de résistances aux carbamates (pyrimicarbe...) par des méthodes de tests biomoléculaires.

Choix des parcelles : Les prélèvements sont à réaliser dans des parcelles où il existe une pression de sélection aux substances actives de la famille des carbamates. Le nombre de prélèvements par région est précisé dans l'annexe 3 de la Note de Service **DGAL/SDQSPV/2018-21**.

Période(s) de prélèvement : Le prélèvement peut intervenir du mois de mai au mois d'août selon les régions et l'infestation des cultures.

Collecte : Possibilité de prélever dans la même parcelle si plusieurs substances actives sont inscrites au plan de surveillance. Dans ce cas joindre autant de fiches de prélèvements que de substances actives à tester.

Un prélèvement est constitué comme suit :

- 40 à 50 feuilles de betterave porteuses de *M. persicae* provenant de 40 à 50 plants différents répartis sur la parcelle
- Ne pas prélever de feuilles humides

Conditionnement :

- Empiler les feuilles à plat les unes sur les autres en intercalant régulièrement du papier absorbant.
- Envelopper le tout dans du papier absorbant et placer le prélèvement dans un sachet plastique fermé bien hermétiquement (type zip)
- Regrouper ensemble les sachets contenant les feuilles d'une même parcelle dans un carton rigide
- Conserver les sachets dans une glacière puis au réfrigérateur jusqu'à l'envoi

Expédition :

- Compléter la fiche pour chaque prélèvement de manière exhaustive
- Joindre cette fiche au prélèvement
- Envoyer par Chronopost les échantillons le plus rapidement possible après le prélèvement, **en début de semaine** (du lundi au mercredi)
- Prévenir le laboratoire par courriel juste avant l'envoi (severine.fontaine@anses.fr et laetitia.caddoux@anses.fr)

ANSES LYON - Unité Résistance aux Produits Phytosanitaires

Secteur Biologie Moléculaire

31 avenue Tony Garnier – 69364 LYON Cedex 07

Tél : 04.78.72.65.43 (standard) – 04.78.69.68.37 (ligne directe)

Fax : 04.78.61.91.45

Annexe 2 :

Liste et caractéristiques des prélèvements reçus

Référence Prélèvement Anses	Référence expéditeur	Date prélèvement	Commune prélèvement	Région
18-0198	18-62-02	26-juin-18	VIMY	Hauts-de-France
18-0197	18-62-01	26-juin-18	VIMY	Hauts-de-France