

Bilan : Plan de surveillance 2018

Myzus persicae / Betterave / pyréthriinoïdes

Objectif : recherche première résistance

Rédacteurs : Séverine Fontaine, Laetitia Caddoux

Résumé :

Cette étude visait à rechercher des résistances aux insecticides de la famille des pyréthriinoïdes, dans des populations de puceron vert du pêcher, *Myzus persicae*, présentes dans des cultures de betteraves. Les mécanismes de résistance recherchés impliquent des mutations affectant la cible des pyréthriinoïdes, le gène du canal sodium. Des mutations ont déjà été décrites chez cette espèce pour les codons 918 et 1014 du canal sodium, et sont nommées respectivement skdr et kdr. L'objectif principal était d'estimer, à l'aide d'outils de biologie moléculaire, la fréquence dans les populations étudiées de chacune des mutations impliquées dans une résistance de cible aux pyréthriinoïdes. Seules deux populations de *M. persicae* ont été analysées. Elles provenaient des Hauts de France. Seuls 7 individus ont été reçus et analysés par population. La majorité des individus testés présentent une mutation impliquée dans la résistance aux pyréthriinoïdes (kdr ou skdr). Ils sont donc résistants aux pyréthriinoïdes. Un seul des pucerons analysés ne présentait aucune des deux mutations (kdr ou skdr).

Mots clés : *Myzus persicae*, betterave, résistances, pyréthriinoïdes.

Contexte

Cette surveillance de la résistance aux pyréthriinoïdes 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. En effet, avec le retrait 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. La pression de sélection exercée par les pyréthriinoïdes est donc accrue. *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 pyréthriinoïdes 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 ; Fontaine *et al.*, 2013). Dans ces cultures, la résistance aux pyréthriinoïdes implique des mutations affectant les codons 918 et 1014 du canal sodium, la cible des pyréthriinoïdes. La mutation affectant le codon 1014 est responsable de la substitution de leucine par une phénylalanine (L1014F). Plusieurs substitutions possibles ont été identifiées pour le codon 918, associées ou non à la mutation L1014F, par souci de simplification les mutations affectant les codons 1014 et 918 sont nommées, respectivement, *kdr* (knockdown resistance) et *skdr* (Super-*kdr*). Quels que soient le codon et la substitution, les mutations sont dominantes (c-a-d un puceron hétérozygote est résistant) et elles sont toutes responsables d'un niveau élevé de résistance aux pyréthriinoïdes. 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 pyréthriinoïdes impliquant les mutations de la cible déjà identifiées chez *M. persicae*, permet d'avoir une première idée de l'occurrence des différents allèles de résistances dans les populations de *M. persicae* infestant les cultures de betteraves et d'initier un suivi de l'évolution de ces allèles dans un contexte où la pression de sélection avec les pyréthriinoïdes risque de s'accroître.

Matériels et Méthodes

1) Prélèvements

Les populations échantillonnées ont été prélevées dans des parcelles où il existe une pression de sélection aux substances actives de la famille des pyréthriinoïdes. 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. Ils provenaient des Hauts de France (Figure 1).

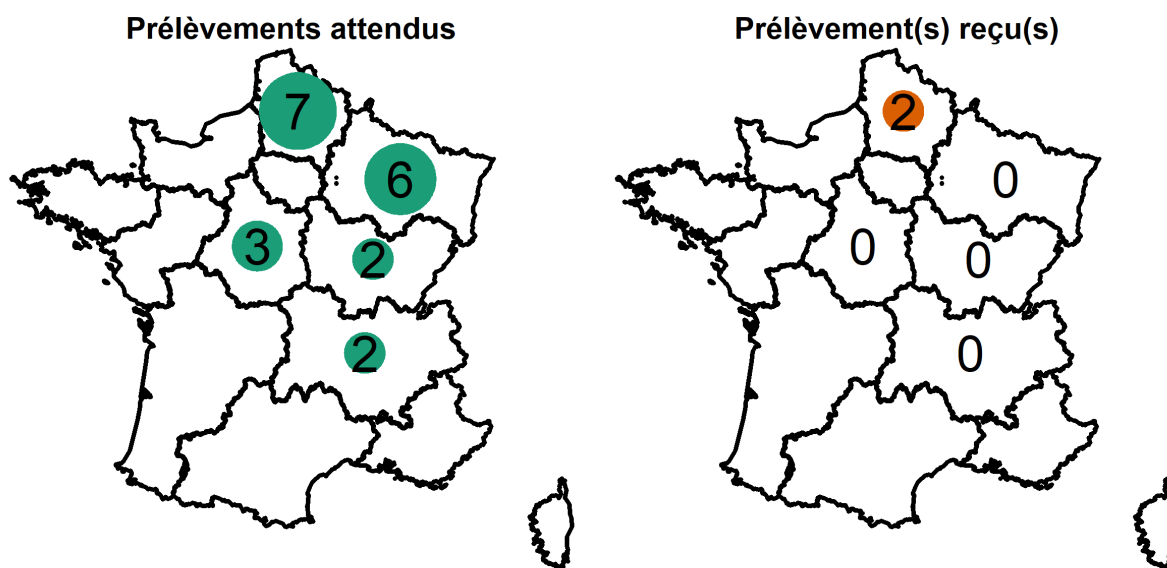


Figure 1 : Répartition par région des prélèvements prévus et reçus

2) Protocole de test

Pour cette résistance aux pyréthrinoïdes, les mutations affectant les codons 1014 (*kdr*) et 918 (*skdr*) du gène codant pour le canal sodium ont été recherchées par séquençage Sanger. Le séquençage nécessite l'extraction de l'ADN du puceron, suivi du PCR qui permet l'amplification d'un fragment du gène du canal sodium tel qu'il comprenne les deux sites d'intérêts (codon 918 et 1014). Le séquençage permet de génotyper les deux codons connus pour être impliqués dans une résistance aux pyréthrinoïdes et de déterminer si le puceron est homozygote ou hétérozygote pour les codons considérés (Figure 2).

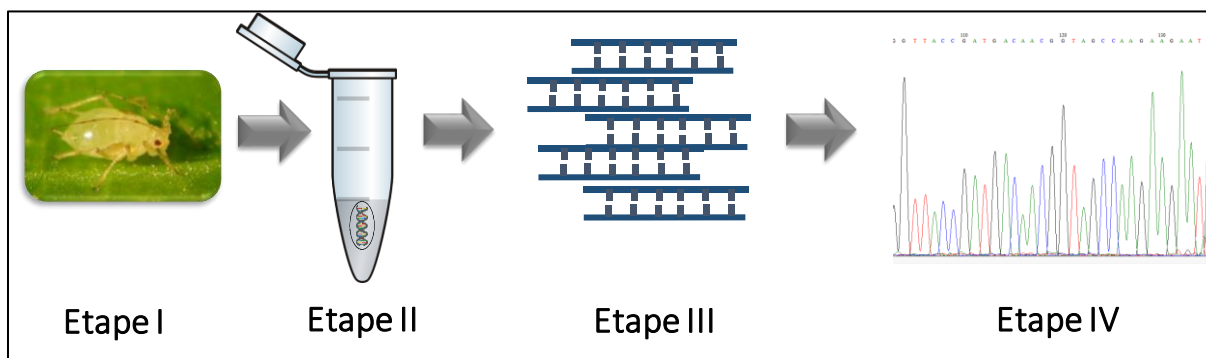


Figure 2 : Représentation des principales étapes pour rechercher une résistance aux pyréthrinoïdes liée à la modification de la cible de l'insecticide. Etape I : échantillonnage du puceron dans le prélèvement reçu- Etape II : Extraction de l'ADN du puceron – Etape III :

Amplification d'une portion du gène du canal sodium susceptible de contenir des mutations impliquées dans la résistance aux pyréthriinoïdes – Etape IV : séquençage de l'ADN et recherche des mutations par comparaison une séquence de référence.

Résultats et Interprétations

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

En raison d'une très faible infestation des prélèvements reçus et de leurs états à l'arrivée au laboratoire, seuls 7 individus ont pu être échantillonnés et analysés sur chacun des prélèvements. La quasi-totalité (13) des individus testés présentent la mutation kdr ou skdr à l'état hétérozygote. Ils sont donc résistants aux pyréthriinoïdes. Seule la parcelle 18-0198 présente un individu sans mutation kdr ou skdr, donc sensible (Tableau 1).

Tableau 1 : Résultats de séquençage pour les prélèvements reçus.

Référence échantillon Anses	Nombre d'individus analysés	Résultats		
		Nombre d'individus sensibles (absence de la mutation kdr ou skdr)	Nombre d'individus résistants aux pyréthriinoïdes (présence de la mutation kdr ou skdr)	Echec
18-0197	7	0	3	4
18-0198	7	1	6	0

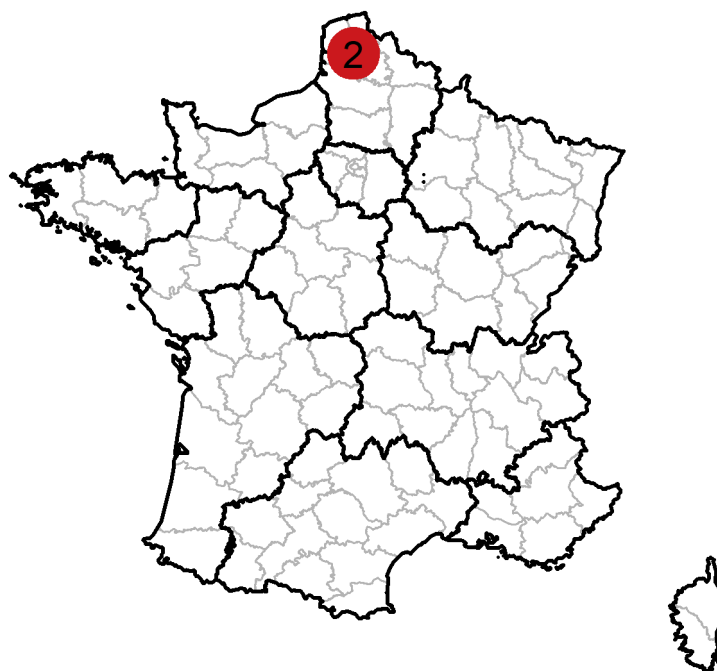


Figure 3 : Cartes des résultats de la recherche de mutation(s) liée(s) à la résistance aux pyréthrinoïdes chez *M. persicae*. La couleur bleue représente les prélèvements dans lesquels aucune résistance n'a été détectée. La couleur rouge représente les prélèvements dans lesquels une résistance a été 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 populations de *M. persicae* en cultures de colza et de pêcher. Nous avons détecté dans la majorité des pucerons la présence d'au moins une mutation responsable d'une résistance aux pyréthrinoïdes. Ce premier résultat, bien que concernant un très faible nombre de prélèvements et d'individus dans une zone géographique restreinte, est inquiétant et indique que les allèles de résistance aux pyréthrinoïdes sont bien présents dans certaines 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.

Référence(s)

Fontaine S, Caddoux L, Brazier C, Bertho C, Bertolla P, Micoud A, et al. Uncommon associations in target resistance among French populations of *Myzus persicae* from oilseed rape crops. Pest Management Science. 2011;67(8):881-5.

Fontaine S, Caddoux L. Résistance du puceron vert de pêcher (*Myzus persicae*) vis-à-vis des pyréthrinoïdes et des néonicotinoïdes - Anses Lyon. Rapport. Anses Lyon; 2013 Janvier.

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

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

Date de validation / dernière édition : 24/01/2020

Annexe(s)

Annexe 1

PROTOCOLE DE PRELEVEMENT

***Myzus persicae* / Betterave / pyréthriinoïdes (lambda-cyhalothrine)**

Objet : Identifier, chez le puceron vert du pêcher, des phénomènes de résistances aux pyréthriinoïdes (lambda-cyhalothrine...) 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 pyréthriinoïdes. 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