

Bilan : Plan de surveillance 2019

Myzus persicae / Betterave / carbamates

Objectif : recherche première résistance

Rédacteurs : Séverine Fontaine, Laëtitia Caddoux, Benoît Barrès

Résumé :

Cette étude visait à rechercher des résistances de cible aux insecticides de la famille des carbamates dans des populations de puceron vert du pêcher, *Myzus persicae*, présentes dans des cultures de betteraves à l'aide d'outils moléculaires. 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. Le suivi révèle que la résistance de cible Mace est détectée dans un peu plus de la moitié des populations analysées. Sur l'ensemble de l'échantillonnage, près d'un quart des pucerons sont porteurs de l'allèle de résistance aux Carbamates.

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. En effet, avec le retrait des néonicotinoïdes, la lutte chimique contre ce ravageur repose désormais sur l'utilisation de produits phytosanitaires comme le flonicamide ou des produits à base de substances actives de la famille des pyréthriinoïdes couplées 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 développé des résistances à de nombreux insecticides (organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes, néonicotinoïdes) *via* des mécanismes de résistances de type métabolique 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. Réaliser 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* vivant sur 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 pourrait 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 carbamates. Le nombre de prélèvements par région est précisé dans l'annexe 3 de l'instruction technique **DGAL/SDQSPV/2019-31**. Les prélèvements ont été réalisés selon les consignes de la fiche de prélèvement située en Annexe 1. Sur 17 prélèvements prévus, 15 prélèvements ont été reçus et neuf étaient analysables. Ils provenaient des Hauts de France (6), Centre-Val de Loire (2) et Normandie (1), (Figure 1).

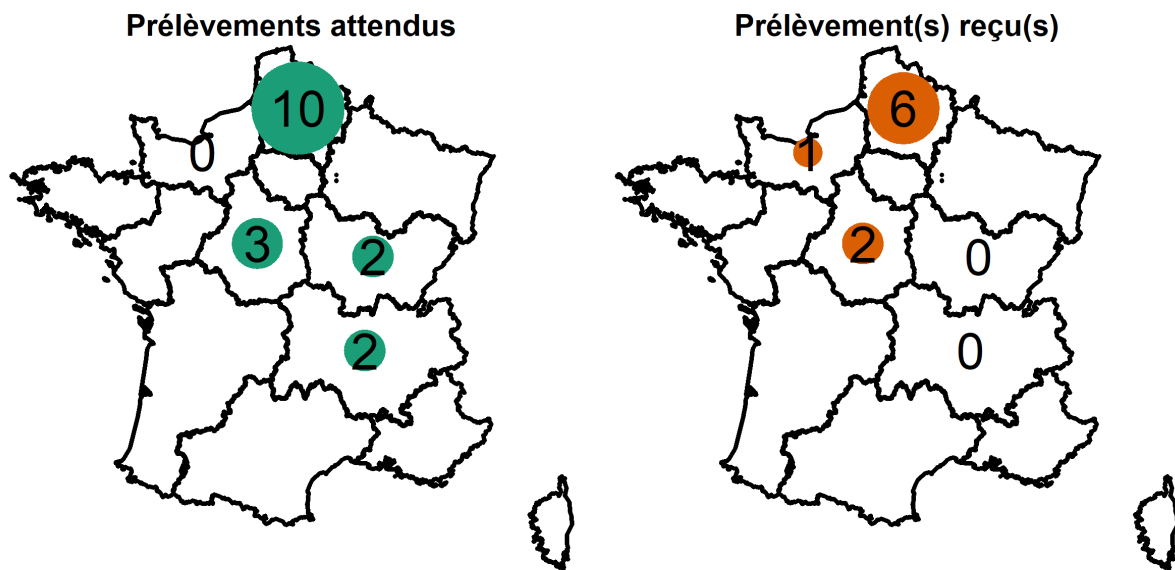


Figure 1 : Répartition par région des prélèvements sur culture de betterave prévus et reçus pour le plan de surveillance 2019 sur la résistance vis-à-vis des carbamates de *M. persicae*.

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 d'une PCR qui permet l'amplification d'un fragment de l'acétylcholinestérase 2 contenant le codon 431. Une digestion par un enzyme de restriction du fragment amplifié permet la distinction entre une séquence d'ADN non mutée, qui sera digérée (c'est-à-dire coupée), et une séquence mutée, qui ne sera pas digérée (Figure 2).

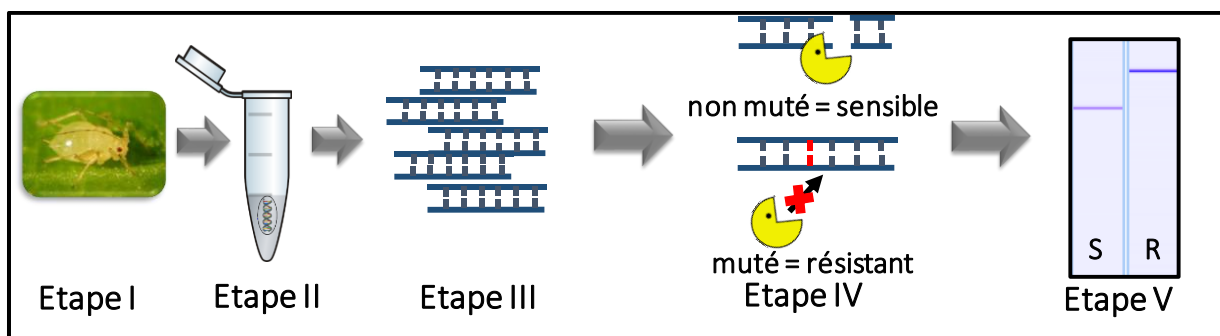


Figure 2 : Représentation des principales étapes pour rechercher une résistance aux carbamates liée à la modification de la cible de l'insecticide. Etape I : échantillonnage du

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. Pour quasiment la totalité des prélèvements cet objectif n'a pas été atteint du fait de la faible infestation du prélèvement ou du mauvais état des pucerons à l'arrivée au laboratoire. Sur les 121 pucerons analysés, 98 ont donné des résultats inexploitablement certainement dû au fait que certains d'entre eux étaient morts à l'arrivée au laboratoire. Sur l'ensemble de l'échantillonnage, 24,4% des pucerons étaient porteurs de la mutation Mace à l'état hétérozygote. Aucun individu mutant homozygote n'a été détecté. Ils sont donc considérés comme résistants aux carbamates. Pour quatre prélèvements, situés dans les régions Hauts de France (3) et Centre-Val de Loire (1), la mutation Mace n'a été détectée chez aucun des pucerons analysés (6 à 13 individus selon les prélèvements) (Figure 3 et 4). Pour les cinq autres prélèvements répartis dans trois régions, la mutation Mace a été détectée à l'état hétérozygote chez 28 à 53% des pucerons testés (Figure 3 et 4).

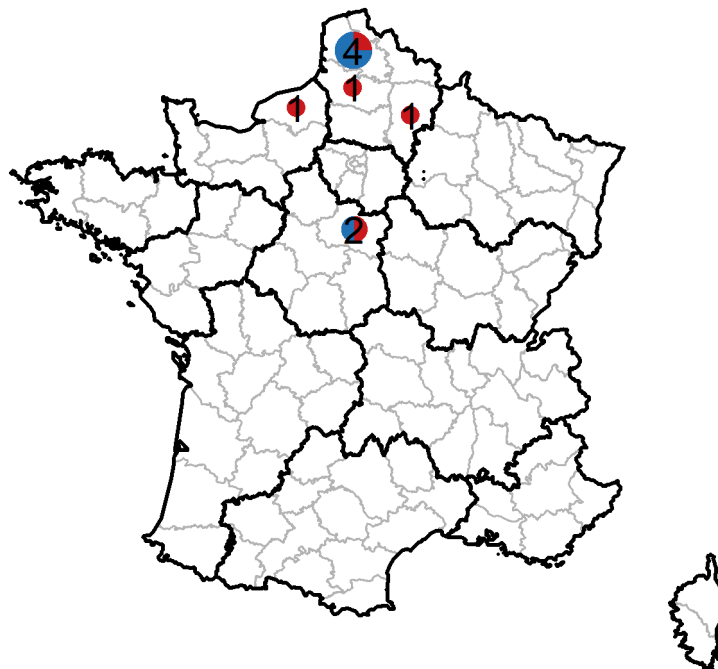


Figure 3 : Cartographie de la présence de la mutation Mace dans les populations de *M. persicae* échantillonnées en culture de betteraves en France en 2019. La taille des diagrammes est proportionnelle au nombre de parcelles échantillonnées par département. Le nombre indiqué au centre des camemberts correspond au nombre total de parcelles prélevées dans les départements correspondants. Le rouge et le bleu représentent, respectivement, les populations où la mutation Mace a et n’a pas été détectée.

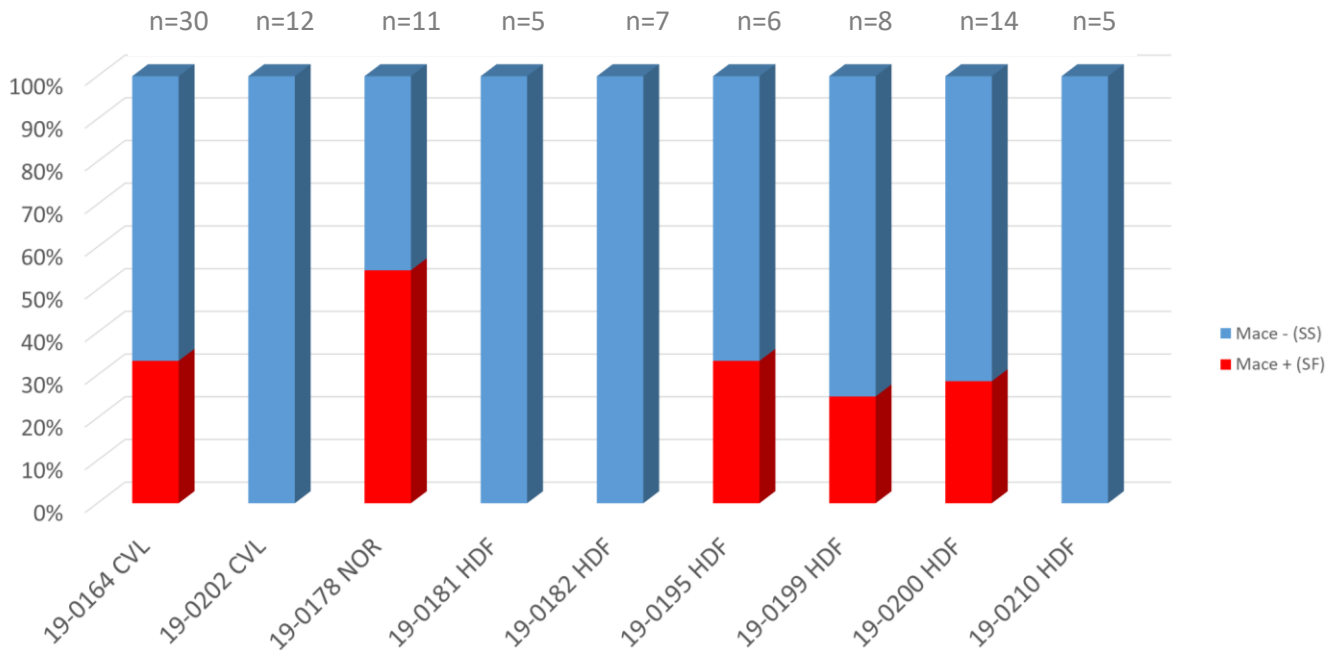


Figure 4 : Proportion de la mutation Mace pour chacune des populations de *M. persicae* échantillonnées en culture de betteraves en France en 2019. En bleu, les individus sans mutation Mace considérée comme non porteurs d’une résistance de cible aux carbamates, en rouge les pucerons hétérozygotes pour la mutation Mace.

Conclusions

Ce suivi de populations de *M. persicae* sur Betterave est réalisé depuis 2018 sur demande de la filière suite au retrait des AMM des néonicotinoïdes en France. Auparavant, la surveillance de cette espèce réputée très polyphage concernait des populations prélevées en culture de colza ou en verger de pêcher. En 2018, nous avons détecté dans une parcelle sur deux, la présence de la mutation responsable d’une résistance de cible aux carbamates. En 2019, plus de la moitié des prélèvements présentait des individus avec une résistance de cible aux carbamates. La fréquence des individus résistants, à l’exception d’une parcelle, n’est pas majoritaire dans les populations analysées. Cette surveillance dans une zone géographique restreinte, reste néanmoins inquiétante et indique que les allèles qui confèrent une résistance

aux carbamates peuvent être présents dans les populations de *M. persicae* vivant sur betterave. L'application de produits à base de carbamates aboutirait assurément à un accroissement rapide de la fréquence de la mutation déjà présente dans les populations.

En 2019, ces populations ont également été analysées pour la recherche de résistance de cible aux pyréthrinoïdes. Ces analyses ont montré que tous les pucerons porteurs de l'allèle Mace possédaient également un allèle de résistance aux pyréthrinoïdes, ce qui n'était pas le cas en 2018 sur les 2 parcelles analysées.

Partenaires

Nous remercions 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.

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/2019-31** :

<https://info.agriculture.gouv.fr/gedei/site/bo-agri/instruction-2019-31>

Date de validation / dernière édition : 05/09/2020

Annexe(s)

Annexe 1

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/2019-31.

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 ANSES | Référence Expéditeur | Organisme expéditeur | Origine prélèvement | Date prélèvement | Remarque |
|-----------------|----------------------|--|------------------------|------------------|---------------|
| 19-0164 | 19-1-45 | CHAMBRE D'AGRICULTURE DU LOIRET | SAINT-BENOIT-SUR-LOIRE | 20-mai-19 | exploitable |
| 19-0178 | 19-76-001 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTERAVE SEINE-MARITIME | GRUCHET-SAINT-SIMEON | 11-juin-19 | exploitable |
| 19-0181 | 19-62-002 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTRAVE (ITB) NORD PAS DE CALAIS | VIMY | 17-juin-19 | exploitable |
| 19-0182 | 19-62-001 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTRAVE (ITB) NORD PAS DE CALAIS | VIMY | 17-juin-19 | exploitable |
| 19-0186 | NR | CHAMBRE D'AGRICULTURE DU LOIRET | BONNEE | 17-juin-19 | inexploitable |
| 19-0194 | 19-62-175 NT | TEREOS BOIRY | BOIRY-SAINTE-RICTRUDE | 24-juin-19 | inexploitable |
| 19-0195 | 19-62-175 T | TEREOS BOIRY | BOIRY-SAINTE-RICTRUDE | 24-juin-19 | exploitable |
| 19-0199 | 19-80-001 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTERAVE DE LA SOMME | BELLOY-SUR-SOMME | 24-juin-19 | exploitable |
| 19-0200 | 19-02-01 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTERAVE AISNE | TOULIS-ET-ATTENCOURT | 24-juin-19 | exploitable |
| 19-0201 | 19-45-002 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTERAVE CENTRE VAL DE LOIRE | CHILLEURS-AUX-BOIS | 20-juin-19 | inexploitable |
| 19-0202 | 19-45-001 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTERAVE CENTRE VAL DE LOIRE | ESTOUY | 20-juin-19 | exploitable |
| 19-0203 | 19-76-002 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTERAVE SEINE-MARITIME | PARC-D'ANXTOT | 24-juin-19 | inexploitable |
| 19-0210 | 19-62-174NT | TEREOS BOIRY | LIETTRES | 24-juin-19 | exploitable |
| 19-0211 | 19-62-174T | TEREOS BOIRY | LIETTRES | 24-juin-19 | inexploitable |
| 19-0213 | 19-80-002 | INSTITUT TECHNIQUE DE LA BETTERAVE DE LA SOMME | VISMES | 01-juil-19 | inexploitable |