

## Bilan : Plan de surveillance 2019

### *Myzus persicae* / Betterave / pyréthriinoïdes

### Objectif : recherche première résistance

**Rédacteurs** : Séverine Fontaine, Laëtitia Caddoux, Benoit Barrès

#### Résumé :

Cette étude visait à rechercher des résistances de cible aux insecticides de la famille des pyréthriinoïdes, dans des populations de puceron vert du pêcher, *Myzus persicae*, présentes dans des cultures de betteraves à l'aide d'outils moléculaires. 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 concernant 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 aux pyréthriinoïdes. Des prélèvements venant de 9 parcelles ont pu être analysés. La quasi-totalité des pucerons analysés était porteurs de mutations impliquées dans la résistance aux pyréthriinoïdes et donc considérés comme résistants.

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

## Contexte

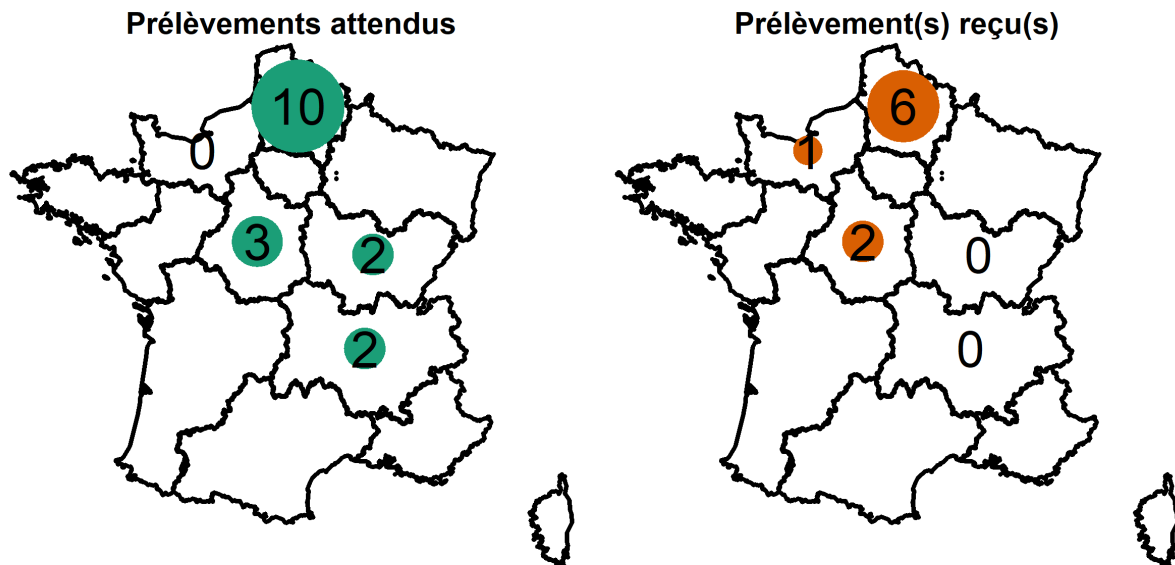
Cette surveillance de la résistance aux pyréthriinoïdes dans les populations de *M. persicae*, le puceron vert du pêcher, vivant sur betterave est un thème du plan de surveillance initié en 2018 à la demande de la filière. En effet, avec le retrait des néonicotinoïdes, la lutte chimique contre ce ravageur repose notamment 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 développé 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 d'une leucine par une phénylalanine (L1014F). Plusieurs substitutions possibles ont été identifiées pour le codon 918, associées (M918T) ou non (M918L) à la mutation L1014F, par souci de simplification les mutations affectant les codons 1014 et 918 sont nommées, respectivement, *kdr* (knockdown resistance), *skdr1* (Super-*kdr* M918T) et *skdr2* (Super-*kdr* M918L). Quels que soient le codon et la substitution, les mutations sont dominantes (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. Réaliser une surveillance de la résistance aux pyréthriinoïdes impliquant les mutations de la cible déjà identifiées chez *M. persicae*, permet d'avoir une connaissance 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/2019-31**. Les prélèvements ont été réalisés selon les consignes de la fiche de

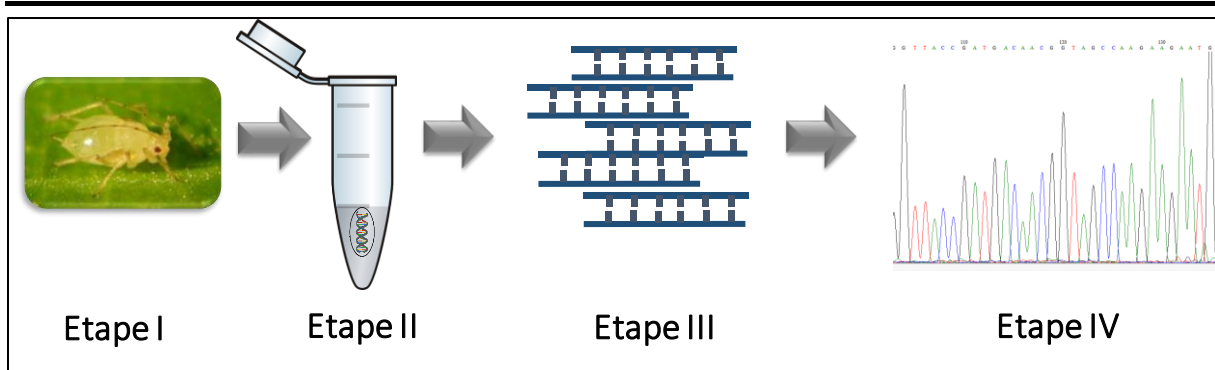
prélèvement située en Annexe 1. Sur 17 prélèvements prévus, 15 prélèvements ont été reçus et neuf étaient analysables. Ils provenaient des Hauts de France (6), Centre-Val de Loire (2) et Normandie (1), (Figure 1).



**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 pyréthriinoïdes de *M. persicae*.

### 1) Protocole de test

Pour cette résistance aux pyréthriinoïdes, 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 d'une PCR qui permet l'amplification d'un fragment du gène du canal sodium contenant les deux sites d'intérêt (codon 918 et 1014). Le séquençage permet de génotyper les deux codons connus pour être impliqués dans une résistance aux pyréthriinoïdes et de déterminer si le puceron est homozygote ou hétérozygote pour les codons considérés (Figure 2).



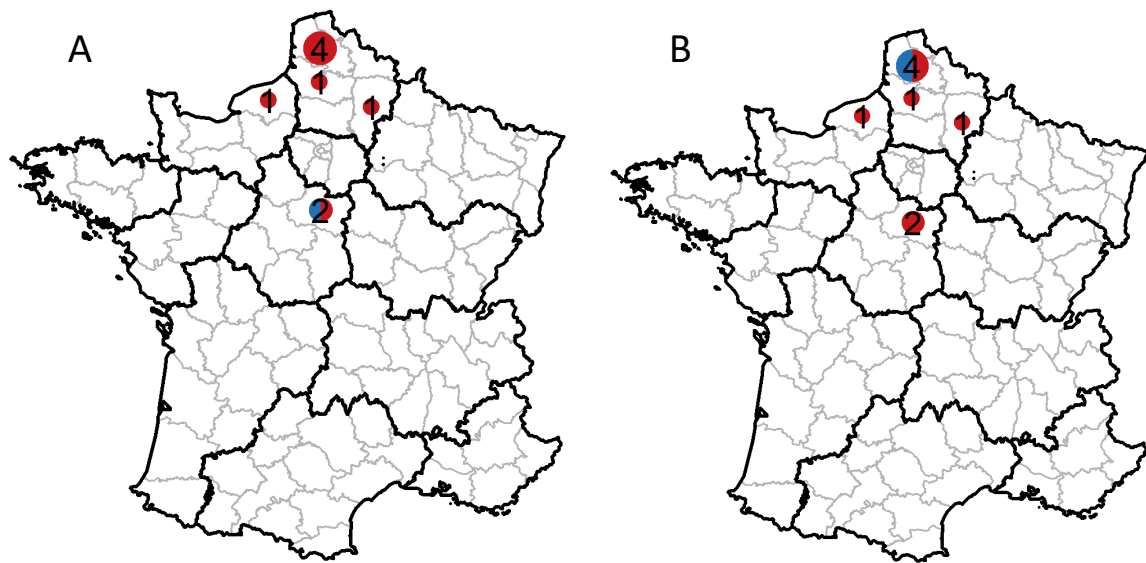
**Figure 2 :** Représentation des principales étapes pour rechercher une résistance aux pyréthriinoïdes liée à la modification de la cible de l’insecticide. Etape I : échantillonnage du puceron dans le prélèvement reçu- Etape II : Extraction de l’ADN du puceron – Etape III : Amplification d’une portion du gène du canal sodium susceptible de contenir des mutations impliquées dans la résistance aux pyréthriinoïdes – Etape IV : Séquençage de l’ADN et identification des mutations par comparaison avec une séquence de référence.

## Résultats et Interprétations

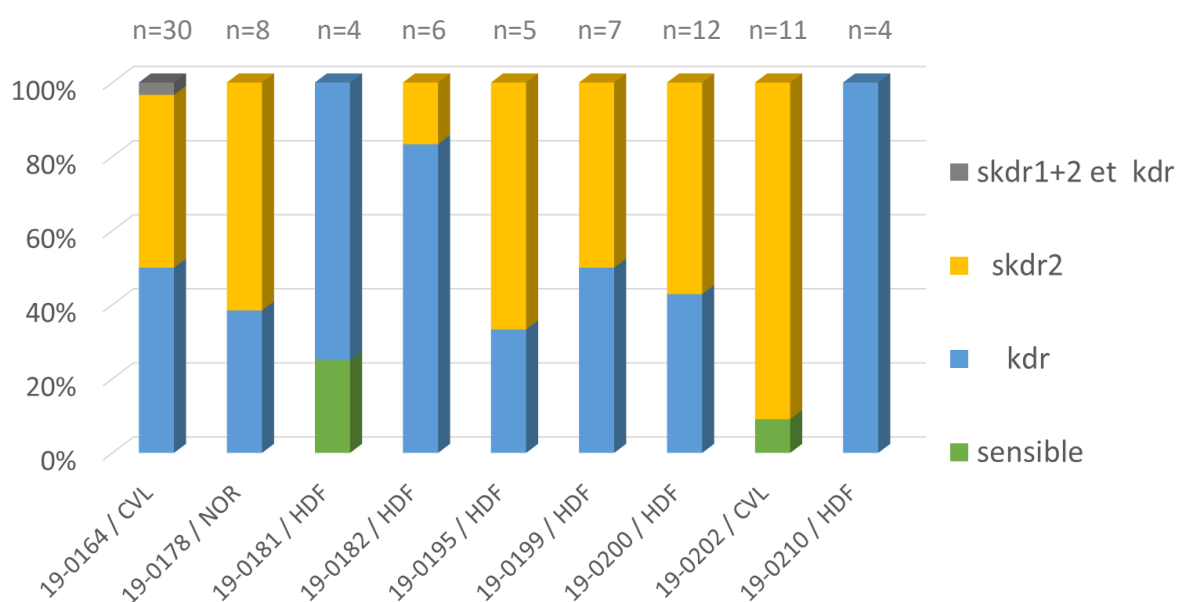
L’objectif était d’échantillonner 30 pucerons par prélèvement. Pour quasiment la totalité des prélèvements, cet objectif n’a pas été atteint du fait de la faible infestation du prélèvement ou du mauvais état des pucerons à l’arrivée au laboratoire.

Cependant, sur les 121 pucerons analysés, 9 pucerons n’ont donné aucun résultat analysable, 16 n’ont donné un résultat que pour l’un des deux codons *kdr* (15 – 1/3 avec l’allèle *kdr*) ou *skdr* (1 – sans *skdr*).

Pour les 96 pucerons avec des résultats exploitables pour les deux codons recherchés, seulement deux ne présentent ni mutation *kdr*, ni mutation *skdr* et sont donc considérés comme ne portant pas de résistance de cible aux pyréthriinoïdes. Ces deux pucerons sont répartis dans des prélèvements provenant de deux régions différentes (Figure 3). La totalité des prélèvements reçus (9/9) était donc constituée de pucerons résistants aux pyréthriinoïdes car soit porteurs de la mutation *kdr* ou d’une mutation *skdr* à l’état hétérozygote. Pour ce dernier site *skdr*, sur un total de 43 individus mutés, 98% portaient l’allèle *skdr2* (Super-*kdr* M918L) et seul 1 individu avec l’allèle *skdr1* (Super-*kdr* M918T) a été identifié. Sur la totalité de notre échantillonnage, la proportion d’individus porteurs de la mutation *kdr* et *skdr2* représente respectivement 44,8% et 51%. La présence de pucerons porteurs de l’allèle *kdr* ou de l’allèle *skdr* au sein d’une même population a été détectée dans la grande majorité des prélèvements analysés (Figure 4). Enfin, un individu cumulait les trois mutations impliquées dans la résistance de cible aux pyréthriinoïdes.



**Figure 3 :** Cartographie de la présence des allèles *kdr* (A) et *skdr* (B) 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 bleu représente les populations où les allèles de résistance *kdr* et *skdr* n'ont pas été détectés, en rouge les populations où les allèles de résistance *kdr* (A) et *skdr* (B) ont été détectés.



**Figure 4 :** Proportions des différents génotypes détectés pour les codons 918 (*skdr1* et *skdr2*) et 1014 (*kdr*) pour chacune des populations de *M. persicae* prélevées en culture de betteraves en France en 2019. En vert les individus sans aucune mutation, en bleu les pucerons porteurs de la mutation *kdr*, en orange ceux porteurs de la mutation *skdr2* et en gris ceux cumulant trois allèles de résistance *skdr1*, *skdr2* et *kdr*.

## Conclusions

Ce suivi 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 et sur pêcher. Etant donné les profils de résistances aux pyréthriinoïdes des populations observées par le passé sur ces hôtes, il semblait légitime de vérifier la situation sur betterave. En 2018, nous avons détecté dans les deux populations analysés la présence d’au moins une mutation responsable d’une résistance aux pyréthriinoïdes. Un seul des pucerons analysés ne présentait aucune des deux mutations (*kdr* ou *S-kdr*).

En 2019, nous confirmons cette tendance avec un échantillonnage plus conséquent. Cette surveillance indique que les allèles de résistance de cible aux pyréthriinoïdes sont très présents dans les populations de *M. persicae* vivants sur betterave à la fois en termes d’occurrence sur le territoire qu’en termes de fréquence au sein des populations.

En 2019, ces populations ont également été analysées pour la recherche de résistance de cible aux carbamates. Ces analyses ont montré qu’un quart des pucerons résistants aux pyréthriinoïdes possédaient également la mutation Mace impliquée dans une résistance de cible aux pyréthriinoïdes. En 2018, pour un prélèvement, la quasi-totalité (6) des individus testés ne possédaient pas la mutation impliquée dans la résistance de cible. Pour l’autre prélèvement, plus de la moitié des individus testés ont été en échec. Les 3 autres individus présentent la mutation à l’état hétérozygote.

## 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.

## 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 pyréthriinoïdes 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 : Fiche de prélèvement

## PROTOCOLE DE PRELEVEMENT

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

**Objet :** Identifier, chez le puceron vert du pêcher, des phénomènes de résistances aux pyréthriinoïdes (lamda-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/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](mailto:severine.fontaine@anses.fr) et [laetitia.caddoux@anses.fr](mailto: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