

Bilan : Plan de surveillance 2019

Sitobion avenae / résistance aux pyréthriinoïdes

Objectif : Surveillance de l'évolution de la résistance

Rédacteurs : Séverine Fontaine, Laëtitia Caddoux, Benoit Barrès

Contexte

Sitobion avenae est un ravageur majeur pour les cultures de graminées. Il est responsable de dégâts directs, *via* l'infestation des épis, et de dégâts indirects, *via* la transmission de viroses. Avec le retrait des néonicotinoïdes, le nombre de familles d'insecticides disponibles pour lutter contre ce ravageur s'est restreint. La pression de sélection exercée par les autres familles d'insecticides, dont les pyréthriinoïdes, pourrait être accrue et le risque de développement de résistance chez *S. avenae* pourrait se trouver renforcé. A ce jour, aucun cas de population résistante aux pyréthriinoïdes n'a été identifié en France. Mais des populations résistantes ont été identifiées en Angleterre dès 2011 (Foster *et al*, 2014). Le mécanisme de résistance connu repose sur une modification de la cible de l'insecticide : le canal sodium. La mutation, dite *kdr* (*k*nock*d*own *r*esistance), affecte le codon 1014 du canal sodium et est responsable de la substitution d'une leucine par une phénylamine (mutation L1014F). Dans un contexte de risque de développement de la résistance aux pyréthriinoïdes accru, la surveillance de cette mutation, débutée en 2017, dans les populations françaises de *S. avenae* reste d'un grand intérêt.

Matériels et Méthodes

1) Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés selon les modalités décrites dans la fiche de prélèvement en Annexe 1. Le nombre de prélèvements par région a été défini dans l'annexe 3 de l'instruction technique **DGAL/SDQSPV/2019-31**. En 2019, le plan de surveillance prévoyait l'analyse de dix prélèvements provenant de cinq régions différentes. Six prélèvements ont été reçus au laboratoire (Figure 1), provenant de trois régions : un de Bourgogne-Franche-Comté ; deux de Centre-Val-de-Loire et 3 des Hauts-de-France (Annexe 2). Les prélèvements ont été réalisés sur blé. Deux des prélèvements reçus n'ont pas pu être échantillonnés car les pucerons sont arrivés morts au laboratoire. L'ARN, sur lequel l'analyse est basée, étant assez fragile, il n'a donc pas été possible d'effectuer les analyses sur ces prélèvements. L'un provenait de la région Bourgogne-Franche-Comté, le second des Hauts-de-France.

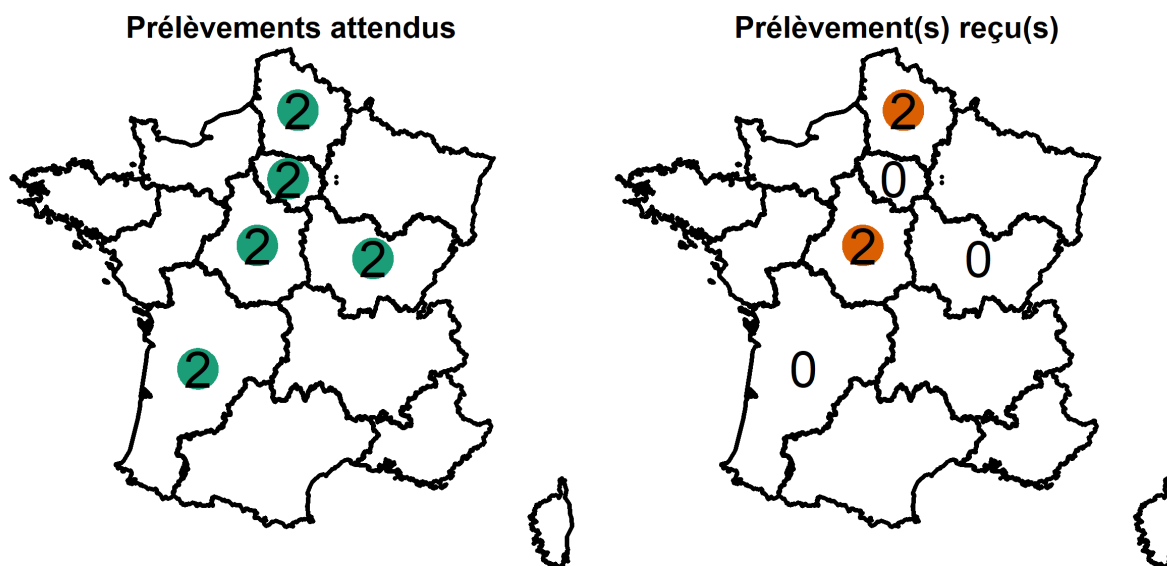


Figure 1 : Répartition des prélèvements sur céréales prévus et reçus en fonction des régions pour le plan de surveillance 2019 sur la résistance vis-à-vis des pyréthriinoïdes de *S. avenae*.

2) Protocole de test

La recherche de la résistance de cible aux pyréthriinoïdes est basée sur la technique de biologie moléculaire développée par Foster *et al*, 2014. La méthode repose sur l'amplification par RT-PCR (rétro-transcription de l'ARN et amplification en chaîne par polymérase) d'une portion du gène du canal sodium comprenant le codon 1014, susceptible d'être muté. Le séquençage de ce fragment par la technique SANGER permet de génotyper le puceron pour le codon 1014.

Mais également pour les codons 918 et 932 deux autres codons connus pour être impliqués dans la résistance aux pyréthrinoïdes chez d'autres arthropodes dont le puceron *Myzus persicae* (Figure 2).

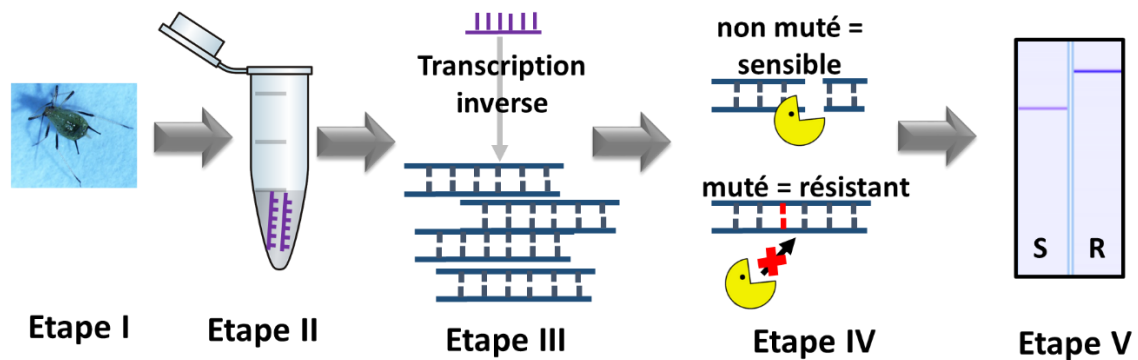


Figure 2 : Représentation des principales étapes de détection d'une résistance aux pyréthrinoïdes liée à la modification de la cible de l'insecticide chez *S. avenae*. Etape I : échantillonnage du puceron dans le prélèvement reçu- Etape II : Extraction de l'ARN du puceron – Etape III : rétro-transcription de l'ARN en ADN puis amplification d'une portion du gène du canal sodium susceptible de contenir les codons impliqués dans la résistance aux pyréthrinoïdes – Etape IV : séquençage de l'ADN et recherche des mutations par comparaison avec une séquence de référence.

Résultats et Interprétations

En 2019, Pour les quatre autres prélèvements réceptionnés, l'échantillonnage et l'analyse de 30 pucerons ont été réalisés. Sur les 120 pucerons analysés, huit n'ont pas donné de résultats exploitables et la mutation *kdr* (L1014F) n'a été détectée chez aucun des autres pucerons (Figure 3). Enfin, aucune autre mutation n'a été détectée pour les codons 918 et 932.

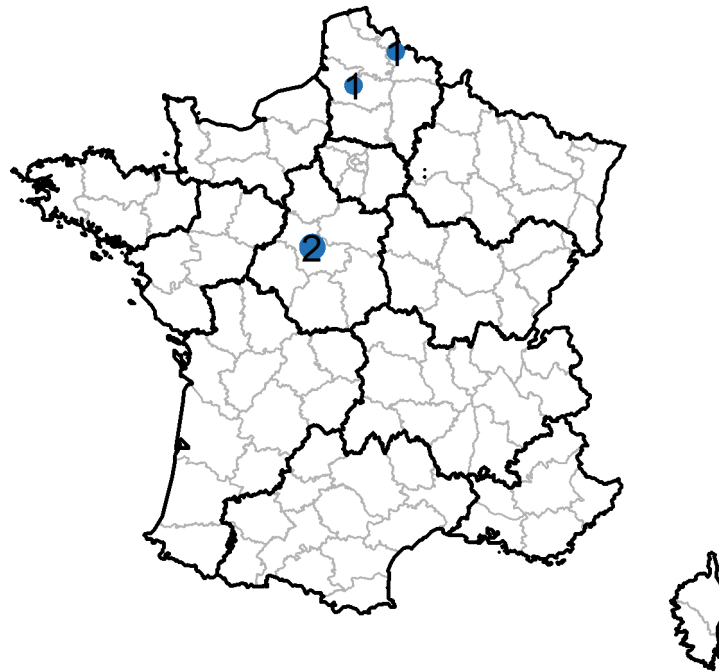


Figure 3 : Cartes des résultats de la recherche de mutation(s) liée(s) à la résistance aux pyréthrinoïdes chez *S. avenae*. L'aire des camemberts est proportionnelle au nombre de prélèvements reçus. Celui-ci est indiqué à l'intérieur de chaque camembert. La couleur bleue représente les prélèvements dans lesquels aucune résistance n'a été détectée.

Conclusions

Cette thématique était inscrite au plan de surveillance depuis 2017. Depuis trois ans, 12 parcelles ont été échantillonnées et analysées provenant de trois régions : Nouvelle-Aquitaine, Centre-Val-de-Loire et Hauts-de-France. A ce jour, aucun des 213 pucerons analysés n'était porteur de l'allèle de résistance *kdr*. L'allèle *kdr* (mutation L1014F) n'a donc pas été détectée dans les populations françaises de *S. avenae*. Les analyses réalisées cette année n'ont pas non plus mis en évidence de mutation sur deux autres codons connus pour être impliqués dans la résistance de cible aux pyréthrinoïdes chez d'autres arthropodes dont le puceron *M. persicae*. Même si les populations analysées ne présentent pas de résistance aux pyréthrinoïdes liée à une modification de la cible, il est néanmoins impossible d'exclure l'existence d'une résistance aux pyréthrinoïdes impliquant un autre mécanisme qui ne peut être mis en évidence par la méthode utilisée.

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. Pour la réalisation et l'envoi des prélèvements nous remercions la Maison des agriculteurs du Nord, la Chambre d'agriculture de la Somme et Arvalis – Institut du Végétal d'Ouzouer le Marché.

Référence(s) citée(s)

Foster, S. P., Paul, V. L., Slater, R., Warren, A., Denholm, I., Field, L. M., & Williamson, M. S. (2014). A mutation (L1014F) in the voltage-gated sodium channel of the grain aphid, *Sitobion avenae*, is associated with resistance to pyrethroid insecticides. *Pest management science*, 70(8), 1249-1253.

Instruction technique **DGAL/SDQSPV/2019-31** :

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

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

Annexe(s)

Annexe 1 : Fiche de prélèvement

PROTOCOLE DE PRELEVEMENT

Sitobion avenea / céréales / pyréthriinoïdes

Objet : Identifier, chez le Puceron des épis de céréales, des phénomènes de résistances aux pyréthriinoïdes 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 : d'avril à juin.

Collecte : un prélèvement est constitué comme suit :

- 30 à 40 feuilles et/ou épis porteurs de *S. avenea* provenant de 30 à 40 plants différents répartis sur la parcelle
- Ne pas prélever de feuilles humides

Conditionnement :

- Empiler les feuilles (et/ou épis) 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 (et/ou épis) 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
Secteurs Entomologie / Biologie Moléculaire
31 avenue Tony Garnier – 69364 LYON Cedex 07
Tél : 04.78.72.65.43 (standard) – 04.78.69.68.37 (lignes directes)
Fax : 04.78.61.91.45

Annexe 2 : Liste et caractéristiques des prélèvements reçus

Référence échantillon Anses	Référence échantillon Expéditeur	Expéditeur	Lieu de prélèvement	Date de prélèvement
19-0179	19-41-001	ARVALIS - INSTITUT DU VEGETAL - OUZOUEUR LE MARCHÉ	BEAUCE LA ROMAINE	10-juin-19
19-0185	19-41-002	ARVALIS - INSTITUT DU VEGETAL - OUZOUEUR LE MARCHÉ	VIEVY-LE-RAYE	14-juin-19
19-0188	19-80-001	CHAMBRE D'AGRICULTURE DE LA SOMME	SAINS-EN-AMIENOIS	17-juin-19
19-0209	NR	MAISON DES AGRICULTEURS	MARLY	01-juil-19