Bilan : Plan de surveillance 2017

Résistance aux Pyréthrinoïdes chez *Sitobion avenae*

Objectif : Transfert de méthode pour détecter la mutation *kdr* impliquée dans la résistance aux Pyréthrinoïdes chez *Sitobion avenae*

Rédacteurs : Séverine Fontaine, Laetitia Caddoux, Benoit Barrès

Contexte

Sitobion avenae est un ravageur des céréales d'hiver dont la nuisibilité au printemps est liée à l'infestation des épis qui provoque une réduction du nombre de grains. Également présent à l'automne sur les cultures, il est responsable de dégâts indirects *via* la transmission du virus de la jaunisse nanisante. La lutte chimique contre ce ravageur repose sur l'utilisation d'insecticide de trois familles : les pyréthrinoïdes, les organophosphorés et jusqu'en 2017 les néonicotinoïdes. Des cas de résistance aux insecticides de la famille des pyréthrinoïdes ont été détectés dans des populations de *S. avenae* au Royaume-Uni et en Irlande depuis le début des années 2010. Le mécanisme de résistance identifié est lié à une mutation de la protéine cible des pyréthrinoïdes : le canal sodium. Cette mutation, nommée *kdr*, implique la substitution d'une leucine par une phénylalanine en position 1014 du canal sodium. Dans la littérature, une méthode de biologie moléculaire permet de détecter cette mutation (Foster *et al.*, 2013). Dans un contexte de réduction des substances actives homologuées avec l'interdiction des néonicotinoïdes, la recherche de la mutation *kdr* dans les populations françaises de *S. avenae* permettra de s'informer sur le statut de ce ravageur en France vis-à-vis des pyréthrinoïdes. L'objectif majeur du plan de surveillance de 2017 était pour notre unité de transférer une méthode de détection de *kdr* présente dans la littérature puis de la valider en analysant quelques populations du terrain.

Matériels et Méthodes

1) Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés dans des parcelles où une pression de sélection aux substances actives de la famille des pyréthrinoïdes sur les pucerons des céréales existait. Initialement prévus au printemps, les prélèvements ont été reçus à l'automne. Cinq prélèvements ont été définis dans la note de service **DGAL/SDQPV/2016-992** et devaient concerner deux régions (2 de Grand-Est et 3 de Nouvelle Aquitaine). Ils ont été réalisés selon les consignes décrites en Annexe 1. En 2017, six prélèvements ont été reçus sur les cinq prévus (Figure 1). Les prélèvements ont été réalisés par Arvalis dans des parcelles d'orge situées dans les régions Centre-Val-de-Loire (2 prélèvements provenant de deux modalités d'un essai) et Nouvelle-Aquitaine (4 prélèvements provenant de quatre modalités d'un essai).

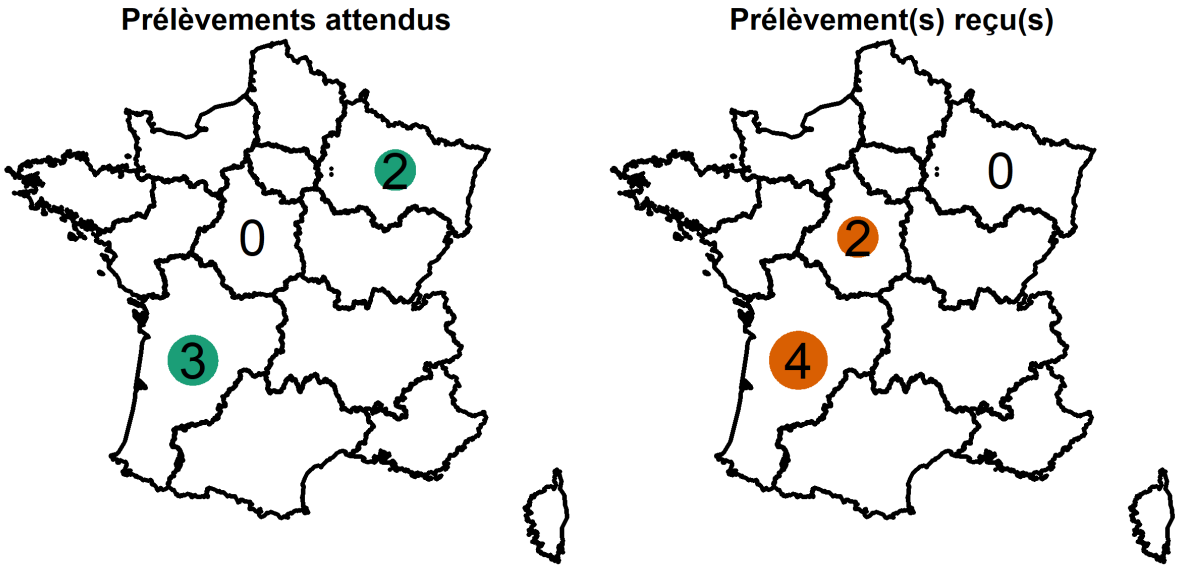

Figure 1 : Répartition des prélèvements prévus et reçus en fonction des régions.

2) Protocole de test

L'objectif de ce plan de surveillance était dans un premier temps de transférer une méthode de détection la mutation dite *kdr* chez *S. avenae* présente dans la littérature (Foster *et al*., 2013) puis de valider sur quelques prélèvements de terrain la méthode. La méthode publiée a été adaptée avec succès à nos conditions de laboratoire. Cette méthode nécessite quatre étapes principales :

1- Une extraction de l'ARN (acide ribonucléique) de S. *avenae*,

2- Une rétrotranscription (RT) de l'ARN extrait en ADN (acide désoxyribonucléique)

3- Une amplification par « polymerase chain reaction » (PCR) d'une portion du gène de canal sodium telle que le fragment contient le codon 1014, susceptible d'avoir la mutation kdr.

4- Une digestion par une enzyme du fragment d'ADN amplifié afin de différencier les séquences sans mutation *kdr* qui ont un unique site de coupure des séquences avec la mutation *kdr* qui ne seront pas coupées.

Résultats et Interprétations

1) Résultats du plan

Initialement, l'objectif d'échantillonnage était de 30 pucerons par prélèvement (Annexe 2). Le nombre de pucerons échantillonnés a été moindre pour l'ensemble des prélèvements (4 à 26

pucerons) du fait de l'état de certains prélèvements à l'arrivée au laboratoire et de l'infestation des céréales reçues par des espèces de pucerons autres que *S. avenae*, notamment *Rhopalosiphum padi*.

2) Interprétation

Parmi les 81 pucerons échantillonnés, six pucerons n'ont pas donné de résultats exploitables et cinq ont donné des résultats atypiques (profil de digestion du fragment ADN inattendu). Des analyses complémentaires ont permis d'expliquer ces profils de digestion. Ces cinq pucerons n'étaient pas de l'espèce *S. avenae.* Au final, lors du plan de surveillance 2017, la mutation *kdr* n'a été détectée chez aucun des 71 pucerons analysés provenant de deux sites de prélèvement différents (Figure 2).

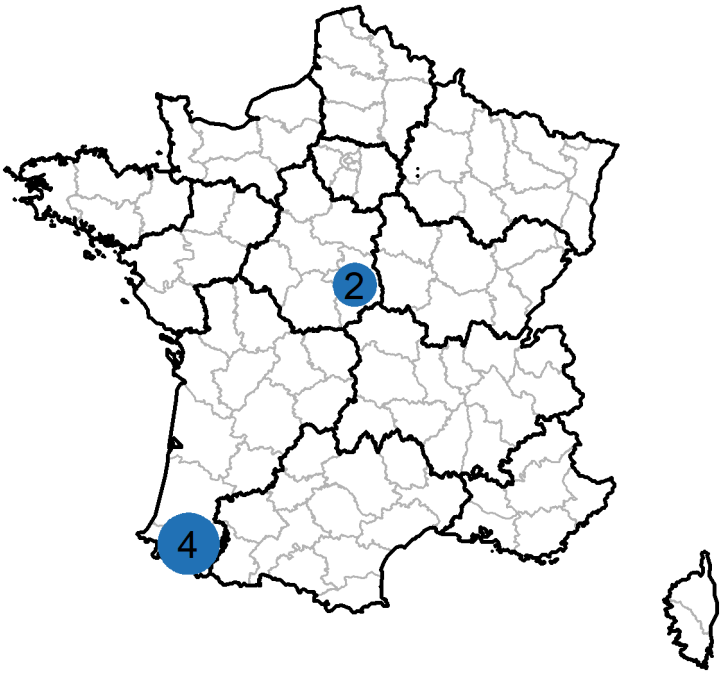

Figure 2 : Cartes des résultats de la recherche de mutation(s) liée(s) à la résistance aux pyréthrinoïdes chez *S. avenae*. La couleur bleue représente les prélèvements dans lesquels aucune résistance n'a été détectée. La couleur rouge représente les prélèvements dans lesquels une résistance a été détectée selon le protocole utilisé. Le chiffre à l'intérieur des camemberts représente l'effectif pour lesquels un résultat a été obtenu.

Conclusions

Ce plan de surveillance 2017 concernant la résistance de *S. avenae* aux pryéthrinoïdes a permis le transfert, dans notre laboratoire, d'une méthode pour détecter la mutation *kdr*

présente dans la littérature ainsi que l'analyse de quelques individus provenant du terrain. Cela a également permis de mettre en évidence les difficultés possibles pour réaliser un bon échantillonnage compte tenu de la diversité des espèces présentes sur les céréales.

La mutation *kdr* n'a pas été détectée dans les 71 pucerons analysés mais compte tenu, à la fois du faible nombre d'individus échantillonnés et du faible nombre de parcelles prélevées cela n'apporte que peu d'information sur le statut de ce ravageur en France vis-à-vis de la résistance aux pyréthrinoïdes. De plus, notre méthode ne recherche qu'un allèle déjà connu pour conférer une résistance aux pyréthrinoïdes et donc ne permet pas d'être certain que les individus testés ne présentent aucune résistance à cette famille. D'autres mécanismes de résistance pourraient exister dans ces populations mais ne pas être mis en évidence par la méthode utilisée (R4P, 2016).

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 et Arvalis Institut du végétal pour la réalisation et l'envoi des prélèvements.

Référence(s)

Foster, Stephen P., et al. "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 (2014): 1249-1253.

R4P, Barres B, Micoud A, Corio-Costet M-F, Debieu D, D., Fillinger-David S, et al. Trends and challenges in pesticide resistance detection. Trends in Plant Science. 2016;21(10):834–53.

Date de validation / dernière édition : 05/03/2019

Annexe(s)

Annexe 1

PROTOCOLE DE PRELEVEMENT

***Sitobion avenea* / Orge / pyréthrinoïdes**

Objet : Identifier, chez le Puceron des épis de céréales, des phénomènes de résistances aux pyréthrinoïdes par des méthodes de tests biomoléculaires.

Choix des parcelles : Les prélèvements sont à réaliser dans des zones agricoles où il existe une pression de sélection aux substances actives de la famille des pyréthrinoïdes (deltaméthrine, cyperméthrine …) sur pucerons des céréales. Le nombre de prélèvements par région est précisé dans l'annexe 3 de la Note de Service DGAL/SDQSPV/2016-992.

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

Tableau : Liste, caractéristiques et résultats des prélèvements reçus

Référence échantillon Anses	Référence échantillon Expéditeur	Date de réception	Région	Nombre d'individus testés	Nombre individus porteurs de l'allèle *kdr* (L1014F) impliqué dans la résistance aux pyréthrinoïdes
17-0181	17-18-001 (TNT)	24/10/2017	Centre-Val-de-Loire	26	0
17-0182	17-18-002 (Karaté Zéon)	24/10/2017	Centre-Val-de-Loire	16	0
17-0184	essai n°138366 parcelle 111	27/10/2017	Nouvelle-Aquitaine	7	0
17-0185	essai n°138366 parcelle 107	27/10/2017	Nouvelle-Aquitaine	14	0
17-0186	essai n°138366 parcelle 311	27/10/2017	Nouvelle-Aquitaine	4	0
17-0187	essai n°138366 parcelle 201	27/10/2017	Nouvelle-Aquitaine	3	0