

**LES RESISTANCES DE CIBLE AUX PYRETHRINOÏDES CHEZ TROIS ESPECES DE PUCERONS PRESENTES
EN GRANDES CULTURES : *ACYRTHOSIPHON PISUM*, *SITOBION AVENAE* ET *APHIS FABAE***

L. CADDoux, S. FONTAINE, B. BARRÈS
Université de Lyon, Anses, INRAE, USC CASPER, Lyon, France
Contact email : laetitia.caddoux@anses.fr

RÉSUMÉ

Le contrôle des pucerons repose principalement sur l'application d'insecticides, pouvant conduire à des effets non intentionnels tels que la sélection d'individus résistants. Les résistances vis-à-vis des pyréthrinoides ont été décrites depuis de nombreuses années et suite à l'interdiction des néonicotinoïdes en France, ils ont fait l'objet d'un regain d'intérêt dans la lutte contre les pucerons. Une surveillance de l'évolution de la résistance aux substances actives de cette famille chez les pucerons est donc nécessaire. La recherche de résistances aux pyréthrinoides impliquant des modifications de la cible (mutations *kdr* et *skdr*) a été réalisée, dans le cadre du plan de surveillance de la DGAL, chez trois espèces de pucerons. Aucune résistance liée à une mutation *kdr* ou *skdr* n'a été détectée dans les populations d'*Acyrtosiphon pisum* et *Aphis fabae* analysées. Pour l'espèce *Sitobion avenae*, un individu porteur de la mutation *kdr* a été détecté pour la première fois en France en 2020.

Mots-clés : puceron, pyréthrinoid, résistance liée à la cible, plan de surveillance

SUMMARY

Aphid control is mainly achieved by the application of insecticides, which can lead to unintended effects such as selection of resistant individuals. Pyrethroids have been used for many years and their role has been strengthened following the ban on neonicotinoids. Study pyrethroids resistance in some aphid species remain relevant. In the Framework of DGAL monitoring, resistance to pyrethroids caused by target modification (*kdr* ou *skdr* mutations) has been realized on three aphid species. No target resistance linked to mutation *kdr* or *skdr* was detected in the *Acyrtosiphon pisum* and *Aphis fabae* populations analysed. For *Sitobion avenae*, an individual carrying the *kdr* mutation was detected for the first time in France in 2020.

Keywords: aphid, pyrethroid, target resistance, monitoring plan

INTRODUCTION

Les pucerons occasionnent des dégâts directs sur feuilles (déformation, décoloration voire chute) par leurs piqûres pour le prélèvement de sève, mais aussi des dégâts indirects, *via* la vécion de nombreuses viroses ou en favorisant le développement de la fumagine. L'utilisation de produits phytosanitaires s'est montrée très efficace pour lutter contre ces ravageurs. La lutte chimique contre la plupart des différentes espèces de pucerons repose, depuis l'interdiction des néonicotinoïdes en 2018, principalement sur quatre familles d'insecticides. Deux familles anciennes, les carbamates et les pyréthrinoides ; et deux familles plus récentes : la famille des pyridines-carboxamides (représentée par le flonicamide) qui inhibe la prise alimentaire et le spirotétramat, de la famille des kétoénols, qui inhibe la synthèse des lipides.

Les pyréthrinoides restent à ce jour très utilisées du fait de leur faible coût et de leur réputation de faible toxicité vis-à-vis des mammifères. Cependant, leur application répétée depuis des décennies, a

conduit à l'évolution de résistances à cette famille d'insecticide chez plusieurs espèces de pucerons telles que : *Aphis gossypii* Glover, 1877 (Marshall *et al.*, 2012), *Myzus persicae* Sulzer, 1776 (Cassanelli *et al.*, 2005 ; Fontaine *et al.*, 2011), *Nasanovia ribisnigri* Mosley, 1841 (Rufingier *et al.*, 1997) ou *Sitobion avenae* Fabricius, 1775 (Foster *et al.*, 2014). Ces résistances sont parfois connues depuis de nombreuses années et peuvent être très répandues géographiquement et atteindre des fréquences importantes au sein des populations. On pourrait donc penser que l'étude et la surveillance de celles-ci n'est que peu stratégique. Mais les modifications récentes des autorisations de mise sur le marché, et en particulier les interdictions récentes des néonicotinoïdes en France, ont réduit la diversité des modes d'action disponibles pour lutter contre les pucerons. Le risque d'un report d'emploi sur les pyréthrianoïdes est réel et appelle à revisiter la situation de la résistance vis-à-vis de ces molécules, en particulier pour des espèces peu ou pas étudiées en France.

L'un des mécanismes les plus répandus de résistance des insectes aux pyréthrianoïdes repose sur une modification de la cible des pyréthrianoïdes, le canal sodium. De nombreuses mutations impliquées dans la résistance de cible aux pyréthrianoïdes ont pu être identifiées. Les plus courantes sont situées au niveau des segments 4 et 6 du deuxième domaine transmembranaire du canal sodium (Rinkevich *et al.*, 2013). L'une de ces mutations, nommée *kdr* (knock down resistance), affecte le codon 1014 de la protéine, et est responsable de la substitution d'une leucine par une phénylalanine (L1014F). Une deuxième mutation située en position 918 est généralement trouvée conjointement avec *kdr*. Dans ce cas, la méthionine est substituée par une thréonine (M918T). Ce codon 918 peut-être également concerné par d'autres substitutions, responsables d'une résistance aux pyréthrianoïdes, sans association avec la mutation *kdr*. Ainsi la substitution de la méthionine par une leucine (M918L) chez *M. persicae* (Fontaine *et al.*, 2011) et *A. gossypii* (Carletto *et al.*, 2010) et par une valine (M918V) chez *Bemisia tabaci* Gennadius, 1889 (Morin *et al.*, 2002) ont été identifiées comme responsables de résistance aux pyréthrianoïdes. Les mutations affectant ce codon sont nommées *skdr* (pour 'super knock down resistance') car elles conduisent le plus souvent à des niveaux très élevés de résistance aux pyréthrianoïdes (Eleftherianos *et al.*, 2008 ; Fontaine *et al.*, 2011 ; Ingles *et al.*, 1996 ; Usherwood *et al.*, 2005 ; Rinkevich *et al.*, 2013).

Dans le cadre du plan de surveillance des résistances aux produits phytosanitaires diligenté par la direction générale de l'alimentation (DGAL), trois espèces de pucerons, ravageurs majeurs des cultures françaises, ont été étudiées afin de rechercher des résistances aux pyréthrianoïdes impliquant des modifications de la cible. Ce suivi annuel a concerné trois espèces : i- le puceron du pois *Acyrtosiphon pisum* Mordvilko, 1914, en culture de pois. Cette espèce vit sur les plantes sauvages ou cultivées de la famille des fabacées ; ii- le puceron noir de la fève *Aphis fabae* Scopoli, 1763 dans des cultures de fabacées (fève, pois...), espèce extrêmement polyphage, qui parasite de nombreuses plantes cultivées (betterave, pomme de terre, tabac, tournesol, colza, avec une préférence pour les fabacées). iii- le puceron des épis des céréales *S. avenae* qui vit sur les graminées sauvages et cultivées. Chacune de ces espèces représente un problème agronomique en particulier parce que ce sont des espèces vectrices de virus : *A. pisum* peut être vecteur de plusieurs viroses dont la jaunisse apicale du pois (PTV) et la mosaïque commune du pois (PCM) ; *A. fabae* transmet notamment le virus de la jaunisse réticulée (BYNV) et le virus de la jaunisse (BYV) en culture de fève, féverole et haricot et *S. avenae* est vecteur chez les céréales de la jaunisse nanisante de l'orge (JNO). Pour ces trois espèces, l'état des connaissances concernant les résistances vis-à-vis des pyréthrianoïdes est différente. Chez *A. pisum* et *A. fabae*, aucun cas de résistance n'a jamais été reporté dans le monde à ce jour. Chez *S. avenae*, la mutation *kdr* (L1014F) a été détectée dans des populations de terrain prélevées en 2011 en Angleterre. Les individus porteurs de cette mutation sont 35 à 40 fois moins sensibles à la lambda-cyhalothrine que les génotypes sauvages (Foster *et al.*, 2014).

Réaliser un état des lieux des allèles de résistance aux pyréthrianoïdes présents dans les populations de ces différentes espèces de pucerons est donc important pour différentes raisons : d'une part, surveiller une potentielle émergence d'une nouvelle résistance pour les espèces *A. pisum* et *A. fabae* et d'autre

part, rechercher la présence en France d'une résistance identifiée dans d'autres pays européens pour *S. avenae* en culture de céréales.

MATERIELS ET METHODES

Clone de référence

Les clones *A. pisum* et *S. avenae* ont été aimablement fournis par l'UMR203 Biologie Fonctionnelle Insectes et Interactions de l'INSA de Lyon. Ils ont été élevés respectivement sur fève et blé. Le clone *A. pisum* a été échantillonné afin de réaliser la mise au point de la méthode du séquençage partiel du canal sodium chez cette espèce. Le clone *S. avenae*, a été utilisé comme témoin positif d'amplification PCR (*Polymerase Chain Reaction*) pour les analyses réalisées sur cette espèce. Pour *A. fabae*, la méthode a été développée sans clone de référence mais à partir d'un échantillon du terrain dont l'espèce avait été vérifiée sous loupe selon des critères morphologiques d'identification au préalable.

Échantillons de terrain

Les prélèvements, réalisés sur le terrain dans le cadre du plan de surveillance annuel étaient constitués de 30 à 40 plantes ou feuilles provenant de plantes indépendantes, infestées par des pucerons de l'espèce étudiée et réparties aléatoirement dans la parcelle. La Figure 1 présente la répartition des prélèvements reçus en fonction de leur origine géographique pour les trois espèces étudiées. Au total, 21 prélèvements de *S. avenae* ont été reçus sur les quatre années de monitoring entre 2017 et 2020. De 2018 à 2020, 9 prélèvements d'*A. pisum* ont été échantillonnés. En 2020, 2 prélèvements d'*A. fabae* ont été reçus dans le but de mettre au point la méthode d'analyse. Les prélèvements de *S. avenae*, *A. pisum* et *A. fabae* ont été réalisés sur les cultures de céréales (blé ou orge), pois (grande culture ou maraîchage) et fèves, respectivement.

Pour tous les prélèvements, l'objectif était de collecter 30 pucerons. Cet objectif n'a pas forcément été atteint compte tenu de la faible infestation de certains prélèvements reçus. *In fine*, 258 (en moyenne 28,7 +/- 4 pucerons par prélèvement), 60 (30 pucerons par prélèvement) et 428 (en moyenne 20,4 +/- 10,7 pucerons par prélèvement) ont été échantillonnés pour *A. pisum*, *A. fabae* et *S. avenae*, respectivement (Annexe 1). Les pucerons vivants ont été sélectionnés après identification morphologique de l'espèce sous loupe binoculaire, puis placés individuellement dans des tubes Eppendorf de 2 ml avec une bille d'acier inoxydable de 4,76 mm de diamètre et stockés à -80°C jusqu'à l'extraction des acides nucléiques.

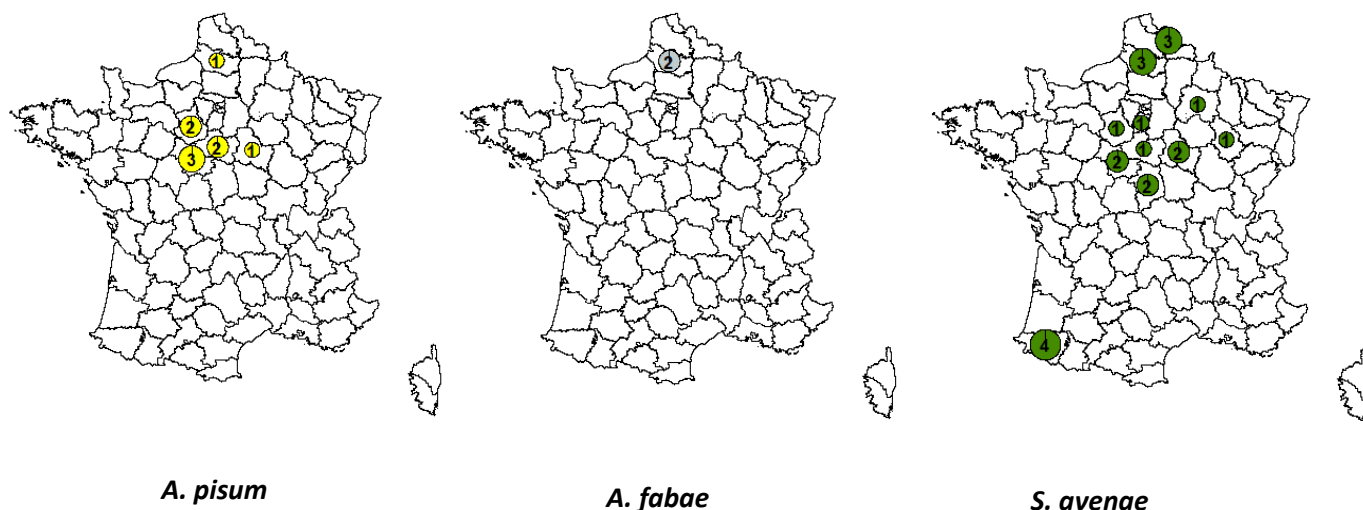


Figure 1 : Répartition géographique des prélèvements reçus en fonction de l'espèce, en jaune les prélèvements de *A. pisum*, en gris ceux de *A. fabae* et en vert ceux de *S. avenae*. La taille de l'aire des disques est proportionnelle au nombre de prélèvements reçus par département.

Figure 1: Geographical distribution of the samples received according to the species. In yellow, grey and green the samples of *A. pisum*, *A. fabae* and *S. avenae* and, respectively. The area of the pie charts is proportional to the number of samples received per department.

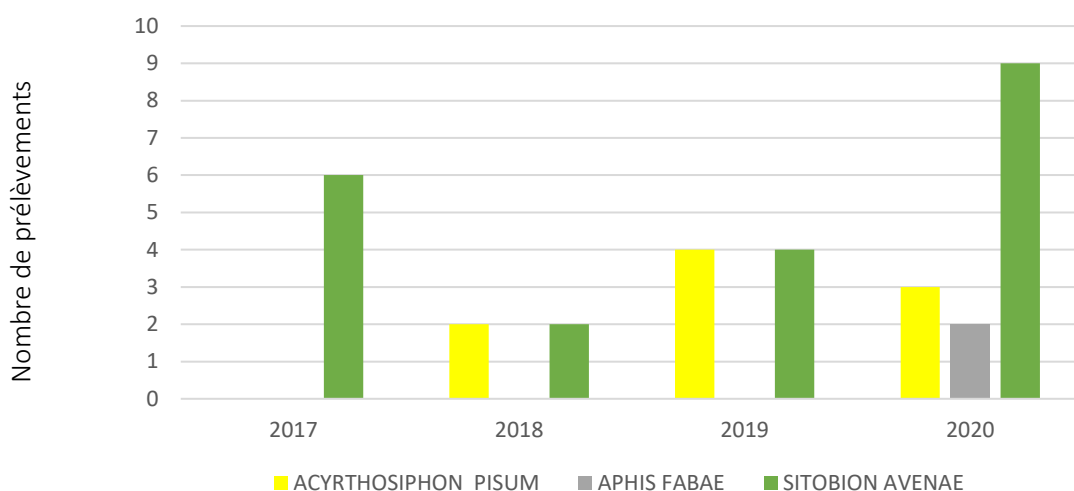


Figure 2 : Répartition des prélèvements de 2017 à 2020 en fonction des espèces.

Figure 2: Species distribution of samples received from 2017 to 2020.

Analyses biomoléculaires

Extraction des acides nucléiques

Pour les espèces *A. fabae* et *A. pisum*, les analyses de biologie moléculaire pour la recherche de résistance de cible aux pyréthrinoïdes nécessitent l'extraction de l'ADN. Pour l'espèce *S. avenae*, du fait de la présence d'intron, les analyses de biologie moléculaire pour la recherche de résistance de cible aux pyréthrinoïdes nécessitent l'extraction de l'ARN des pucerons. Les ADN ont été extraits grâce au kit Nucleospin 8/96 Tissue (Macherey-Nagel) et les ARN grâce au kit Nucleospin 8 RNA (Macherey-

Nagel) en suivant les consignes du fabricant. Les détails concernant les protocoles d'extraction des acides nucléiques sont disponibles auprès de l'auteur.

Amplification des acides nucléiques (PCR et RT-PCR)

Les PCR visent à amplifier une portion du gène du canal sodium, comprenant une partie des segments 5 à 6 du deuxième domaine transmembranaire, susceptibles de contenir des mutations impliquées dans la résistance aux pyréthrinoides (*kdr* et *skdr*).

- *Acyrtosiphon pisum*

Pour *A. pisum*, l'amplification d'une portion du canal sodium a été réalisée à l'aide des amorces A_pisum-PARA_Fbis2 (5'-tcttgccaaacatgaatctc-3') et A_pisum-PARA_R7 (5'-tgccaccctaacttgctaa-3'). Les détails concernant les conditions d'amplification peuvent être demandés auprès de l'auteur. Les produits de PCR obtenus ont été séquencés avec l'amorce antisens *via* la méthode Sanger par Genewiz (Leipzig, Allemagne) ou Genoscreen (Lille, France).

- *Aphis Fabae*

L'amplification d'une portion du canal sodium a pu être réalisée à l'aide des amorces A_Fabae_Na_F1 (5'-cccacacttaatcttttaatc-3') et A_Fabae_Na_R1 (5'-taaaaaattgccatccacctc-3'). Les détails concernant les conditions d'amplification peuvent être demandés auprès de l'auteur. Les produits de PCR obtenus ont été séquencés avec l'amorce antisens *via* la méthode Sanger par Genoscreen (Lille, France).

- *Sitobion avenae*

La présence de la mutation *kdr* dans le gène codant le canal sodium a été déterminée en s'inspirant de la méthode décrite par Foster *et al.* (2014). La méthode repose sur une étape de reverse transcription (RT) de l'ARN en ADN, puis d'une PCR avec les amorces Sa1 et Sa3 comme décrit par Foster *et al.*, 2014. Les produits PCR ont été mis à digérer avec l'enzyme *BssSal* (New England Biolabs, Ipswich, Royaume-Uni) à 37°C pendant 4 heures au minimum. L'enzyme *BssSal* permet de différencier la séquence sauvage, comprenant un unique site de coupure, de la séquence mutée, n'en ayant pas. Compte tenu de l'obtention de profils de digestion « atypiques », une partie des produits PCR a été séquencée avec l'amorce sens *via* la méthode Sanger par Genewiz (Leipzig, Allemagne) ou Genoscreen (Lille, France).

RESULTATS

Acyrtosiphon pisum

L'amplification avec les amorces A_pisum-PARA_Fbis2 et A_pisum-PARA_R7 sur l'ADN du clone (18-0019) a permis l'obtention d'un fragment de 515 pb codant du 908^{ième} au 1015^{ième} acide aminé du canal sodium voltage dépendant. Ce fragment, débarrassé de ses introns, présente 100% d'identité avec la séquence d'un transcrit ARN du canal sodium voltage dépendant d'*A. pisum* (XM_029490267.1) issu du projet de séquençage génomique de cette espèce (Consortium, I.A.G., 2010). Dans sa totalité le fragment obtenu est constitué de deux introns, l'un situé entre les bases 138 à 247 et le second à partir de la 392^{ième} base. Cette séquence a été déposée dans la base de données Genbank sous la référence MT321494. Les amorces A_pisum-PARA_Fbis2 et A_pisum-PARA_R7 ont été utilisées pour le génotypage des pucerons échantillonnés dans le cadre des plans de surveillance. A partir des neuf prélèvements reçus, 258 pucerons ont pu être échantillonnés et analysés par PCR. En fonction des années, de 0,01 à 3 % des pucerons, n'ont pas donné de résultats (échec d'amplification ou de séquençage). Chez tous les autres pucerons, aucune mutation n'a été mise en évidence au niveau du codon *kdr* (1014) ainsi qu'au niveau du codon *skdr* (918).

Aphis fabae

En 2020, dans le cadre des plans de surveillance, 8 pucerons du prélèvement 20-0120 ont été utilisés pour la mise au point d'une méthode de détection des mutations *kdr* et *skdr*. L'amplification avec les amorces A_Fabae_Na_F1 et A_Fabae_Na_R1 a permis l'obtention d'un fragment de 484 pb codant du 914^{ème} au 1016^{ème} acide aminé du canal sodium voltage dépendant. Dans sa totalité le fragment obtenu est constitué de trois introns, l'un situé les bases 1 à 5^{ème} base, le second à partir de la 133^{ème} à la 217^{ème} base et le troisième de la 395^{ème} à la 484^{ème} base. Les séquences ont été analysées, traduites *in silico* et comparées à des séquences protéiques du canal sodium d'autres Aphidés sensibles aux pyréthrinoïdes, tel que *A. gossipy*. Aucune mutation connue pour être impliquée dans la résistance de cible aux pyréthrinoïdes n'a été mise en évidence. Cette séquence a été enregistrée dans la base de données Genbank sous la référence MW620835.

Les 52 autres pucerons ont ensuite été analysés individuellement avec ces amorces spécifiques d'*A. fabae*. Sur l'ensemble de ces pucerons analysés, seuls 2 n'ont pas donné de résultats exploitables (un dans chacune des parcelles). Pour les 50 pucerons restants, aucune mutation affectant les codons connus pour être impliqués dans la résistance aux pyréthrinoïdes (*kdr* ou *skdr*) n'a été détectée.

Sitobion avenae

Les analyses pour rechercher la résistance impliquant la mutation *kdr* ont été réalisées sur 428 pucerons provenant de 21 parcelles différentes.

En 2017 et 2018, la RT-PCR a été réalisée sur 107 pucerons provenant de huit parcelles. Pour neuf de ces pucerons, les analyses n'ont pas donné de résultat exploitable. Pour les 98 pucerons restants, 94 d'entre eux présentaient un profil de digestion avec deux fragments (un de 74 pb et un de 397 pb) correspondant à un profil de digestion d'individu sensible. Cinq pucerons présentaient des fragments de digestion avec des profils atypiques composés de deux bandes à environ 230 pb et 240 pb. Afin de déterminer l'origine de ces digestions atypiques, les amplifications obtenues en RT-PCR ont donc été envoyées à séquencer. Le séquençage a révélé que le fragment du canal sodium obtenu n'appartenait pas à l'espèce *S. avenae*.

En 2019 et 2020, afin de s'assurer que l'espèce échantillonnée correspondait bien à *S. avenae*, les analyses ont été réalisées uniquement par séquençage du fragment du canal sodium obtenu en RT-PCR. A partir des 13 prélèvements reçus, 321 pucerons ont été analysés, 8 n'ont pas donné de résultats exploitables. Pour 313 pucerons, le séquençage du fragment PCR obtenu avec les amorces Sa1 et Sa3 correspondaient bien à une séquence du canal sodium de pucerons de l'espèce *S. avenae*. Pour la première fois en France, un puceron *S. avenae* possédant la mutation *kdr* a été détecté à l'état hétérozygote dans une parcelle du Nord en 2020. La mutation *skdr* n'a été détecté chez aucun des 313 pucerons dont le résultat était exploitable.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La réduction du nombre de mode d'action insecticide disponible peut entraîner un report vers des modes d'action plus anciens. A ce titre, la famille des pyréthrinoïdes risque d'être particulièrement sous pression dans les années à venir. C'est pourquoi nous nous sommes attachés à étudier la résistance de cible aux pyréthrinoïdes chez trois espèces de pucerons présentes en grandes cultures avec deux objectifs distincts.

Le premier était le développement de méthodes pour détecter les mutations *kdr* et *skdr* chez *A. pisum* et *A. fabae*. Ces méthodes permettent de détecter par séquençage, chez *A. pisum* et *A. fabae*, des mutations affectant le gène du canal sodium déjà décrites chez d'autres insectes et impliquées dans la résistance aux pyréthrinoïdes. Dans notre monitoring restreint mais sur des parcelles ciblées avec pression de sélection aux pyréthrinoïdes, aucun puceron ne présentait de mutations connues pour

être responsables d'une résistance aux pyréthrinoïdes. Ce monitoring de surveillance chez ces deux ravageurs va être poursuivi. Bien qu'aucune résistance de cible n'ait jamais été décrite chez *A. pisum* et *A. fabae* vis-à-vis des pyréthrinoïdes, le nombre d'espèces ayant développées une résistance de cible à cette famille est tel que ce risque est élevé. Pour ces deux espèces, il serait également important de réaliser des tests biologiques afin de vérifier qu'une résistance aux pyréthrinoïdes non liée à la cible n'est pas présente dans les populations françaises.

Le deuxième objectif était la recherche en France métropolitaine d'une mutation déjà identifiée dans un autre pays européen. L'échantillonnage de *S. avenae* réalisé dans des parcelles d'origines géographiques diverses et soumises à des pressions de sélection aux pyréthrinoïdes, a permis de mettre en évidence pour la première fois en France, un puceron porteur de résistance de cible aux pyréthrinoïdes dans la région Hauts de France. Il n'est toutefois pas possible sur la seule base de ces résultats de déterminer s'il s'agit d'un clone identique à ceux détectés outre-manche. Etant donné la proximité géographique entre le Royaume-Uni et la région des Hauts de France, il est probable qu'il s'agisse d'un événement migratoire (naturel ou en lien avec l'activité humaine). On ne peut toutefois complètement exclure une émergence indépendante. Les monitorings réalisés en 2017 et 2018 à l'aide de l'outil PCR-RFLP de Foster *et al.*, ont mis en évidence la difficulté d'échantillonner convenablement des individus appartenant à l'espèce de pucerons souhaitée. Nous avons constaté la présence, sur la plupart des prélèvements de plusieurs espèces qui étaient parfois difficile à distinguer morphologiquement. Cela rend problématique le traitement des prélèvements et complique la mise en place d'une surveillance efficace. Le choix de réaliser les analyses par séquençage en 2019 et 2020 permet à la fois de géotyper deux codons impliqués dans la résistance de cible aux pyréthrinoïdes, mais aussi de vérifier la fiabilité de l'échantillonnage réalisé au laboratoire en termes d'espèce choisie.

Les thématiques de ces plans de surveillance seront poursuivies afin de surveiller l'évolution des résistances aux pyréthrinoïdes impliquant une modification de la cible chez ces espèces, pas ou peu concernées pour le moment par ces phénomènes de résistance.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Jacques Grosman, expert national vigne et animateur du réseau des experts nationaux de la protection des végétaux ainsi que toutes les personnes qui ont participé à la collecte et à l'envoi des prélèvements.

BIBLIOGRAPHIE

Carletto J., Martin T., Vanlerberghe-Masutti F., Brevault T., 2010 - Insecticide resistance traits differ among and within host races in *Aphis gossypii*. *Pest Management Science*, 66, 301-307.

Cassanelli S., Cerchiari B., Giannini S., Bizzaro D., Mazzoni E., Manicardi G.-C., 2005 - Use of the RFLP-PCR diagnostic test for characterizing MACE and kdr insecticide resistance in the peach potato aphid *Myzus persicae*. *Pest Management Science*, 61, 91-96.

Consortium I.A.-G., 2010 - Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLOS biology*, 8, e1000313.

Eleftherianos I., Foster S., Williamson M., Denholm I., 2008 - Characterization of the M918T sodium channel gene mutation associated with strong resistance to pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Bulletin of Entomological Research*, 98, 183.

Fontaine S., Caddoux L., Brazier C., Bertho C., Bertolla P., Micoud A., Roy L., 2011 - Uncommon associations in target resistance among French populations of *Myzus persicae* from oilseed rape crops. *Pest management science*, 67, 881-885.

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, 1249-1253.

Ingles P.-J., Adams P.-M., Knipple D.-C., Soderlund D.-M., 1996 - Characterization of voltage-sensitive sodium channel gene coding sequences from insecticide-susceptible and knockdown-resistant house fly strains. *Insect biochemistry and molecular biology*, 26, 319-326.

Marshall K.-L., Moran C., Chen Y., Herron G.-A., 2012 - Detection of kdr pyrethroid resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), using a PCR-RFLP assay. *Journal of Pesticide Science*, 37, 169-172.

Morin S., Williamson M., Goodson S., Brown J.-K., Tabashnik B.-E., Dennehy T., 2002 - Mutations in the *Bemisia tabaci* para sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect biochemistry and molecular biology*, 32, 1781-1791

Rinkevich F.-D., Du Y., Dong K., 2013 - Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pesticide biochemistry and physiology*, 106, 93-100.

Rufingier C., Schoen L., Martin C., Pasteur N., 1997 - Resistance of *Nasonovia ribisnigri* (Homoptera: Aphididae) to five insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 90, 1445-1449.

Usherwood P.-N.-R., Vais H., Khambay B.-P.-S., Davies T.-G.-E., Williamson M.-S., 2005 - Sensitivity of the *Drosophila* para sodium channel to DDT is not lowered by the super-kdr mutation M918T on the IIS4-S5 linker that profoundly reduces sensitivity to permethrin and deltamethrin. *FEBS letters*, 579, 6317-632

ANNEXE I : Origine des prélèvements reçus selon les espèces

Référence Prélèvement	Bioagresseur espèce	Nombre de Pucerons échantillonnés	Département	Culture Hôte
18-0079	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	EURE-ET-LOIR	POIS PROTEAGINEUX
18-0080	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	LOIR-ET-CHER	POIS PROTEAGINEUX
19-0160	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	LOIR-ET-CHER	POIS PROTEAGINEUX
19-0161	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	LOIR-ET-CHER	POIS PROTEAGINEUX
19-0163	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	EURE-ET-LOIR	POIS PROTEAGINEUX
19-0190	ACYRTHOSIPHON PISUM	18	SOMME	POIS MARAICHER
20-0064	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	LOIRET	POIS PROTEAGINEUX
20-0065	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	LOIRET	POIS PROTEAGINEUX
20-0117	ACYRTHOSIPHON PISUM	30	YONNE	POIS PROTEAGINEUX
20-0119	APHIS FABAE	30	SOMME	FEVE
20-0120	APHIS FABAE	30	SOMME	FEVE
17-0181	SITOBION AVENAE	30	CHER	CEREALES DIVERS
17-0182	SITOBION AVENAE	17	CHER	CEREALES DIVERS
17-0184	SITOBION AVENAE	7	PYRENEES- ATLANTIQUE	CEREALES DIVERS
17-0185	SITOBION AVENAE	14	PYRENEES- ATLANTIQUE	CEREALES DIVERS
17-0186	SITOBION AVENAE	5	PYRENEES- ATLANTIQUE	CEREALES DIVERS
17-0187	SITOBION AVENAE	3	PYRENEES- ATLANTIQUE	CEREALES DIVERS
18-0199	SITOBION AVENAE	30	NORD	CEREALES DIVERS
18-0303	SITOBION AVENAE	1	LOIRET	ORGE
19-0179	SITOBION AVENAE	30	LOIR-ET-CHER	CEREALES DIVERS
19-0185	SITOBION AVENAE	29	LOIR-ET-CHER	CEREALES DIVERS
19-0188	SITOBION AVENAE	30	SOMME	CEREALES DIVERS
19-0209	SITOBION AVENAE	30	NORD	CEREALES DIVERS
20-0074	SITOBION AVENAE	30	EURE-ET-LOIR	CEREALES DIVERS
20-0075	SITOBION AVENAE	6	SOMME	CEREALES DIVERS
20-0076	SITOBION AVENAE	20	SOMME	CEREALES DIVERS
20-0096	SITOBION AVENAE	30	MARNE	CEREALES DIVERS
20-0097	SITOBION AVENAE	17	HAUTE-MARNE	CEREALES DIVERS
20-0116	SITOBION AVENAE	26	YONNE	ORGE
20-0135	SITOBION AVENAE	30	YONNE	MAIS
20-0136	SITOBION AVENAE	15	NORD	CEREALES DIVERS
20-0148	SITOBION AVENAE	28	ESSONNE	CEREALES DIVERS