

VÉGÉPHYL – 12^{ÈME} CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES RAVAGEURS ET AUXILIAIRES EN
AGRICULTURE

26, 27 ET 28 OCTOBRE 2021 - MONTPELLIER SUPAGRO

**SUIVI DES RESISTANCES AUX PYRETHRINOÏDES DES POPULATIONS DE COLEOPTERES RAVAGEURS DU COLZA
EN FRANCE**

C.ROBERT ⁽¹⁾, L.RUCK ⁽²⁾, J.CARPEZAT ⁽¹⁾, A.LAUVERNAY ⁽¹⁾

⁽¹⁾Terres Inovia, Avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval Grignon, France

⁽²⁾Terres Inovia, Chambre d'Agriculture Marne, Complexe agricole du Mont Bernard, Route de Suippes, CS
90525, 51009 CHALONS EN CHAMPAGNE cedex, France
Mèl : c.robert@terresinovia.fr

RÉSUMÉ

Les principaux ravageurs du colza appartiennent à la famille des coléoptères. Pendant de nombreuses années, Terres Inovia et ses partenaires, dans le cadre du groupe « Résistance » de Végéphyll, ont suivi l'évolution des résistances chez cet ordre d'insectes. Ce monitoring s'est accompagné de mises au point de méthodes au sein du laboratoire de Génétique et Protection des Cultures de Terres Inovia qui ont permis d'identifier les mécanismes de résistance impliqués et d'améliorer le monitoring.

Aujourd'hui, les populations de méligèthes sont considérées comme résistantes aux pyrèthrinoïdes sur tout le territoire. Chez l'altise d'hiver et le charançon du bourgeon terminal, les résistances aux pyrèthrinoïdes progressent. Sur altises d'hiver, en particulier, certaines populations présentent la mutation M918L dites « skdr » (super knock-down resistance) qui confèrent un très fort niveau de résistance. Cette mutation historiquement présente dans l'Yonne a été détectée dans de nouveaux départements y compris dans des départements très éloignés. Chez ce ravageur, d'autres mécanismes ont été identifiés, principalement des mutations L1014F, dite « kdr » qui sont présentes sur un très grand nombre de populations sur le territoire. Sur le charançon du bourgeon terminal, deux mécanismes de résistance principaux ont été identifiés : de la résistance par mutation de cible (L1014F) et par détoxification (forte suspicion). Si les résistances sont bien installées chez ces trois ravageurs, ce n'est pas encore le cas des petites altises, des charançons de la tige du colza, du chou et des siliques. Cependant, pour certains d'entre eux, de premières mutations ont été détectées. La poursuite du monitoring pour ces espèces prend tout son sens afin de fournir un conseil de traitement adapté et ainsi conserver l'efficacité des insecticides le plus longtemps possible.

Mots-clés : colza, coléoptères, altise d'hiver, résistance, pyrèthrinoïdes, *Psylliodes chrysocephala*, *Ceutorhynchus picipitarsis*.

ABSTRACT

PYRETHROIDS RESISTANCE MONITORING IN FRENCH COLEOPTERA POPULATIONS IN OILSEED RAPE

The main pests of oilseed rape belong to the Coleoptera order. For many years, Terres Inovia and its partners, within the framework of the "Resistance" group of Vegephyll, have followed their resistance evolution. This monitoring has been supported by a major work to develop methods by the Genetics and Crop Protection laboratory of Terres Inovia. These new methods allow the identification of the involved resistance mechanisms and the reduction of the number of samples.

Today, pollen beetle populations are considered to be resistant to pyrethroids throughout the territory. Pyrethroid resistance is increasing for cabbage stem flea beetles and rape winter stem weevils populations. Some populations of cabbage stem flea beetle populations present M918L mutations (skdr - super knock-down resistance) which confer a very high level of resistance. This mutation, historically present in the Yonne, has been detected in new departments, including very remote ones. For this species, other mechanisms have been identified (mainly L1014F mutations-kdr- knock-down resistance) which is present in a very large number of populations on the territory. In rape winter stem weevil populations, two main resistance mechanisms have been identified: target gene mutation (L1014F) and resistance by detoxification is strongly suspected. Although resistance is well established on these three pests, this is not yet the case for the *Phyllotreta* sp., the cabbage stem weevil, the rape stem weevil and the cabbage seedpod weevil. However, the first pyrethroid mutations have been detected for some of them. It makes sense to continue monitoring these species in order to provide appropriate treatment advice and thus maintain the effectiveness of the insecticides as long as possible.

Keywords: oilseed rape, coleoptera, resistance, pyrethroids, *Psylliodes chrysocephala*, *Ceutorhynchus picipitarsis*.

INTRODUCTION :

Le colza est une culture visitée par de nombreux insectes ravageurs, pollinisateurs et auxiliaires. Les principaux ravageurs appartiennent à la famille des coléoptères, parmi lesquels les petites altises ou altises des crucifères (complexe d'espèces appartenant au genre *Phyllotreta*), l'altise d'hiver ou grosse altise (*Psylliodes chrysocephala* Linnaeus 1758), le charançon du bourgeon terminal (*Ceutorhynchus picipitarsis* Gyllenhal 1837), le charançon de la tige du colza (*Ceutorhynchus napi* Gyllenhal 1837) et du chou (*Ceutorhynchus pallidactylus* Marsham, 1802), le mélégière (*Brassicogethes aeneus* Fabricius, 1775) et le charançon des siliques (*Ceutorhynchus obstrictus* Marsham, 1802). La lutte contre ces insectes repose en grande partie sur l'utilisation d'insecticides et dans une moindre mesure sur des solutions agronomiques, aucune solution de biocontrôle n'étant suffisamment efficace aujourd'hui au champ. Les Indices de Fréquence de Traitements (IFT) insecticides moyens (2,4) représentent près d'un tiers des IFT appliqués sur la culture (Agreste, 2019). Depuis la fin des années 70, les pyréthrinoides constituent l'une des principales famille chimique utilisée.

Ces dernières années, plusieurs ravageurs du colza ont développé des résistances à cette famille chimique en France : le puceron vert du pêcher vers 1997 (Ballanger, 1999) suivi en 1999 des mélégières (Ballanger et Detourne, 2011). En 2014-2015, les premières populations résistantes d'altises d'hiver et de charançon du bourgeon terminal ont été mises en évidence (Robert *et al.*, 2017). En 2017, des mutations ont été détectées dans des populations de charançons de la tige du colza et du chou.

A la suite des problèmes rencontrés sur mélégières en 1999, le groupe de travail de l'Association Française de Protection des Plantes « Résistances » a été créé afin de suivre l'évolution de la sensibilité de cet insecte aux insecticides. Depuis 2015, les travaux se poursuivent et le groupe de travail « Résistances » de l'association Végéphyll a étendu son domaine d'investigation à d'autres ravageurs des grandes cultures. Il existe de nombreux mécanismes de résistance aux pesticides (R4P *et al.*, 2016). Les plus communs responsables de résistances aux insecticides peuvent être classés en 3 groupes (Liu, 2012) :

- La résistance métabolique : l'insecte surproduit en plus ou moins grande quantité des enzymes capables de dégrader ou d'inhiber les insecticides. 3 familles d'enzymes sont impliquées : les monooxygénases à cytochrome P450 (P450s), les hydrolases et les glutathion-S-transférases (GSTs) et les carboxylestérases (CbEs).
- La résistance de cible : des mutations dans la cible moléculaire entraînent des modifications structurales sur le site de fixation de l'insecticide. Pour les pyréthrinoides cette cible est le canal sodium voltage dépendant responsable de la transmission de l'influx nerveux au niveau de l'axone.
- Une réduction de la pénétration de l'insecticide à travers la cuticule.

Cet article vise à présenter un état des lieux des niveaux de résistance et des mécanismes impliqués sur altises des crucifères, altises d'hiver, charançons du bourgeon terminal, charançons de la tige du colza et du chou, charançon des siliques.

MATERIEL ET MÉTHODE

ECHANTILLONS ANALYSES :

Des populations d'altises des crucifères (*Phyllotreta* sp.), d'altise d'hiver (*Psylliodes chrysocephala*), de charançons du bourgeon terminal (*C. picipitarsis*), de charançons de la tige du colza (*C. napi*) et du chou (*C. pallidactylus*), de charançon des siliques (*C. obstrictus*) ont été prélevées de 2015 à 2021, grâce à une mobilisation de nombreux acteurs locaux, dans l'objectif de couvrir au maximum le territoire français. Chaque échantillon est constitué d'une population correspondant à un ensemble d'individus (adulte ou larve) appartenant à une même espèce et collecté sur une zone restreinte d'une parcelle agricole. Selon les tests, les insectes utilisés doivent être vivants ou peuvent être morts. Selon les espèces et les périodes de l'année, les adultes vivants sont récupérés grâce à des cuvettes jaunes, par fauchage ou battage. Les larves d'altises d'hiver, de charançons du bourgeon terminal, de la tige du colza et du chou

sont récupérées en disséquant les plantes et plongées vivantes dans de l'alcool à 96° non dénaturé pour éviter la dégradation de l'ADN.

Le nombre de populations collectées depuis la campagne 2015 est regroupé dans le tableau I.

	Altise des crucifères	Altise d'hiver	Charançon du bourgeon terminal	Charançon de la tige du colza	Charançon de la tige du chou	Charançon des siliques
Adultes	11	106	77	13	18	34
Larves	0	431	136	7	7	0

Tableau I Nombre de populations collectées de 2015 à 2021.

Number of collected populations from 2015 to 2021.

METHODES D'ANALYSES EN LABORATOIRE :

Différents tests ont été réalisés sur les populations de ravageurs collectés, afin de caractériser les niveaux et les mécanismes sous-jacents de résistance aux pyréthrinoïdes. Le nombre d'insectes collectés étant limitant, il n'a été possible de réaliser toute la gamme d'analyses possibles que sur quelques populations. Les analyses se faisant de manière continue au cours de l'année, dans cet article, sont regroupées les résultats des analyses faites jusque fin juin 2021.

Analyses moléculaires :

Les tests moléculaires permettent d'analyser le fragment du gène du canal sodium présentant la majorité des mutations responsables de baisse d'efficacité des pyréthrinoïdes (Rinkevich *et al.*, 2013) : positions protéiques 906 à 1015 pour l'altise d'hiver, et 917 à 1015 pour les différentes espèces de charançons.

Sur la grande majorité des populations, le fragment est séquencé ce qui permet de détecter la majorité des substitutions d'acides aminés connues comme pouvant conférer de la résistance. Sur quelques populations d'altises d'hiver, seules les mutations M918L ont été recherchées et pour quelques populations de charançons du bourgeon terminal, seule la mutation L1014F. Les petites altises regroupant plusieurs espèces, la détection des mutations par analyses moléculaires n'a pas été mise au point.

Entre 10 et 20 individus au stade adulte ou larvaire, ont été analysés pour chaque population. Les individus ont été transférés individuellement dans des tubes de 1,5 ml contenant une bille en métal de 3 mm de diamètre, et broyés 30 secondes à l'aide d'un broyeur Precellys (OZYME). Après centrifugation, 100 µl de tampon d'extraction Tris/KCl/EDTA (Délye *et al.*, 2009) ont été ajoutés dans chaque tube. Les réactions PCR d'amplification du gène du canal sodium ont été réalisées dans un volume réactionnel de 20µL, dont 5µL de broyat dilué au 1/50^e. Un couple d'amorce spécifique du gène du canal sodium a été utilisé pour chacune des deux espèces. Le produit d'amplification a été alors séquencé (séquençage SANGER). Les chromatogrammes ont été alignés avec un témoin sensible à l'aide du logiciel ChromasPro (Technelysium Pty Ltd) afin d'identifier des substitutions d'acides aminés.

Biotests flacons :

L'évaluation des niveaux de sensibilité des coléoptères aux pyréthrinoïdes est réalisée en exposant en laboratoire les populations à différentes doses de λ-cyhalothrine et en calculant des taux de mortalités. Afin d'identifier la résistance par détoxification, les insectes sont exposés à la λ-cyhalothrine, en présence et en l'absence d'inhibiteurs des enzymes de détoxification des insecticides. Si, en présence de ces inhibiteurs, le taux de mortalité des insectes mis en contact avec l'insecticide augmente plus que sur les références sensibles, alors la population présente une résistance de type métabolique.

Une gamme de concentration de λ-cyhalothrine, ainsi que des solutions de butoxyde de pipéronyle (PBO), inhibiteur des monooxygénases à cytochrome P450 (MFOs), de maléate de diéthyle (DEM),

inhibiteur des carboxylestérases, et de S, S, S-tributyl phosphorotrithioate (DEFs), inhibiteur des glutathion-S-transférases (GSTs), ont été réalisées par dilution dans de l'acétone. Des flacons en verre ont ensuite été traités avec 200 µl de ces solutions : la λ-cyhalothrine seule, la λ-cyhalothrine additionnée des 3 inhibiteurs et l'acétone seule (témoin). Les flacons ont été placés sur un agitateur roulant pour répartir de façon homogène la solution sur la surface interne. L'acétone a été ensuite éliminée par évaporation sous sorbonne.

Une vingtaine d'individus pleinement actifs sont déposés par flacon (le test est réalisé pour 2 flacons par dose de λ-cyhalothrine). Pour chaque population, 2 flacons témoins sont utilisés afin de déterminer la mortalité naturelle. Les flacons sont incubés à 20°C pendant 24h avec une photopériode de 12h d'éclairement pour 12h d'obscurité. Les insectes vivants et morts dans chaque flacon sont ensuite dénombrés.

La collecte d'insectes vivants au champ étant un facteur limitant, pour chaque espèce, des doses à tester en priorité ont été déterminées. Ces doses sont considérées comme les plus discriminantes. En l'absence d'inhibiteurs, la dose choisie est celle qui permet de tuer 98% des individus dans les populations les plus sensibles (comm. pers. Siegwart). En présence d'inhibiteurs, la dose la plus discriminante est la dose pour laquelle le niveau de restauration de l'efficacité des insecticides, est la plus élevée.

Les concentrations d'inhibiteurs utilisées sont 50 ng/cm² de PBO, 25 ng/cm² de DEM et 25 ng/cm² de DEF. Ces inhibiteurs ont été testés seuls ou conjointement, sans insecticides et aucune mortalité n'a été observée. Chez l'altise d'hiver, si le taux de mortalité avec l'ajout d'inhibiteurs dépasse 50%, la population est considérée comme présentant de la résistance métabolique (Bothorel *et al.*, 2018).

Lorsque le nombre d'individus a permis de tester au moins 4 doses de λ-cyhalothrine pour une même population, la dose létale permettant de tuer 50% de la population (DL₅₀) a été calculée à l'aide du logiciel Win DL V2.0 (CIRAD).

ANALYSES DE DONNEES :

Les représentations graphiques et les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 3.6.2).

Les rapports de DL₅₀ ont été calculés en faisant le rapport de la DL₅₀ moyenne des 10% des populations les plus sensibles et des 10% des populations les plus résistantes.

Afin d'étudier le lien entre le taux de mortalité en tests flacons et le pourcentage d'individus homozygotes résistants, des modèles linéaires entre les deux variables ont été recherchés. Les modèles sont validés lorsque les résidus respectent les hypothèses de normalité et d'homoscédasticité. Lorsque malgré les transformations de variables, les hypothèses ne sont pas respectées, des coefficients de corrélation via un test de Kendall ont été calculés.

RESULTATS

ALTISES D'HIVER

Analyses des résistances par mutation de cible (figure 1):

Des mutations du gène codant pour le canal sodium et connues pour conférer de la résistance chez les altises d'hiver (Zimmer *et al.*, 2014) et sur d'autres espèces (Rinkevich *et al.*, 2013) ont été observées dans toutes les populations analysées, à l'exception de 6 populations de l'Est de la France collectées en 2016, 2017 et 2019 (Meurthe-et-Moselle, Haute-Saône, Jura, Rhône et Bas-Rhin).

La mutation majoritairement observée est la mutation L1014F, dite « kdr » observée à l'état hétérozygote ou homozygote dans 95% des populations analysées, et qui semble fixée (100%

d'homozygotes) dans 5% des populations (en particulier en Normandie, Poitou-Charentes, Haut-de-France).

La mutation M918L dite « skdr » est également observée dans 30% des populations analysées. Cette mutation est toujours associée dans les individus à la mutation P909S (non référencée), et n'est jamais associée à la mutation « kdr » L1014F à l'état homozygote. Cette mutation est notamment fixée dans 17% des populations analysées de l'Yonne et 13% des populations analysées de Côte d'Or. Elle est très présente également dans le sud de la Marne, l'Aube, la Nièvre, la Haute-Marne, le Jura et la Haute-Saône et à des taux moindres dans 21 autres départements.

Deux autres mutations répertoriées comme induisant de la résistance, ont également été détectées : les mutations T929N et L925I sont observées seules ou en mélange avec d'autres mutations au sein des populations dans respectivement 24 et 13% des échantillons ; elles sont retrouvées un peu partout sur le territoire et sont plus fréquentes dans les populations du Sud-Ouest. Lorsqu'elles sont détectées, en moyenne 6% des individus sont homozygotes pour ces mutations.

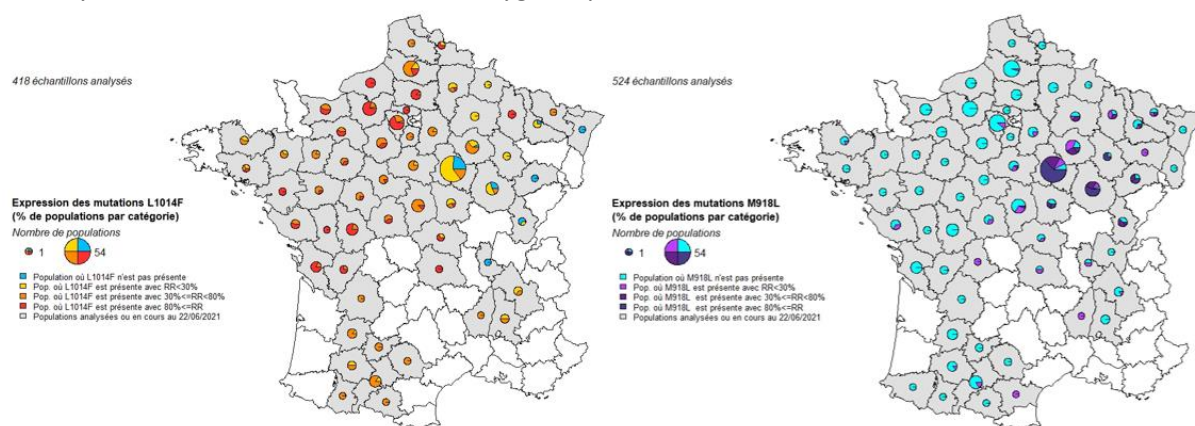
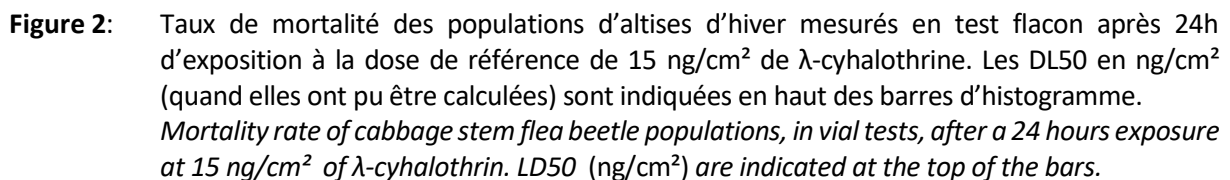


Figure 1 Fréquence de détection de mutations L1014F (a), M918L (b) dans les populations d'altises d'hiver (larves ou adultes) collectées de 2015 à 2021. RR= individus homozygotes résistants. *Detection frequency of L1014F (a), M918L (b) mutations in *Psylliodes chrysocephala* populations (adults or larvae) collected from 2015 to 2021. RR= homozygous resistant insects.*

Biotests flacons (tests biologiques) :

Des tests biologiques de résistance aux pyréthriinoïdes ont été réalisés sur 75 populations d'adultes à la dose de référence. Pour 16 d'entre elles, il a été possible de calculer une DL₅₀. Le taux de mortalité observé dans ces tests, après 24H d'exposition à la dose de 15 ng/cm² de λ-cyhalothrine est très variable entre populations (figure 2). Ils sont particulièrement faibles dans l'Yonne et la Côte d'Or avec des taux de mortalité variant entre 0 et 31% et des DL₅₀ comprises entre 72 et 186 ng/cm². Dans les autres départements, les taux de mortalité sont compris entre 52 et 100% et les DL₅₀ sont inférieures à 10 ng/cm² (figure 2). Le rapport de DL₅₀ entre 10% des populations les plus sensibles (soit 2 populations) et 10% des populations les plus résistantes s'élève à 93.

A la dose de 15 ng/cm², la plupart des populations d'altises testées ont des taux de mortalité supérieures à 50% en l'absence d'inhibiteurs, ce qui ne permet pas de mettre en évidence une éventuelle résistance métabolique. La dose de 3.75 ng/cm² est la dose la plus discriminante. Parmi les 10 populations testées à cette dose, 3 populations situées dans les départements du Calvados (14), de la Haute-Garonne (31) et du Morbihan (56) voient leur taux de mortalité augmenter de plus de 50% en présence d'inhibiteurs et peuvent présenter de la résistance par voie de détoxification.



A partir de la campagne 2016, des analyses moléculaires ont été faites sur 90% des populations sur lesquelles un test flacon a été réalisé. Sur 10 populations, des tests avec inhibiteurs ont été conduits à la dose de 3.75 ng/cm² de λ -cyalothrine. L'analyse de la corrélation entre la proportion d'individus porteurs des différentes mutations et le taux de mortalité en tests flacons montrent :

- L'absence de corrélation avec le pourcentage d'individus homozygotes KDR (L1014F). Dans cette analyse, toutes les populations présentant également des mutations M918L (SKDR) n'ont pas été prises en compte.
- Une corrélation négative de -0.53 très significative ($p=3 \times 10^{-7}$) avec le pourcentage d'individus homozygotes présentant la mutation M918L (toujours associée à la mutation P909S) (figure 3).

Le nombre de populations analysées en tests flacons et présentant des mutations L925I ou T929N est trop faible pour que l'analyse de corrélation avec chacune de ses mutations soit faite. Aucun lien entre la résistance par détoxification et par mutation de cible n'est mis en évidence.

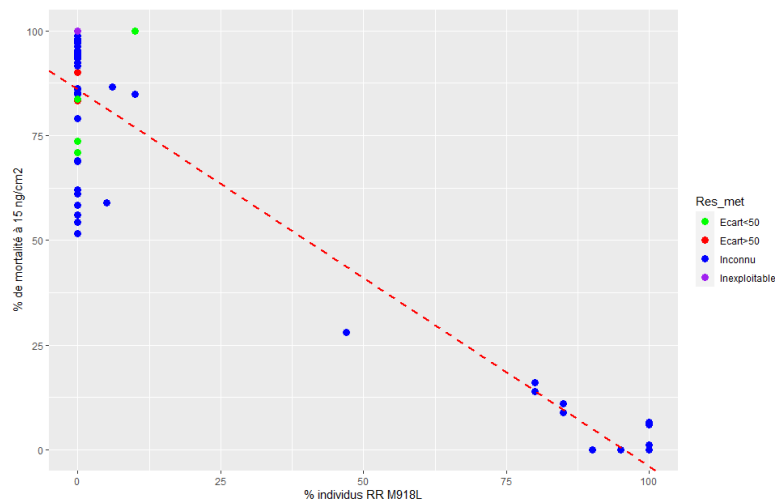


Figure 3 : Relation entre la fréquence des mutations M918L (et P909S) dans les populations d'altises d'hiver et leur sensibilité à la λ -cyhalothrine (dose de 15 ng/cm² de λ -cyhalothrine). La couleur du point varie en fonction de l'écart de mortalité, en présence d'inhibiteurs (à la dose de 3.75 ng/cm² de λ -cyhalothrine).

Relationship between the frequency of M918L (and P909S) mutations in Ceutorhynchus picitarsis populations and their sensitivity to λ -cyhalothrine (dose of 15 ng / cm²). The color of the spot varies depending on the difference in mortality, in the presence of inhibitors (at a dose of 3.75 ng / cm² of λ -cyhalothrin).

CHARANÇONS DU BOURGEON TERMINAL :

Analyses des résistances par mutation de cible (analyses moléculaires) :

La mutation L1014F est la principale mutation mise en évidence : elle est détectée dans 78% des échantillons et est fixée dans 18% d'entre eux (figure 4). La mutation M918L n'a jamais été observée. Quelques populations présentent d'autres mutations en faible proportion (<10% des individus homozygotes) : L925I et T929N. Plusieurs mutations peuvent cohabiter au sein d'une même population, mais chaque individu ne présente qu'une seule mutation à l'état homozygote.

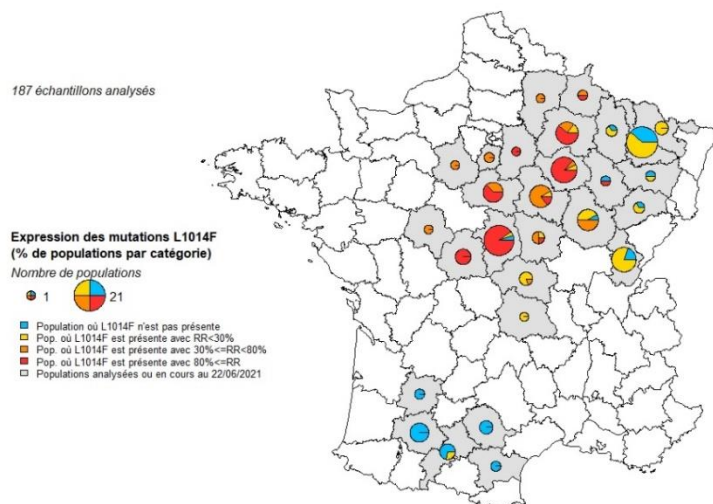


Figure 4 Fréquence de détection des mutations L1014F dans les populations de charançon du bourgeon terminal (adultes ou larves) collectées de 2015 à 2021. RR= individus homozygotes résistants.

Detection frequency of L1014F mutations in Ceutorhynchus picitarsis populations (adults or larvae) collected from 2015 to 2021. RR= homozygous resistant insects.

Biotests flacons (tests biologiques) :

Des tests biologiques de résistance aux pyréthrinoïdes ont été réalisés sur un total de 51 populations de charançon du bourgeon terminal adulte à la dose de référence de 15 ng/cm² de λ-cyhalothrine. Le taux de mortalité observé dans ces tests, après 24H d'exposition varie entre 7% pour les populations les plus résistantes (dans le Cher, le Loiret, l'Aube, et l'Yonne) à 100% pour les populations les plus sensibles du Puy-de-Dôme ou du Gers (Figure 5).

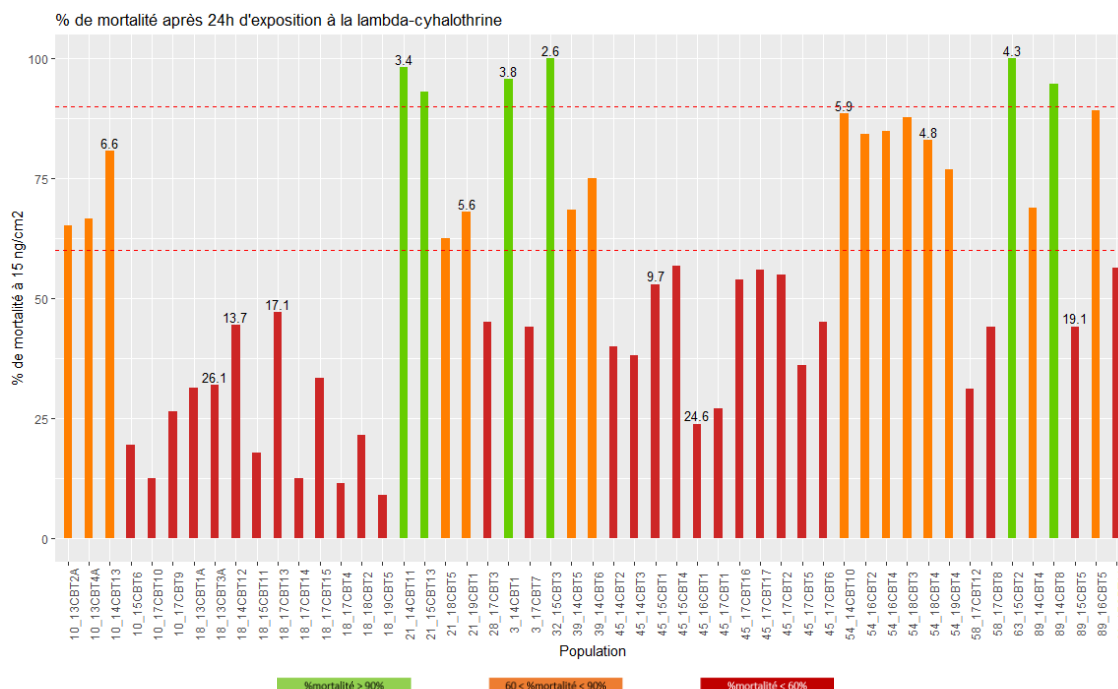


Figure 5 : Taux de mortalité des populations de charançons du bourgeon terminal mesurés en test flacon après 24h d'exposition à la dose de référence de 15 ng/cm² de λ-cyhalothrine. Les DL50 en ng/cm² (quand elles ont pu être calculées) sont indiquées en haut des barres des histogrammes .

*Mortality rate of *Ceutorhynchus picipitarsis* populations, in vial tests, after a 24 hours exposure to 15ng/cm² of λ-cyhalothrin. LD50 (ng/cm²) are indicated at the top of the bars*

Contrairement aux altises d'hiver, il n'a pas été possible de tester pour une même population de charançons, plusieurs doses de λ-cyhalothrine. Pour cette espèce, le seuil au-delà duquel une population présente de la résistance métabolique n'a donc pas pu être établi.

L'écart de mortalité en l'absence et en présence d'inhibiteurs est très variable d'une population à l'autre puisqu'il varie de +0% à +82% (figure 6).

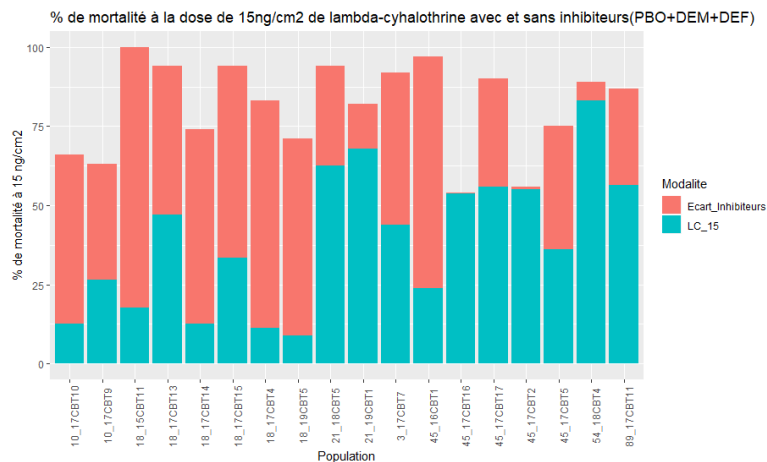


Figure 6 : Résultats des tests de détection de la résistance métabolique sur populations de charançons du bourgeon terminal.
 Test results to detect detoxification resistance in rape winter stem weevil populations. *mortality increased by the addition of insecticide inhibitors (PBO+DEM+DEF) showing detoxification resistance.*

Corrélations entre tests flacons (tests biologiques) et résistance liée à la cible (analyses moléculaires) :

Les tests biologiques classiques et les recherches de mutations de cibles (mise en évidence uniquement de mutations L1014F) ont été réalisés simultanément sur 33 populations. Pour 18 d'entre elles, il a également été possible de faire un test avec inhibiteurs.

Une relation linéaire significative est mise en évidence entre le pourcentage d'individus homozygotes L1014F et le taux de mortalité en tests flacons à la dose de 15 ng/cm² : % mortalité = 89.84 – 0.66 x % RR L1014F. Le coefficient de détermination R² est égal à 74%.

Les niveaux de détoxification les plus élevés sont trouvés sur les populations présentant les pourcentages d'individus homozygotes L1014F les plus importants.

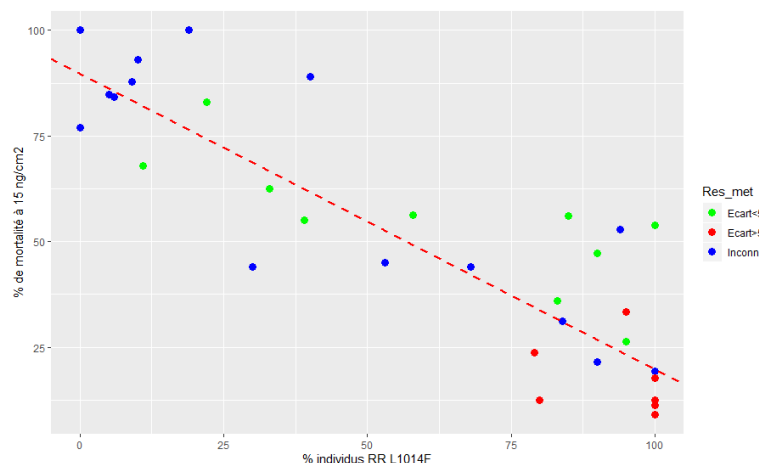


Figure 7 : Corrélation entre la fréquence de la mutation L1014F dans les populations de charançons du bourgeon terminal et leur sensibilité à l'insecticide (dose de 15 ng/cm² de λ-cyhalothrine). La couleur du point varie en fonction de l'écart de mortalité, en présence d'inhibiteurs (à la dose de 15 ng/cm² de λ-cyhalothrine).
Relationship between the frequency of L1014F in Ceutorhynchus picitarsis populations and their sensitivity to λ-cyhalothrin (dose of 15 ng / cm²). The color of the spot varies depending on the difference in mortality, in the presence of inhibitors (at a dose of 15 ng / cm² of λ-cyhalothrin).

AUTRES ESPECES

Altises des crucifères (*Phyllotreta* sp.) :

La dose de référence permettant de discriminer au mieux les petites altises est de 3.75 ng/cm². A cette dose, le taux de mortalité varie entre 25% (une population de la Nièvre) et 97%. Le rapport de résistance entre la population la plus sensible et la population la plus résistante est de 7.9.

Charançon de la tige du colza (*Ceutorhynchus napi*) :

Trop peu de tests flacons ont pu être réalisés pour que les résultats soient présentés ici.

Concernant la mise en évidence de résistance par mutation de cible, seule la mutation L1014F a été détectée dans les populations. Sur les 17 populations testées, deux présentent ces mutations, à des taux inférieurs à 30%.

Charançon de la tige du chou (*Ceutorhynchus pallidactylus*) :

Pour les tests flacons sans inhibiteurs, la dose de 3.75 ng/cm² est la dose la plus discriminante. Les taux de mortalité à cette dose varient entre 52 et 88%. Des DL50 ont pu être estimées pour 2 populations et s'élèvent à 2 et 3.8 ng/cm²

Comme pour les charançons de la tige du colza, seule la mutation L1014F a été détectée. Sur les 19 populations analysées, 5 populations présentent entre 5 et 22% d'individus homozygotes.

Charançon des siliques (*Ceutorhynchus obstrictus*) :

Les taux de mortalités varient entre 52 et 100% à la dose discriminante de 0.75 ng/cm² de L-cyhalothrine. Les DL50 varient entre 0.13 et 0.74. Le rapport de résistance entre les 2 populations les plus sensibles et les 2 populations les plus résistantes est de 5.7.

Sur les 23 populations analysées par biologie moléculaire, des mutations L1014F et M918I ont été mises en évidence respectivement sur 52 et 4% des populations à l'état homozygote ou hétérozygote.

DISCUSSION, CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ces travaux de monitoring révèlent que les mécanismes de résistance aux pyréthriinoïdes de l'altise d'hiver et du charançon du bourgeon terminal mis en évidence sont de plus en plus fréquents.

Sur altise d'hiver, très peu de populations ne présentent pas aujourd'hui de mutations pouvant conférer de la résistance. La mutation L1014F (« kdr ») reste prédominante mais la mutation M918L (« skdr ») associée à la mutation P909S, historiquement présente dans l'Yonne, l'Aube, la Côte d'Or et la Nièvre est de plus en plus détectée dans les départements limitrophes et fait son apparition dans de nouveaux départements. La proportion d'individus homozygotes résistants est maintenant également élevée dans le sud de la Marne, la Haute-Marne, le Jura et la Haute-Saône tandis qu'elle reste encore faible dans les autres départements. Cependant, si la fréquence d'utilisation des pyréthriinoïdes est trop importante dans les départements où la mutation M918L est peu présente, cette mutation pourrait s'installer rapidement dans les populations. Or, les corrélations entre le taux de mortalité en bio-tests et la proportion d'individus homozygotes L1014F et M918L démontrent que les niveaux de résistance les plus élevés sont corrélés avec la présence de la mutation M918L. Ce résultat est confirmé par les retours d'efficacité au champ : les plus grandes difficultés de gestion s'observent dans les départements où la mutation M918L est présente en forte proportion ; dans les secteurs où la mutation L1014F est présente, l'efficacité des pyréthriinoïdes est plus variable (environ 45% en moyenne). Sur altise d'hiver, des résistances métaboliques ont également été mises en évidence mais qui semblent conférer des niveaux de résistance moindres que les mutations M918L. En Allemagne, Grande-Bretagne et Danemark, des mutations « kdr » (L1014F) ont également été détectées sur ce ravageur, mais aucune mutation « skdr » n'a été mise en évidence (Højland *et al.*, 2015; Heimbach and Brandes, 2016). En Allemagne et au Danemark, contrairement au Royaume-Uni et à la France, une corrélation est trouvée entre la fréquence de la mutation L1014F dans

les populations et le niveau de résistance (Højland and Kristensen, 2018). Cette différence est probablement liée à la présence de mécanismes de résistance différents entre pays. Au Royaume-Uni, comme en France, de la résistance métabolique a par exemple été mise en évidence. Le rapport de résistance est du même ordre de grandeur au Royaume-Uni (81) qu'en France et plus faible en Allemagne (<25) (Højland *et al.*, 2015).

Sur charançon du bourgeon terminal, la mutation L1014F est très fréquente. Au démarrage du monitoring, elle était surtout présente dans le Centre et l'Est de la France, mais depuis quelques années, elle est également détectée dans le Sud-Ouest. Des premières mutations L1014F ont également été trouvées en Allemagne (Brandes et Heimbach, 2019). Chez ce ravageur, les niveaux de détoxification sont très variables d'une population à l'autre avec une augmentation supérieure à 50% dans certains cas en présence d'inhibiteurs des enzymes de détoxification. Les capacités de détoxification semblent étroitement liées à la présence de la mutation L1014F puisque les populations présentant les plus fortes capacités de détoxification sont aussi celles qui ont le plus d'individus homozygotes L1014F. Il semblerait que ces deux mécanismes soient sélectionnés en même temps. Pour cette espèce, il est donc difficile de découpler l'effet de chacun de ces deux mécanismes sur le niveau de sensibilité. Pour rappel, dans les secteurs où les mutations L1014F sont présentes, les efficacités des pyréthrinoides sont variables mais peuvent être fortement réduites.

Une baisse d'efficacité au champ se manifeste généralement lorsque les rapports de résistance dépassent 10. A ce jour nous disposons de peu de références pour les ravageurs autres que le charançon du bourgeon terminal et l'altise d'hiver. Concernant les altises des crucifères, le rapport est de 7.9 et l'évolution de ce ravageur est à suivre de près. Sur charançons de la tige du colza et du chou et sur charançons des siliques, des mutations pouvant conférer de la résistance ont été détectées. Pour la plupart, elles sont encore présentes en faible proportion dans les populations (<30%) (à l'exception de la mutation L1014F dans certaines populations de charançons des siliques). Un suivi de l'évolution des mutations M918I dans les populations de charançons des siliques est indispensable. En Allemagne, des mutations « kdr » ont également été détectées sur charançons des siliques ainsi que des pertes de sensibilité en tests flacons. En revanche, les niveaux de sensibilité en bio-tests des deux espèces de charançons de la tige restent élevées (Brandes et Heimbach, 2019). Actuellement, aucun problème d'efficacité au champ n'est remonté du terrain quant à la gestion des charançons de la tige et des siliques, contrairement aux altises des crucifères. Plusieurs hypothèses peuvent l'expliquer : la présence des altises des crucifères en très grand nombre quand elles sont présentes dans les parcelles, des phénomènes de réinfestation, voire des résistances qui n'auraient pas encore été détectées. Les petites altises étant constitués par un complexe d'espèces, la composition de chaque population analysée doit être connue. Certaines espèces pourraient être plus sensibles que d'autres.

Dans les zones où les résistances, en particulier par mutation, ne sont pas installées dans les populations, la diminution des traitements par la famille chimique concernée, peut permettre de ralentir l'évolution du phénomène afin de conserver une efficacité des produits le plus longtemps possible. Cependant, la difficulté rencontrée aujourd'hui pour gérer ces résistances est le faible nombre d'alternatives disponibles, rendant l'alternance très limitée notamment pour les ravageurs d'automne : seul le Phosmet peut être utilisé en alternance avec les pyréthrinoides. Dans ce contexte, la mise en place de mesures préventives comme des leviers agronomiques (date de semis, fertilisation, colza associé avec des légumineuses...) pour réduire la nuisibilité des attaques ou des leviers favorables à la régulation naturelle est plus que jamais indispensable.

REMERCIEMENTS

Nos remerciements vont à VEGEPHYL (anciennement AFPP), l'IRAC, l'INRA Avignon – département santé des plantes et environnement pour l'appui méthodologique, aux co-financeurs avec Terres Inovia et aux collecteurs (RSBT, Chambres d'agricultures, coopératives, SRAL, GEDA, négociants, firmes phytosanitaires, enseignement agricole, Laboratoire d'Eco-Entomologie, collaborateurs de TI ...); aux agriculteurs ayant mis à disposition leurs parcelles.

BIBLIOGRAPHIE

Agreste, 2019. Pratiques culturales en grandes cultures 2017 - IFT et nombre de traitements.

Ballanger Y., 1999 - Evolution in the difficulties related to aphids in winter oilseed rape crops in France, *In: GCIRC-10th International Rapeseed Congress*, 10.

Ballanger Y., Detourne D., 2011 - Résistance des méligèthes du colza (*Meligethes aeneus* F.) aux pyréthrinoïdes de synthèse : bilan de 12 années d'enquête, *In: AFPP – 9ème conférence internationale sur les ravageurs en agriculture*. Montpellier, France.

Bothorel S., Robert C., Ruck L., Carpezat J., Lauvernay A., Leflon M., Siegwart M., 2018 - Resistance to pyrethroid insecticides in cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*) and rape winter stem weevil (*Ceutorhynchus pictarisis*) populations in France, *In: IOBC-WPRS Bulletin*, 89–104.

Brandes M., Heimbach U., 2019 - Pyrethroids resistance of insect pests of oilseed rape in Germany, *In: 15th International Rapeseed Congress*, Berlin, 67.

Délye C., Boucansaud K., Pernin P., Le Corre V., 2009 - Variation in the gene encoding acetolactate-synthase in *Lolium* species and proactive detection of mutant, herbicide-resistant alleles. *Weed Research*, 49, 326–336.

Heimbach U., Brandes M., 2016 - Pyrethroid resistance of insect pest in oilseed rape in Germany since 2005, *In: Integrated Control in Oilseed Crops IOBC-WPRS Bulletin*, 17–22.

Højland, D. H. , Nauen R., Foster S.P., Williamson M.S., Kristensen M., 2015 - Incidence, spread and mechanisms of pyrethroid resistance in European populations of the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala* L (Coleoptera: Chrysomelidae). *PLoS ONE*, 10, 12, 1–11.

Højland D. H., Kristensen M., 2018 - Target-site and metabolic resistance against L-cyhalothrin in cabbage stem flea beetles in Denmark. *Bulletin of Insectology*, 71, 1, 45–49.

Liu N., 2012 - Pyrethroid Resistance in Insects: Genes, Mechanisms, and Regulation, *Insecticides - Advances in Integrated Pest Management*, Dr. Farzana Perveen (Ed.)

R4P, Barrès B., Micoud A., Corio-Costet M.F., Debieu D., Fillinger S., Walker A-S., Délye C., Grosman J., Siegwart M., 2016 - Trends and Challenges in Pesticide Resistance Detection. *Trends in plant Science*.

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.

Robert C., Ruck L., Carpezat J., Lauvernay A., Siegwart M., Leflon M., 2017 - Suivi des résistances des populations d'altises d'hiver (*Psylliodes chrysocephala*) et de charançon du bourgeon terminal (*Ceutorhynchus pictarisis*) aux pyréthrinoïdes en France en culture de Colza, *In: 11ème conférence internationale sur les ravageurs et auxiliaires en agriculture*. Montpellier, France.

Zimmer C. T., Müller A. Heimbach U. Nauen R. 2014 - Target-site resistance to pyrethroid insecticides in German populations of the cabbage stem flea beetle, *Psylliodes chrysocephala* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, 108, 1–7.