

PREMIERS CAS DE RESISTANCE AU FLONICAMIDE CHEZ *DYSAPHIS PLANTAGINEA*

C. MOTTET, E. SEGURA, B. BARRÈS

Anses – Laboratoire de Lyon, 31 Avenue Tony Garnier, 69364 LYON Cedex 07

Contact : claire.mottet@anses.fr

RÉSUMÉ

La lutte contre le puceron cendré du pommier, *Dysaphis plantaginea*, une des espèces les plus nuisibles sur pommier, repose sur un nombre restreint d'insecticides, parmi lesquels le flonicamide tient une place importante. Cet insecticide, qui agit par inhibition de la prise alimentaire, a été mis sur le marché en 2005. A ce jour, aucune résistance à cette substance active n'avait été décrite chez *D. plantaginea*.

Une méthode de mesure de la sensibilité par test biologique a été mise au point dans le cadre du plan de surveillance des résistances DGAI-Anses. Ce test par trempage de feuilles réalisé en gamme de dose a permis la caractérisation des premiers clones résistants au flonicamide. Une dose discriminante a pu être déterminée afin de cribler de manière simplifiée un grand nombre d'individus au sein des populations de pucerons prélevés. A ce jour, des clones résistants au flonicamide ont été détectés dans 15 populations de *D. plantaginea* sur 25 analysées en France au cours de 4 années. Les facteurs de résistance des clones isolés sont pour l'instant modérés. Dans un contexte général de réduction de la diversité des modes d'action, le flonicamide devient une molécule de plus en plus centrale dans la lutte contre les pucerons et certains insectes piqueurs-suceurs (aleurodes notamment). La surveillance de la situation vis-à-vis de la résistance au flonicamide doit donc être poursuivie.

Mots-clés : puceron cendré du pommier ; *Dysaphis plantaginea* ; flonicamide ; résistance ; tests biologiques

ABSTRACT

The rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*, is one of the pests causing most damage in apple orchards. Yet the control of this aphid relies on a limited number of insecticides, among which flonicamid plays a central role. This insecticide inhibits the feeding behavior and it has been authorized in France in 2005. To date, no resistance of *D. plantaginea* to this insecticide has been reported.

A method to measure sensitivity through bioassays has been set up as part of the resistance surveillance plan organized by the French General Directorate for Food (DGAI) and the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health Safety (Anses). With this dose-range leaf-dip bioassay, clones resistant to flonicamid were detected for the first time. A diagnostic dose was determined to easily screen a high number of individuals within the sampled aphid populations. To date, clones resistant to flonicamid have been found in 15 populations of *D. plantaginea* among 25 analyzed in France over 4 years. For now, resistance ratios of isolated clones remain moderate. In the context of the reduction of modes of action diversity, flonicamid is becoming more and more central in insect pest control. The surveillance of the situation of resistance to flonicamid must continue.

Keywords: Rosy apple aphid; *Dysaphis plantaginea*; flonicamid; resistance; bioassays

INTRODUCTION

Dysaphis plantaginea (Passerini, 1860), le puceron cendré du pommier, a pour hôte primaire le pommier (*Malus communis*), et pour hôte secondaire le plantain (*Plantago lanceolata*) (Blommers, 1999). Il suit un cycle holocylique diécique, c'est-à-dire qu'il alterne des phases de reproduction sexuée sur l'hôte primaire à l'automne, suivi d'une migration sur son hôte secondaire au printemps où se produit la phase de multiplication asexuée (Hullé *et al.*, 2020). Il provoque, par ses piqûres, de graves déformations des organes végétaux. Les feuilles se recroquevillent et peuvent tomber, les rameaux sont déformés, la chute physiologique est contrariée, les fruits restent nombreux, petits et bosselés (Forrest et Dixon, 1975 ; De Berardinis *et al.*, 1994).

Il est le plus nuisible des pucerons des pommiers car il est très fécond (reproduction par parthénogénèse), nuisible tôt au printemps (Bloomers 1994, Blommers *et al.*, 2004) et occasionne des pertes économiques importantes (Bloomers *et al.*, 2004 ; Simon *et al.*, 2011 ; Rousselin *et al.*, 2017).

La lutte contre ce ravageur est principalement chimique même si d'autres méthodes de lutte existent. On peut citer l'utilisation de variétés résistantes (Miñarro *et al.*, 2005 ; Rousselin *et al.*, 2017), l'emploi d'une barrière physique (argile) (Cross *et al.*, 2007) ou d'huiles minérales (Cross *et al.*, 2007), la prophylaxie par défoliation ou encore le fait de favoriser prédateurs et auxiliaires (Dib *et al.*, 2016 ; Cahenzly *et al.*, 2017). Dans le contexte du changement climatique (avec des hivers doux plus fréquents), la pression du puceron cendré sur pommier est telle que le seuil de d'intervention est très bas : il est préconisé de traiter dès la détection du premier puceron (Dib *et al.*, 2016).

La lutte chimique contre le puceron cendré du pommier, depuis l'interdiction des néonicotinoïdes en 2018, repose principalement sur quatre substances actives ou familles de substances actives : la famille des pyréthrinoïdes (lambda-cyhalothrine, deltaméthrine, esfenvalérate, tau-fluvalinate, seul ou en association avec du pirimicarbe), le flonicamide, et le spirotétramate (source : ephy. <https://ephy.anses.fr/>). Le petit nombre de matières actives disponibles contre ce ravageur est favorable à l'évolution de phénomènes de résistance (R4P, 2016), qu'il convient de surveiller. Les pyréthrinoïdes sont une famille assez ancienne d'insecticides. Les phénomènes de résistance de *D. plantaginea* vis-à-vis de ces produits sont d'ailleurs connus depuis de nombreuses années (Delorme, *et al.*, 1997). Le spirotétramate et le flonicamide ont été plus récemment homologués (2015 et 2005, respectivement, source : ephy. <https://ephy.anses.fr/>). Le flonicamide semble particulièrement à surveiller pour l'évolution de résistances étant donné son utilisation importante depuis plusieurs années. La résistance de *D. plantaginea* au flonicamide a donc fait l'objet d'un suivi, à partir de 2017, dans le cadre du plan de surveillance des résistances DGAL-ANSES, qui s'inscrit dans le volet des effets non intentionnels de la surveillance biologique du territoire.

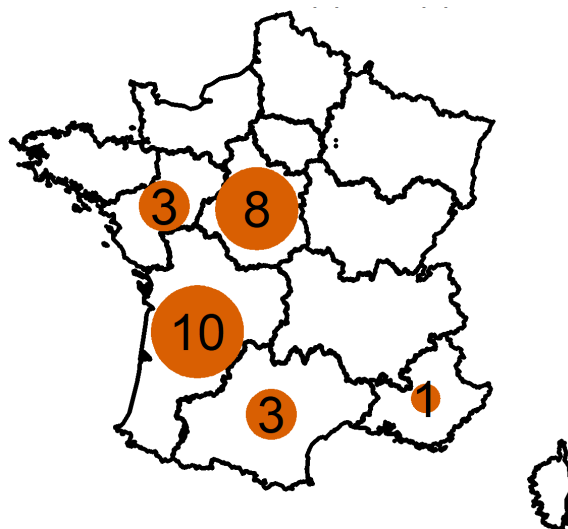
MATERIEL ET METHODES

PRELEVEMENTS

Les prélèvements sont issus des plans de surveillance des résistances DGAL-Anses 2017 à 2020 (annexe 3 des notes de service DGAL/SDQSPV/2016-992 du 20/12/2016, DGAL/SDQSPV/2018-21 du 28/12/2017, DGAL/SDQSPV/2019-31 du 14/01/2019 et DGAL/SDQSPV/2019-876 du 27/12/2019) (Figure 1).

En parallèle de ces prélèvements, un clone de référence sensible a été testé : 16-0042-0001. Ce clone, issu d'un pommier isolé non traité, est élevé en laboratoire depuis 2016, sa sensibilité au flonicamide a été évaluée par des tests en gamme de doses, et comparée à celles d'autres clones. On considère que ce clone a une DL50 basse.

Figure 1 : Répartition des prélèvements testés en fonction des régions en 2017, 2018, 2019 et 2020.
Figure 1: Distribution of tested samples according to areas in 2017, 2018, 2019 and 2020.



PRODUITS PHYTOSANITAIRES

Le flonicamide est un produit de la famille des Pyridine-carboxamides, il est systémique et agit par contact et ingestion (Morita *et al.*, 2007). C'est un perturbateur des organes chondotonaux des insectes qui aboutit à une inhibition de la prise alimentaire et à la mort des individus sensibles. Le site cible de la molécule reste toutefois inconnue à ce jour (Ren *et al.*, 2018).

Pour ce test biologique par trempage de feuilles, c'est le produit formulé qui est utilisé, nous avons employé le Teppeki (formulé en solution à 50% de flonicamide, Belchim Crop Protection France S.A).

MISE EN PLACE DU PROTOCOLE

L'objectif, lors du développement de la méthode de test, était de disposer d'un test simple, miniaturisé et qui ne requiert pas trop de temps de manière à pouvoir tester les pucerons dès le stade visé atteint. Pour des raisons de praticité, nous avons utilisé les feuilles de plantain comme support de test. Nous avons systématisé la conduite de l'élevage et synchronisé les pucerons pour disposer de suffisamment d'adultes le jour de la mise en test. Les tests sont considérés comme valides tant que la mortalité observée dans le témoin est inférieure à 10%.

Le test par trempage de feuilles a été adapté à partir de la méthode IRAC 019.v3.2 recommandée pour les tests de résistance sur pucerons. Il consiste à exposer des larves de premier stade à des feuilles de plantain traitées avec une gamme de dose de flonicamide, en laissant pondre des adultes pendant 24h directement sur les feuilles traitées, et en évaluant la mortalité après 120h d'exposition. Les tests peuvent être de deux types : test en gamme de dose ou en dose discriminante. Pour les tests en gamme de dose, chaque test est constitué de cinq doses ainsi que d'un témoin non traité, avec dix à douze répétitions par dose, alors que pour les tests en dose discriminante, les pucerons sont divisés en deux lots, l'un est exposé à la dose discriminante, l'autre à l'eau (témoin non traité).

Le protocole de test est le suivant :

- Multiplication et synchronisation des pucerons jusqu'à l'obtention d'adultes (besoin d'environ 75 adultes par clone simultanément pour un test en gamme de doses, de huit adultes dans le cas d'un test de confirmation en dose discriminante).
- Détermination et préparation d'une gamme de doses en solution aqueuse, ajustée à chaque clone par tâtonnements successifs jusqu'à encadrer la DL50 et couvrir au mieux la gamme de mortalité du clone (si possible de 0 à 100 % de mortalité), ou utilisation et préparation d'une dose discriminante, établie comme la DL97,5 du clone de référence sensible (16-0042-0001,

DL_{97,5}=2,5 mg/L). Cette dose correspond à une mortalité d'environ 19% pour le clone ayant un des plus forts facteurs de résistance des clones testés en courbe dose-réponse servant de référence résistante (17-0041-0003, présentant un facteur de résistance de 10 avec le clone de référence sensible).

- Préparation des supports de tests : utilisation de microplaques à 24 puits. Des feuilles de plantain d'un clone unique cultivé en milieu contrôlé (pour assurer l'homogénéité du matériel végétal) sont récoltées, lavées et découpées à l'emporte-pièce de manière à obtenir des disques de feuilles de la taille des puits des plaques. Les disques de feuilles sont piqués sur de fines épingles et trempés dans les solutions aux différentes concentrations d'insecticide pendant dix secondes exactement, puis mis à sécher en piquant les épingles dans des bouchons, de manière à ce que les disques ne soient pas en contact ni entre eux ni avec quoi que ce soit. Ils sont ensuite déposés dans des puits de microplaques à 24 puits sur de l'agar en fusion tiède.
- Dépôt d'un adulte par puits à l'aide d'un pinceau, et thermo-scclage des plaques. Une aération est rendue possible par la réalisation de dizaines de trous par puits dans le film de thermo-scclage à l'aide d'épingles.
- Retrait des adultes après 24h, et comptage des larves pondues dans chaque puits pour faciliter la lecture.
- Evaluation de la mortalité après 120h par dénombrement des vivants, des moribonds et des morts (sont considérés moribonds les pucerons qui, retournés sur le dos à l'aide d'un pinceau, sont incapables de se retourner et d'avancer dans les 15 secondes suivantes).

Le protocole de test par trempage de feuilles a été mis en place en 2017, et il a évolué au cours des années suivantes : en 2017, nous avons débuté l'étude avec un test en gamme de doses (5 doses choisies parmi 0,1 – 0,5 – 1 – 2,5 – 12,5 – 62,5 – 312,5 – 1562,5 mg/L de flonicamide et un témoin non traité). Grâce à la découverte d'un clone résistant, une dose discriminante a été déterminée à 2,5 mg/L de flonicamide, elle a été utilisée pour les tests à la réception des prélèvements en 2018, 2019 et 2020. En 2018, les pucerons survivants au premier test ont été confirmés résistants grâce à l'emploi d'un test en gamme de doses. En 2019 et 2020, la confirmation du phénotype de résistance a été réalisée grâce à l'application d'une seconde dose discriminante (de 2,5 mg/L à nouveau).

L'analyse des résultats et la détermination de la DL₅₀ sont effectuées avec le package 'drc' (Ritz *et al.*, 2015) dans le logiciel R (R Core team, 2018). Une comparaison avec les résultats obtenus sur le clone sensible qui sert de référence (16-0042-0001) est réalisée en calculant le facteur de résistance ($FR = \frac{DL_{50\text{échantillon}}}{DL_{50\text{référence sensible}}}$). Pour être valable, une répétition de test en gamme de doses doit comporter au moins vingt individus en moyenne par dose, et la mortalité enregistrée dans le témoin non traité doit être inférieure à 10%.

RESULTATS

RESULTATS DES TESTS PAR ANNEE

2017

En 2017, les prélèvements ont été traités en clones. Ces clones ont été soumis à une gamme de doses ajustée en fonction des premiers résultats obtenus, pour chaque clone, 5 doses ont été choisies parmi les doses suivantes (en plus du témoin non traité, systématiquement inclus) : 0,1 – 0,5 – 1 – 2,5 – 12,5 – 62,5 – 312,5 – 1562,5 mg/L de flonicamide.

Les DL₅₀ obtenues pour chaque clone, servant de base de comparaison avec la DL₅₀ de la référence sensible, sont présentées ci-dessous (Tableau II). Les facteurs de résistance ont été calculés par rapport à la référence sensible (clone 16-0042-0001).

Tableau II : résultats des tests biologiques de résistance de *D. plantaginea* vis-à-vis du flonicamide en 2017.

Table II: results of flonicamid resistance bioassays of *D. plantaginea* in 2017.

Prélèvement	Clone	Nombre moyen d'individus/dose	Taux de mortalité du témoin	DL50 (mg/L)	FR
16-0042	16-0042-0001	80	10%	0,42	-
17-0036	17-0036-0001	36	1%	0,57	1
	17-0036-0002	36	6%	0,55	1
17-0041	17-0041-0002	48	5%	1,25	3
	17-0041-0003	84	8%	4,21	10
	17-0041-0004	24	5%	4,67	11
	17-0041-0007	36	4%	1,40	3
17-0046	17-0046-0002	12	2%	1,07	3
	17-0046-0006	12	5%	0,31	1
17-0053	17-0053-0004	12	9%	0,74	2

2018

En 2018, les pucerons ont été multipliés à la réception des prélèvements sur une à deux générations, puis testés en dose discriminante, avec une confirmation par test en gamme de dose sur la descendance des individus survivants au premier test. Les résultats sont présentés dans le Tableau III ci-dessous.

Tableau III : résultats des tests biologiques de résistance de *D. plantaginea* vis-à-vis du flonicamide en 2018. Le nombre d'individus analysés correspond au nombre d'adultes ayant effectivement pondu dans les puits traités à la dose discriminante.

Table III: results of flonicamid resistance bioassays of *D. plantaginea* in 2018. The number of tested individuals represents the number of adults that did lay larvae in the wells treated with discriminating dose.

Prélèvement	Nombre d'individus analysés	Nb d'individus viables après traitement à la dose discriminante	Résistant / Sensible	Résultat test en gamme
18-0087	35	1	S	DL50 = 0,61 mg/L, FR = 1,45
18-0104	34	0	S	-
18-0105	30	0	S	-
18-0103	20	1	R	DL50 = 7,04 mg/L, FR = 16,8

Lors de ce premier test en dose discriminante, seuls deux prélèvements ont présenté des individus survivants, à raison d'un puceron viable par prélèvement testé. Ces prélèvements proviennent l'un de la région Centre Val de Loire (identifiant numéro 18-0087), l'autre de la région Nouvelle Aquitaine (identifiant numéro 18-0103). Les pucerons survivants au test en dose discriminante ont été multipliés de manière clonale, puis testés en gamme de dose. Pour le premier (issu du prélèvement 18-0087), la

DL50 s'est élevée à 0,61 mg/L, valeur proche de celle de la référence sensible, ce qui donne un facteur de résistance proche de 1.

Nous concluons après ce deuxième test à la sensibilité de ce prélèvement au flonicamide. Pour le second clone survivant au test en dose discriminante (issu du prélèvement 18-0103), le test en gamme de dose a révélé une DL50 de 7,04 mg/L, soit un facteur de résistance avec la référence sensible proche de 17. Ce clone s'avère donc bien résistant, conférant au prélèvement 18-0103, provenant de Nouvelle Aquitaine, le statut de prélèvement résistant.

2019

En 2019, les pucerons ont été dans un premier temps testés avec une dose discriminante, suivi d'une confirmation de résistance par un nouveau test en dose discriminante sur les descendants des survivants au premier test. Les résultats sont présentés dans le Tableau IV ci-dessous.

Tableau IV : résultats des tests biologiques de résistance de *D. plantaginea* vis-à-vis du flonicamide en 2019.

Table IV: results of flonicamid resistance bioassays of *D. plantaginea* in 2019.

Prélèvement	Nombre d'individus analysés	Nb d'individus viables après traitement à la dose discriminante	Nb d'individus confirmés résistants par test en dose discriminante	Résistant / Sensible
19-0176	31	8	8	R
19-0204	45	0	-	-
19-0173	40	12	9	R
19-0174	8	4	3	R
19-0177	17	3	2	R

Lors du premier test en dose discriminante, un seul des cinq prélèvements analysés (19-0204-0001, provenant de Centre Val de Loire) s'est avéré sensible (aucun puceron survivant à la dose discriminante), alors que les quatre autres (issus de Centre Val de Loire et Nouvelle Aquitaine) ont présenté des individus survivants, à raison de quelques pucerons viables par prélèvement testé (Tableau IV). La résistance a été confirmée par un nouveau test en dose discriminante (2,5 mg/L) pour tous les prélèvements (19-0173-0001 (Pays de la Loire) et 19-0174-0001 (Nouvelle Aquitaine) et 19-0176-0001 (Centre Val de Loire)) dès lors que l'un considère le prélèvement résistant s'il contient un individu résistant.

2020

En 2020, comme en 2019, les pucerons ont été, dans un premier temps, testés avec une dose discriminante, suivi d'une confirmation de résistance par un nouveau test en dose discriminante sur les descendants des survivants au premier test. Les résultats sont présentés dans le Tableau V ci-dessous.

Tableau V : résultats des tests biologiques de résistance de *D. plantaginea* vis-à-vis du flonicamide en 2020.

Table V: results of flonicamid resistance bioassays of *D. plantaginea* in 2020.

Prélèvement	Nombre d'individus analysés	Nb d'individus viables après traitement à la dose discriminante	Nb d'individus confirmés résistants par test en dose discriminante	Résistant / Sensible
20-0080	41	10	4	R
20-0126	45	0	0	S
20-0063	44	24	20	R
20-0081	23	13	10	R
20-0091	23	12	11	R
20-0103	17	11	9	R
20-0104	6	1	0	S
20-0127	26	11	10	R
20-0139	27	4	1	R
20-0070	38	10	3	R
20-0090	38	14	10	R

Parmi les onze prélèvements analysés en 2020, deux s'avèrent sensibles : un en Centre-Val de Loire, l'autre en Nouvelle-Aquitaine, ce dernier présentant peu d'individus testés (donc une fiabilité moindre du résultat). Les neuf autres prélèvements testés, provenant de Centre-Val de Loire (un prélèvement), Nouvelle-Aquitaine (six prélèvements) et Pays de la Loire (deux prélèvements), se révèlent résistants. Le nombre d'individus analysés est variable selon les prélèvements, mais la résistance identifiée au premier test en dose discriminante a été confirmée par le deuxième test en dose discriminante pour tous les prélèvements.

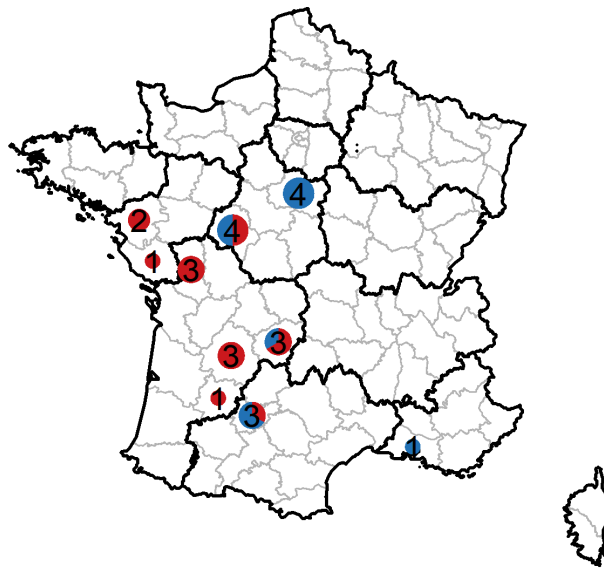
En 2020, une recherche de facteurs de résistance élevés a été initiée : sur les prélèvements résistants, les descendants des survivants au premier test en dose discriminante ont été exposés à une dose élevée de flonicamide, 35 mg/L. Aucun individu n'a survécu à cette dose.

RECAPITULATIF DES RESULTATS DES 4 ANNEES DE TEST

En combinant les 4 années de surveillance, un total de 25 prélèvements a pu être analysé. Au moins un clone résistant a pu être détecté dans 15 de ces 25 prélèvements (soit 60 %). La répartition de ces prélèvements incluant des clones résistants est assez large géographiquement : 9 départements sont concernés (départements Corrèze, Deux-Sèvres, Dordogne, Indre-et-Loire, Loire-Atlantique, Loiret, Lot-et-Garonne, Tarn-et-Garonne, Vendée) sur les 10 explorés à ce jour (départements précédemment cités, auxquels s'ajoutent les Bouches-du-Rhône) (Figure 2).

Figure 2 : Cartes des résultats de la recherche de clones résistants dans des populations de *D. plantaginea* en 2017, 2018, 2019 et 2020. 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. Il suffit qu'un seul clone au sein de la population soit identifié comme résistant pour que le prélèvement soit déclaré résistant. Le chiffre à l'intérieur des camemberts représente l'effectif pour lesquels un résultat a été obtenu.

Figure 2: Map of the results of resistance research in populations of *D. plantaginea* in 2017, 2018, 2019 and 2020. Blue color represents samples without detected resistance. Red color represents samples in which at least one resistant clone was detected according to the protocol used. A single resistant clone among the population is enough to declare the sample resistant. The number inside the pie chart represents the number of populations tested.



INTERPRETATION

MISE EN PLACE ET EVOLUTION DE LA METHODE DE TEST

La méthode de test biologique de recherche de la résistance de *D. plantaginea* au flonicamide par trempage de feuilles s'est affinée au cours des quatre années d'études présentées ici. Dans un premier temps, il était nécessaire de passer par l'établissement de courbes dose-réponse pour caractériser les clones dont nous disposions. Dès l'identification d'un clone sensible et d'un clone résistant en 2017, nous avons choisi une dose discriminante (2,5 mg/L), afin de pouvoir tester plus d'individus plus rapidement, et ainsi gagner en efficacité et en représentativité (R4P, 2016). La dose discriminante choisie étant proche de la DL97, et non d'une DL100, nous avons effectué des tests de confirmation pour exclure les faux-positifs potentiels. Ce test de confirmation a été effectué en gamme de dose sur les prélèvements de 2018, puis en dose discriminante en 2019 et 2020, une fois encore avec pour objectif d'accroître le débit d'analyse.

RESISTANCE AU FLONICAMIDE DE *D. PLANTAGINEA*

Les tests biologiques de recherche de résistance de *D. plantaginea* au flonicamide sur 4 années consécutives ont permis la détection de phénotypes de résistance dans 15 populations sur 25 testées. Ces populations, considérées résistantes dès lors qu'un individu était identifié comme résistant, ne forment pas un foyer isolé, mais sont réparties sur la façade ouest du territoire français. L'absence, dans la littérature, de signalement de cas de résistance de *D. plantaginea* au flonicamide ne laissait pas présager d'un tel résultat.

La résistance aux insecticides en général semble très peu étudiée chez *D. plantaginea*, un puceron pour lequel les études dédiées sont déjà peu abondantes, peut-être en raison du faible impact de *D. plantaginea* sur la récolte de l'année, bien qu'avec un impact conséquent à plus long terme (Rousselin *et al.*, 2017). Dans la littérature, la résistance de *D. plantaginea* aux insecticides apparaît principalement dans les études de Delorme, en 1997 et 1999, dans lesquels il décrit la résistance d'une souche à un insecticide de chacune des familles suivantes : organo-phosphorés, carbamates et carbamyltriazoles, ainsi qu'à un insecticide de la famille des pyréthriinoïdes, sans qu'il soit précisé s'il s'agit de résistance ou d'inefficacité (Delorme *et al.*, 1997 ; Delorme *et al.*, 1999). Dans le livre « Aphids as crop pests », *D. plantaginea* figure d'ailleurs dans la catégorie des « pucerons qui posent une menace mineure ou potentielle ». Les auteurs y recensent des cas de résistance décrits par Wiesmann en 1955 (résistance aux organo-phosphorés), Hohn en 1995 et 1996 (carbamates), Delorme (études citées ci-dessus) et Schaub en 2001 (néonicotinoïdes) (Van Emden et Harrington, 2017). Les études plus récentes consacrées à *D. plantaginea* ne citent aucun autre cas de résistance aux insecticides chez ce puceron (Guillemaud *et al.*, 2011 ; Dib *et al.*, 2016 ; Rousselin *et al.*, 2017).

Par ailleurs, la résistance au flonicamide ne fait pas non plus l'objet d'un grand nombre de publications. De fait, le flonicamide est un insecticide relativement nouveau, puisqu'autorisé en France en 2005 (d'après la base ephy : <https://ephy.anses.fr/>), et il a une cible différente des autres insecticides, ce qui le place à part dans la classification IRAC (classe 29) ou R4P (N12 - Substances antiappétantes affectant les organes chordonaux - cible inconnue), dans les deux cas, le flonicamide est le seul représentant de la classe. La plupart des publications qui mentionnent la résistance au flonicamide en parlent donc surtout pour souligner l'absence de résistance croisée à d'autres insecticides (Morita *et al.*, 2014 ; Ren *et al.*, 2018), ou l'absence de résistance tout court (Jansen *et al.*, 2011 ; Bass *et al.*, 2015). On trouve néanmoins quelques études spécifiques à l'étude de la résistance au flonicamide, par exemple chez les espèces *Bemisia tabaci* en Grèce (Roditakis *et al.*, 2014), *Aphis gossypii* aux Etats-Unis (Gore *et al.*, 2013) ou *Amrasca devastans* au Pakistan (Abbas *et al.*, 2018). A ce jour, il semble que l'existence d'une résistance au flonicamide n'ait été mise en évidence que chez deux autres espèces d'insectes cibles : *A. gossypii* en Corée du Sud (Koo *et al.*, 2014) et *B. tabaci* en Inde (Akoijam *et al.*, 2019).

La résistance de *D. plantaginea* au flonicamide annoncée ici est donc relativement inattendue, quoique le petit nombre de substances actives disponibles sur cet usage laisse imaginer un recours fréquent au flonicamide, d'autant qu'il est sélectif (efficace seulement sur pucerons et certains piqueurs-suceurs (Morita *et al.*, 2014)) et de ce fait recommandé dans la gestion intégrée des bio-agresseurs (Ren *et al.*, 2018). Auxiliaires et prédateurs étant utilisés dans la lutte contre *D. plantaginea* (Garzón *et al.*, 2015 ; Dib *et al.*, 2016 ; Rousselin *et al.*, 2017 ; Pålsson *et al.*, 2020), ce souci de les préserver a pu favoriser le recours au flonicamide.

Même si la résistance démontrée ici est indéniable, les facteurs de résistance des clones pour lesquels une DL50 a été établie restent faibles ou modérés pour des insectes (FR allant jusqu'à 17 pour le clone le plus résistant, autour de 3 à 10 pour la plupart des clones testés en gamme). Aucun individu n'a d'ailleurs survécu à la dose de 35mg/L, qui représente un facteur de résistance d'environ 80. A titre de comparaison, Bass et ses collègues parlent de faible niveau de résistance pour un FR de 10, et de niveau de résistance élevé avec un FR allant jusqu'à 800 (Bass *et al.*, 2011, sur *Myzus persicae*).

Rappelons qu'une résistance détectée en laboratoire ne se traduit pas systématiquement par une perte mesurable d'efficacité au champ. Cela plaide toutefois pour la mise en place d'une surveillance de l'efficacité au champ, avec des essais qui incluent des programmes où la molécule est utilisée en solo.

CONCLUSION

La résistance au flonicamide a été détectée dans 15 populations de *D. plantaginea* parmi 25 testées par tests biologiques, dans plusieurs régions françaises sur 4 années consécutives. Cette résistance, avec des facteurs de résistance qui restent toutefois modérés, est donc bien présente, alors qu'il existe peu de référence dans la littérature à des exemples de résistance de *D. plantaginea* aux insecticides quels qu'ils soient, mais aussi de résistance d'insectes divers au flonicamide. Cette résistance est inquiétante par l'occurrence non négligeable des individus résistants (nombre de prélèvements affectés avec au moins un individu résistant), avec une répartition géographique large. La résistance de *D. plantaginea* au flonicamide est donc à surveiller avec attention, d'autant que les populations de *D. plantaginea* ont une faible structuration génétique (Olvera-Vazquez *et al.*, 2020), ce qui est certainement la conséquence d'une grande capacité migratoire de cette espèce. Un génotype résistant pourrait donc rapidement se répandre après son émergence, et conduire à une expansion rapide de la résistance (Guillemaud *et al.*, 2011). Peut-être serait-il aussi judicieux d'élargir la détection à d'autres substances actives (spirotétramate entre autres), ou pour d'autres espèces d'insectes (flonicamide sur *M. persicae* par exemple).

BIBLIOGRAPHIE

- Abbas N., Abbas N., Ejaz M., Shad S. A., Asghar I., Irum A., Binyameen M., 2018 - Resistance in field populations of *Amrasca devastans* (Hemiptera: Cicadellidae) to new insecticides in Southern Punjab, Pakistan. *Phytoparasitica*, 46(4), 533-539. doi:10.1007/s12600-018-0688-0
- Akoijam R., Srivastava C., Subramanian S., Singh R. T., Rajna, S. 2019 - Relative toxicity of fipronil and flonicamid against *bemisia tabaci* (Gennadius) on cotton. *Indian Journal Entomology*, 81(4), 733-739.
- Bass C., Denholm I., Williamson M. S., Nauen R. 2015 - The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pestic Biochem Physiol*, 121, 78-87. doi:10.1016/j.pestbp.2015.04.004
- Bass C., Puinean A. M., Andrews M., Cutler P., Daniels M., Elias J., Laura Paul V. L., Crossthwaite A. J., Denholm I., Field L. M., Foster S. P., Lind R., Williamson M. S., Slater R. 2011 - Mutation of a nicotinic acetylcholine receptor beta subunit is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *BMC Neurosci*, 12, 51. doi:10.1186/1471-2202-12-51
- Blommers L. H. M. 1994 - Integrated pest management in European apple orchards. *Annu. Rev. Entomol.*, 39, 213-241.
- Blommers L. H. M. 1999 - Probing the natural control of rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* (Hemiptera: Aphididae). *Integrated Plant Protection in Orchards IOBC/WPRS*, 22(6), 53-56.
- Blommers L. H. M., Helsen H. H. M., & Vaal F. W. N. M. 2004 - Life history data of the rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* (Pass.) (Homopt., Aphididae) on plantain and as migrant to apple. *Journal of Pest Science*, 77(3). doi:10.1007/s10340-004-0046-5
- Cahenzli F., Pfiffner L., Daniel, C. 2017 - Reduced crop damage by self-regulation of aphids in an ecologically enriched, insecticide-free apple orchard. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(6). doi:10.1007/s13593-017-0476-0
- Cross J. V., Cubison S., Harris A., Harrington R. 2007 - Autumn control of rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* (Passerini), with aphicides. *Crop Protection*, 26(8), 1140-1149. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.10.007>
- De Berardinis E., Baronio P., Baumgärtner J. 1994 - The effect of aphid (*Dysaphis plantaginea* pass., Hom., Aphididae) feeding on apple fruit growth. *Ecological Modelling*, 72(1), 115-127. doi:[https://doi.org/10.1016/0304-3800\(94\)90147-3](https://doi.org/10.1016/0304-3800(94)90147-3)

Delorme R., Auge D., Touton P., Villatte F. 1997 - *Résistance de Dysaphis plantaginea à divers produits insecticides en France*. ANPP - 4ème Conférence Internationale sur les ravageurs en agriculture, Montpellier, France.

Delorme R., Ayala P., Touton D., Augé D., Vergnet C. 1999 - *Le puceron cendré du pommier (Dysaphis Plantaginea) : étude des mécanismes de résistance à divers insecticides*. ANPP - 5ème Conférence Internationale sur les ravageurs en agriculture, Montpellier, France.

Dib H., Sauphanor B., Capowicz, Y. 2016 - Effect of management strategies on arthropod communities in the colonies of rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) in southeastern France. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 216, 203-206. doi:<https://doi.org/10.1016/j.agee.2015.10.003>

Forrest J. M. S., Dixon A. F. G. 1975 - The induction of leaf-roll galls by the apple aphids *Dysaphis devectora* and *D. plantaginea*. *Annals of Applied Biology*, 81(3), 281-288. doi:10.1111/j.1744-7348.1975.tb01643.x

Garzón A., P. Medina, F. Amor, E. Viñuela, F. Budia (2015). Toxicity and sublethal effects of six insecticides to last instar larvae and adults of the biocontrol agents *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and *Adalia bipunctata* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). *Chemosphere* 132 (2015) 87-93. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.03.016

Gore J., Cook D., Catchot A., Leonard B. R., Stewart S. D., Lorenz G., Kerns D. 2013 - Cotton aphid (Heteroptera: Aphididae) susceptibility to commercial and experimental insecticides in the southern United States. *J Econ Entomol*, 106(3), 1430-1439. doi:10.1603/ec13116

Guillemaud T., Blin A., Simon S., Morel K., Franck, P. 2011 - Weak spatial and temporal population genetic structure in the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*, in French apple orchards. *PLoS One*, 6(6), e21263. doi:10.1371/journal.pone.0021263

Hullé M., Chaubet B., Turpeau E. and Simon J.C. 2020. Encyclop'Aphid: a website on aphids and their natural enemies. *Entomologia generalis*: doi:10.1127/entomologia/2019/0867

Jansen J. P., Defrance T., Warnier A. M. 2011 - Side effects of flonicamide and pymetrozine on five aphid natural enemy species. *BioControl*, 56(5), 759-770. doi:10.1007/s10526-011-9342-1

Koo H.-N., An J.-J., Park S.-E., Kim J.-I., Kim G.-H. 2014 - Regional susceptibilities to 12 insecticides of melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and a point mutation associated with imidacloprid resistance. *Crop Protection*, 55, 91-97. doi:10.1016/j.cropro.2013.09.010

Miñarro M., Hemptinne J. L., Dapena E. 2005 - Colonization of apple orchards by predators of *Dysaphis plantaginea*: sequential arrival, response to prey abundance and consequences for biological control. *BioControl*, 50(3), 403-414. doi:10.1007/s10526-004-5527-1

Morita M., Ueda T., Yoneda T., Koyanagi T., Haga T. 2007 - Flonicamid, a novel insecticide with a rapid inhibitory effect on aphid feeding. *Pest Manag Sci*, 63(10), 969-973. doi:10.1002/ps.1423

Morita M., Yoneda T., Akiyoshi N. 2014 - Research and development of a novel insecticide, flonicamid. *Journal of Pesticide Science*, 39(3), 179-180.

Olvera-Vazquez SG, Remoué C, Venon A, Rousselet A, Grandcolas O, Azrine M, Momont L, Galan M, Benoit L, David G, Alhmedi A, Beliën T, Alins G, Franck P, Haddioui A, Jacobsen SK, Andreev R, Simon S, Sigsgaard L, Guibert E, Tournant L, Gazel F, Mody K, Khachtib Y, Roman A, Ursu TM, Zakharov IA, Belcram H, Harry M, Roth M, Simon JC, Oram S, Ricard JM, Agnello A, Beers EH, Engelman J, Balti I, Salhi-Hannachi A, Zhang H, TuH, Mottet C, Barrès B, Degrave A, Razmjou J, Giraud T, Falque M, Dapena E, Miñarro M, Jardillier L, Deschamps P, Jousselin E, Cornille A. 2020 - Large-scale geographic survey provides insights into the colonization history of a major

aphid pest on its cultivated apple host in Europe, North America and North Africa. *bioRxiv*, 2020.12.11.421644. <https://doi.org/10.1101/2020.12.11.421644>

Pålsson J., Porcel M., Hansen M. F., Offenberger J., Nardin T., Larcher R., Tasin M. 2020 - Aphid-infested beans divert ant attendance from the rosy apple aphid in apple-bean intercropping. *Scientific Reports*, 10(1), 8209. doi:10.1038/s41598-020-64973-7

R4P, Barres B., Micoud A., Corio-Costet M.-F., Debieu D., Fillinger-David S., Walker A.-S. Délye C., Grosman J., Siegwart M. 2016 - Trends and challenges in pesticide resistance detection. *Trends in Plant Science*, 21(10), 834–853. doi:10.1016/j.tplants.2016.06.006

Ren M., Niu J., Hu B., Wei Q., Zheng C., Tian X., Gao C., He B., Dong K., Su J. 2018 - Block of Kir channels by flonicamid disrupts salivary and renal excretion of insect pests. *Insect Biochem Mol Biol*, 99, 17-26. doi:10.1016/j.ibmb.2018.05.007

Ritz C., Baty F., Streibig, J. C., Gerhard D. 2015 - Dose-Response Analysis Using R. *PLoS One*, 10(12), e0146021. doi:10.1371/journal.pone.0146021

Roditakis E., Fytrou N., Staurakak, M., Vontas J., Tsagkarakou, A. 2014 - Activity of flonicamid on the sweet potato whitefly Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) and its natural enemies. *Pest Manag Sci*, 70(10), 1460-1467. doi:10.1002/ps.3723

Rousselin A., Bevacqua D., Sauge M.-H., Lescourret F., Mody K., Jordan M.-O. 2017 - Harnessing the aphid life cycle to reduce insecticide reliance in apple and peach orchards. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37(5), 38. doi:10.1007/s13593-017-0444-8

Simon S., Brun L., Guinaudeau J., Sauphanor B. 2011 - Pesticide use in current and innovative apple orchard systems. *Agronomy for Sustainable Development*, 31(3), 541-555. doi:10.1007/s13593-011-0003-7

Team, R. C. 2015 - R Core Team. R: a language and environment for statistical computing.

Van Emden H. F., Harrington R. 2017 - *RAphids-as-Crop-Pests* (CABI Head Office ed.).