



HAL
open science

Evolution des résistances du carpocapse des pommes à différents isolats du virus de la granulose

Miriam Siegwart, Sandrine Maugin, Samantha Besse, Miguel Lopez-Ferber, Aurélie Hinsberger, Bertrand Gauffre

► **To cite this version:**

Miriam Siegwart, Sandrine Maugin, Samantha Besse, Miguel Lopez-Ferber, Aurélie Hinsberger, et al.. Evolution des résistances du carpocapse des pommes à différents isolats du virus de la granulose. Phytoma la Défense des Végétaux, 2020. hal-03695737

HAL Id: hal-03695737

<https://hal.science/hal-03695737>

Submitted on 15 Jun 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Evolution des résistances du carpocapse des pommes à différents isolats du virus de la granulose

Myriam Siegwart⁽¹⁾, Sandrine Maugin⁽¹⁾, Samantha Besse⁽²⁾, Miguel Lopez-Ferber⁽³⁾, Aurélie

Hinsberger⁽³⁾, Bertrand Gauffre⁽¹⁾

⁽¹⁾ INRAE, unité PSH, Agroparc, 84914 AVIGNON Cedex 9, France

⁽²⁾ UPL operating as Natural Plant Protection, 35 avenue Léon Blum, 64000 PAU, France

⁽³⁾ IMT Mines Ales. 6 Avenue de Clavières 30319 Alès cedex, France

Corresponding author:

Myriam Siegwart

INRAE, Unité PSH

Site Agroparc – Domaine St Paul. 84914 Avignon. France

Tel +33 4 32 72 24 44. E-mail myriam.siegwart@inrae.fr

Chapeau

Le carpocapse des pommes et des poires *Cydia pomonella* est un ravageur d'une grande adaptabilité. Il a développé des résistances d'abord à des insecticides chimiques puis à l'isolat Mexicain du virus de la granulose (CpGV-M). Cet insecte aux formidables capacités évolutives n'a pas fini de donner du fil à retordre aux producteurs et aux scientifiques qui voient aujourd'hui l'émergence de nouvelles résistances à d'autres isolats viraux de CpGV.

Contexte

Le premier produit insecticide à base du virus de la granulose (CpGV) a été commercialisé en France dès 1991 pour lutter contre le carpocapse des pommes. L'isolat viral contenu dans ce produit est d'origine mexicaine. Il a été nommé CpGV-M. La bonne efficacité de ce produit, couplée à une très grande spécificité et une absence de résidu sur les fruits sont les clés de son succès en agriculture conventionnelle comme biologique. Des années d'utilisation ont prouvé qu'il était parfaitement inoffensif sur la faune auxiliaire et la santé humaine. Cependant, en absence d'autres produits insecticides efficaces et autorisés en agriculture biologique (AB), les vergers AB ont dû maintenir une cadence de traitement intensive durant plus de 10 ans. En 2004 est apparu le premier cas de résistance à CpGV-M en France (Sauphanor, Berling et al. 2006). D'abord détectée dans le Sud-Est de la France, la résistance a fini par se propager dans tous les bassins de production de pomme. Pour tuer un insecte résistant il faut dix mille fois plus de virus que pour tuer un insecte sensible. Les doses utilisées au champ deviennent donc partiellement inefficaces. Suite à cette découverte, les chercheurs et industriels se sont mobilisés pour essayer de trouver une solution à ce problème à la fois agronomique et scientifique. C'est ainsi que le nouvel isolat viral CpGV-R5 a été découvert et amplifié sur les insectes résistants afin d'atteindre une efficacité optimale. Cet isolat est pareillement efficace sur les insectes résistants et sensibles au CpGV-M. Il a été utilisé pour fabriquer un nouveau produit commercialisé à partir de 2012 par l'entreprise UPL (ex. Arysta LifeScience). Dans le même temps, deux autres produits à base de CpGV sont apparus sur le marché français, commercialisés par Andermatt Biocontrol : les isolats CpGV-V22 et CpGV-V15. Le premier s'est avéré être très proche de l'isolat CpGV-M ; les deux appartenant entièrement au même groupe génotypique (groupe A) et les insectes qui résistent à l'un, résistent à l'autre. Par contre, CpGV-V15 est un mélange de génotypes B et E (respectivement 49% et 51%). Il est relativement éloigné, phylogénétiquement parlant, de CpGV-M et, dans une moindre mesure, de CpGV-R5 qui est un mélange de 36% de génotype du groupe A et 64% du groupe E. CpGV-V15 apportait donc, dans le panel de solutions disponibles, une diversité génétique additionnelle de durabilité des programmes de lutte, utilisant l'alternance des isolats contre *C. pomonella*. Ainsi le problème agronomique était transitoirement réglé alors que certaines questions scientifiques, comme le décryptage du mécanisme de résistance, restaient en suspens. (METTRE LA BOX 1 par là)

Une surveillance active du territoire

Après avoir observé le premier cas de résistance au virus de la granulose désarçonner toute la filière pomme biologique française, les différents acteurs (DGAI, INRAE et UPL) ont décidé de maintenir une surveillance active des résistances de cet insecte aux trois groupes génotypiques de virus de la granulose commercialisés (Siegwart, Graillot *et al.* 2017). C'est ainsi que tous les deux ans, des tests biologiques¹ sont réalisés sur des insectes prélevés au terrain, dans les parcelles les plus à risque, avec comme double objectif de suivre la propagation de la résistance au CpGV-M et de détecter le plus tôt possible d'éventuelles résistances aux nouveaux isolats.

¹ Définition : Test d'activité biologique permettant de déterminer la dose virale qui provoque une mortalité donnée sur une population d'insectes.

Cette surveillance nous permet de cartographier les résistances à CpGV-M en France. Cette cartographie a montré que les programmes de lutte qui consistent à alterner les isolats sur les parcelles sans résistance au CpGV-M et proscrire CpGV-M ou CpGV-V22 dans les parcelles avec des baisses de sensibilité à CpGV-M au champ ont prouvé leur efficacité en empêchant la fixation de la résistance. Cependant, des insectes résistants sont toujours détectés dans tous les bassins de production, montrant qu'une stratégie de gestion des résistances est primordiale pour maintenir la fréquence d'individus résistants la plus basse possible en France.

Le deuxième objectif de ce plan de surveillance, détecter précocement de nouvelles résistances, a vu tout son intérêt cette année puisque les premiers cas de résistance aux isolats CpGV-R5 et CpGV-V15 ont été détectés.

Une situation nouvelle en France et en Italie

Cette année, des individus provenant de 32 parcelles ont été testés pour la résistance aux 3 groupes génotypiques. A l'aide de bandes pièges, des larves diapausantes ont été prélevées à l'automne 2019 dans des zones avec des échecs de traitement. Une fois leur diapause levée au laboratoire, les papillons émergeant de chaque parcelle ont été placés dans des bouteilles pour se reproduire entre eux, et leurs descendants ont été utilisés pour des tests biologiques. Le protocole suivi était le même que celui décrit par Sauphanor dans son article de 2006 (Sauphanor, Berling *et al.* 2006). Brièvement, les jeunes larves néonates sont individualisées et placées sur du milieu artificiel infesté avec du virus. La mortalité est mesurée après 7 jours d'incubation.

Pour chacune des 32 populations issues des 32 prélèvements de *C. pomonella*, au moins 20 larves ont été testées à la dose discriminante, *i.e.* la dose qui tue entre 95 et 100% des individus de la souche sensible de référence. Cette dose s'établissait à 6250 granules/ μ L pour CpGV-M et CpGV-R5, et 31 250 granules/ μ L pour CpGV-V15. Le résultat de ce test est présenté dans le tableau 1. Sur les 32 populations testées, 21 étaient statistiquement résistantes à CpGV-M, d'après un test de χ^2 , avec des mortalités corrigées allant de 0 à 74 %. Parmi celles-ci, 9 étaient résistantes à CpGV-V15 et 3 à CpGV-R5. Pour la première fois, des populations de *C. pomonella* résistantes aux trois isolats viraux actuellement commercialisés ont été trouvés. Une d'entre elles vient de la région nantaise et les deux autres proviennent de deux communes proches au Nord-Est de l'Italie (Frioul – Vénétie Julienne).

Tous les échantillons résistants à CpGV-V15 le sont aussi à CpGV-M, et ceux qui résistent à CpGV-R5 le sont aux deux autres isolats. Plusieurs hypothèses, non exclusives, peuvent expliquer ce résultat : i) il peut être la conséquence fortuite de la chronologie des pressions de sélection exercées sur ces populations. La pression de sélection avec CpGV-V15 et CpGV-R5 a été plus forte dans des vergers connaissant d'importants échecs de traitement avec CpGV-M. Il s'agirait d'une accumulation de gènes de résistance dans les populations dans lesquelles la résistance à CpGV-M était déjà fixée ; ii) ce résultat pourrait être directement lié au mécanisme de résistance et à son architecture génétique. La résistance à CpGV-M serait nécessaire pour développer la résistance à CpGV-V15, tout comme la résistance à CpGV-V15 le serait pour développer la résistance à CpGV-R5. Les mutations responsables des résistances à CpGV-V15 et CpGV-R5 ne seraient pas viables chez des insectes sensibles à CpGV-M. Un tel phénomène a déjà été observé pour les pyréthrinoides : la mutation *super-kdr* est létale en absence de la mutation *kdr*. Des données complémentaires et une analyse génomique permettraient d'explorer ces pistes de recherche et de déterminer si les différents gènes impliqués dans ces résistances interagissent ou dépendent les uns des autres.

Tableau 1: Mortalités corrigées (calculée d'après la formule d'Abbot) aux concentrations discriminantes pour les trois isolats viraux actuellement commercialisés (6250 granules/ μL pour les CpGV-M et R5 et 31 250 granules/ μL pour CpGV-V15). 32 populations de verger de carpocapse des pommes ont été échantillonnées en 2019 ainsi que notre souche de laboratoire sensible, utilisée comme référence.

		CpGV-M				CpGV-V15				CpGV-R5			
Population		nb	Mortalité cor (%)	χ^2	Signif.	nb	Mortalité cor (%)	χ^2	Signif.	nb	Mortalité cor (%)	χ^2	Signif.
Résistance de type 5	IT-UD-001	50	0	437	***	51	59,1	185,4	***	51	64,2	47,9	***
	IT-UD-002	46	23,5	215,1	***	47	78,2	42,2	***	47	34,5	162,1	***
	44-002	66	37,5	153,1	***	81	40,5	623,3	***	80	58,0	103,8	***
Résistance de type 4	ZA 231	64	7,4	581,5	***	62	76,5	80,4	***	54	100,0	1,4	-
	44-001	47	36,5	194,5	***	41	18,4	679,4	***	44	88,1	2,4	-
	PA-13-01	108	46,1	231,7	***	86	88,5	11,0	***	109	100,0	2,5	-
	IT-UD-004	56	48,4	146,1	***	45	78,6	40,4	***	48	100,0	1,3	-
	47-001	45	73,1	21,2	***	48	82,4	30,0	***	48	100,0	1,3	-
	38-001	69	74,7	20,9	***	93	89,9	16,2	***	69	100,0	1,3	-
	44-003	60	11,4	353,4	***	48	86,4	8,3	**	57	100,0	1,1	-
Résistance de type 1	47-002	55	16,3	338,6	***	53	95,0	1,1	-	51	100,0	1,2	-
	30-001	116	19,5	575,9	***	90	100,0	0,4	-	102	100,0	1,8	-
	34-001	128	26,5	552,7	***	116	100,0	0,9	-	99	100,0	1,4	-
	IT-AL-003	41	30,4	246,3	***	0				0			
	IT-AL-006	38	31,9	200,9	***	0				35	100,0	1,1	-
	ZA 185	46	33,9	165,3	***	0				30	100,0	0,3	-
	34-002	67	35,1	286,7	***	77	100,0	1,0	-	79	94,2	0,1	-
	85-003	56	50,2	139,3	***	45	100,0	0,4	-	41	100,0	0,9	-
	72-001	45	61,7	56,0	***	55	96,1	0,6	-	45	94,5	0,0	-
	PA-04-02	48	64,7	46,4	***	48	100,0	0,5	-	60	96,1	0,1	-
	IT-PV-005	49	69,4	33,2	***	49	100,0	0,5	-	58	95,5	0,0	-
	84-003	60	82,7	7,7	**	60	100,0	0,5	-	61	100,0	1,3	-
	2018-84-001	85	83,4	10,5	**	78	100,0	0,6	-	72	94,9	0,0	-
	13-002	66	88,3	2,4	-	72	90,6	8,8	**	66	100,0	1,3	-
	IT-UD-003	49	88,0	2,6	-	42	100,0	0,4	-	45	100,0	1,1	-
84-002	29	89,7	0,8	-	0				0				
84-001	45	94,9	0,0	-	59	100,0	0,8	-	43	100,0	1,2	-	
13-003	64	96,4	0,2	-	47	100,0	0,4	-	50	94,3	0,0	-	
DE-BW-005	47	100,0	1,2	-	46	100,0	0,4	-	46	93,7	0,1	-	
ref	47	100,0	1,3	-	47	100,0	0,5	-	51	95,7	0,0	-	
13-001	59	100,0	1,9	-	44	100,0	0,4	-	51	100,0	1,5	-	
85-004	41	100,0	1,0	-	45	100,0	0,5	-	0				
49-002	21	100,0	0,5	-	0				0				

Des nouvelles résistances caractérisées par un faible rapport de résistance

Pour estimer le rapport de résistance, c'est-à-dire leur puissance, il est nécessaire de réaliser un test complémentaire en appliquant des doses croissantes de virus. Ce test Dose / Réponse nécessite beaucoup de larves (24 par dose). Il a donc été impossible de réaliser ce test sur toutes ces populations. Nous avons choisi de présenter ici les résultats du test Dose / Réponse pour 3 échantillons prélevés en 2019 avec des profils typiques : un sensible à tous isolats viraux (Isère), un uniquement résistant à l'isolat CpGV-M (Hérault) et un dernier résistant aux trois isolats viraux actuellement commercialisés en France (Loire-Atlantique). Ces 3 échantillons ont été comparés à notre population sensible de référence (figure 1). La population d'insectes de Loire-Atlantique (en jaune sur les graphiques) est résistante aux trois isolats viraux : son rapport de résistance est de l'ordre du millier pour CpGV-M contre un dixième pour CpGV-R5 et CpGV-V15 ; c'est-à-dire qu'il faut mille fois plus de CpGV-M pour tuer la même proportion d'insectes résistants par rapport à la souche sensible de référence. En revanche il ne faut que 10 fois plus de CpGV-V15 ou CpGV-R5. On peut donc légitimement s'interroger sur les conséquences de ces nouveaux cas de résistance et sur l'efficacité des traitements actuels en champ. Selon le témoignage du producteur de la parcelle « Loire-Atlantique » il semblerait que cette résistance, même avec un faible rapport, entraîne bien une perte d'efficacité substantielle sur le terrain.

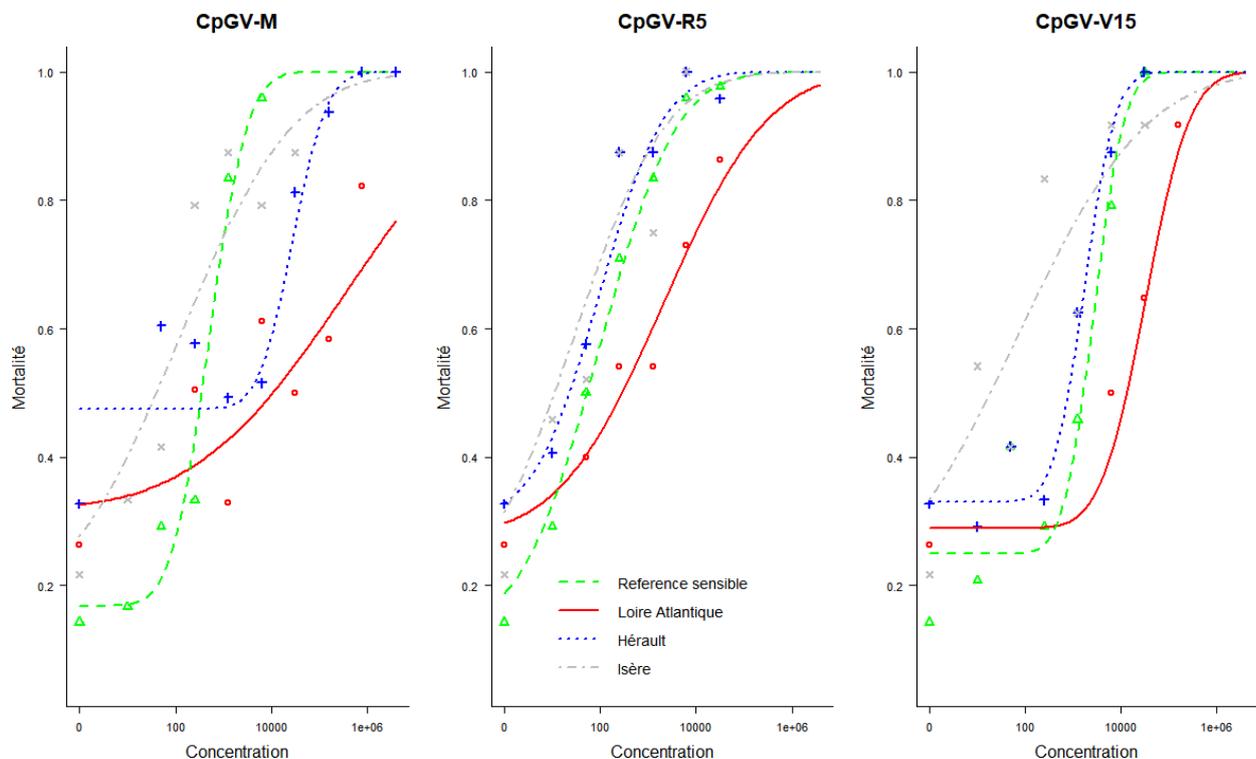


Figure 1 : Courbes Dose / Réponse de trois populations sauvages de *C. pomonella* prélevées en 2019 et une souche de référence. Les concentrations virales sont en Granules/ μ L. A) Isolot CpGV-M B) Isolot CpGV-R5 C) CpGV-V15

Vers des résistances de type 4 et de type 5 ?

La résistance historique de *C. pomonella* à CpGV-M a été qualifiée de « type 1 » (Sauer, Schulze-Bopp *et al.* 2017). C'est le profil de résistance que l'on peut observer pour la population en provenance de l'Hérault (courbes bleues sur ces graphiques). Cette résistance est suivie en France depuis 2010. Elle s'est propagée dans tous les bassins de production sans pour autant se fixer dans les populations (Siegwart, Graillot *et al.* 2017) ; c'est-à-dire qu'il existe encore des réservoirs d'individus sensibles. Une

analyse détaillée de nos souches de laboratoire résistantes à CpGV-M nous avait poussé en 2013 à prédire l'existence d'autres gènes de résistance (Berling, Sauphanor *et al.* 2013). En 2017, un deuxième type de résistance, nommée « type 2 », a été identifié en Allemagne. Elle correspond à une résistance à CpGV-M et CpGV-R5 mais pas à CpGV-V15. Celle-ci ne s'est jamais propagée et n'a plus été détectée depuis. Enfin, les mêmes chercheurs ont évoqué l'existence d'une résistance de type 3 qui montrait des facteurs de résistance très faibles à plusieurs isolats de CpGV (inférieurs à 5) n'entraînant pas de perte d'efficacité sur le terrain (Sauer, Schulze-Bopp *et al.* 2017). Les résultats présentés dans notre étude suggèrent deux nouvelles formes de résistance avec des insectes capables de résister à la fois à CpGV-M et CpGV-V15 (résistance de « type 4 ») et aux trois isolats (résistance de « type 5 »). Elles sont différentes des précédentes car leurs niveaux de résistance sont suffisamment élevés pour induire des pertes d'efficacité sur le terrain. De plus, elles sont présentes en France et en Italie. Il est donc probable que ce ne soit pas un événement unique comme celle de type 2 mais bien une première alarme qu'il nous semble important de prendre au sérieux.

En 2006, lors de l'apparition de la résistance historique à CpGV-M notre équipe a fait évoluer un isolat viral sur les insectes résistants au laboratoire pour sélectionner les génotypes viraux les plus performants. Le principe que nous avons mimé est celui d'une co-évolution naturelle qui a lieu entre l'hôte et son pathogène lorsqu'ils sont en contact permanent sur de longues périodes. Cependant, les chances de succès de cette technique dépendent du mode d'action de ces nouvelles résistances. Si le mécanisme de résistance est actif sur tous les génotypes de CpGV nous ne parviendrons pas à trouver une solution avec un autre de ces virus. Par contre, si ces résistances ne sont qu'une accumulation de mécanismes spécifiques nous avons peut-être une chance d'y parvenir.

Des recherches sur la biodiversité des virus pour améliorer ce moyen de lutte

A chaque nouvelle évolution des ravageurs, il faut trouver une solution efficace et non polluante grâce à une recherche innovante et réactive. Cette fois-ci, une des clés de notre succès dépendra de notre capacité à acclimater une nouvelle souche d'insectes multi-résistantes au laboratoire. Cette étape difficile est pourtant primordiale pour développer une formulation virale capable de contourner les résistances. Une bonne exploitation de nos banques virales, sera également cruciale pour profiter au maximum de la biodiversité des CpGVs en notre possession. L'isolat CpGV-M est génétiquement très homogène, ainsi les insectes ont pu développer une résistance extrêmement spécifique. Par contre, d'autres isolats viraux ont une diversité génétique plus importante. Il semble qu'une des clés de l'infection des carpocapses par le virus soit cette diversité. Chaque génotype du virus attaque son hôte de façon légèrement différente, et même si l'hôte peut arriver à se défendre d'un type d'attaque, il a plus du mal avec plusieurs attaques simultanés. Des travaux de laboratoire ont montré qu'un mélange de génotypes viraux de la granulose est plus performant que la même quantité de chacun des génotypes pris séparément. Aujourd'hui, nous ne savons pas où l'insecte arrive à bloquer l'infection du CpGV-M, ni comment CpGV-R5 arrive à contourner ce point de blocage, mais de façon surprenante, le CpGV-M est capable de se multiplier dans les insectes résistants s'il est accompagné du CpGV-R5 (Graillet, Bayle *et al.* 2014). Cela suggère une interaction entre génotypes viraux. Il s'agit là d'une stratégie différente de l'alternance des isolats, la diversité a une valeur en soi. Même si les préparations commerciales sont des mélanges de génotypes viraux, pour qu'une larve soit infectée par plusieurs virus, il faut qu'elle mange plusieurs granules. La question de l'occurrence d'infections doubles sur le terrain reste donc entière. Récemment nous avons pu montrer la présence d'infections doubles en conditions de verger, et leur augmentation en fonction du temps de contact. (Hinsberger, Blachère-Lopez *et al.* 2020). Ce temps de contact correspond à la période entre l'éclosion de l'œuf et la pénétration dans le fruit. Lorsque l'œuf est pondu sur les feuilles, le temps de contact est plus grand

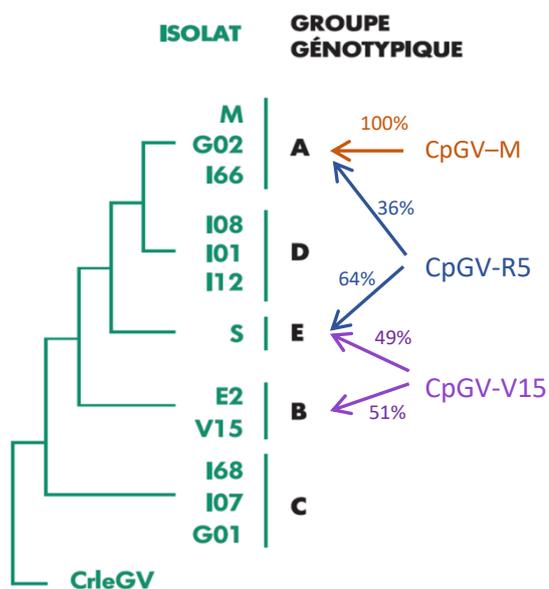
que lorsqu'il est pondu sur le fruit. Les mélanges seront donc plus efficaces sur la ou les premières générations de carpocapse des pommes où le « stade baladeur » est plus long.

La lutte contre le carpocapse des pommes évoque une course aux armements. Pouvoir évaluer en continu et pour chaque parcelle la solution la plus appropriée, en analysant les types de résistance pour adapter le meilleur mélange viral donnerait un avantage décisif aux conseillers agricoles. Cela impliquerait une très bonne communication entre le triptyque agriculteur/fournisseur de solutions phytosanitaires/chercheur. Dans la « course à l'isolat », nous serons toujours en réaction face au carpocapse, si nous n'arrivons pas à mettre en place une stratégie proactive. Nous pourrions par exemple utiliser nos connaissances sur les types de résistance l'année N-1 dans une zone donnée pour faire des prédictions d'efficacité de certains isolats pour l'année N et y préconiser finement les mélanges les plus performants.

Références bibliographiques

- Berling, M., B. Sauphanor, et al. (2013). "A single sex-linked dominant gene does not fully explain the codling moth's resistance to granulovirus." Pest Management Science **69**(11): 1261-1266.
- Gebhardt, M. M., K. E. Eberle, et al. (2014). "Baculovirus resistance in codling moth is virus isolate-dependent and the consequence of a mutation in viral gene pe38." Proc Natl Acad Sci U S A **111**(44): 15711-15716.
- Graillot, B., S. Bayle, et al. (2014). CpGV-R5 allows replication of CpGV-M in resistant host insect larvae. . 47th annual meeting of the society for invertebrate pathology and International congress on invertebrate pathology and microbial control. Mainz (Germany).
- Hinsberger, A., C. Blachère-Lopez, et al. (2020). "Promoting mixed genotype infections in CpGV: analysis on field and laboratory sprayed apple leaves." Biocontrol Science and Technology: 1-8.
- Sauer, A., S. Schulze-Bopp, et al. (2017). "A third type of resistance of codling moth against *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) shows a mixture of a Z-linked and autosomal inheritance pattern." Applied and Environmental Microbiology **83**: AEM.01036-01017.
- Sauphanor, B., M. Berling, et al. (2006). "Cases of resistance to granulosis virus in the codling moth." Phytoma **590**: 24-27.
- Sieglwart, M., B. Graillot, et al. (2017). "Résistance du carpocapse au virus de la granuloze." Phytoma **708**: 4.

BOX 1 :



Adapté par Andermatt de Gebhardt *et al.* 2014 et Eberle *et al.* 2009

Pour mieux appréhender la diversité génétique des CpGVs, les scientifiques allemands les ont regroupés en se basant sur le degré de ressemblance de leur génome (Gebhardt, Eberle *et al.* 2014). Sur cette figure, on peut voir que CpGV-M est classé dans le groupe A. Le CpGV-R5 et CpGV-V15 sont constitués en réalité de mélanges de génotypes. Les insectes porteurs de la résistance de type 1 sont insensibles aux génotypes des groupes A et D.