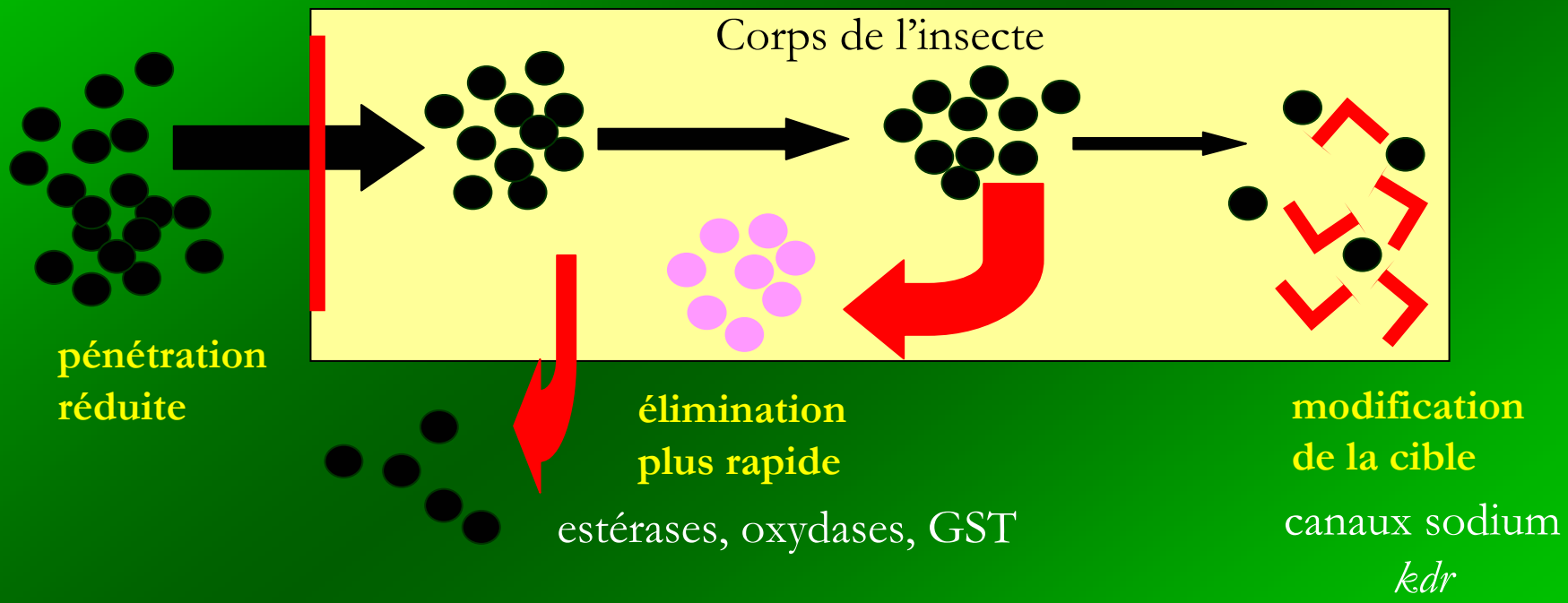
Les mécanismes de résistance de *Helicoverpa armigera* en Afrique de l'Ouest

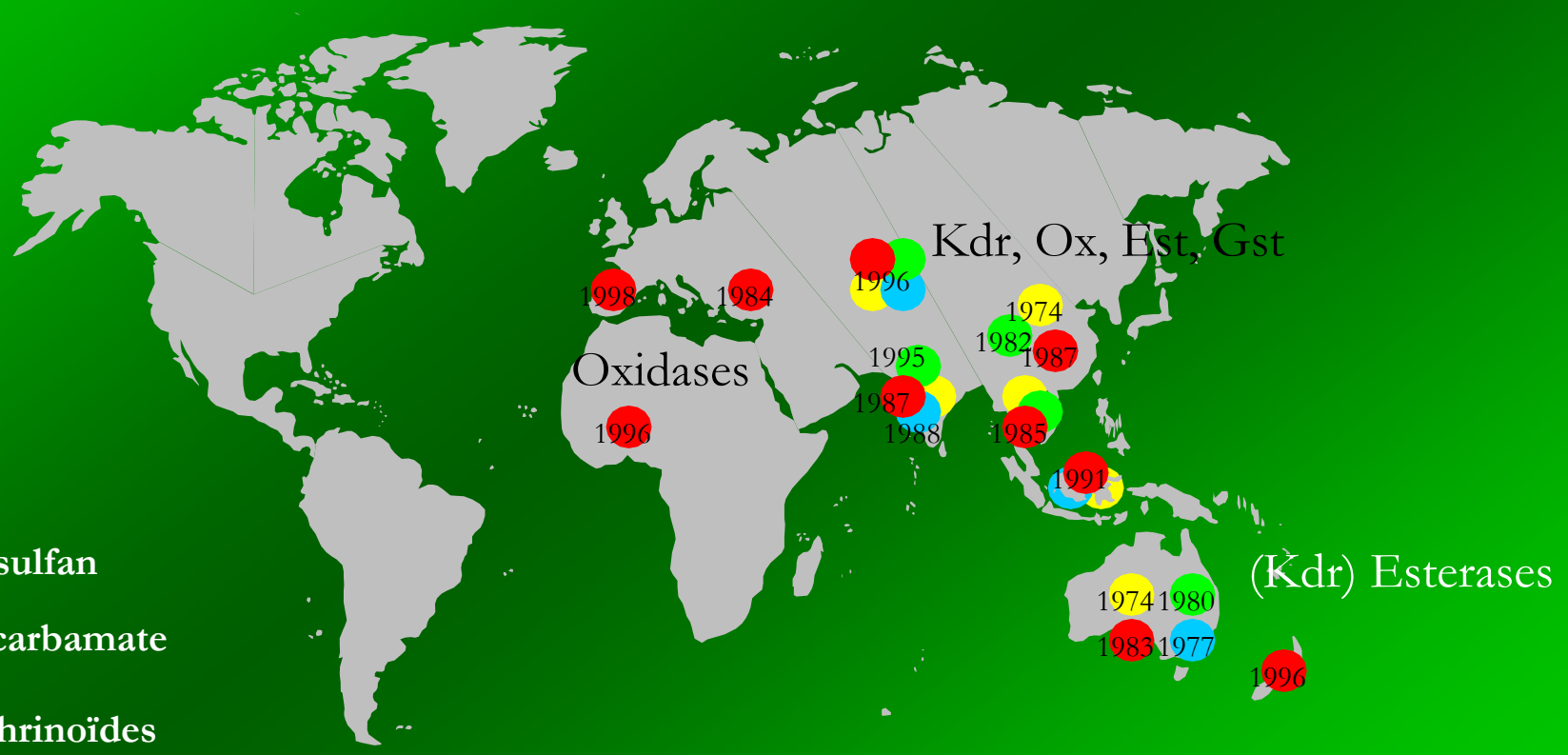
Thibaud Martin, Fabrice Chandre
Germain Ochou, Robin Gunning,
Julien Pompon, Didier Fournier

Helicoverpa armigera

Schématisation des mécanismes de résistance chez l'insecte



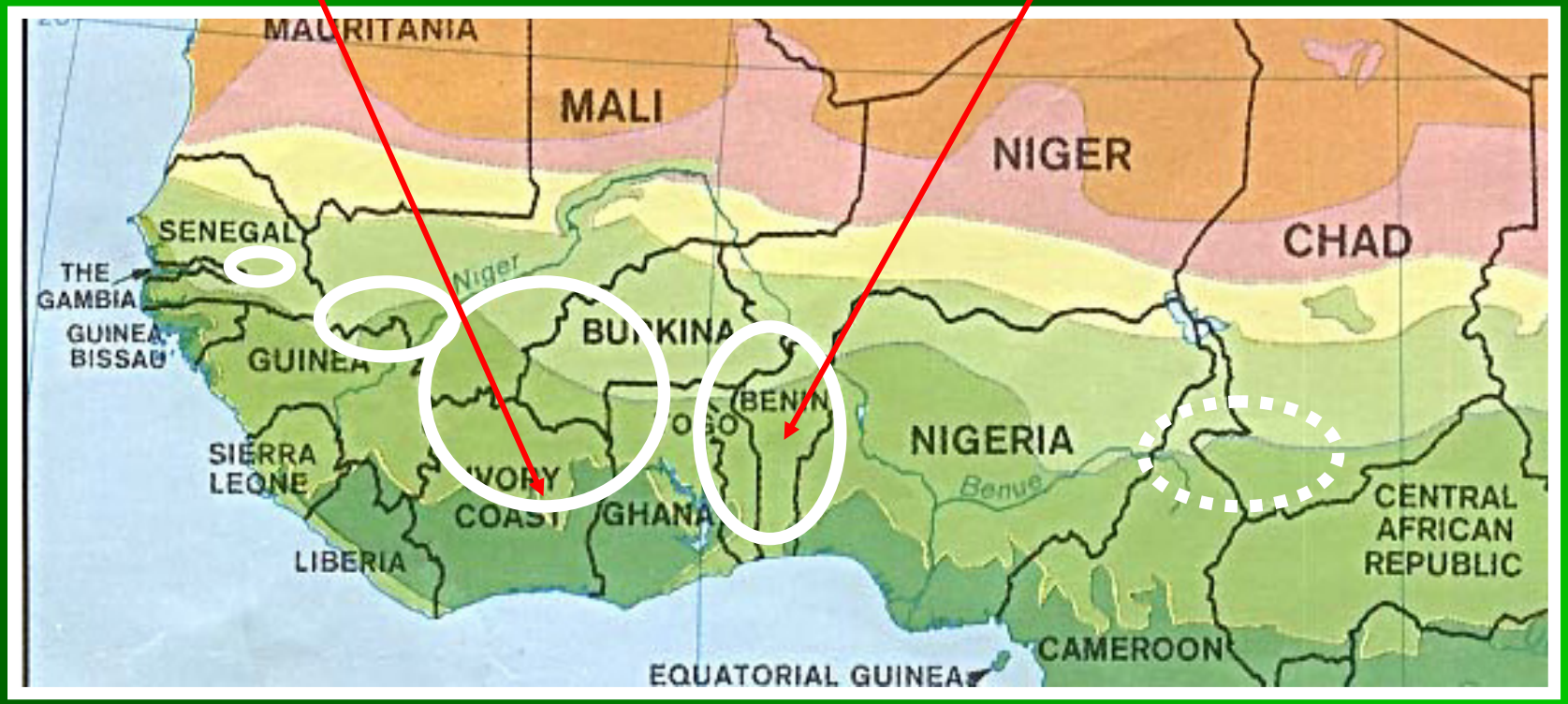
Insecticide Resistance in H*elicoverpa armigera* around the globe



Origine des souches de Helicoverpa armigera

Côte d'Ivoire
BK77 : cot. 1977, sensible
BK99R : cot. 1999, sélectionnée PY

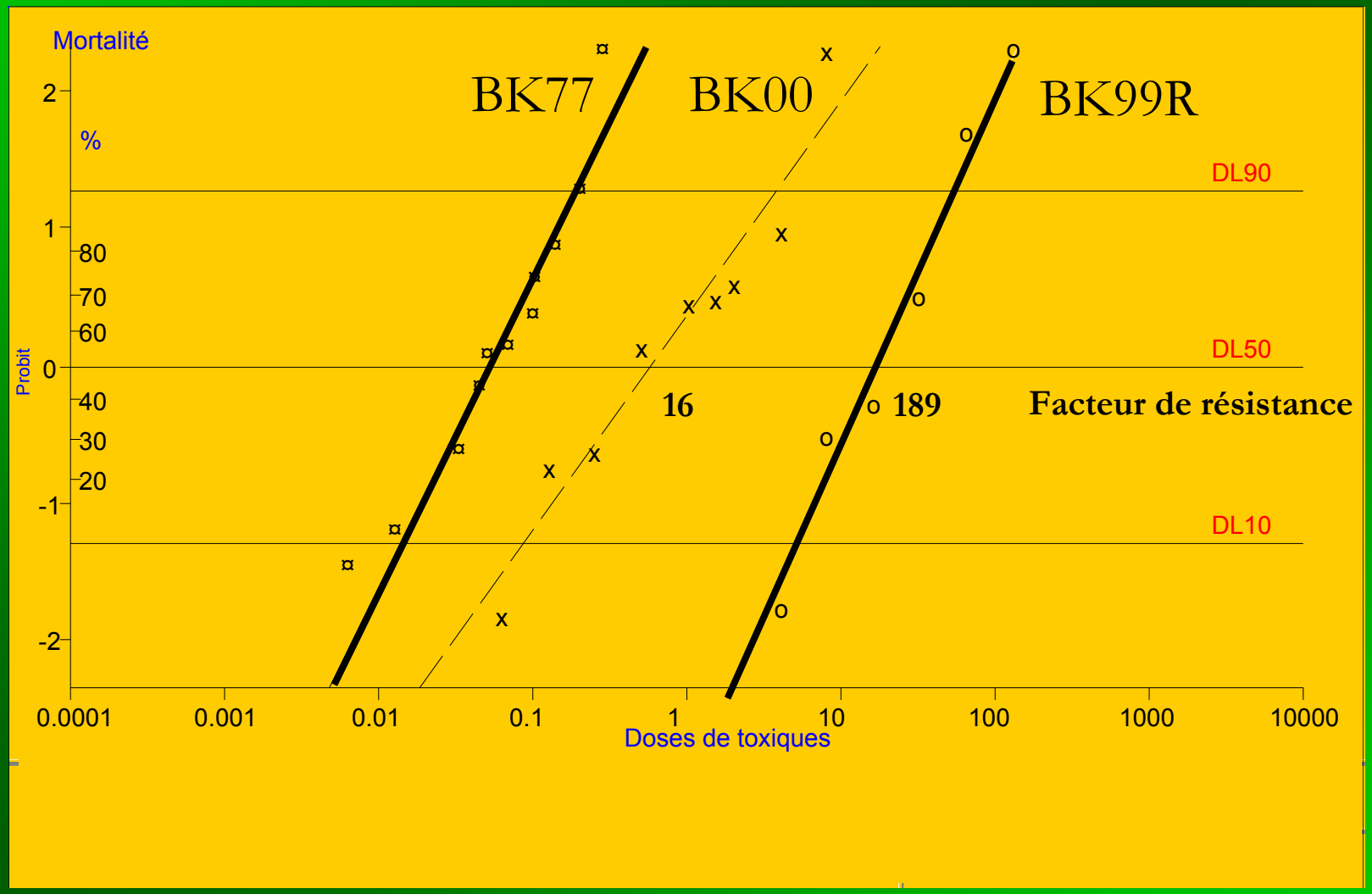
Benin
BENR : cot 1998, x BK77, sélectionnée PY



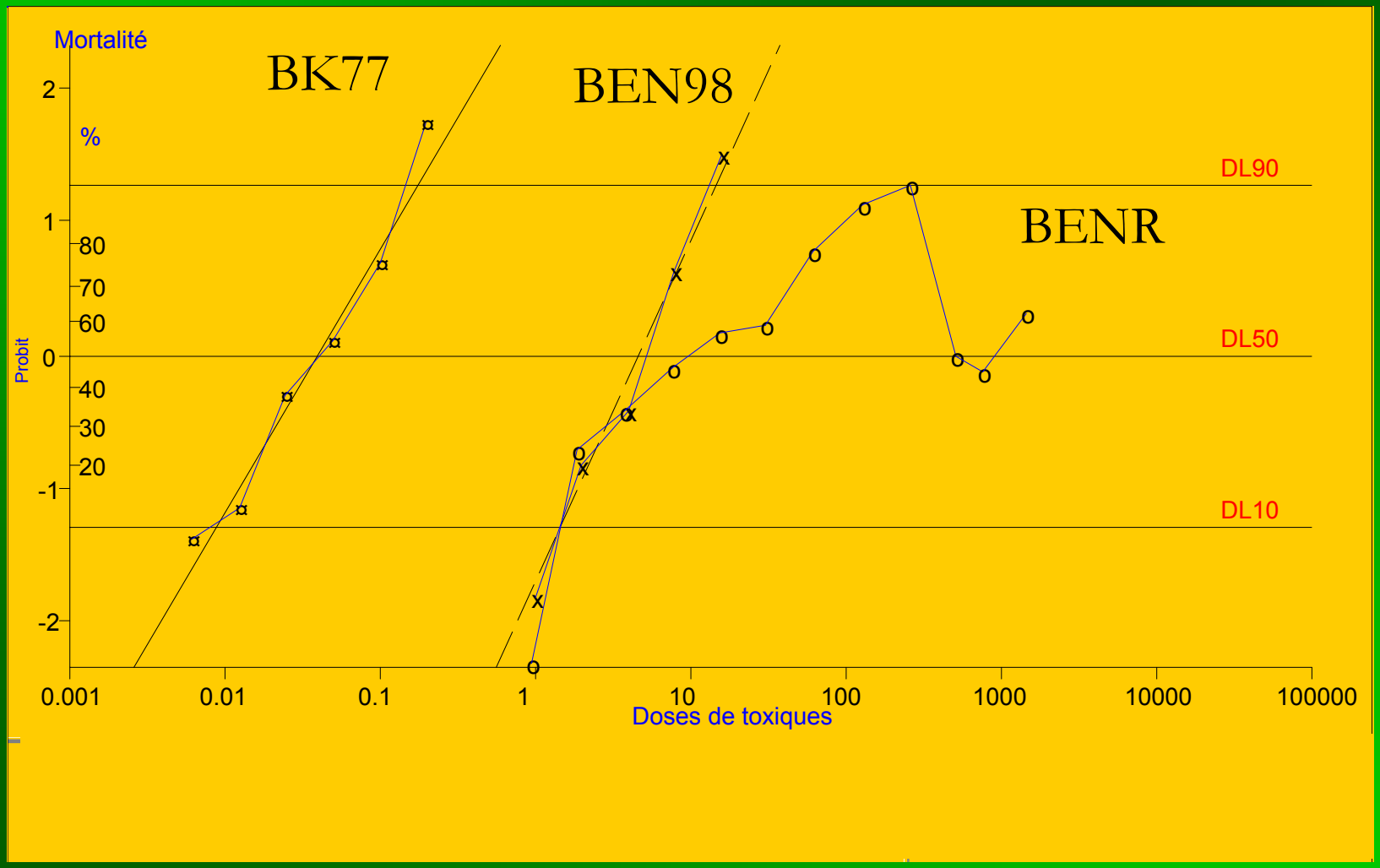
Cotton areas in West Africa

Cotton areas in Central Africa

Toxicité de la deltaméthrine sur 3 souches de *H. armigera* : sensible BK77, du champ BK00 et sélectionnée BK99R



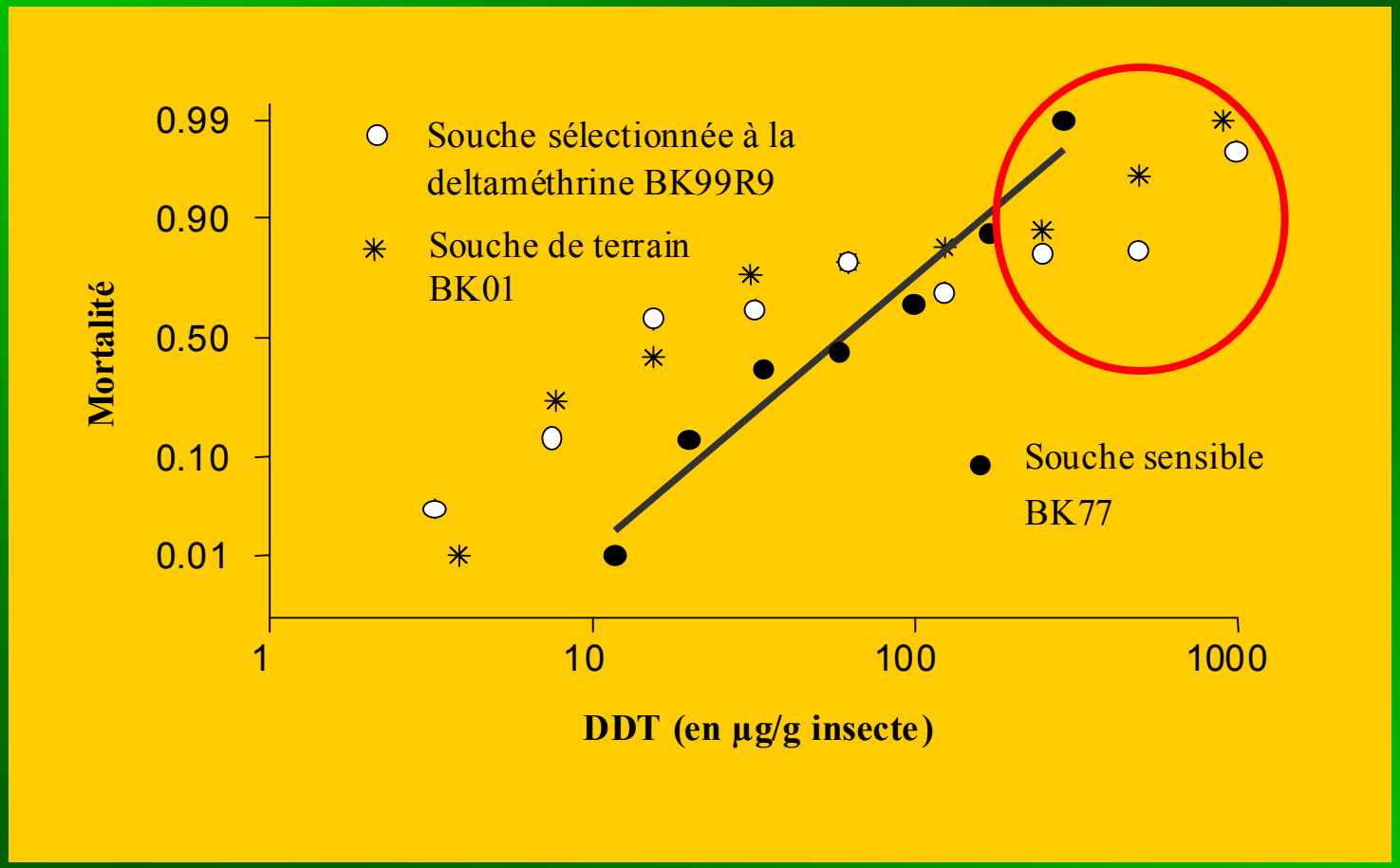
Toxicité de la deltaméthrine sur 3 souches de *H. armigera* : sensible BK77, du champ BEN98 et sélectionnée BENR



Modification de cible

Essai biologique

Il n 'y a pas de résistance croisée entre deltaméthrine et DDT

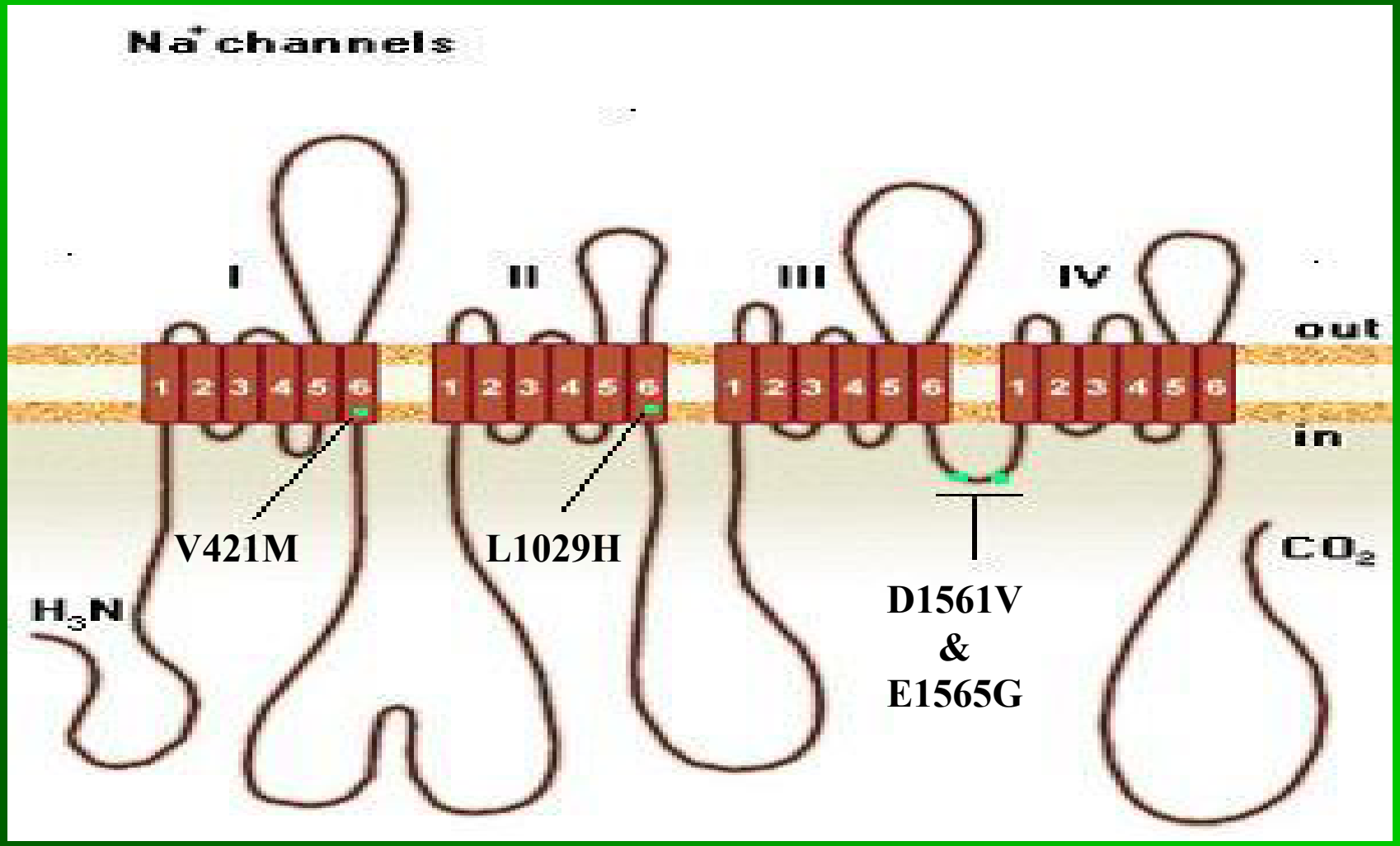


Le mécanisme *kdr* pourrait être présent chez une fraction de la population.

Knockdown résistance (kdr)

- Réduction de l'affinité des pyrethrinoides pour les canaux sodium des insectes résistant
- Associée avec des mutations de la séquence génétique codant pour le canal sodium
- La mutation la plus fréquente est la substitution de 2 acides aminés (Leu-Phe) du gène codant pour le canal sodium
  - *Musca domestica*
  - *Blatella germanica*
  - *Plutella xylostella*
  - *Myzus persicae*
  - Autre substitution (Leu-His) chez *Heliothis virescens*

Canal Sodium et mutations *kdr* chez *Helicoverpa armigera et Heliothis virescens*



Les mutations codant pour le mécanisme *kdr* n'ont pas été observées chez les larves sensibles (BK77) et sélectionnées (BENR) ni chez les adultes collectés au Cameroun, Bénin, Burkina Faso et Afrique du sud

	mutations	acides aminés	références
H. armigera	D1561V &	VII**D**NFN**E**QK (BENR)	
et	E1565G	VII**D**NFN**E**QK (sensible)	Head et al., 1998
H. virescens		VII**V**NFN**G**QK (résistant)	Head et al., 1998
	V421M	FLGSFYL**V**NL (BENR)	
		FLGSFYL**V**NL (sensible)	Park et al., 1997
		FLGSFYL**M**NL (résistant)	Park et al., 1997
	L1029H	ATVVIGN**L**VV (BENR)	
H. virescens		ATVVIGN**L**VV (sensible)	Park et al., 1997
		ATVVIGN**H**VV (résistant)	Park et al., 1997

La résistance aux pyréthrinoïdes des souches Africaines ne serait pas due à une modification des canaux sodium

Résistance métabolique

Essai biologique

La résistance peut être supprimée par un pré-traitement avec un inhibiteur enzymatique, le piperonyl butoxide

Facteurs de résistance à la deltaméthrine de *H. armigera*

BK99R - sans PBO : **190**
- avec PBO : **4**

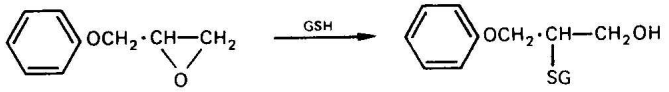
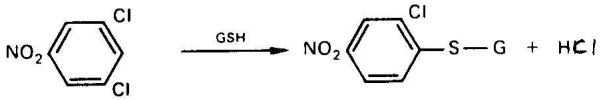
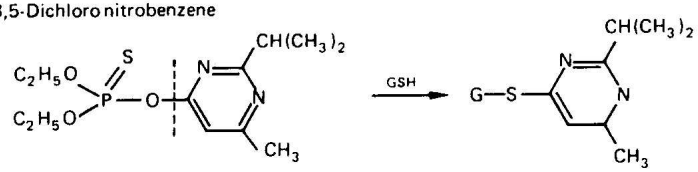
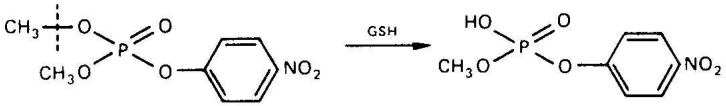
BENR - sans PBO : **> 1000**
- avec PBO : **5**

Ce résultat indique l'implication des enzymes de détoxification dans le mécanisme de résistance

Glutathion-S-transferases

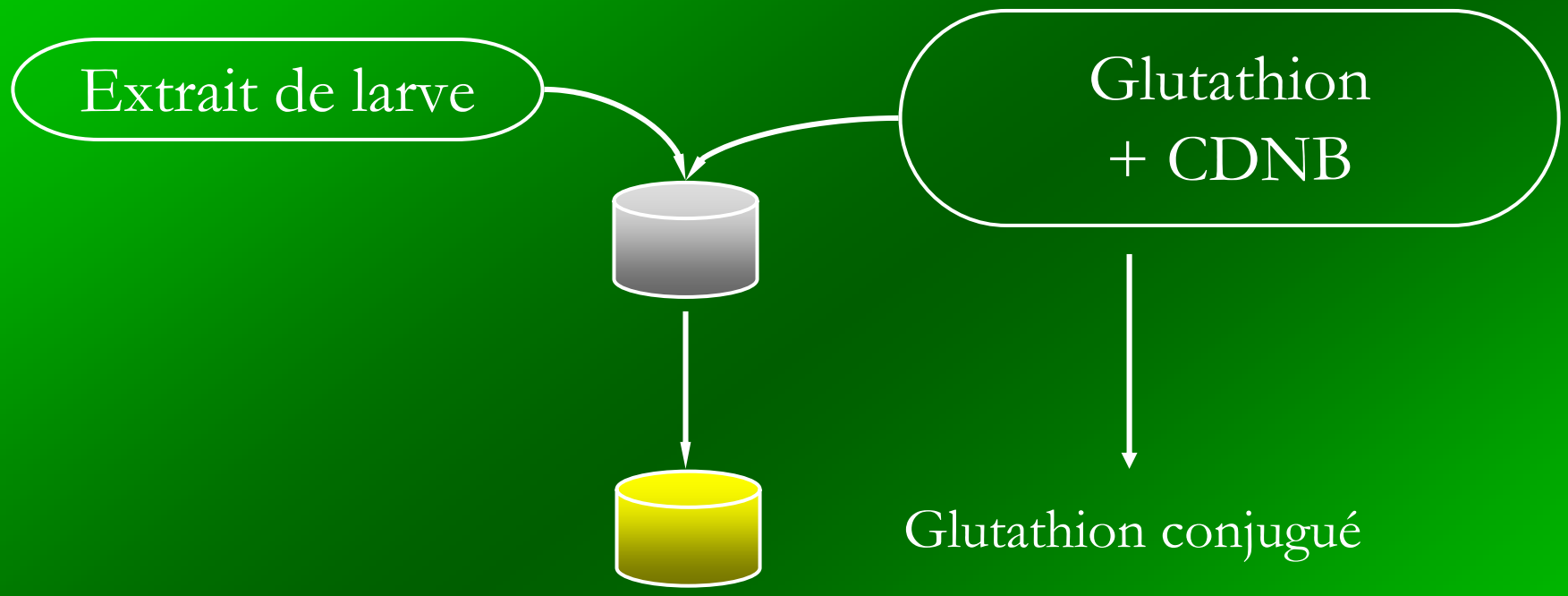
- Glutathion: tripeptide GLU-CYS-GLY
- Conjugaison entre l'insecticide et le glutathion

Table 3.2 Three groups of glutathione-*S*-transferases of importance in pesticide degradation (GSH = glutathione)

Type	Name	Reaction examples
1	Glutathione-*S*-epoxide transferase	
2	Glutathione-*S*-aryl transferase	(a)  3,5-Dichloronitrobenzene
		(b)  Diazinon + $(C_2H_5O)_2 \cdot PS \cdot OH$
3	Glutathione-*S*-alkyl transferase	(a) $CH_3I \xrightarrow{GSH} CH_3-S-G + HI$
		(b)  Methyl parathion + CH_3-S-G

Hassal, 1990

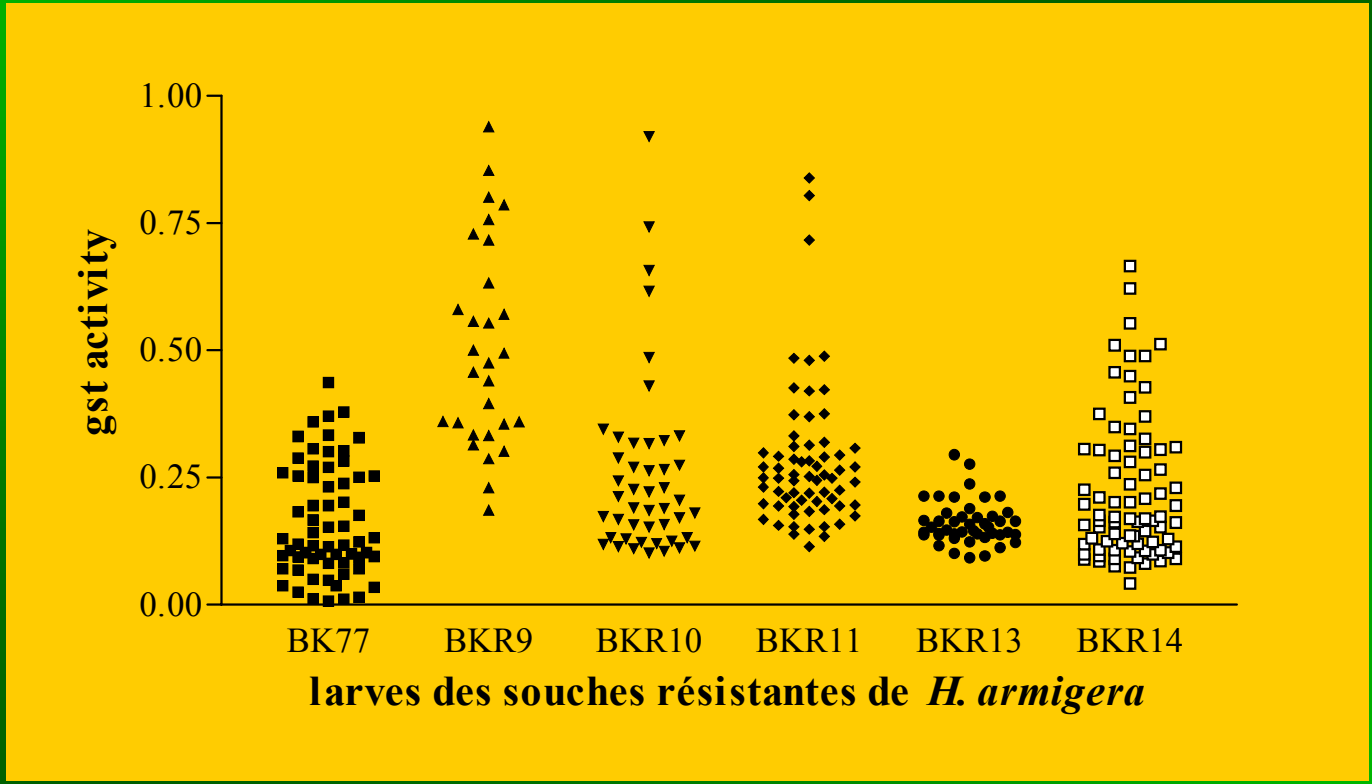
Glutathion-S-transférases



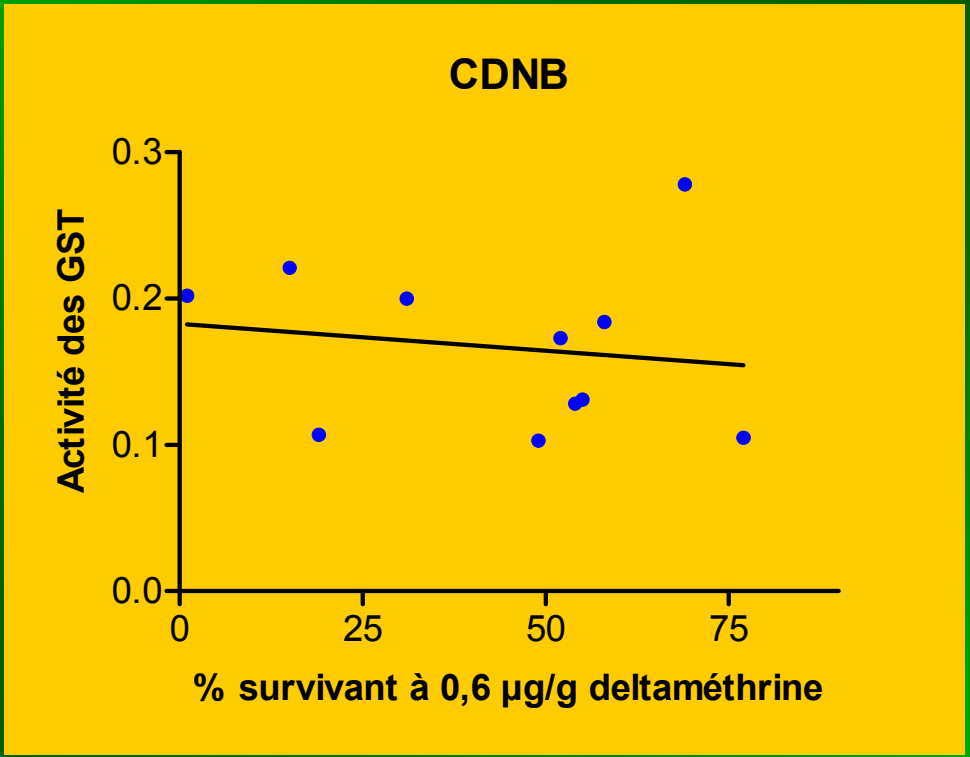
Lecture en cinétique au spectrophotomètre, $\lambda = 340$ nm

on obtient l'activité des GST en nmole GSH conjugué / min / mg protéine

Les valeurs d'activité des glutathion-S-transférases (GST) des larves résistantes sélectionnées présentent une grande variabilité



L'activité des GST des larves des populations de terrain n'est pas corrélée avec la résistance



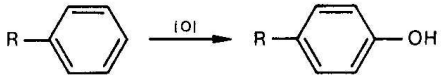
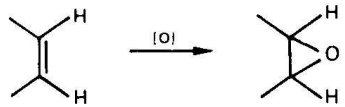
Il n'y a pas de relation entre l'activité des GST et la résistance.

oxydases

mono-oxygenase à Cytochrome P450

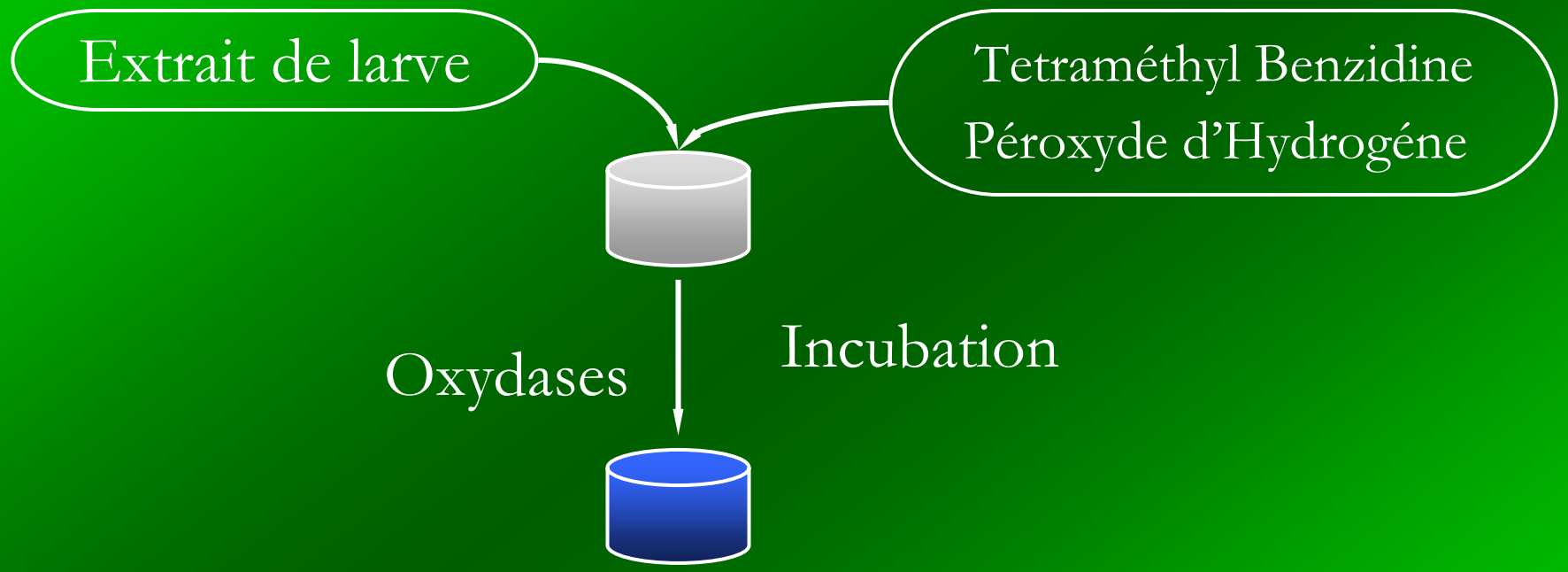
$$R\text{-}H + O_2 + 2H^+ \longrightarrow R\text{-}OH + H_2O$$

Table 3.1 Oxidation reactions involving mono-oxygenases

Type of reaction	General representation
1 (a) Aliphatic hydroxylation	$R{-}CH_2{-}H \xrightarrow{[O]} R{-}CH_2{-}OH$
(b) Aromatic hydroxylation	
2 (a) *O*-Dealkylation	$R{-}O{-}CH_3 \xrightarrow{[O]} R{-}O{-}CH_2O{-}H \xrightarrow{[O]} R{-}OH$
(b) *N*-Dealkylation	$R{-}NH{-}CH_3 \xrightarrow{[O]} R{-}NH{-}CH_2O{-}H \xrightarrow{[O]} R{-}NH_2$
3 Epoxidation	
4 Substitution of oxygen for sulphur	$>P{=}S \xrightarrow{[O]} >P{=}O$
5 (a) Formation of sulphoxides and sulphones	$R{-}CH_2{-}S{-}CH_3 \xrightarrow{[O]} R{-}CH_2{-}\overset{\overset{O}{\|}}{S}{-}CH_3 \xrightarrow{[O]} R{-}CH_2{-}\overset{O}{\overset{\|\|}{S}}{-}CH_3$
(b) Formation of amine oxides	$R{-}N(CH_3)_2 \xrightarrow{[O]} R{-}\underset{\underset{O}{\|}}{N}(CH_3)_2$

Hassal, 1990

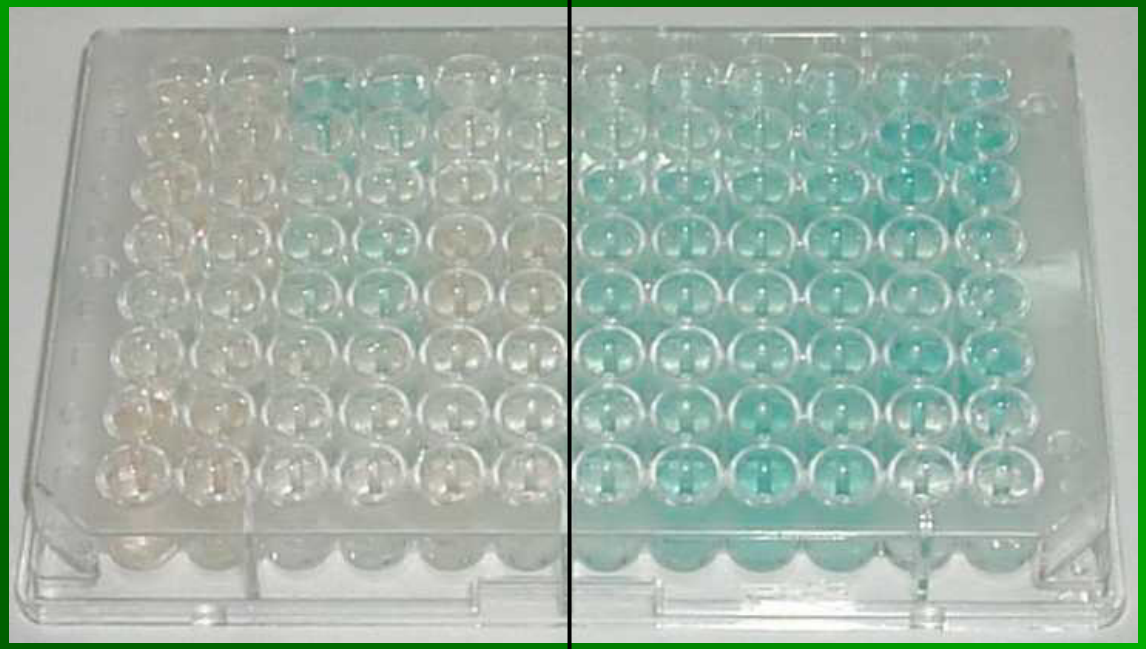
monooxygénases à cytochrome P450



Lecture au spectrophotométre, $\lambda = 630$ nm

on obtient une concentration en nmole cyt-P450 équiv. Hème / mg protéine

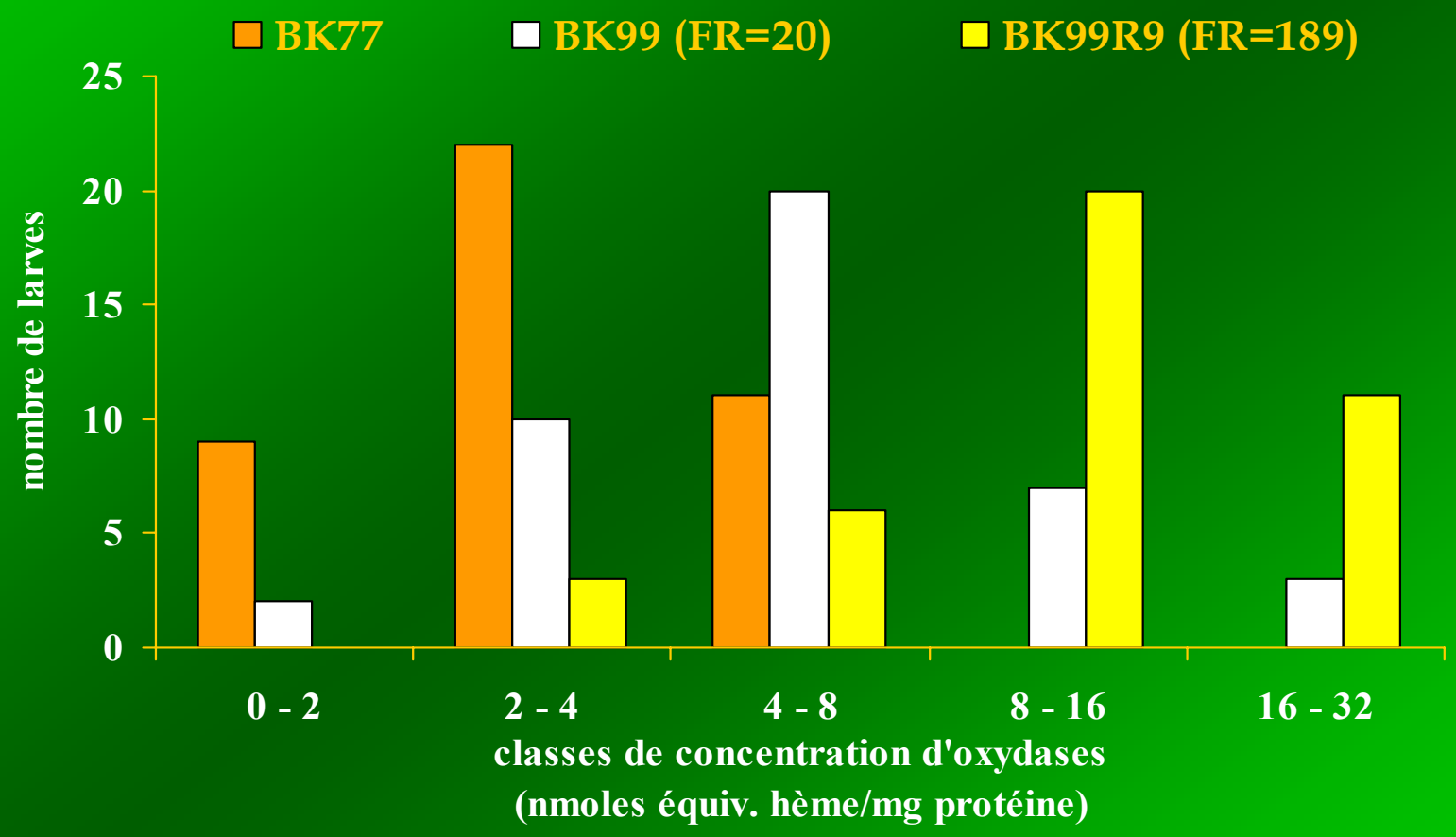
Microplaque montrant la quantité de cytochrome P450



souche sensible

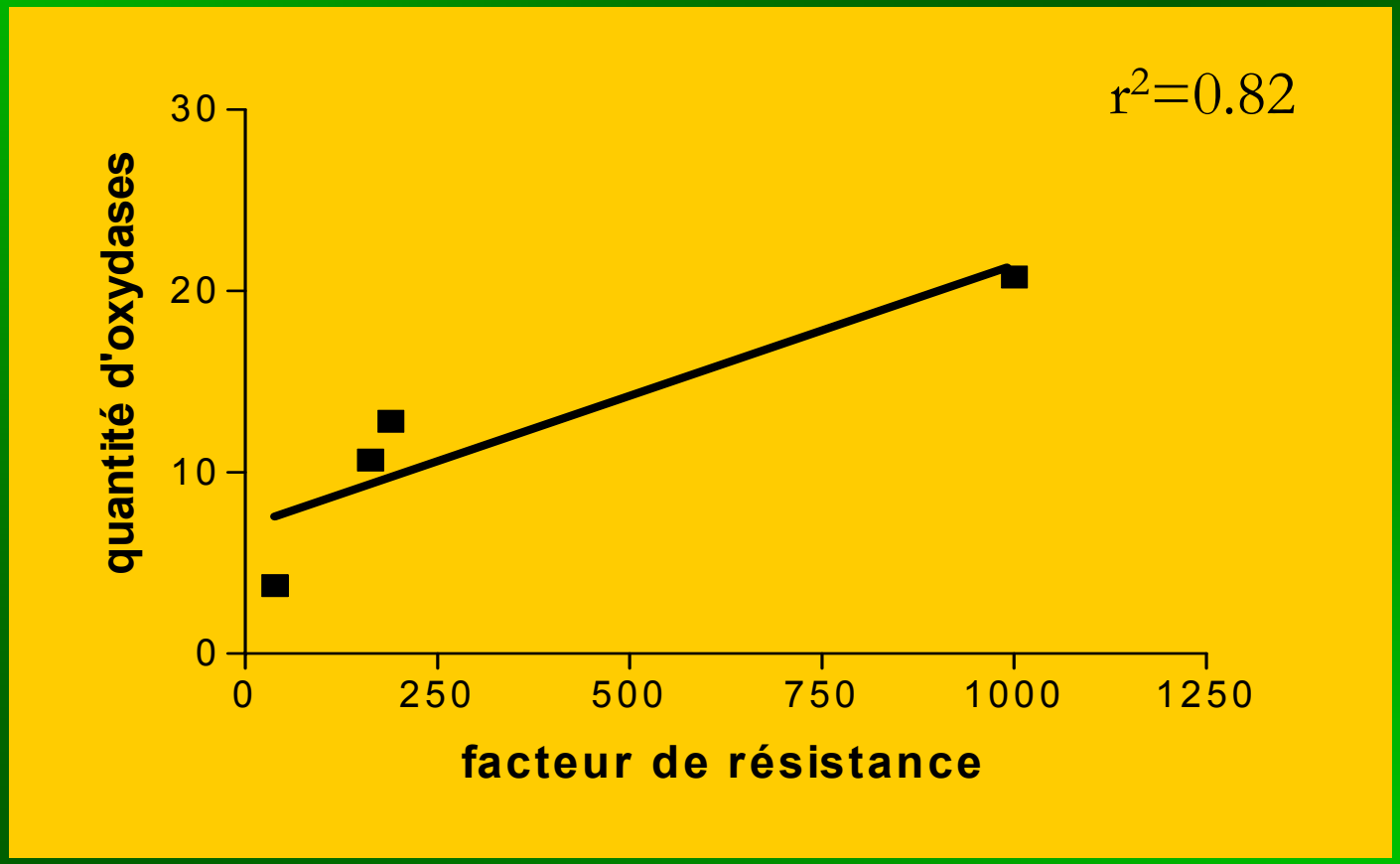
souche résistante
aux pyréthrinoïdes

La quantité d'oxydases par larve est variable chez les individus d'une même population

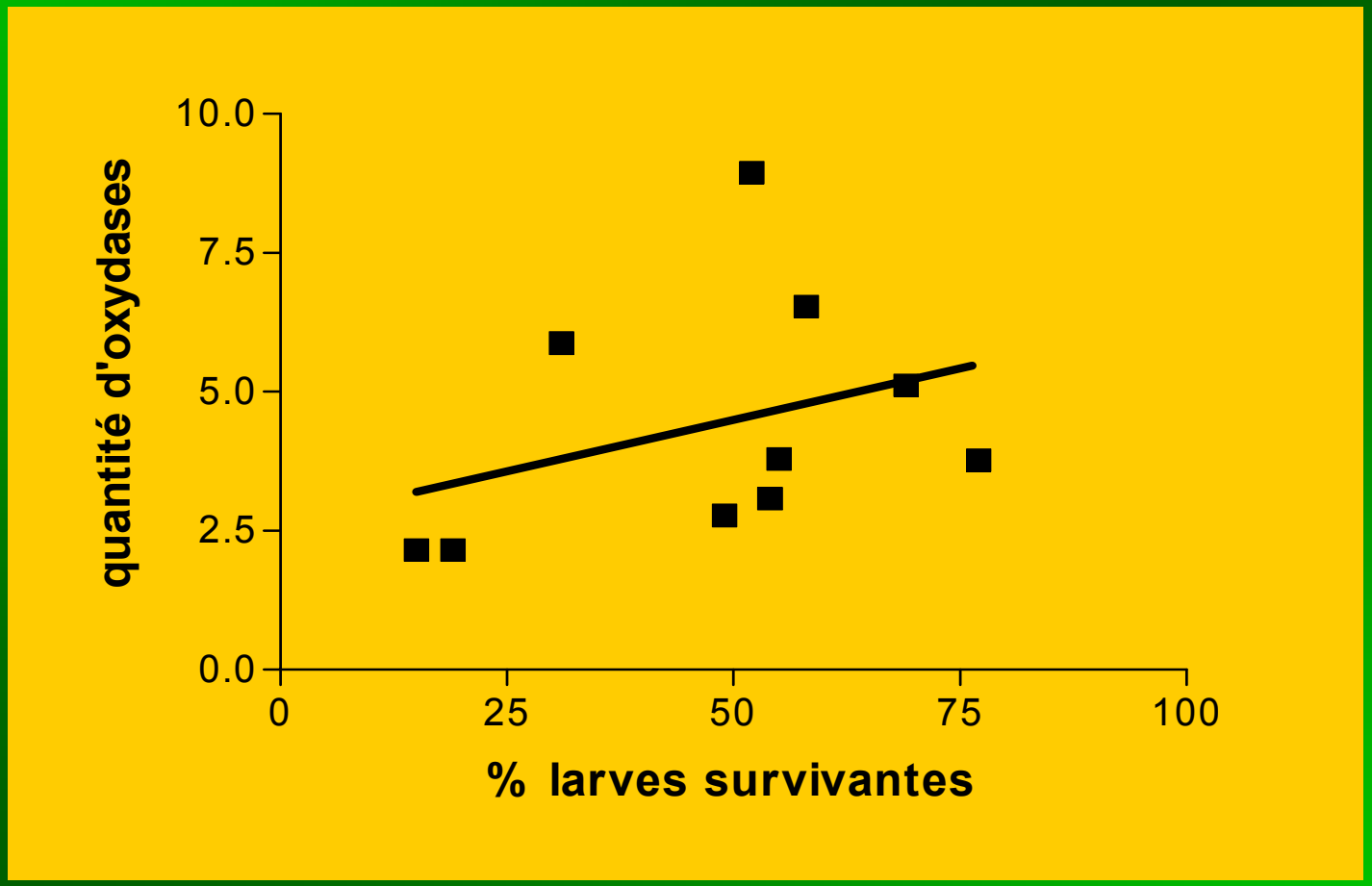


Les souches résistantes ont une quantité d'oxydases moyenne significativement supérieure à la souche sensible

La quantité d'oxydases est corrélée à la résistance chez les populations sélectionnées (BK99: R0, R4, R9 et R13)



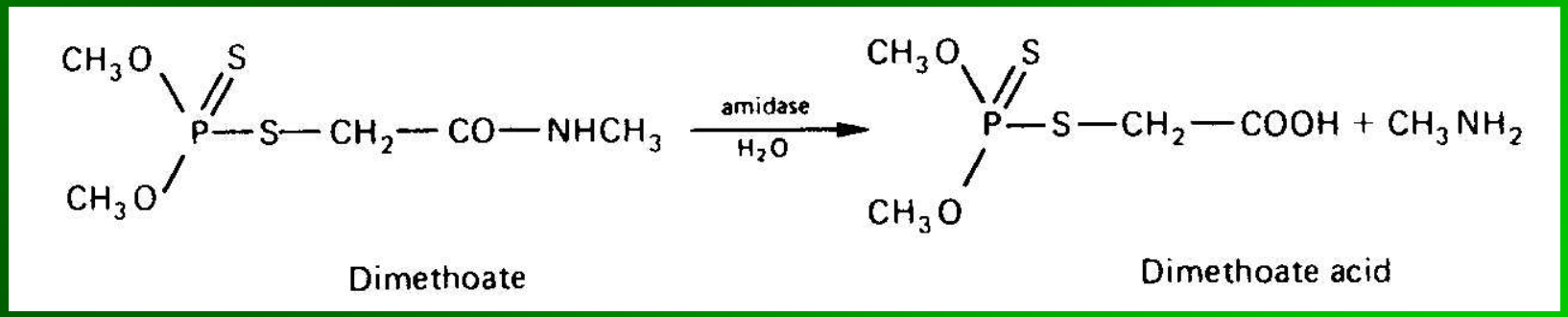
Mais la quantité d'oxydases n'est pas corrélée à la résistance chez les populations de terrain



Esterases

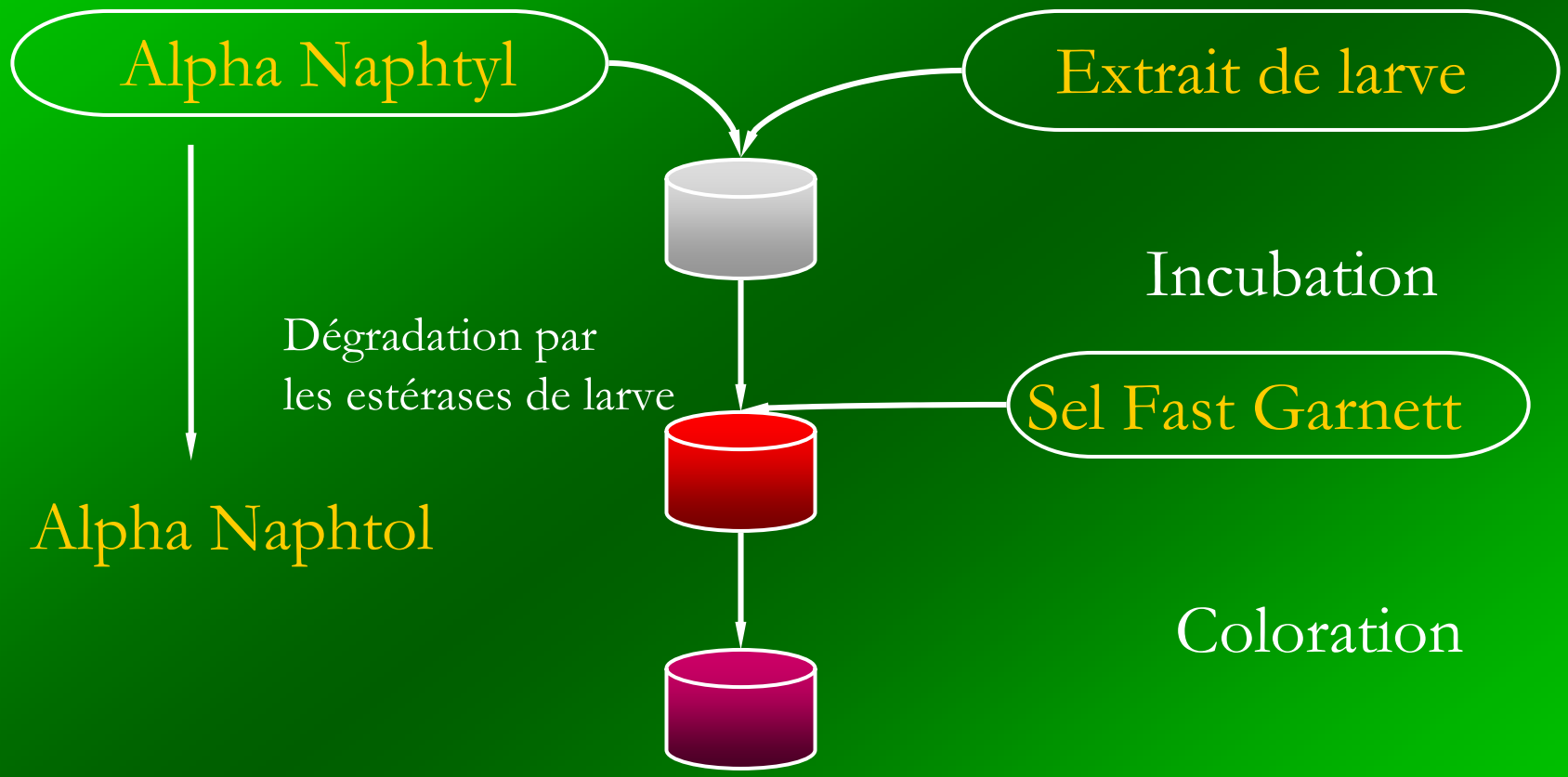
- Les insecticides qui ont une liaison ester peuvent être hydrolysés par les esterases
  - Carboxylesterase (liaison R-COO-R')
  - Carboxyamidase (liaison R-CONH-R')
  - Phosphatases (liaison R-COP-R')

$$R\text{-}COO\text{-}C_2H_5 + H_2O \xrightarrow{\text{Carboxylesterase}} R\text{-}COOH + C_2H_5\text{-}OH$$



Hassal, 1990

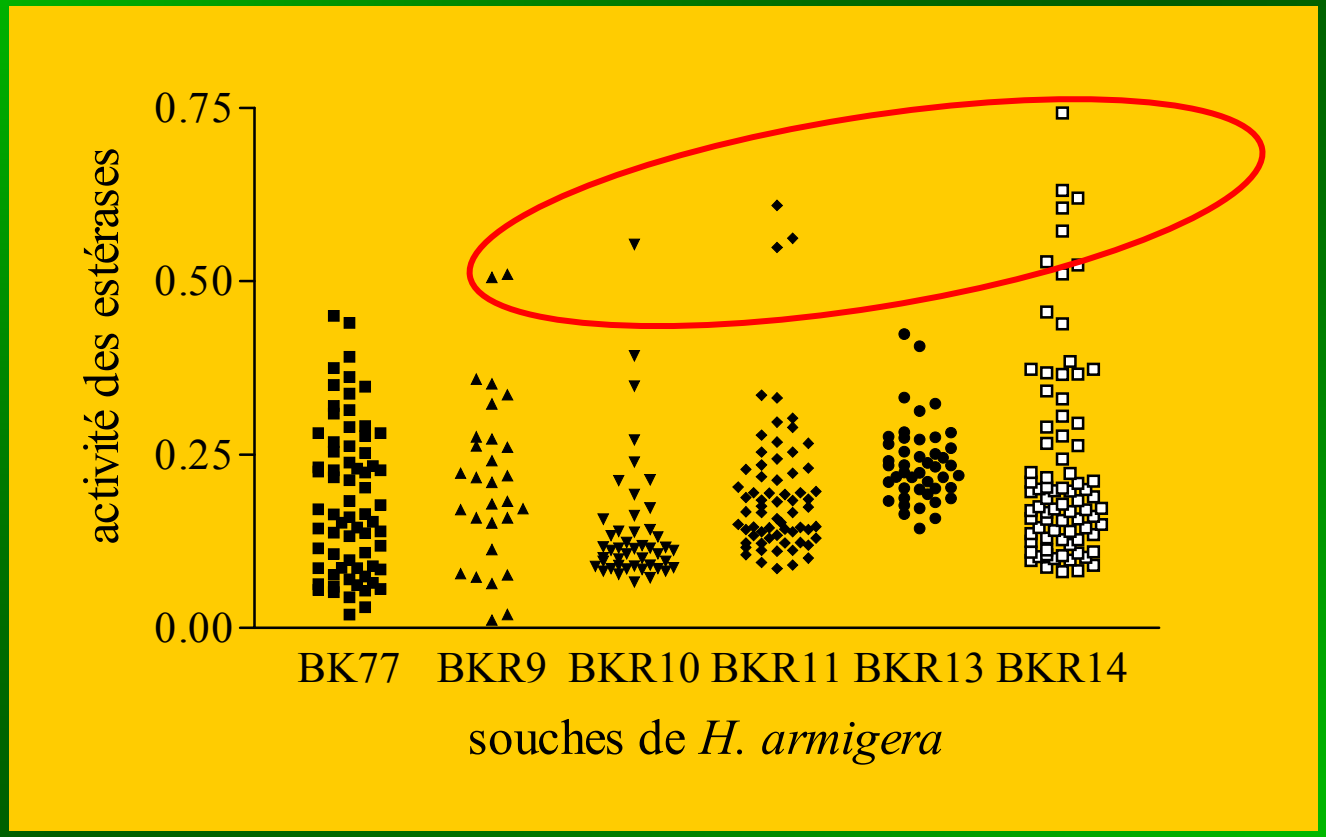
Mesure de l'activité des estérases



Lecture au spectrophotomètre, $\lambda = 550$ nm

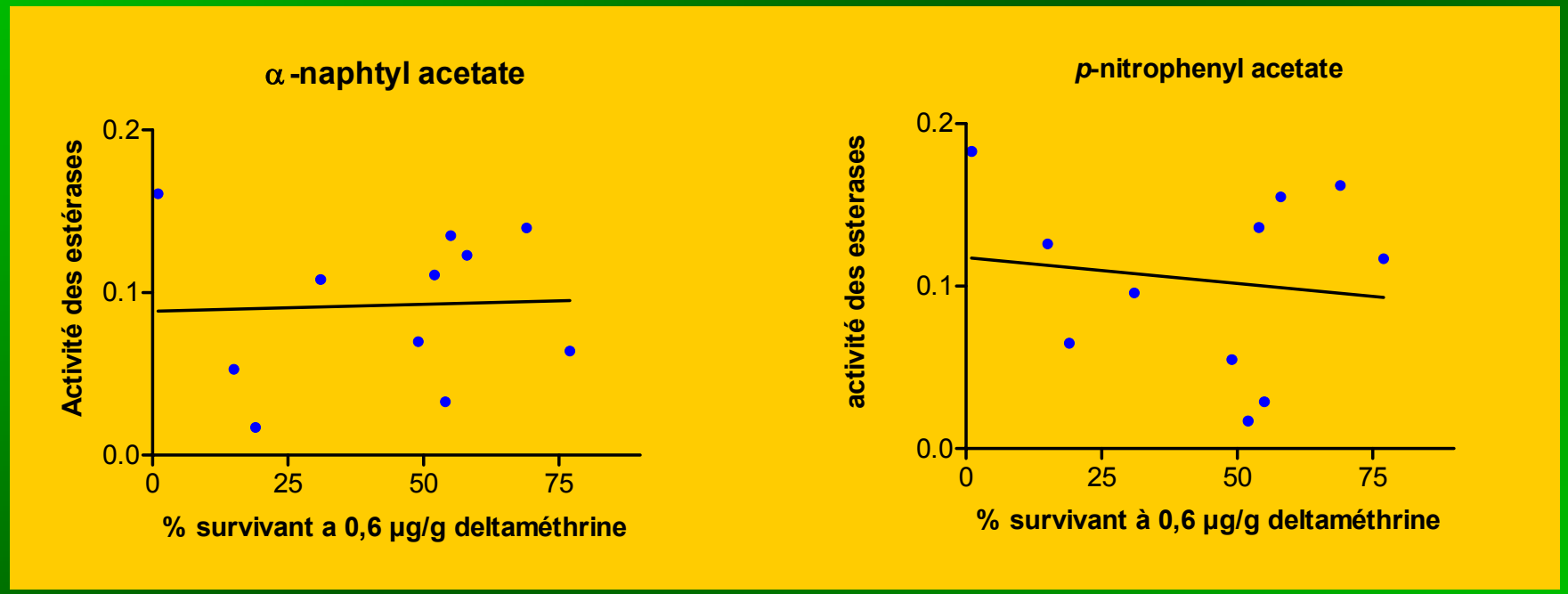
on obtient l'activité des estérases en µmole d'alpha naphtol produit / min / mg protéine

Les valeurs d'activité des estérases des larves résistantes de la souche sélectionnée présentent une grande variabilité



- Pas de différence significative sur l'activité moyenne des estérases
- Mais le nombre d'individus présentant une forte activité d'estérases semble augmenter au fur et à mesure de la sélection

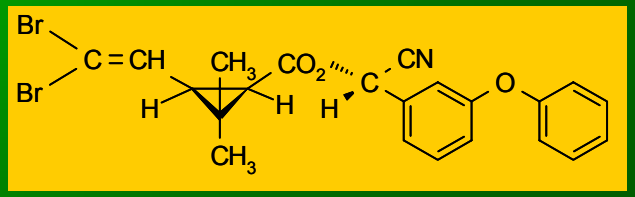
Comparaison de l'activité estérasique dans diverses populations de terrain d'*H. armigera*.



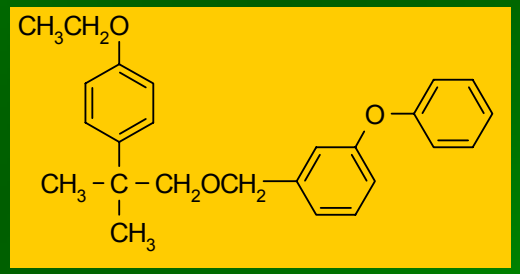
Il n'y a pas de relation entre l'activité des estérases et la résistance dans les populations de terrain.

Essai biologique

On observe une faible résistance croisée positive avec l'étofenprox un pyréthrinoïde qui n'a pas de fonction ester



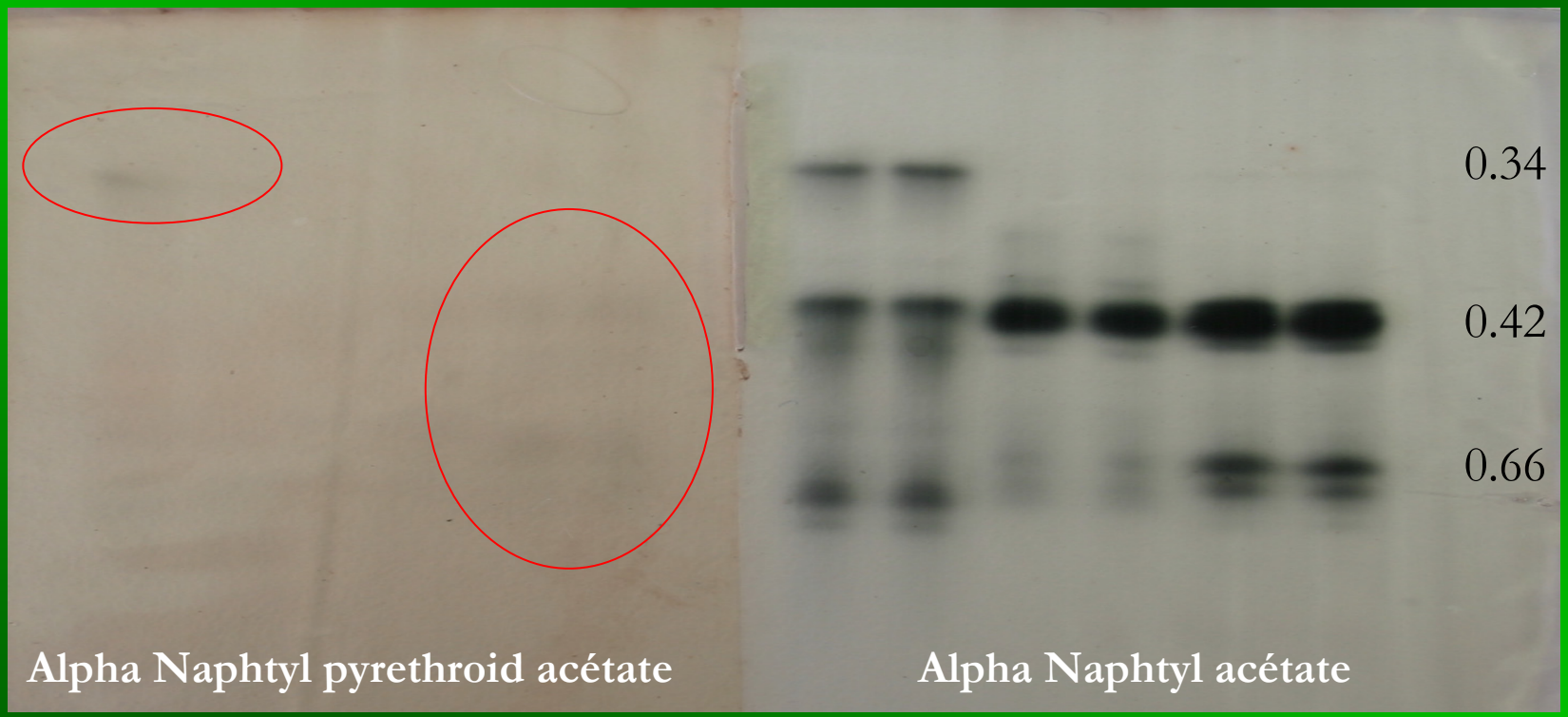
Deltaméthrine
FR=190



Etofenprox
FR=5

Il est possible que les estérases soient aussi impliquées dans la résistance métabolique de *H. armigera* aux pyréthrinoïdes.

Electrophorèse sur gel de polyacrylamide des estérases de *H. armigera* (10µl de 10 lv 3-4 mg/puit 2 répétitions)



- **Différences importantes des estérases entre larves sensibles et résistantes**
- **Certaines bandes sont beaucoup plus intenses chez les larves résistantes**
- **Différences entre les bandes qui apparaissent avec l'ANPacétate**

Conclusion

La résistance de *H. armigera* aux pyréthrinoïdes ne serait pas la conséquence d'une modification de leur site d'action mais d'une métabolisation plus rapide des pyréthrinoïdes.

La surproduction d'oxydases serait le principal mécanisme.

A des niveaux de résistance très élevés, des estérases pourraient également être impliquées dans ce processus.