

Sujet 1 (L. Gondet)

1. L'équipe de H. Kawahigashi (*Plant Biotechnology Department, National Institute of Agrobiological Sciences, Ibaraki, Japon*) a publié en 2007 des résultats concernant la résistance à plusieurs herbicides de plantules de riz (*Oryza sativa*, cv. Nipponbare) transformées avec un gène codant pour un P450 (CYP1A1) humain (*Biotechnology Advances* 25 : 75-84), dont une partie figure ci-dessous :

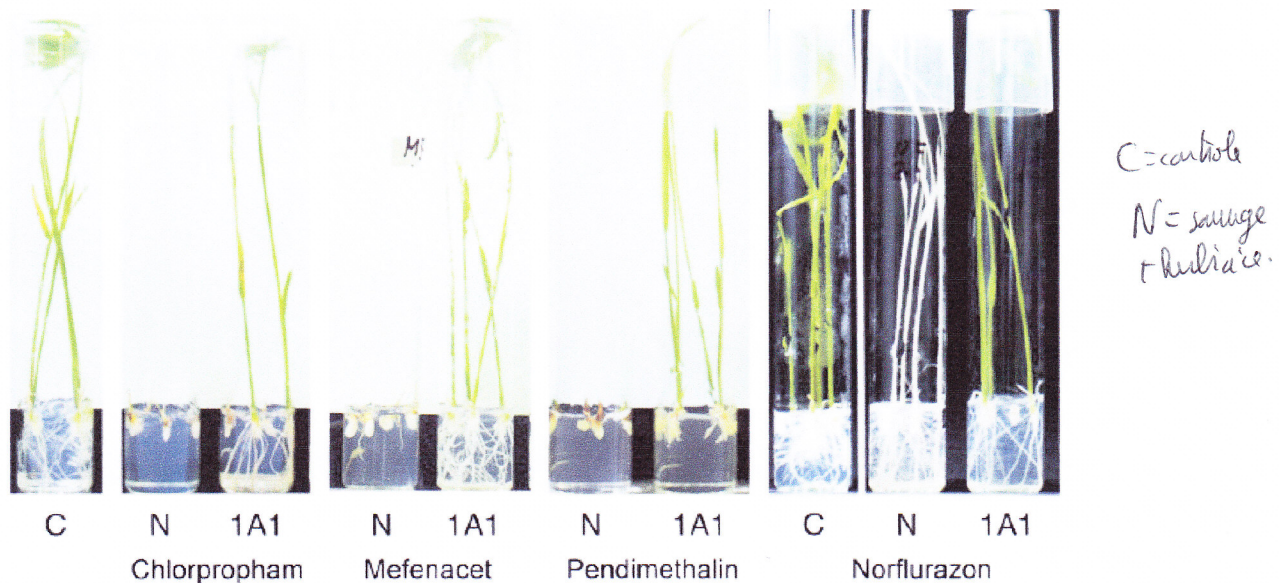


Fig. 3. Phytotoxicity of various herbicides toward transgenic rice plants expressing *CYP1A1*.

Germination tests were carried out in test tubes (diameter, 2.5 cm; height, 15 cm) each with 10 mL of MS solid medium (Murashige and Skoog, 1962) containing 7.5 μM chlorpropham, 2.5 μM mefenacet, 20 μM pendimethalin, or 0.5 μM norflurazon. Four seeds of transgenic and non-transgenic (control) rice plants were embedded in the medium and cultured at 27 °C for 7 to 14 days under 16 h of light (photon flux density 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Lane C, Nipponbare without herbicide (control); lane N, Nipponbare with herbicide; lanes 1A1, CYP1A1 rice plants with herbicide.

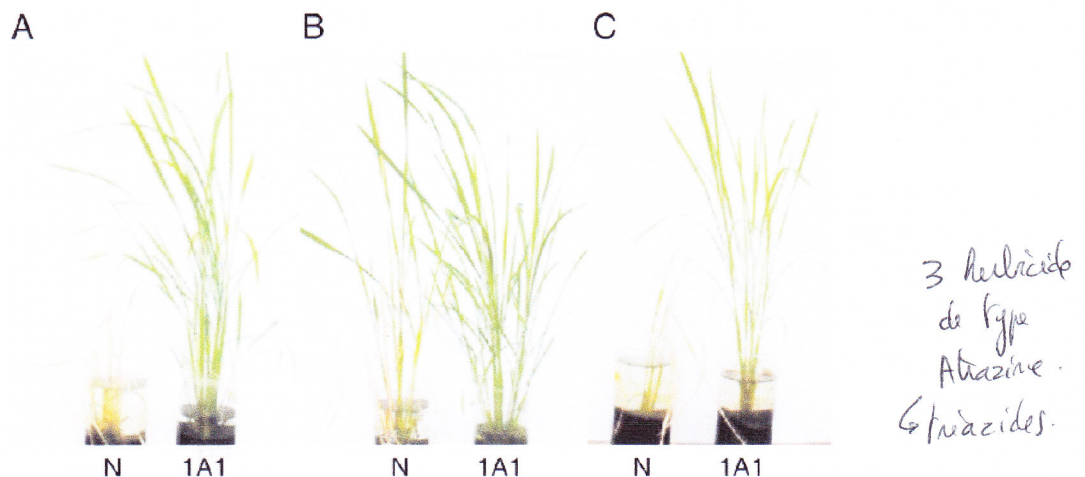


Fig. 4. Herbicide resistance of CYP1A1 rice plants to chlorotoluron, diuron, and methabenzthiazuron. CYP1A1 rice plants grew well, but non-transgenic rice plants were severely damaged by the photosynthesis-inhibiting herbicides. Five 7-day-old plants were transplanted to glass pots (diameter, 9 cm; height, 19 cm) with 500 mL water and 500 g of Kumiai-Ryuyou-Baido K soil (Kureha Chemical, Tokyo, Japan). Transgenic plants and non-transgenic Nipponbare plants were grown in a greenhouse at 28 °C during the day and 25 °C at night for 2 weeks. We then added each herbicide into the water. Growth was noted after 2 weeks. (A) Resistance to chlorotoluron; 3.9 mg chlorotoluron (twice that used in cornfields) was applied. (B) Resistance to diuron; 2.1 mg diuron (twice that used in fruit tree orchards) was applied. (C) Resistance to methabenzthiazuron; 3.7 mg methabenzthiazuron (twice that used in cornfields) was applied.

Questions :

1.1 : Analysez les deux figures présentées ici.

1.2 : Sur la base de la figure 3, pouvez-vous préciser quelle est l'enzyme cible du Norflurazon ? Quels autres gènes pourraient potentiellement être utilisés pour transformer des plantes de riz afin de les rendre résistantes à cet herbicide ?

Handwritten notes: Norflurazon → PD. diflufenican. Meflurazon → Ac. benzoïque.

2. L'équipe de De Prado (Département de Chimie Agricole, Université de Cordoue, Espagne) a publié en 2000 les résultats de l'étude de deux espèces d'adventices, *Setaria faberi* et *Setaria viridis*, devenues résistantes à l'Atrazine suite à des traitements répétés avec cet herbicide sur des parcelles de Maïs (Pesticide Biochemistry and Physiology 67, 114-124). Ci-dessous un bilan des effets de l'Atrazine sur la croissance et la photosynthèse dans ces deux espèces de Sétaires, ainsi que l'effet sur leur photosynthèse d'autres herbicides de la famille des triazines.

TABLE 1
ED₅₀ and I₅₀ Values for Atrazine in *Setaria* spp. Biotypes

Species	Biotypes	ED ₅₀ ^a (kg a.i.ha ⁻¹)	I ₅₀ ^a (μM)
<i>S. faberi</i> ^b	S	1.20 ± 0.01	0.34 ± 0.01
	R	12.00 ± 0.50	355.10 ± 5.00
<i>S. viridis</i> ^b	S	1.15 ± 0.02	0.20 ± 0.01
	R	8.00 ± 0.12	195.20 ± 1.30

ED₅₀ : Effective dose required for 50% reduction of fresh weight.

I₅₀ : Concentration required for 50% inhibition of oxygen production in isolated chloroplasts.

TABLE 3
I₅₀ Values of Different Triazines in R and S *Setaria faberi* Biotypes

Herbicide	I ₅₀ (μM) ^a	
	R	S
Chloro-s-triazines		
Atrazine	355.1 ± 5.0	0.34 ± 0.01
Simazine	382.5 ± 5.8	0.52 ± 0.02
Propazine	230.2 ± 9.8	0.34 ± 0.03
Cyanazine	82.5 ± 2.1	0.76 ± 0.02
Methyltio-s-triazines		
Ametryn	13.1 ± 1.5	0.10 ± 0.01
Prometryn	27.1 ± 1.1	0.14 ± 0.01
Terbutryn	18.0 ± 0.9	0.13 ± 0.01
Methoxy-s-triazines		
Prometron	32.2 ± 3.5	0.14 ± 0.04
Terbumeton	35.3 ± 0.5	0.13 ± 0.02
As-triazines		
Metribuzin	24.1 ± 5.2	0.17 ± 0.03

^a Values are means ± standard error (n = 4).

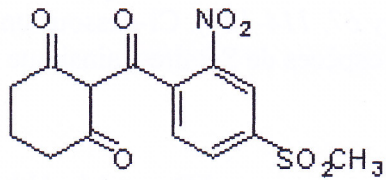
Questions :

2.1 : analysez ces résultats.

2.2 : Le I₅₀ de l'Atrazine sur la photosynthèse dans le Maïs est compris entre 0.2 à 0.3 μM ; cela est-il cohérent par rapport aux résultats ci-dessus ?

2.3 : Proposez une expérience pour compléter la caractérisation de ces deux espèces de Sétaires résistantes.

3. Les paramètres toxicologiques et réglementaires de la mésotrione sont les suivants (base donnée Agritox, <http://www.dive.afssa.fr/agritox/index.php>) :

Substance active : mesotrione	
Source de l'information : union européenne	
Activité biologique principale : herbicide	
Famille chimique : tricétone	
DL50 rat (voie orale) : >5000 mg/kg - Sexe : MF - Souche : Wistar derive (Source de l'information : union européenne)	
LMR (Maïs) : 0.02 mg/kg	

Question : Sur la base de ces données, calculez la DJA de la mésotrione.

4. Qu'est-ce qu'un antidote d'herbicide ? Précisez le mode d'action de l'un d'entre eux.

deftospermone.

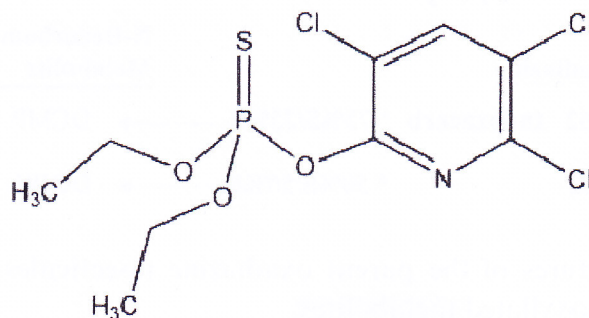
DSE = dose sans effet.

Sujet 2 (P. Ullmann)

Question :

Voici la structure du chlorpyrifos-éthyl, un insecticide neurotoxique. Le mécanisme de résistance à ce produit, développé par certains insectes, est une inactivation de la molécule par métabolisation accrue.

Sur la base de sa structure et de ce que vous avez vu en TD, citer les enzymes de l'insecte qui pourraient être impliquées dans la détoxification du chlorpyrifos-éthyl.



→ P450
→ esterase
→ GST

Analyse d'article :

L'indoxacarb (DPX-MP062) est un nouvel insecticide neurotoxique développé par la société DuPont. Il fait partie de la famille chimique des oxadiazines et agit en bloquant les canaux sodium voltage-dépendant.

→ influx nerveux.

Commenter et analyser les résultats des tableaux 1 et 2 et de la figure 1 (Wing et al, 2000) pour les insectes suivants :

- lépidoptères : Noctuelles *Spodoptera* et *Heliothis*
- coléoptères : une Chrysomèle (*Diabrotica*), un Anthomone (*Anthonomus*) et un Doryphore (*Leptinotarsa*)
- homoptères : une Cicadelle (*Empoasca*), un Puceron (*Myzus*) et *Peregrinus maidis*

Voici une série de questions qui vous aideront dans votre analyse :

1 – Comparez les 2 modes d'application utilisés (administration orale ou application sur le corps de l'insecte (« topical »))

2 – Comparez les résultats reportés dans les tableaux 1 et 2 pour les différents ordres d'insectes étudiés.

3 – Quelle est la cause probable des différences observées entre les LD50 mesurées pour les différents insectes (on rappelle que 1 ppm $\Leftrightarrow$ 1ng/mg) ?

4 – L'indoxacarb sera-t-il un insecticide efficace pour lutter contre la blatte américaine *Periplaneta americana* ?

5 – Quel terme peut-on employer pour caractériser l'indoxacarb ?

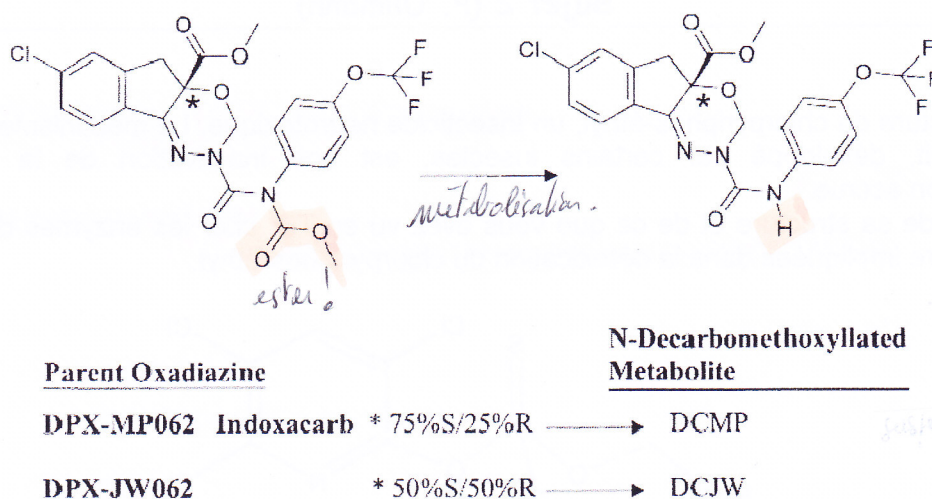


Fig. 1. Structures of the parent oxadiazine insecticides and their N-decarbomethoxyllated metabolites.

Table 1

Inherent toxicity of DPX-MP062 indoxacarb to several insect pest species

Scientific name	Oral mean LD ₅₀ (ng insect)	Oral mean LD ₅₀ (ng/mg)	Topical mean LD ₅₀ (ng insect)	Topical mean LD ₅₀ (ng/mg)
<i>Spodoptera frugiperda</i>	0.20	0.01	0.54	0.03
<i>Heliothis virescens</i>	0.67	0.03	10.67	0.44
<i>Lygus lineolaris</i>	1.5 ppm ^b		40.0 ^b	1.6 ^c
<i>Empoasca fabae</i>	0.2 ppm			
<i>Myzus persicae</i>	0.2 ppm			
<i>Peregrinus maidis</i>	3.0 ppm			
<i>Nephotettix cincticeps</i>	4.4 ppm ^d		2.0 ^e	0.72
<i>Nilaparvata lugens</i>	170 ppm ^d		> 20 ^e	> 7.8
<i>Diabrotica undecimpunctata</i>	100.00	10.37	< 2	
<i>Periplaneta americana</i>	40000.00	780.00		
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	180.00	10.00	50.00	2.81
<i>Anthonomus grandis</i>	100.00	6.49	100.00	6.45
<i>Musca domestica</i>			150 ^d	15

Précisions pour le tableau 2 :

DPX-MP062 SC : indoxacarb administré aux insectes sous la forme d'une suspension concentrée SC, à 15%

N-DC metabolite : N-Decarbomethoxyllated metabolite

DPX-MP062 SC
615%

N-DC
= N-decarbomethoxylated
metabolite.

Table 2
Metabolic conversion of indoxacarb or DPX-JW062 into N-decarbomethoxylated metabolites in different insects

Scientific name	Common name	Stage	Insect weight (mg)	Compound applied	ng applied	Route of application	Number insects per determination	Number of determin.	Hours after application	Estimated percent of applied absorbed	Mean ng parent oxadiazine recovered per insect	Mean ng N-DC metabolite recovered per insect	Mean percent N-DC metabolite of total oxadiazine recovered
<i>Trichoplusia ni</i>	Cabbage Looper	Larva	210	¹⁴ C-DPX JW062	3800	Oral	1	> 4	< 4	> 85	380	3420	90
<i>Spodoptera eridania</i>	Southern Armyworm	Larva	400	¹⁴ C-DPX JW062	3800	Oral	1	> 4	< 4	> 85	1824	1976	52
<i>Spodoptera exigua</i>	Beet Armyworm	Larva	270	¹⁴ C-DPX JW062	3800	Oral	1	> 4	< 4	> 85	152	3648	96
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Fall Armyworm	Larva	280	¹⁴ C-DPX JW062	3800	Oral	1	> 4	< 4	> 85	228	3572	94
<i>Spodoptera frugiperda</i>	Fall Armyworm	Larva	147	DPX-MP062 SC	2000	Topical	1	8	12	3.0	46	14	24
<i>Helicoverpa zea</i>	Corn Earworm	Larva	350	¹⁴ C-DPX JW062	3800	Oral	1	> 4	< 4	> 85	380	3420	90
<i>Heliothis virescens</i>	Tobacco Budworm	Larva	350	¹⁴ C-DPX JW062	3800	Oral	1	> 4	< 4	> 85	570	3230	85
<i>Heliothis virescens</i>	Tobacco Budworm	Larva	65	DPX-MP062 SC	2000	Topical	1	8	12	21.0	361	59	14
<i>Manduca sexta</i>	Tobacco Hornworm	Larva	900	¹⁴ C-DPX JW062	3800	Oral	1	> 4	< 4	> 85	722	3078	81
<i>Nephotettix cincticeps</i>	Green Leafhopper	Nymph	3.4	DPX-MP062 SC	20	Topical	7	3	144	4.8	0.86	0.09	9
<i>Nephotettix cincticeps</i>	Green Leafhopper	Nymph	3.4	DPX-MP062 SC	200	Topical	7	3	144	1.9	3.35	0.35	9
<i>Nilaparvata lugens</i>	Brown Planthopper	Nymph	3.2	DPX-MP062 SC	20	Topical	7	3	144	4.2	0.48	0.37	43
<i>Nilaparvata lugens</i>	Brown Planthopper	Nymph	3.2	DPX-MP062 SC	200	Topical	7	3	144	4.3	4.18	4.34	51
<i>Lygus lineolaris</i>	Tarnished Plantbug	Nymph	25	DPX-MP062 SC	120	Topical	27	3	72	0.9	0.79	0.29	27
<i>Lygus lineolaris</i>	Tarnished Plantbug	Nymph	25	DPX-MP062 SC	30	Topical	12	3	72	0.1	0.03	N.D.	N.D.
<i>Myzus persicae</i>	Green Peach Aphid	Nymph/adult	0.17	DPX-MP062 SC	1000 ppm	Oral	40	3	24	> 85	2.90	3.40	54
<i>Myzus persicae</i>	Green Peach Aphid	Nymph/adult	0.17	DPX-MP062 SC	200 ppm	Oral	40	3	24	> 85	3.00	1.10	27
<i>Empoasca fabae</i>	Potato Leafhopper	Nymph	0.094	DPX-MP062 SC	40	Topical	23	3	36	0.6	0.22	0.03	11
<i>Peregrinus maidis</i>	Corn Planthopper	Nymph	0.96	DPX-MP062 SC	30 ppm	Oral	20	3	72	> 85	7.00	0.70	9
<i>Peregrinus maidis</i>	Corn Planthopper	Nymph	0.96	DPX-MP062 SC	100 ppm	Oral	20	3	72	> 85	23.00	2.30	9
<i>Peregrinus maidis</i>	Corn Planthopper	Nymph	0.96	DPX-MP062 SC	300 ppm	Oral	20	3	72	> 85	85.00	4.10	5

Leguminosae - {
m
m
m

homoptera - {
P
P
P