

Un modèle expérimental d'analyse de caractères d'une souche de *Culex pipiens* et de sa sensibilité aux insecticides.

G. Chauvancy, P. Barbazan & J. P. Gonzalez

Institut de recherche pour le développement (ex-ORSTOM), Paris.

Adresse actuelle : Center for Vaccine Development, Research Center for Emerging Viral Diseases, Mahidol University at Salaya, 25/25 Phutthamonthon 4, Nakhonpathom 73170, Thailand.

Courte note n°1988. "Entomologie médicale". Reçu le 18 août 1998. Accepté le 21 avril 1999.

Summary: An Experimental Model of Analysis for Characters of a Strain of *Culex pipiens* and its Sensitivity to Insecticides.

This study, based on phenotype of green larvae colour, has enabled the selection of a genetically distinct line of Culex pipiens pipiens. The four loci under study were found to be homozygous to the 42nd generation. These loci were associated with an increased sensitivity to organochlorides in the progeny when compared to the parent strain. This observation, with possible expansion to other species, has potential practical applications in the identification of susceptible insect populations in insecticide campaigns.

Résumé :

Ce travail a permis, à partir d'un caractère phénotypique, la couleur verte des larves d'une souche de Culex pipiens pipiens, la sélection de deux populations génétiquement distinctes. Quatre loci étudiés sont homozygotes à la 42ème génération, cette évolution génétique semble liée à une sensibilité accrue aux organochlorés de cette nouvelle souche très supérieure à la souche parentale. Cette observation, potentiellement, pourrait être étendue et utilisée de façon pratique à d'autres souches de moustiques pour positionner une population impliquée dans une campagne de lutte insecticide.

Key-words: *Culex pipiens pipiens - DDT - Fenitrothion - Sensitivity - Resistance*

Mots-clés : *Culex pipiens pipiens - Souche verte - DDT - Fenitrothion - Sensibilité - Résistance*

Introduction

L'étude des propriétés biologiques, écologiques et génétiques des insectes hématophages est indispensable au développement de moyens de lutte et de prévention des maladies qu'ils transmettent aux hommes et aux animaux. La sensibilité aux insecticides a été étudiée ainsi que le polymorphisme protéique des estérases (EST) A, B et C, qui sont des isoenzymes impliquées dans les mécanismes de sensibilité aux insecticides. Nous présentons un modèle destiné à l'analyse des caractéristiques d'un Culicidé vis-à-vis de sa sensibilité à deux insecticides : le DDT (organochloré) et le fénitrothion (organophosphoré).

Matériels et méthodes

C'est à partir de la sous-espèce, *Culex pipiens pipiens* "Montpellier", élevée au laboratoire (ORSTOM, Bondy, France) que nous avons isolé une nouvelle souche de *Culex* par sélection morphologique sur un caractère connu, celui de la pigmentation verte des trophocytes (1).

Les tests de sensibilité des larves de la souche "Montpellier" et de la souche "verte" au fénitrothion et au DDT ont été effectués selon la méthode standardisée par l'Organisation mondiale de la santé (4). La lecture des tests se fait après une exposition de 24 heures et la sensibilité de la souche est calculée par la droite de régression log-probit.

Électrophorèse des isoenzymes

L'analyse classique (4) a été faite sur des séries de 100 larves. Les systèmes enzymatiques étudiés sont les estérases A, B, C à pH 6 et pH 8. La révélation était faite selon la méthode de SHAW et PRASAD (5) modifiée : 10 minutes de préincubation à 37 °C des gels dans une solution de Tris HCl (0,1 M, pH 7) puis 20 minutes dans un tampon Tris HCl (pH 7 0,1 M) et 2 % et naphtylacétate; puis 60 mn de coloration par le Fast Blue RR.

L'homozygotie moyenne (H) chez *Culex pipiens* a été calculée par les paramètres de NEI (3) pour évaluer la distance génétique minimale séparant les deux populations (2). Le polymorphisme de chaque population a été mesuré grâce aux coefficients d'identité normalisée ou indice (I) et à la distance minimum (MD) (3).

Résultats et discussion

Les essais d'insecticides au DDT ont révélé une sensibilité à la DL 50, de la souche *C. p. pipiens* "vert" 5,6 fois supérieure à celle de la souche parentale, *C. p. pipiens* "Montpellier", soit respectivement 0,01mg/l et 0,056 mg/l (équations respectives des droites de régression pondérées : $Y = 2,0 X + 5,0$ et $Y = 4,0 X + 2,1$). La sensibilité au fénitrothion apparaît identique entre les deux souches avec 0,0066mg/l pour la souche "Montpellier" et 0,005 mg/l pour la souche "vert" (droites de régression pondérées : $Y = 6,4 X + 6,2$ et $Y = 3,1 X + 5,8$). La sensibilité augmentée aux insecticides de la souche *C. p. pipiens* "vert" montrerait que la variabilité génétique (hétérozygotie) offre une meilleure adaptabilité (résistance) aux pressions sélectives.

Pour EST A, nous avons isolé quatre allèles codominants et ceci grâce à l'utilisation simultanée de deux pH : à pH 8 les bandes EST A-3 et EST A-4 étaient isolées ; les bandes d'électrophorèse EST A-2 et EST A-3 ne se distinguaient qu'à pH 6. Le système EST B présentait, à pH 8, quatre phénotypes différents de vitesse de migration croissante ; à pH6 EST B-1 et B-2 étaient confondues. Le troisième locus, EST C, présentait deux électrophorémorphes, EST C-1 et EST C-2, identifiables aux deux pH. Comme cela avait été signalé (4), il est indispensable d'utiliser successivement un pH alcalin et un pH acide afin de résoudre au mieux un électrophorégramme d'isoenzyme. Un caractère phénotypique choisi peut servir de marqueur pratique de la sensibilité aux insecticides et être utilisé pour la caractérisation de population.

On a pu mettre en évidence (tableau I) une distance génétique significative ($p = 0,05$) avec le marqueur isoenzymatique EST A ($I = 0,8412$; $MD = 0,1384$) entre les deux populations étudiées. En revanche, l'indice de NEI est très proche de 1 pour EST B ($I = 0,9545$; $MD = 0,0390$) ainsi que pour EST C ($I = 0,9774$; $MD = 0,0267$). Après avoir sélectionné pour un caractère phénotypique, on observe donc la sélection de deux populations génétiquement distinctes pour un marqueur enzymatique.

Tableau I.

Fréquences alléliques et hétérozygotie comparée entre *C. pipiens* "Montpellier" et *C. pipiens* "verts".
Comparison of allelic and heterozygous frequencies: *C. pipiens* "Montpellier" and "green" *C. pipiens*.

loci	fréquence allélique	
	"Montpellier"	"vert"
EST A 1	50	92
EST A 2	7	1
EST A 3	11	7
EST A 4	32	0
hétérozygotie %	62,9	14,9
EST B 1	1	0
EST B 2	70	86
EST B 3	7	14
EST B 4	22	0
hétérozygotie %	45,8	23,4
EST C 1	22	4,5
EST C 2	78	95
hétérozygotie %	33,8	9,9

Conclusion

En pratique, un caractère phénotypique choisi peut servir de marqueur vis-à-vis de la sensibilité aux insecticides et être utilisé pour identifier une population à impliquer dans une campagne de lutte insectide.

Remerciements : Theodor RUEL-DUMONT pour son aide à l'édition de ce manuscrit

Références bibliographiques

- HUFF CG - Biol. Bull, Wood's Hole, 1929, **56**, 347-350.
- KATZ M - *Etudes de quelques indices de distances génétiques et de leurs estimateurs*. Thèse Doct. Univ., Paris VII, 1986.
- NEI M & ROYCHOUDHURY AK - Sampling variances of heterozygosity and genetic distance *Genetics*, 1974, **76**, 379-390.
- PASTEUR N - *Recherches de génétique chez Culex pipiens pipiens L.* Thèse Doct. Univ. Sciences et techniques du Languedoc, 1977.
- SHAW CR & PRASAD R - Starch-electrophoresis of enzymes A compilation of recipes. *Biochem Genet*, 1970, **4**, 297-320.