Toxicité et résistance de *Prostephanus truncatus* (HORN) (Col., Bostrychidae), à la perméthrine.

E. HAUBRUGE

Unité de Zoologie générale et appliquée
Faculté des Sciences agronomiques de Gembloux
B-5030 GEMBLOUX (BELGIUM)

Abstract: Lethal and sublethal effects of permethrin were studied on Prostephanus truncatus. F1 generation were progressively reduced by increasing dosage. Doses of 2 ppm and 5 ppm, respectively for the Togo and Tanzania strains, brought complete control. A tanzanian strain of P. truncatus was selected with permethrin for 9 sucessive generations in laboratory. The insect develop 13-fold resistance to this pyrethroid. A resistance of classical knockdown effect was observed with most insecticide intoxicated individuals recovering after removal from contact with the treated substrate with a dose of 40 ppm. The synergism study showed that the combination of permethrin + DEF was more effective against the selected strain than permethrin alone or with PB. The susceptibility of permethrin were tested on several tanzanian strains collected in 1990, but the results showed that they did not yet develop the resistance to permethrin.

INTRODUCTION

Prostephanus truncatus est, depuis la fin du siècle dernier, connu en Amérique centrale comme faisant des dégâts sur le maïs stocké sous forme de grains ou de spathes. Introduit accidentellement en Afrique, au début des années 1980, le Grand Capucin du Grain, *Prostephanus truncatus* HORN (Col., Bostrychidae) s'est acclimaté sur ce Continent où sa présence a été signalée, pour la première fois, en 1981 en Tanzanie (DUNSTAN et MAGAZINI, 1981) et ensuite au Togo (HARNICSH et KRALL, 1984). Il s 'est rapidement répandu à partir de ces deux pôles et infeste actuellement de nombreux silos villageois au Bénin (LABORIUS, 1985), au Burundi (LABORIUS, 1985) et au Sud du Kenya (MUHIHU et KIBATA, 1985).

Sur le continent africain, ce ravageur s'avère être l'un des plus grands fléaux non seulement pour le maïs et le manioc mais aussi pour d'autres céréales (sorgho, blé,...). Une étude consacrée aux pertes causées par ce coléoptère en Tanzanie a montré que les pertes moyennes en poids dépassant les 9 % au cours d'une saison entière de stockage sont courantes. On a calculé qu'il pourrait en résulter pour la Tanzanie une perte financière de plusieurs dizaines de millions de dollars par an si l'on ne limite pas les dommages causés par *Prostephanus truncatus* (GILMAN, 1984).

Suite à la découverte de ce nouveau ravageur en Afrique, de nombreux programmes d'études et de recherches ont été mis en oeuvre pour trouver des méthodes de lutte contre le Grand Capucin du Grain. Actuellement, seule l'application de pyréthrinoïdes comme la perméthrine, en action préventive, assure un contrôle efficace (GOLOB et al., 1985; MUHIHU et KIBATA, 1985).

Après avoir étudié l'effet de doses sublétales sur le développement de *P. truncatus*, nous avons d'une part effectué une sélection de souche résistante à la perméthrine; et d'autre part, nous avons réalisé des tests comparatifs de toxicité de la perméthrine vis-à-vis de souches originaires de Tanzanie, Togo, Mexique et Costa Rica.

MATERIEL ET METHODES

1. Conditions expérimentales

La souche de *Prostephanus truncatus*, utilisée pour la sélection de résistance vis-à-vis de la perméthrine, provient de la région d'Arusha en Tanzanie. Elle a été élevée à 30°C et 80% HR depuis 1986, sans avoir été en contact avec un insecticide. Les insectes utilisés pour les essais sont âgés de 0-14 jours et sont de sexe indéterminé.

Des échantillons de *P. truncatus* ont été collectés en Tanzanie, au Togo, au Mexique et au Costa Rica. Les souches ont été caractérisées par une électrophorèse avec SDS comme l'a décrit LAEMMLI en 1970.

La matière active étudiée est la perméthrine, insecticide de contact de la famille des pyréthrinoïdes. Ce pesticide a été utilisé d'une part sous forme de concentré émulsionnable (AMBUSH à 250 gr/l de perméthrine) et d'autre part sous forme d'une matière technique à 96% en matière active (Cis: 25%; trans: 75%). Les synergistes utilisés sont: le piperonyl butoxide (PB) de Sigma s.a. et le S,S,S tributyl phosphorotrithioate (DEF) de Pestanal s.a.

Les expériences ont été réalisées dans l'obscurité. La température et l'humidité ont été maintenues respectivement à 30 $\pm$ 2 °C et 80 $\pm$ 5 %HR dans une chambre conditionnée.

2. Dispositifs expérimentaux

2.1. Activité biologique des doses sublétales de perméthrine à l'égard de *Prostephanus truncatus*

2.1.1. *Traitement des grains*. Pour chacune des doses étudiées, 1000 gr de grains de froment ont été introduits dans une sphère en verre, animée d'un mouvement de rotation qui en assure un brassage énergique. Les grains en mouvement sont pulvérisés par 10 ml d'une émulsion de titre connu en matière active (m.a.).; ce procédé permet une dispersion homogène du produit dans la masse des grains. L'application commence à la dose la plus faible et la sphère est nettoyée à l'acétone entre chaque application. Les grains traités sont laissés à l'air libre pendant 12 heures.

2.1.2. *Bioessais*. Pour chaque souche , 3 lots de 300 gr de grains traités à chacune des doses et 3 lots identiques de grains témoins sont mis en flacon et sont infestés par 75 adultes non sexés et âgés de 1 à 14 jours. Les insectes vivants sont dénombrés après 10 semaines de contact avec les grains traités et non traités.

2.2. Obtention d'une souche résistante à la perméthrine

Pour chacune des doses étudiées, 500 gr de grains de froment ont été traités suivant la méthode décrite ci-dessus. 4 lots de 100 gr de grains traités à chacune des doses et 4 lots identiques de grains témoins sont mis en flacon et sont infestés par 25 adultes non sexés et âgés de 1 à 14 jours. Les insectes vivants sont dénombrés après 5 jours de contact avec les grains traités et non traités. Tous les insectes survivant à une dose supérieure à la Dose Létale 50 sont remis en élevage pour l'obtention d'une nouvelle génération de Prostephanus truncatus. Lorsque le nombre d'adultes est suffisant (>500 individus), le test de contact sur des grains traités est de nouveau effectué.

2.3. Test d'efficacité de la perméthrine sur papier-filtre

2.3.1. *Détermination du CL 50.* Des papiers-filtre (55mm de diamètre) ont été préalablement imprégrés par une solution acétonique de la forme technique de perméthrine à différentes concentrations. Ils ont été ensuite séchés pendant 6 heures. Le dispositif comprend 4 répétitions de 25 insectes exposés aux papiers-filtre pendant 24 heures. Pour chacune des concentration, tous les insectes ont été ensuite transférés dans des boîtes de Petri contenant des grains non traités.Après 5 jours, le nombre d'insectes morts a été enregistré. Pour la souche résistante, le même dispositif a été réalisé afin de mesurer la réponse aux synergistes.

2.3.2. *Détermination du KT 50.* Des papiers-filtre (55mm de diamètre) ont été préalablement imprégrés par une solution acétonique de la forme technique de perméthrine à la concentration de 0,2 %. Ils ont été ensuite séchés pendant 6 heures. Le dispositif comprend 3 répétitions de 20 insectes exposés aux papiers-filtre dans une boîte de petri Toutes les 10 minutes, le nombre d'insectes incapables de se tenir debout et de se déplacer est enregistré.

RESULTATS

1. Activité biologique de la perméthrine

Les résultats, concernant le nombre d'insectes après 10 semaines, sont repris dans le tableaux I. Ils montrent que la perméthrine est efficace à 100 % vis-à-vis du Grand Capucin du Grain originaire du Togo et de Tanzanie respectivement pour une dose de 2 et 5 ppm en matière active.

Tableau I: Nombre d'adultes de *P. truncatus* (moyenne ± SE), originaires du Togo et de Tanzanie, après 10 semaines, dans des grains traités à différentes doses de perméthrine

DOSE (en ppm)	SOUCHE	
	TOGO	TANZANIE
0,00	652,0±54,3	333,0±34,9
0,10	635,0±84,5	231,0±50,6
0,20	534,0±5,9	212,0±9,7
0,50	480,0±39,5	175,0±56,1
1,00	174,0±62,2	79,0±21,7
2,00	0,0±0,0	7,0±7,2
5,00	0,0±0,0	0,0±0,0

Pour des doses inférieures à 2 ppm, nous observons l'apparition d'une nouvelle génération. Toutefois, le nombre d'insectes présents dans les grains traités est inversement proportionnel à la dose de perméthrine appliquée. Aux doses les plus faibles (0,1 et 0,2 ppm), on remarque également une réduction de la population de *P. truncatus* par rapport aux lots témoins.

2. Sélection d'une souche de *P.truncatus* résistante à la perméthrine

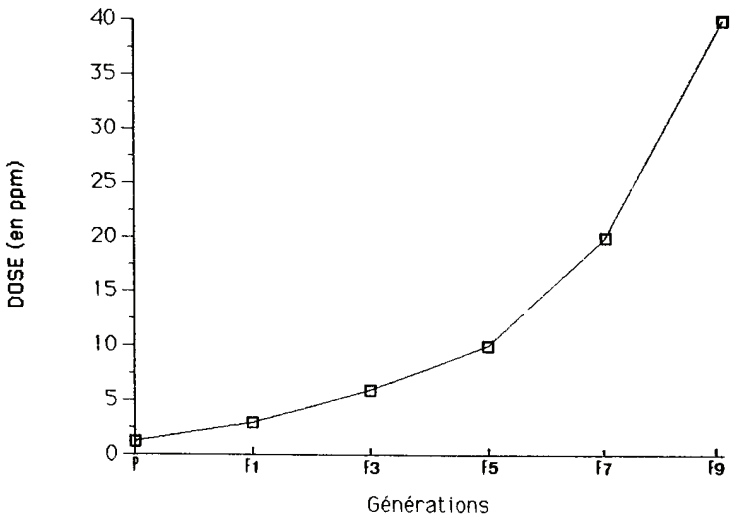

Figure 1: Evolution de la Concentration Létale 50 de la perméthrine à l'égard d'une souche de *P. truncatus* au cours des générations.

La réponse de sélection de résistance vis-à-vis de ce pyréthrinoïde est rapide (Figure I). Après 9 générations, on observe un DL50 de 40 ppm alors que celui-ci était à la première génération de 3 ppm.

3. Toxicité de la perméthrine à l'égard de *Prostephanus truncatus*

Les résultats concernant la toxicité de la perméthrine à l'égard des différentes souches de *P. truncatus* sont présentés dans le tableau II.

Tableau II: Toxicité de la perméthrine à l'égard des 4 souches originaires d'Afrique et d'Amérique centrale et d'une souche résistante de *P. truncatus* mises en contact, pendant 24 heures, avec des papiers-filtre traités.

Souches d'insectes	CL50	Intervalle de confiance	CL90	Intervalle de confiance	a	b	X2
TANZANIE	0,15	0,10-0,20	0,97	0,71-1,75	5,53	1,62	1,61
TOGO	0,23	0,13-0,42	0,87	0,68-1,46	5,87	1,23	3,62
COSTA RICA	0,33	0,29-0,38	0,82	0,64-1,27	4,87	3,26	0,17
MEXIQUE	0,08	0,01-0,14	1,60	0,92-10,04	5,63	0,96	4,38
Souche sélectionnée	1,04	0,27-3,76	10,16	0,33-544,46	5,15	1,29	8,82

Nous remarquons qu'il n'y a aucune différence significative entre la sensibilité des souches originaires d'Afrique et d'Amérique centrale à l'égard de cet insecticide. Par contre, la souche sélectionnée présente une résistance vis-à-vis de la perméthrine; le facteur de résistance (CL50 R/CL50 S) est de 13 X par rapport à la souche la plus sensible, qui est originaire du Mexique.

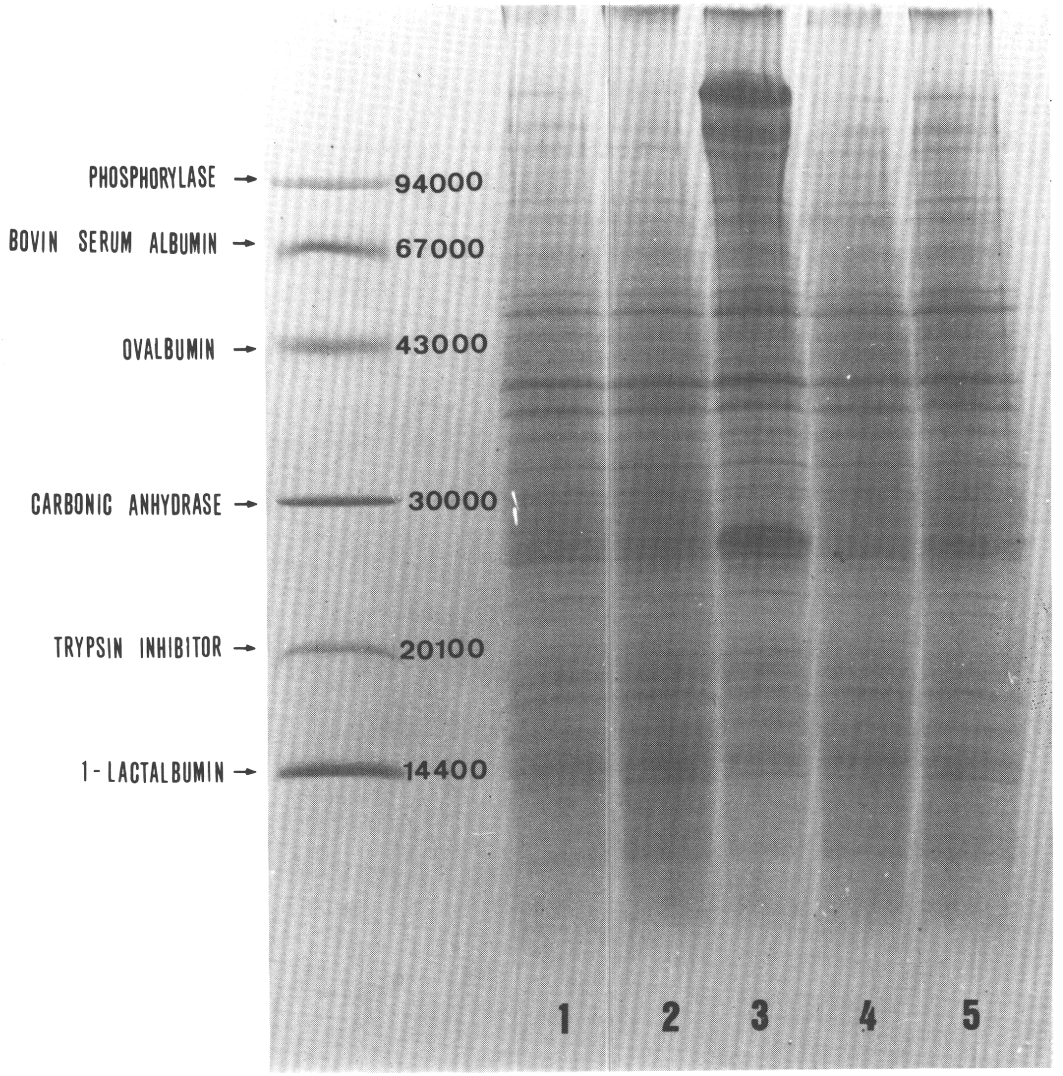

Figure 2: Gel d'électrophorèse avec SDS de plusieurs souches de *Prostephanus truncatus*: 1. Tanzanie ; 2. Togo; 3. Costa Rica; 4. Mexique; 5. Souche résistante.

L'analyse du gel d'électrophorèse avec SDS montre que les souches de Tanzanie, du Togo et du Mexique sont très similaires, à l'instar de celle de Costa Rica, et auraient très probablement la même origine.

L'association de la perméthrine avec du DEF est plus efficace que le pyréthrinoïde seul ou avec du PB. En effet, lorsque les insectes sont placés sur des papiers-filtre imprégnés à 0,5% et 1% de perméthrine combinée avec du DEF dans les proportions respectives de 1:5 et 1:1, on observe 100 % de mortalité; alors que la perméthrine aux mêmes concentrations, seule ou avec du PB, dans les mêmes proportions que le DEF, contrôle respectivement 10% et 15 % de insectes testés.

Les résultats concernant le temps nécessaire à l'apparition de l'effet "Knockdown" sont repris dans le Tableau III. Ils confirment les résultats observés précédemment; en effet, pour la souche résistante, le KT 50 est plus long (65 minutes) alors que celui-ci se situe entre 31 et 39 minutes chez les autres souches.

Tableau III: Comparaison des KT 50, pour la perméthrine, de la souche sélectionnée et de 4 souches sensibles de *Prostephanus truncatus* .

Souches d'insectes	KT50	Intervalle de confiance	a	b	X2
TANZANIE	39,08	36,57-41,36	5,34	7,28	1,96
TOGO	34,10	23,19-41,64	5,83	2,88	4,36
COSTA RICA	35,20	32,28-38,02	5,33	4,17	7,66
MEXIQUE	31,23	28,53-33,79	5,42	4,35	8,02
Souche sélectionnée	65,15	61,62-68,80	5,06	6,19	7,75

Le taux de récupération montre que la souche sélectionnée possède une résistance à l'effet de "Knockdown" à l'égard du Grand Capucin du Grain (Tableau IV).

Tableau IV: Taux de récupération des adultes de plusieurs souches de *P. truncatus* montrant un effet "Knockdown" après avoir été mis en contact pendant 24 heures avec un papier-filtre imprégné à 0,5 % de perméthrine.

Souches	24 H Knockdown (en %)	120 H Taux de récupération (en %)
Tanzanie	100,00	23,00
Togo	100,00	26,00
Mexique	100,00	21,00
Costa Rica	100,00	28,00
Souche sélectionnée	97,50	72,50

Le temps nécessaire pour que 50 % de la population des souches prélevées en Tanzanie soient paralysés par la perméthrine (KT 50) se situe entre 24 et 33 minutes (Tableau V), alors qu'on observe, pour la souche sélectionnée, un KT 50 de 65 minutes.

Tableau V: Comparaison des KT 50 pour la perméthrine vis-à-vis de 6 souches de *Prostephanus truncatus* collectées en Tanzanie en 1990.

Souches d'insectes	KT50	Intervalle de confiance	a	b	X2
Misha	28,15	25,79-30,38	5,47	5,33	1,95
Kapilula	28,38	25,80-30,83	5,47	4,90	7,02
Lakitatu	30.31	27,38-33,22	5,29	3,77	7,40
Usundi	24.24	21,97-26,36	5,42	6,28	1,96
Isimbili	29,56	11,24-37,33	5,91	3,91	2,06
Upuge	33,21	29,60-36,36	5,41	4,96	2,69

DISCUSSION

Pour lutter efficacement contre *P. truncatus* , la perméthrine doit être appliquée sur les grains à des doses supérieures à 2 ppm. En effet, on observe l'apparition d'une nouvelle génération de *P. truncatus* dans des grains de blé traités à la dose de 1 ppm pour la souche originaire du Togo et à la dose de 2 ppm pour celle provenant de Tanzanie.

Actuellement en Tanzanie, la perméthrine , sous la forme de poudre à poudrer est efficace à la dose de 2,8 ppm contre le Grand Capucin du Grain (GOLOB, 1987). Au Togo, le mélange de perméthrine et de pyrimiphos méthyl est utilisé à raison, respectivement, de 1,5 ppm et de 5 ppm (LABORIUS, communication personnelle).

Les doses inférieures à 2 ppm montrent une activité biologique vis-à-vis de ce déprédateur. Le nombre d'insectes vivants après 10 semaines est inversement proportionnel à la dose appliquée. HODGES et MEIK (1986) ont également montré que des effets similaires, occasionnés par des doses sublétales, existaient à l'égard de *Tribolium castaneum* et de *Sitophilus zeamais* MOTSCH. (Col., Curculionidae). PRANATA et al. (1983) ont d'ailleurs mis en évidence que la perméthrine avait des effets sur l'oviposition et la croissance larvaire de *T. castaneum* HERBST (Col., Tenebrionidae).

Malgré cette activité biologique sur *Prostephanus truncatus* , la perméthrine, appliquée à des doses inférieures à 2 ppm, ne permet pas une éradication totale de l'insecte dans les grains traités. Dès lors, l'utilisation de doses sublétales de perméthrine aurait pour conséquence de sélectionner des souches de plus en plus tolérantes à l'égard de ce pyréthrinoïde.

La pression de sélection établie au cours de plusieurs générations a d'ailleurs permis d'induire en laboratoire une résistance vis-à-vis de la perméthrine chez *Prostephanus truncatus*.

Nous avons constaté, pour la souche sélectionnée, d'une part, que le temps nécessaire à l'apparition de la paralysie des insectes était plus long et d'autre part que le taux de récupération des adultes traités était beaucoup plus important que pour les autres souches de *P. truncatus*. Les insectes semblent donc avoir une sensiblité réduite à l'action de l'insecticide.

COCKRAN (1987), en sélectionnant des souches de *Blatella germanica* résistantes à la perméthrine, a également mis en évidence une augmentation du temps nécessaire pour que la paralysie de l'insecte soit observée.

FRARHAM et SAWICKI (1976) associent la résistance aux pyréthrinoïdes chez *Musca domestica* et *Blatella germanica* au développement de l'insensibilité au niveau du système nerveux.

La résistance à la perméthrine chez *P. truncatus* ressemble à celle de type "Knockdown résistant (Kdr)" décrit par HEATHER en 1986 chez *Sitophilus oryzae* dont les insectes paralysés par le pyréthrinoïde reprennent leur activité normale lorsqu'ils sont placés dans un milieu non traité.

Les systèmes de détoxification, comme les monooxygénases et les estérases, peuvent être également associés au mécanisme de résistance de type "Kdr" ou être, seuls, responsables de la résistance à la perméthrine chez le Grand Capucin du Grain. Ils permettent en effet à l'insecte de transformer les substances toxiques en métabolites facilement excrétables ou stockables (BURT & GOODSCHILD, 1984).

L'utilisation du DEF (synergiste des estérases), en mélange avec la perméthrine, augmente d'ailleurs la toxicité de celle-ci à l'égard de la souche résistante de *Prostephanus truncatus*.

La résistance aux pyréthrinoïdes chez le Grand Capucin du Grain a d'importantes implications pour l'Afrique tropicale. La perméthrine est en effet l'un des pesticides les plus utilisés contre ce déprédateur.

Les échantillons collectés récemment dans les silos villageois en Tanzanie montrent que *Prostephanus truncatus* n'a pas encore développé de résistance à la perméthrine.

Toutefois, pour éviter l'apparition de souches résistantes à cet insecticide, il serait opportun :
1.soit d'alterner les pesticides à appliquer soit d'utiliser un mélange composé d'un pyréthrinoïde avec un organophosphoré,
2.d'associer à la lutte chimique de méthodes de lutte alternative comme l'utilisation de prédateur comme *Teritriosoma nigrescens* (Col., Histeridae) (LABORIUS, communication personnelle; REES, 1985).

Remerciements: Nous remercions Monsieur J.-C. GILSON pour son assistance technique, Monsieur B. WATHELET pour son assitance scientifique, Monsieur A. LABORIUS (GTZ-Projekt Biol.-Integr. Bekämpfung des Großen Kornbohrers), pour ses conseils scientifiques et la collecte des échantillons en Tanzanie, ainsi que Monsieur STENIER de le firme PROTEX s.a. (BELGIUM).

BIBLIOGRAPHIE

BURT, P.E. & GOODCHILD, R.E. (1974). - Knockdown by pyrethroids: Its role in the intoxication progress.
Pest.Sci. 5, 625-633.

COCHRAN, D.G. (1987). - Effects of synergists on bendiocarb and pyrethrins resistance in the German Cockroach.
J. econ. entomol. 80, 728-732.

DUNSTAN, W.R. & MAGAZINI, I.A. (1981). - Outbreaks and new records Tanzania, the Larger Grain Borer on stored products.
FAO Plant Protection Bulletin 29, 80-81.

FARNHAM, A. W. & SAWICKI, R.M. (1976). - Developement of resistance to pyrethroids in insects resistant to other insecticides.
Pest. Sci. 7, 278-282.

GILMAN, G.A. (1984). - Présence et importance économique de Prostephanus truncatus et efforts supra-régionaux visant à empêcher sa prolifération en Afrique.
In " Compte-rendu du Séminaire International sur le contrôle de l'infestation des denrées stockées par Trogoderma granarium et Prostephanus truncatus", Lomé, 71-77.

GOLOB, P.(1987). - Current status of the Larger Grain Borer Prostephanus truncatus in Africa.
Report, Regional study workshop, ICIPE 11-15 oct. 1987, Nairobi, 16 pp..

GOLOB, P.; CHANGJAROEN, P.; AHMED, A & COX, J. (1985). - Susceptibility of Prostephanus truncatus to insecticides.
J. stored Prod. Res. 21, 141-150.

HARNISCH, R. & KRALL, S. (1984). - Togo: Further distribution of the Larger Grain Borer in Africa.
FAO Plant Protection Bulletin 32, 113-114.

HEATHER, N.W. (1985). - Sex-linked resistance to pyrethroids in *Sitophilus oryzae*.
J. stored Prod. Res. 22, 15-20.

HODGES, R.J. & MEIK, J. (1986). - Lethal and sublethal effects of permethrin on Tanzanian strains of T. castaneum , S. oryzae , Gnathocerus maxillosus and S. zeamais
Insect Sci. Applic. 7, 533-537.

LABORIUS, G.-A.; LELIVELD, B. & KEIL, H. (1985). - Der Große Kornborher, Prostephanus truncatus. Einer neuer Vorratsschädling in Afrika.
Der Praktische Schädlingbekämpfer 9/85,.179-186.

LAEMMLI, U.K. (1970). - Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.
Nature 227, 680-685.

MUHIHU, S. H. & KIBATA, G.N. (1985). - Developping a control programme to combat an outbreak of Prostephanus truncatus in Kenya.
Tropical Sciences 25,.239-248.

PRANATA, R.J.; HAINES, C.P.; ROESLI, R. & SUNJYA J. (1983). - Dust admixture treatment with permethrin for the protection of rough rice and milled rice.
In Maintaining Good Grain Quality:Proceedings of the 6th Annual Workshop on Grain Post-Harvest Technology, 234 pp.

REES, D.P. (1985). - Life history of *Teretrisioma nigrescens* and its ability to supress populations of *Prostephanus truncatus*.
J. stored Prod. Res. 21, 115-118.

RESISTANCE A LA PERMETHRINE DU GRAND CAPUCIN DU GRAIN, *PROSTEPHANUS TRUNCATUS* (HORN) (COLEOPTERA : BOSTRYCHIDAE)

Eric HAUBRUGE

Faculty of General and Applied Zoology
Faculty of Agriculture,
2 passage des Déportés
B-5800 Gembloux, Belgique

RESUME

Une souche de laboratoire de *P. truncatus* a été sélectionnée pour sa résistance à la perméthrine pendant 5 générations.

Des souches de terrain du grand capucin ont été testées quant à leur résistance à la perméthrine. Les réponses des souches sensibles et résistantes ont été comparées par application et par exposition sur papier filtre imprégné d'insecticide. Une dose discriminante à été établie en ce qui concerne la mesure sur le terrain de la résistance à la perméthrine.

Dans toutes les souches, on a mesuré les taux d'activité des estérases.