



HAL
open science

Modulation des effets d'un fongicide , le fenpropimorphe dans les plants de blé

Marie-France Corio-Costet, Christian Mougin, P. Benveniste, R. Scalla

► To cite this version:

Marie-France Corio-Costet, Christian Mougin, P. Benveniste, R. Scalla. Modulation des effets d'un fongicide , le fenpropimorphe dans les plants de blé. 21. congrès du groupe français des pesticides, May 1991, Nancy-Brabois, France. hal-02777214

HAL Id: hal-02777214

<https://hal.inrae.fr/hal-02777214>

Submitted on 17 Mar 2023

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.

Modulation des effets d'un fongicide, le fenpropimorphe dans des plants de blé

Métabolisation *in vitro*

M-F. Corio-Costet¹, C. Mougin¹, P. Benveniste² et R. Scalla¹
1 INRA DIJON, Laboratoire des Herbicides, BV 1540, 21034 DIJON; 2 Laboratoire de Biologie et Biochimie du développement des plantes, URA CNRS 1182, 28 rue Goethe, 67083 STRASBOURG.

RESUME

Le fenpropimorphe, un fongicide systémique inhibiteur de la biosynthèse des stérols, induit une accumulation massive de stérols anormaux (>90%)(de Δ^8 -stérols et de $9\beta,19$ -cyclopropylstérols) à la place des Δ^5 -stérols habituellement présents. Il est possible, en fonction du taux de ces stérols, d'évaluer l'efficacité du traitement.

En utilisant des composés agrochimiques pouvant intervenir sur le taux de Cytochrome P450, nous avons examiné les modulations apportées sur la croissance de plants de blé et sur la modification du profil stérolique en présence de fenpropimorphe.

Il ressort qu'une molécule inhibitrice d'enzymes à Cytochrome P450 tel que l'aminobenzotriazole (ABT) associée au fenpropimorphe, augmente de 24% le taux de cyclopropylstérols dans les racines de plants de blé, et qu'inversement des molécules stimulatrices des enzymes à Cyt-P450 tel que l'anhydride naphthalique et le clofibrate associées au fongicide augmente fortement le taux de Δ^5 -stérols (+10 à +20%), c'est à dire diminue l'efficacité du traitement.

*Ces effets modulateurs sont liés à la métabolisation du fongicide. C'est pourquoi nous avons réalisé des tests de métabolisation *in vitro* du fenpropimorphe dans des fractions microsomiques de plants de blé. Nous obtenons une activité métabolique de l'ordre de 93 pmoles/mg de prot./hr, que l'on peut sensiblement augmenter par prétraitement associant l'anhydride naphthalique et le fenpropimorphe.*

INTRODUCTION

Le fenpropimorphe, une morpholine inhibitrice de la biosynthèse des stérols, permet de modifier le profil stérolique de plantes entières (1), en remplaçant les Δ^5 -stérols présents habituellement par des Δ^8 -stérols et des cyclopropylstérols. Cette accumulation massive de stérols anormaux est due à l'inhibition de deux enzymes de la biosynthèse des stérols:

- la Cycloeucaalénol-Obtusifoliol-Isomérase et
- la $\Delta^8 \rightarrow \Delta^7$ -Stérol- Isomérase (2) (Fig.1)

Nous avons étudié l'impact que pouvaient avoir des composés agrochimiques associés au fenpropimorphe sur la croissance de plants de blé et sur la modification de leur profil stérolique.

Ces molécules peuvent pour la plupart influencer sur le taux de Cytochrome-P-450. Nous avons donc dosé les quantités de Cyt-P450 présents dans les plants de blé.

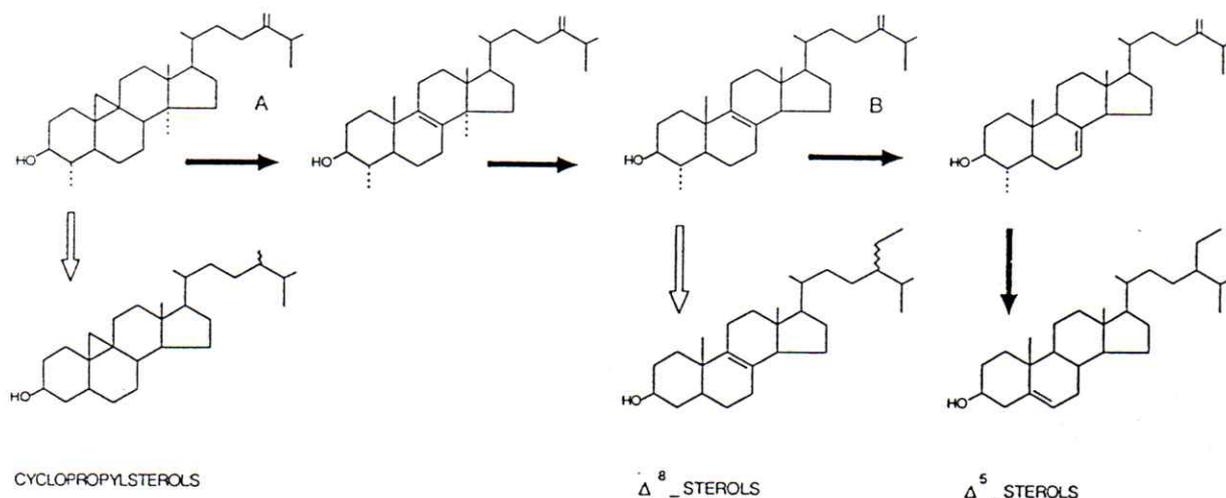


Fig.1: Cibles enzymatiques du fenpropimorphe. A: CycloeucaénoI-Obtusifoliol-Isomérase; B: $\Delta^8 \rightarrow \Delta^7$ -Stérol-Isomérase

Les effets modulateurs induits par ces composés sont généralement en relation avec des monooxygénases à Cyt-P450, qui participent à la détoxification de xénobiotiques. C'est pourquoi, nous avons réalisé des tests préliminaires de métabolisation *in vitro* du fenpropimorphe dans des microsomes de plantules de blé.

MATERIELS ET METHODES

Le fenpropimorphe et le tetcyclasis ont été gracieusement fourni par le Dr. Rademacher (BASF), et l'aminobenzotriazole par le Dr Varsano (Israel).

Les graines de blé "Etoile de Choisy" sont mises à germer en présence des différents composés et arrosées quotidiennement avec des solutions à 2 mg/l pour étudier la croissance et la modification du profil stérolique.

Les dosages de Cyt-P450 ont été réalisés selon la méthode d'Omura et Sato (3).

La préparation des microsomes, a été réalisée comme décrit précédemment (4).

Les incubations de fenpropimorphe (100 μ M) pour l'étude de la métabolisation *in vitro* sont effectuées dans du tampon phosphate KH₂PO₄, pH 7,5, contenant 6,7 mM de Glucose-6-phosphate, 2 U de Glucose-6-Phosphate-Déshydrogénase, 1 mM de glutathion, 1 mM de NADPH, 10 U de superoxyde dismutase, avec 0,5 mg de protéine.

L'analyse et l'identification des métabolites ont été effectuées comme décrit précédemment (5).

L'extraction des stérols et leur analyse ont été réalisées comme décrit précédemment (6).

RESULTATS

Effets sur la croissance de composés agrochimiques associés ou non avec le fenpropimorphe.

Si l'on examine la figure.2, nous notons que le fenpropimorphe inhibe la croissance de façon progressive au cours du temps dans les feuilles (Fig.2A). Ceci est liée à sa systémie.

La croissance des racines et des feuilles (Fig;2B) montre que la croissance racinaire est fortement inhibée quand le fenpropimorphe est associé au pipéronyl butoxyde (III), à l'anhydride naphthalique (IV) et au tetcyclasis (V). Seul le clofibrate (VI) lève partiellement l'inhibition de croissance due au fenpropimorphe.

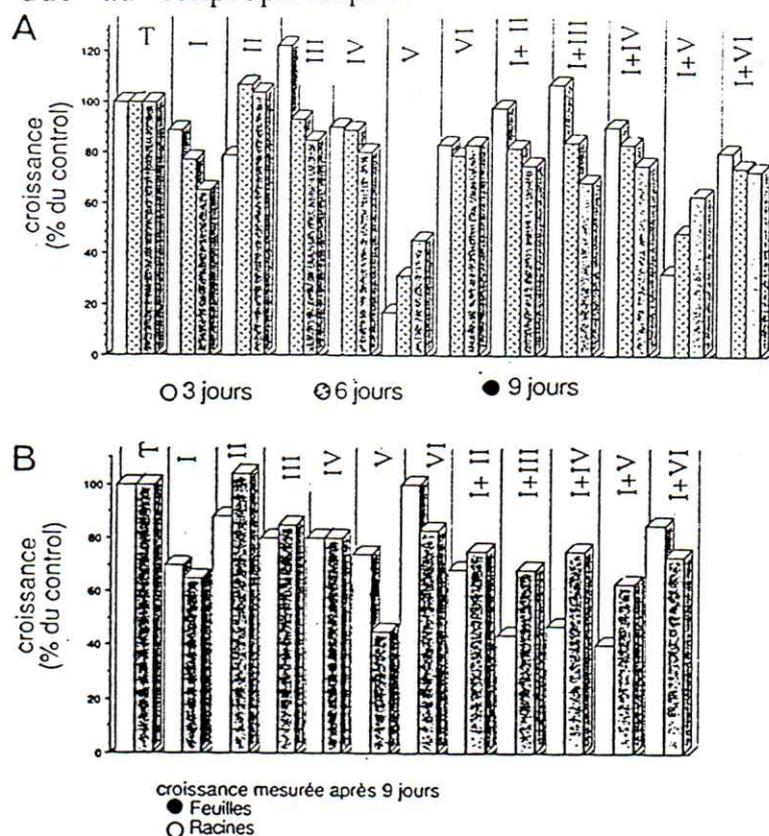


Fig.2: Croissance de plants de blé traités par divers composés associés ou non au fenpropimorphe. (A) Evolution de la croissance des plantules de blé, (B) Croissance des feuilles et des racines après 9 jours de traitement.

I: fenpropimorphe; II: aminobenzotriazole, III: pipéronyl butoxyde, IV: anhydride naphthalique, V: tetcyclasis, VI: clofibrate, T: témoin.

Modulations des profils stéroliques de plants traités par le fenpropimorphe associé aux composés agrochimiques.

Un traitement par le fenpropimorphe (2 mg/l) entraîne une accumulation majoritaire de cyclopropylstérols dans les racines (52%) et de $\Delta 8$ -stérols dans les feuilles (57%). La figure.3 révèle qu'un composé tel que l'ABT (II) joue un rôle de synergiste puissant puisqu'on accumule

78% de cyclopropylstérols dans les racines et 35% dans les feuilles ainsi traitées.

Par contre le clofibrate (VI), le tetcyclasis (V) et l'anhydride naphthalique (IV) jouent un rôle d'antagoniste puisque le taux de $\Delta 5$ -stérols augmente en particulier dans les parties aériennes et sensiblement dans les parties racinaires. On notera également de façon général, que la quantité de 4-desméthylstérols totaux trouvées dans les racines traitées est inférieure à celle des racines témoins.

% RELATIF DES 4-DESMETHYLSTEROLS

TRAITEMENT	STEROLS NORMAUX			STEROLS ANORMAUX				µg de stérols/gr de poids de sec
	$\Delta 5$ -sterols	$\Delta 0$ -sterols	$\Delta 7$ -sterols	$\Delta 8$ -sterols	divers	cyclopropylsterols		
TÉMOIN	F	86	10	4	0	0	0	1235
	R	91	7	3	0	0	0	1400
I	F	18	0	4	57	3	18	1120
	R	7	0	0	36	5	52	690
I + II	F	11	0	0	50	4	35	940
	R	4	0	4	4	10	78	500
I + III	F	20	0	0	53	3	22	1130
	R	2	0	8	32	4	54	480
I + IV	F	20	0	5	46	4	16	1180
	R	4	0	5	36	4	48	800
I + V	F	44	0	0	42	0	14	690
	R	16	0	0	26	8	52	790
I + VI	F	29	0	0	45	0	16	1060
	R	14	0	0	34	0	52	680

F: Feuilles
R: Racines

Fig.3: Profils des 4-desméthylstérols de plants de blé traités par le fenpropimorphe (2 mg/l) associé à divers composés agrochimiques (2 mg/l). L'effet des composés agrochimiques seul sur le profil stérolique a été également étudié. On note généralement quelques variations quantitatives des stérols normaux et l'apparition en faible quantité de stérols anormaux pour le tetcyclasis (V) et le pipéronyl butoxyde (III).

Dosages des Cytochromes B5 et P450.

Les composés testés étant connus comme pouvant agir sur le taux de Cyt-P450 cellulaire, nous avons effectué des dosages de Cyt-P450 dans des microsomes de plantules de Blé.

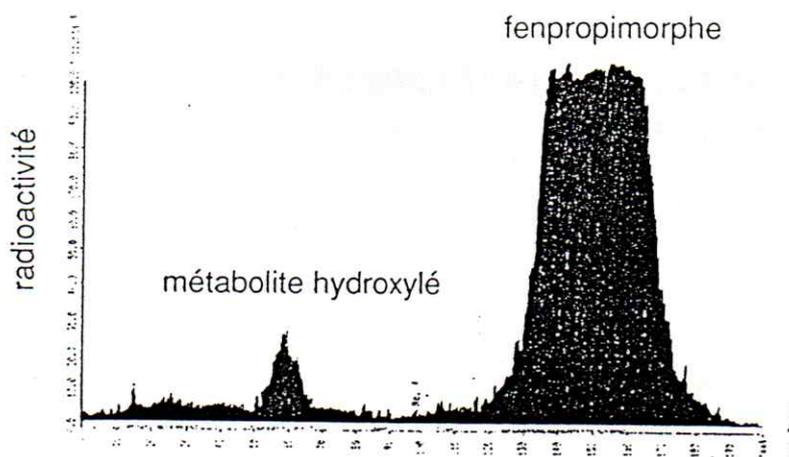
produits utilisés (% pour 40 gr de graine)	pmoles/mg de Proteines de microsomes de plantules étolées de blé "Étoile de Choisy"	
	CYTOCHROME B5	CYTOCHROME P450
CONTROL	330	113
I (0,05 %)	391	196
II (0,025 %)	406	72
III (0,05 %)	321	182
IV (0,1 %)	313	273
V (0,025 %)	314	trace + P420 80
VI (0,05 %)	336	250
I + II	360	130
I + III	376	160 + P420 120
I + IV	323	302
I + V	360	138 + P420 140
I + VI	362	340

Fig.4: Concentrations de Cyt-B5 et P450 dans les microsomes de plantules étolées traitées 120 hrs par divers composés.

La Figure 4 révèle que ces composés augmentent le taux de Cyt-P450 dans les microsomes de plantules, à l'exception toutefois de l'ABT (II) et du tetcyclasis (V) qui sont inhibiteurs de Cyt-P450 (7,8). Les meilleures inductions sont obtenues avec le clofibrate (VI) et l'anhydride naphthalique (IV). Le fenpropimorphe associé à ces composés apporte un effet additif à l'induction de Cyt-P450 (I +IV et I +VI).

Suite à ce travail, nous avons réalisé des tests préliminaires de métabolisation *in vitro* du fenpropimorphe dans des microsomes provenant de plantules traitées ou non.

Nous avons obtenu une faible métabolisation (Fig.5), avec une activité de 93 pmoles/mg de prot./hr dans les microsomes témoins. Cette activité est sensiblement augmentée lors d'un prétraitement par l'anhydride naphthalique (IV) associé au fenpropimorphe (I +IV) (180 pmoles).



Radiochromatogramme obtenu à partir de microsomes de plantules étiolées de blé. Incubation d'une heure en présence de 100 μ M de fenpropimorphe

Fig.5: Métabolisation du fenpropimorphe en dérivé hydroxylé dans des microsomes de plantules de blé

CONCLUSION

Cette étude sur la modulation des effets d'un fongicide sur la biosynthèse des stérols de plantes, montre qu'à l'aide de composés agrochimiques influant sur le taux de Cyt-P450, il est possible d'obtenir des effets de synergie ou d'antagonisme, que l'on peut visualiser directement sur les cibles enzymatiques du fongicide. Ces effets se traduisent par une diminution ou une augmentation des stérols anormaux présents dans les plants traités.

Ces composés induisant ou inhibant les Cyt-P450 modulent les effets du fenpropimorphe en augmentant ou en diminuant sa métabolisation intracellulaire par des enzymes de détoxifications pouvant fonctionner à l'aide Cyt-P450, comme le suggère les résultats obtenus lors de la métabolisation *in vitro*.

Toutefois, un effet direct sur des enzymes de la biosynthèse des stéroïdes dépendant de Cyt-P450 ne peut être écarté, en particulier dans le cas du tetcyclasis qui inhibe la 14 α -déméthylase de plante (9).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 P. Benveniste, M. Bladocha, M-F Costet et A. Ehrard, Ann. Proc. Phytochem. Soc. Eur., **24**, 283 (1984)
- 2 M-F Costet et P. Benveniste, Pestic. Sci., **22**, 343 (1988)
- 3 T. Omura et R. Sato, J. Biol. Chem, **239**, 2370 (1964)
- 4 C. Mougin, F. Cabanne, M.C Canivenc et R. Scalla, Plant Sci., **66**, 195 (1990)
- 5 M-F Costet, Thèse de l'université de Strasbourg (1986)
- 6 M-F Costet, M El Achouri., R Lanot., M. Charlet, P. Benveniste et J. Hoffmann, Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A, **84**, 643 (1987)
- 7 D. Reichardt, A. Simon, F. Durst, J.M Mathew et P.R. Ortiz de Montellano, Arch. Biochem. Physiol., **216**, 522 (1982)
- 8 H. Vanden Bossche, P. Marichal, W. Lauwers et P.A.J. Janssen, Pestic. Sci., **21**, 289 (1987)
- 9 M. Taton, P. Ullman, P. Benveniste et A. Rahier, Pestic. Biochem. Physiol., **30**, 178 (1988)