



HAL
open science

Évolution de la résistance aux insecticides au sein d'un complexe d'espèces de ravageurs dans un contexte d'invasion biologique: coût de la résistance et rôle de l'hybridation

Alizée Taquet

► **To cite this version:**

Alizée Taquet. Évolution de la résistance aux insecticides au sein d'un complexe d'espèces de ravageurs dans un contexte d'invasion biologique: coût de la résistance et rôle de l'hybridation. Sciences et techniques de l'agriculture. Université de la Réunion, 2020. Français. NNT : 2020LARE0014 . tel-02970321

HAL Id: tel-02970321

<https://theses.hal.science/tel-02970321>

Submitted on 18 Oct 2020

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.

UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION

Faculté des Sciences et Technologies

Ecole Doctorale Sciences, Technologies et Santé (EDSTS-542)

CIRAD, UMR PVBMT : Peuplements Végétaux et Bioagresseurs en Milieu Tropical

ANSES, Laboratoire de Lyon, USC CASPER

THÈSE

Présentée à l'Université de La Réunion pour obtenir le

DIPLÔME DE DOCTORAT EN SCIENCES

Discipline : **Biologie des populations et écologie**

Evolution de la résistance aux insecticides au sein d'un complexe d'espèces de ravageurs dans un contexte d'invasion biologique : coût de la résistance et rôle de l'hybridation

Par

Alizée TAQUET

Soutenue publiquement le 17 juillet 2020 à l'UMR PVBMT, devant le jury suivant :

Stéphane POUSSIER, Professeur, Université de La Réunion

Sylvie HURTREZ, Professeure, Université de Montpellier

Elodie CHAPUIS, Chercheuse, HDR, IRD de Montpellier, UMR IPME

Bernard REYNAUD, Professeur, Université de La Réunion

Hélène DELATTE, Chercheuse, HDR, CIRAD de La Réunion, UMR PVBMT

Benoît BARRÈS, Chercheur, ANSES Laboratoire de Lyon, USC CASPER

Hélène JOURDAN, Chercheuse, CIRAD de Montpellier, UMR ASTRE

Président du Jury

Rapporteuse

Rapporteuse

Examineur

Directrice de thèse

Encadrant de thèse

Encadrante de thèse

“Finishing a PhD is like finishing a group project where your partner made a ton of mistakes at the beginning of the assignment. Except your partner is just you four years ago.”

John M. Mola

A mes parents et à ma sœur Coralie

Remerciements

Voici venue la fin de ce Grand Raid, que dis-je ? De cette Diagonale des Fous ! Qui n'aura jamais aussi bien porté son nom à mes yeux... Je souhaite remercier ici toutes les personnes qui ont pris part à cette grande aventure, et l'ont embellie, chacune à leur façon.

Tout d'abord, j'adresse mes remerciements au CIRAD et à l'Anses, qui ont cofinancé ce projet de thèse. De la même façon, je remercie le professeur Bernard Reynaud, directeur de l'UMR PVBMT, de m'avoir permis de réaliser cette thèse au sein de son unité.

Je souhaite remercier également la professeure Sylvie Hurtrez, et Elodie Chapuis, d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail. Merci aux professeurs Stéphane Poussier et Bernard Reynaud de faire partie de ce jury, en tant que président et examinateur, respectivement.

J'adresse des remerciements sincères à Myriam Siegwart, pour ses nombreux conseils d'experte, qui ont été très appréciés... Et appliqués ! De la même façon, je souhaite remercier les autres membres de mes différents comités de thèse : Nicolas Blot, Nathalie Becker et Frédérique Chiroleu.

Comment pourrais-je, en si peu de lignes, exprimer ma reconnaissance envers ma directrice de thèse Hélène Delatte et mes encadrants Benoît Barrès et Hélène Jourdan ? Impossible ! Il y a le contexte professionnel, bien sûr, et puis le « reste ». Dans les deux cas, je n'aurai pas pu rêver meilleur accompagnement, et j'ai mesuré ce privilège chaque jour de ces trois années (et des poussières). Même (surtout ?) dans les moments difficiles, je n'aurai pas voulu d'un autre casting ! J'ai eu la chance de partir en congrès en Australie avec vous, mes deux Hélène, et cela restera de très loin l'un de mes meilleurs souvenirs de thèse. Je suis soulagée d'avoir eu l'opportunité de participer aux Journées Scientifiques et Doctorales de l'Anses à la fin de l'année 2018, car cela m'a permis d'enfin te rencontrer, Benoît ! Je peux te dire que les Hélène étaient jalouses... Tu as su te rendre disponible et t'impliquer à 100% à nos côtés, malgré la distance, et nous t'en remercions. Quel dommage que nous n'ayons pas pu être réunis tous les quatre !

Un grand et chaleureux merci à Martial Grondin, Christophe Simiand (Lulu) et Emmanuelle Chapier, pour leur investissement total au cours de toutes nos expérimentations ; qu'elles aient eu lieu sur le terrain, ou bien au laboratoire. Sans votre aide, je n'aurai pas matière à discuter aujourd'hui !

Je souhaite également remercier tous mes collègues de l'Université de La Réunion, pour le temps et l'énergie dépensés à me former, et pour leur extrême bienveillance. Je désire

remercier en particulier Johanna Clémencet, qui en plus d'être une personne adorable, passionnante et passionnée, est une enseignante formidable qui m'a beaucoup appris durant cette première année d'ATER.

Un immense merci à mes très chers amis, rencontrés grâce à ce travail de thèse : la radieuse Sohini, la pétillante Sarah, le très loyal Cédric, l'adorable Pauline, le... le Olivier, le petit-par-la-taille-mais-(très)-grand-par-l'esprit Cyril, le formidable Benoît, la sagesse incarnée Cathleen, la géniale Céline (que j'ai vue trop peu !) ... ainsi qu'à tous ceux qui n'ont pas été cités. Vous n'imaginez pas à quel point je vous suis reconnaissante d'avoir été/ d'être là, à mes côtés.

Merci à mes amis de métropole, qui continuent d'être un soutien à toute épreuve, malgré mon incapacité chronique à prendre et à donner des nouvelles : Marie-Ange, Aline, Justine, mon groupe d'amis de Bordeaux Sciences Agro, et en particulier Maëva, Marion, Cécile et Lysias (que j'ai eu la chance de retrouver à La Réunion), Gladys, Maureen et Pierre-Antoine ; mes compagnons « APIMET » de Montpellier SupAgro : Dalel, Margaux, Agathe, Coralie, Benjamin et Jeannot... Votre amitié est précieuse, et vous n'imaginez pas à quel point j'ai hâte de tous vous retrouver !

Un merci plein de tendresse à Scotch et Mochi, qui sans le savoir ont aussi joué un rôle crucial dans mon accompagnement tout au long de cette aventure. Merci pour les nombreux câlins et ronrons de réconfort, en particulier en plein milieu de la nuit, tout contre mon ordinateur qui chauffait...

Je souhaite décerner de nombreuses médailles à Nathan, pour m'avoir soutenue et surtout supportée, surtout quand j'étais insupportable ! Nous allons enfin pouvoir profiter ensemble des splendeurs de mon île, au calme... J'ai hâte !

J'ai gardé les meilleurs pour la fin : un immense merci à mon papa, à ma maman ainsi qu'à ma sœur Coralie, pour qui cette thèse aura aussi été une épreuve. Je sais que la très longue distance qui nous sépare depuis maintenant onze années (et encore plus pour toi Coca) rend parfois les choses difficiles, et peut faire de chaque petit souci, une grande source d'angoisse (les chiens ne font pas des chats !). A vous, ainsi qu'aux papis et mamies que je n'oublie pas, merci pour tout votre amour et votre confiance sans faille : ce travail, je vous le dédie.

Vous pouvez tous souffler maintenant, j'ai franchi la ligne d'arrivée ! A moins qu'il ne s'agisse d'un nouveau départ... ?

Résumé

Bemisia tabaci est un insecte ravageur d'importance mondiale de par sa capacité à transmettre des phytovirus. Trois espèces d'aleurodes coexistent à La Réunion : l'espèce indigène IO, et deux espèces exotiques MEAM1 et MED-Q, qui ont successivement envahi l'île en 1997 et 2010. La principale stratégie de lutte contre ces espèces est l'utilisation d'insecticides, ce qui peut mener à l'émergence de résistances. Le principal objectif était de comprendre l'évolution de la distribution de ces espèces dans les agrosystèmes insulaires, au regard de leur spectre de résistance aux insecticides dans un contexte d'hybridation interspécifique. A cette fin, des aleurodes ont été échantillonnés dans 56 sites, génotypés pour 11 marqueurs microsatellites et pour deux loci *kdr* impliqués dans la résistance aux pyréthrinoïdes. Quinze populations ont été phénotypées pour la résistance à la pymétozine et à l'acétamipride, et le coût de la résistance à l'acétamipride a été évalué. Les deux espèces envahissantes se retrouvent principalement dans les agrosystèmes, et possèdent des mutations de résistance *kdr*. La plupart des populations de MEAM1 sont résistantes à l'acétamipride, à la pymétozine ou aux deux insecticides. La résistance à l'acétamipride ne semble pas soumise à un coût. L'espèce indigène IO a été principalement échantillonnée dans les zones non agricoles, ou en bordure d'agrosystèmes. Elle n'a aucune mutation de résistance aux pyréthrinoïdes et est sensible aux insecticides testés. Enfin, l'hybridation interspécifique (MEAM1-IO) observée ne conduirait pas à l'introgression de mutations résistantes chez l'espèce indigène, mais possiblement à l'introgression de sensibilité chez MEAM1.

Mots-clés : évolution, aleurode *Bemisia tabaci*, structure des populations, traits d'histoire de vie, coût, ségrégation de la niche, agrosystème, bioessais, néonicotinoïde, pyridine-azométhrine, pyréthrinoïde, mutation *kdr*.

Abstract

Bemisia tabaci is a major insect pest distributed worldwide because of its ability to transmit phytoviruses. Three whitefly species coexist in La Réunion Island: the native species IO, and two exotic species MEAM1 and MED-Q, which successively invaded the island in 1997 and 2010. The main control strategy against these species is the use of insecticides, which can lead to the emergence of resistance. The main objective was to understand the evolution of the distribution of the whitefly species in a tropical insular environment, with regards to their insecticide resistance in a context of interspecific hybridization. To this aim, whiteflies were sampled in 56 sites, genotyped at 11 microsatellite markers and for two *kdr* loci involved in pyrethroid resistance. Fifteen populations were phenotyped for resistance to pymetrozine and acetamiprid, and the cost of acetamiprid resistance was evaluated. The two invasive species were mainly found in agrosystems and both had *kdr* resistance mutations. Most of the MEAM1 populations were also found to be resistant to acetamiprid, pymetrozine or both pesticides. No fitness costs appeared to be associated with resistance to acetamiprid. The indigenous species IO was mainly sampled in non-crop areas, or at the edge of agrosystems. It had no pyrethroid resistance mutations and was susceptible to the insecticides tested. Finally, the observed interspecific hybridization (MEAM-IO) did not lead to the introgression of resistant mutations into the indigenous species, but possibly to the introgression of susceptibility in MEAM1.

Keywords: evolution, whitefly *Bemisia tabaci*, population structure, life history traits, fitness cost, niche segregation, agrosystem, bioassays, neonicotinoid, pyridine azomethine derivatives, pyrethroid, *kdr* mutation.

LETTRÉ D'ENGAGEMENT DE NON-PLAGIAT

Je soussignée, Alizée TAQUET, en ma qualité de doctorante de l'Université de La Réunion, déclare être consciente que le plagiat est un acte délictueux passible de sanctions disciplinaires. Aussi, dans le respect de la propriété intellectuelle et du droit d'auteur, je m'engage à systématiquement citer mes sources, quelle qu'en soit la forme (textes, images, audiovisuel, internet), dans le cadre de la rédaction de ma thèse et de toute autre production scientifique, sachant que l'établissement est susceptible de soumettre le texte de ma thèse à un logiciel anti-plagiat.

Fait à Saint-Pierre, La Réunion, le 18/10/2016

Signature :



Extrait du Règlement intérieur de l'Université de La Réunion
(validé par le Conseil d'Administration en date du 11 décembre 2014)

Article 9. Protection de la propriété intellectuelle – Faux et usage de faux, contrefaçon, plagiat

L'utilisation des ressources informatiques de l'Université implique le respect de ses droits de propriété intellectuelle ainsi que ceux de ses partenaires et plus généralement, de tous tiers titulaires de tels droits.

En conséquence, chaque utilisateur doit :

- utiliser les logiciels dans les conditions de licences souscrites ;
- ne pas reproduire, copier, diffuser, modifier ou utiliser des logiciels, bases de données, pages Web, textes, images, photographies ou autres créations protégées par le droit d'auteur ou un droit privatif, sans avoir obtenu préalablement l'autorisation des titulaires de ces droits.

La contrefaçon et le faux

Conformément aux dispositions du code de la propriété intellectuelle, toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle d'une œuvre de l'esprit faite sans le consentement de son auteur est illicite et constitue un délit pénal.

L'article 444-1 du code pénal dispose : « Constitue un faux toute altération frauduleuse de la vérité, de nature à causer un préjudice et accomplie par quelque moyen que ce soit, dans un écrit ou tout autre support d'expression de la pensée qui a pour objet ou qui peut avoir pour effet d'établir la preuve d'un droit ou d'un fait ayant des conséquences juridiques ».

L'article L335_3 du code de la propriété intellectuelle précise que : « Est également un délit de contrefaçon toute reproduction, représentation ou diffusion, par quelque moyen que ce soit, d'une œuvre de l'esprit en violation des droits de l'auteur, tels qu'ils sont définis et réglementés par la loi. Est également un délit de contrefaçon la violation de l'un des droits de l'auteur d'un logiciel (...) ».

Le plagiat est constitué par la copie, totale ou partielle d'un travail réalisé par autrui, lorsque la source empruntée n'est pas citée, quel que soit le moyen utilisé. Le plagiat constitue une violation du droit d'auteur (au sens des articles L 335-2 et L 335-3 du code de la propriété intellectuelle). Il peut être assimilé à un délit de contrefaçon. C'est aussi une faute disciplinaire, susceptible d'entraîner une sanction.

Les sources et les références utilisées dans le cadre des travaux (préparations, devoirs, mémoires, thèses, rapports de stage...) doivent être clairement citées. Des citations intégrales peuvent figurer dans les documents rendus, si elles sont assorties de leur référence (nom d'auteur, publication, date, éditeur...) et identifiées comme telles par des guillemets ou des italiques.

Les délits de contrefaçon, de plagiat et d'usage de faux peuvent donner lieu à une sanction disciplinaire indépendante de la mise en œuvre de poursuites pénales.

Table des matières

Liste des abréviations	1
Liste des figures	3
Listes des tables	6
I. Introduction générale	8
II. Synthèse bibliographique	11
II.1. Eléments de biologie évolutive	11
II.1.1. Les forces évolutives	11
II.1.1.1. <i>Les mutations</i>	12
II.1.1.2. <i>La sélection naturelle</i>	12
II.1.1.3. <i>La migration</i>	14
II.1.2. Biologie insulaire	15
II.1.3. Les invasions biologiques	15
II.1.4. Hybridation interspécifique et introgression	17
II.2. Modes d'action des insecticides et mécanismes de résistance	20
II.2.1. Modes d'action des insecticides	20
II.2.2. Description des mécanismes de résistance	28
II.2.3. L'exemple historique du contrôle des moustiques	30
II.3. Modèle étudié : le complexe d'espèces <i>Bemisia tabaci</i>	33
II.3.1. Définition et systématique	33
II.3.2. Biologie de l'organisme	36
II.3.3. Répartition géographique et gamme d'hôtes	39
II.3.4. Impact économique	41
II.4. La résistance aux insecticides chez <i>Bemisia tabaci</i>	44
II.4.1. Les organophosphorés et les carbamates	45
II.4.2. Les pyréthrinoïdes	45
II.4.3. Les régulateurs de croissance : pyriproxifène et buprofézine	46
II.4.4. Les néonicotinoïdes	47
II.4.5. La famille des pyridine-azométhrines : cas de la pymétozine	48
II.4.6. Les nouvelles classes d'insecticides : kétoénols et diamides	48
II.5. Cadre de l'étude : l'île de La Réunion	50
II.5.1. Géomorphologie et climat	50
II.5.1.1. <i>Géomorphologie</i>	50
II.5.1.2. <i>Climat</i>	52
II.5.2. Production maraîchère et traitements phytopharmaceutiques	53
II.5.2.1. <i>Occupation des sols</i>	53

II.5.2.2. <i>Marâchage</i>	53
II.5.2.3. <i>Traitements phytopharmaceutiques en culture de tomate</i>	54
II.5.3. <i>Bemisia tabaci</i> , le principal ravageur sur tomate.....	57
III.Objectifs de la thèse	60
IV. Chapitre 1 : Evolution de la répartition des espèces d'aleurodes invasives (MEAM1, MED-Q) et indigène (IO) vis-à-vis de la distribution des allèles de résistance aux pyréthriinoïdes dans un contexte d'hybridation interspécifique	63
IV.1. Introduction.....	66
IV.2. Materials and methods	68
IV.2.1. <i>Bemisia tabaci</i> collection and DNA extraction	68
IV.2.2. Mitochondrial DNA amplification and sequencing	70
IV.2.3. Nuclear microsatellite PCR amplification and genotyping	70
IV.2.4. Population genetic analysis	70
IV.2.5. Population structure analysis.....	71
IV.2.6. <i>Kdr</i> mutation identification	72
IV.2.6.1. <i>PCR-RFLP</i> visual reading.....	72
IV.2.6.2. <i>Kdr</i> mutation Sequencing	72
IV.2.7. Interspecific hybridization.....	73
IV.3. Results.....	73
IV.3.1. Species identification and distribution	73
IV.3.2. Genetic diversity	76
IV.3.3. Population structure.....	78
IV.3.4. Hybrids.....	78
IV.3.5. <i>Kdr</i> mutation	80
IV.4. Discussion.....	83
IV.4.1. Species distribution evolution	83
IV.4.2. Hybridization.....	85
IV.4.3. <i>Kdr</i> mutation	86
IV.4. Conclusion	88
IV.5. Supporting information.....	89
V. Chapitre 2 : Evaluation de la résistance aux insecticides et de son coût chez une espèce exotique envahissante versus une espèce résidente au sein du complexe d'espèces <i>Bemisia tabaci</i> (Hemiptera : Aleyrodidae) à l'île de La Réunion	91
V.1. Introduction.....	95
V.2. Materials and methods	98
V.2.1. <i>Bemisia tabaci</i> populations.....	98
V.2.2. Dose-response leaf-dip bioassays	99

V.2.3. Dose-response curves analysis	100
V.2.4. Life history traits	101
V.2.5. Life history traits statistical analysis	102
V.3. Results	104
V.3.1. Species identification.....	104
V.3.2. Characterization of resistance status of MEAM1 and IO field collected populations..	104
V.3.3. Assessment of the potential cost of resistance to acetamiprid for MEAM1 field-collected populations	108
V.6. Discussion	108
V.7. Acknowledgments.....	111
V.8. Supporting information	112
VI. Discussion générale et perspectives	114
VI.1. Discussion générale	114
VI.2. Perspectives	127
Références bibliographiques	129
Annexes.....	150
Glossaire	183

Liste des abréviations

ACh	Acétylcholine
AChE	Acétylcholinestérase
ADN (<i>DNA</i> en anglais)	Acide désoxyribonucléique
ADNmt (<i>mtDNA</i> en anglais)	ADN mitochondrial
ARN (<i>RNA</i> en anglais)	Acide ribonucléique
CL₅₀ (<i>LC₅₀</i> en anglais)	Concentration létale médiane
cv.	Cultivar
DAAF	Direction régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt
DAPC	Analyse discriminante en composantes principales
DdeI	Nom d'une enzyme de restriction
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DH	Dose homologuée
drc	<i>Dose response curve</i> (package R)
FR (<i>RR</i> en anglais)	Facteur de résistance
HJ	Hormone juvénile
HWE	Equilibre du modèle d'Hardy-Weinberg
IFT	Indice de fréquence de traitement
IO	<i>Indian Ocean</i> (espèce d'aleurode)
IRAC	<i>Insecticide Resistance Action Committee</i>
Kdr	<i>Knockdown resistance</i>
MCMC	Algorithme de Monte Carlo par chaîne de Markov
MEAM1	<i>Middle East Asia Minor 1</i> (espèce d'aleurode)
MED ou MED-Q	<i>Mediterranean</i> (espèce d'aleurode)
MoA	Mécanisme d'action
mtCOI	Gène mitochondrial cytochrome oxydase 1
nAChR	Récepteur nicotinique de l'acétylcholine
OMS	Organisation mondiale de la Santé
OP	Organophosphorés
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
PIB	Produit intérieur brut
RAPD	Amplification aléatoire d'ADN polymorphe
RFLP	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction

SAU	Surface agricole utile
SNP	Polymorphisme d'un seul nucléotide
SOOI (SWIO en anglais)	Zone sud-ouest de l'Océan Indien
sp.	Espèce
SSA	<i>Sub-Saharan Africa</i> (espèce d'aleurode)
ToCV	Virus de la chlorose de la tomate
TRPV	Récepteur potentiel vanilloïde transitoire
TYLCV	Virus des feuilles jaunes en cuillère de la tomate
UNESCO	Organisation des Nations unies pour l'éducation, la science et la culture
UV	Ultraviolet

Unités

°C	Degrés Celsius
h	Heure
ha	Hectare
km²	Kilomètre carré
km, m, cm, mm...	Kilomètre, mètre, centimètre, millimètre...
kg, g, mg...	Kilogramme, gramme, milligramme...
L, mL, µL...	Litre, millilitre, microlitre...
MA	Million d'années
masl	Mètre au-dessus du niveau de la mer
M€	Millions d'euros
pb	Paire de base (nucléotide)
s	Seconde

Paramètres génétiques

F_{IS}	Indice de consanguinité
F_{ST}	Indice de différenciation
H_e	Taux d'hétérozygotie attendu sous HWE
H_o	Taux d'hétérozygotie observé
IBD	Isolement par la distance
N	Taille de l'échantillon
Na	Nombre moyen d'allèles par population
Ra	Richesse allélique

Liste des figures

Figure II-1 : Représentation schématique des processus sur lesquels repose la théorie de l'évolution.	10
Figure II-2 : D'après Jonsson and Jonsson (1999) ; différentes régressions permettant de rendre compte de l'existence d'un compromis entre la taille des œufs et la fécondité, chez la truite commune (<i>Salmo trutta</i>), pour des populations anadromes, d'eau douce ou d'élevage, frayant pour la première fois ou non.....	13
Figure II-3 : Visualisation de deux marqueurs microsatellites grâce au logiciel Geneious™.....	14
Figure II-4 : D'après Blackburn et al. (2011) ; le processus d'invasion peut être divisé en une série d'étapes (en vert), et à chaque étape il y a des barrières à surmonter (blocs bleus) pour qu'une espèce ou une population puisse passer à l'étape suivante.....	16
Figure II-5 : D'après Gokcumen (2020) ; un schéma simple de l'introgession de Néandertal.....	19
Figure II-6 : Classification établie par l'IRAC des molécules insecticides selon leur mode d'action.	21
Figure II-7 : Le groupe 1 comprend les carbamates et les organophosphorés, des insecticides qui agissent comme des inhibiteurs de l'AChE.....	22
Figure II-8 : D'après Casida and Durkin (2013) ; représentation schématique du mode d'action de plusieurs insecticides, dont les inhibiteurs de l'AChE et les agonistes du récepteur nicotinique de l'ACh.....	22
Figure II-9 : Les insecticides du groupe 3, groupe auquel appartiennent les pyréthriinoïdes, ont pour cible le canal sodique.....	23
Figure II-10 : D'après Davies et al. (2007) ; topologie transmembranaire du canal sodique.....	23
Figure II-11 : Modifiée d'après O'Reilly et al. (2006) ; modélisation du site de fixation supposé des pyréthriinoïdes sur le canal sodique.....	24
Figure II-12 : Le groupe 4 comprend plusieurs familles de molécules insecticides, dont les néonicotinoïdes, qui ont toutes pour cible le système nerveux.....	24
Figure II-13 : Modifiée d'après Casida and Durkin (2013) ; modèles structuraux de l'insecticide et de sa cible, dans le cas de l'imidaclopride et du nAChR, montrant les positions d'amarrage proposées et certains résidus de sites de liaison.....	25
Figure II-14 : Le groupe 9 de la classification de l'IRAC comprend les modulateurs du canal TRPV et inclut les dérivés de la pyridine-azométhrine, dont la pymétozine.....	25
Figure II-15 : Le groupe 7 de la classification de l'IRAC est celui des analogues des hormones de croissance.....	26
Figure II-16 : Modifiée d'après Jindra et al. (2013) ; un modèle de l'interaction entre le complexe Met et l'hormone juvénile.....	27
Figure II-17 : D'après R4P Network (2016) ; les différents mécanismes de résistance aux pesticides développés par les organismes nuisibles.....	29
Figure II-18 : Nomenclature et statut des espèces appartenant au genre <i>Bemisia</i>	33
Figure II-19 : Illustrations d'après Tay et al. (2012) : d'un <i>puparium</i> (I, J), des variations de la glande cimentaire de trois femelles adultes (C-E) et d'une vue latérale de l'aedeagus d'un mâle adulte (H) provenant de spécimens de <i>B. tabaci</i> recueillis par Gennadius sur des plants de tabac à	

Agrinio, Grèce, en 1889. Ces illustrations sont accompagnées de croquis de l'antenne (A) et de la glande cimentée (B) d'une femelle ; et de l'antenne (F) et de l'apex postérieur d'un mâle adulte (G) de spécimens collectés en Chine, et déterminés comme provenant de la même espèce (Méditerranée) sur la base d'une analyse d'ADN.	33
Figure II-20 : Photo montrant une femelle (à gauche) et un mâle (à droite) <i>Bemisia tabaci</i> , espèce Middle-East Asia Minor 1 (MEAM1), ainsi que leurs œufs sur feuille de chou.	34
Figure II-21 : D'après Kanakala and Ghanim (2019) ; arbre phylogénétique bayésien (modèle GTR+G) basé sur l'analyse de séquences partielles du gène mtCOI, présentant 44 des espèces décrites à ce jour dans le complexe d'espèces <i>Bemisia tabaci</i>	35
Figure II-22 : Photos montrant des stades larvaires de l'espèce MEAM1 sur feuille de chou (à gauche), ainsi qu'un aleurode adulte entouré d'exuvies avec des fentes en « T » (crédit photo : A. Franck, CIRAD, UMR PVBMT).	37
Figure II-23 : D'après Malka et al. (2018); gamme d'hôtes des espèces de <i>B. tabaci</i> selon (a) les familles botaniques et (b) l'ordre des plantes, montrant que neuf des ordres (avec les astérisques) sont communément partagés par la plupart des espèces de <i>B. tabaci</i>	41
Figure II-24 : Les photos A et B montrent des symptômes de TYLCV (Begomovirus) sur plants de tomate à La Réunion ; la photo C montre des symptômes de ToCV (Crinivirus) sur plants de tomate à La Réunion ; et la photo D montre une pullulation d'aleurodes sur plant d'aubergine, à La Réunion.	43
Figure II-25 : Chronologie de mise sur le marché des premiers insecticides néonicotinoïdes, figure issue de Bass et al. (2015).	47
Figure II-26 : Situation géographique de l'île de La Réunion dans l'Océan Indien. Figure empruntée à Sanchez et al. (2012).	50
Figure II-27 : Carte de la topographie de La Réunion.	51
Figure II-28 : Carte de la pluviométrie moyenne annuelle à La Réunion.	52
Figures II-29 (à gauche) et II-30 (à droite) : IFT selon les légumes cultivés à La Réunion et par catégorie de produits phytosanitaires (à gauche) ; IFT de 4 légumes cultivés à La Réunion (carotte, chou à feuilles, salade, tomate) par rapport à l'IFT appliqué sur ces mêmes cultures en France métropolitaine (à droite).	55
Figure II-31 : Principales cibles des traitements insecticides et acaricides.	56
Figure II-32 : D'après Thierry et al. (2011); résultats de la campagne d'échantillonnage des populations d'aleurodes (avril 2006).	58
Figure II-33 : D'après Delatte et al. (2007a) ; l'analyse de la structure génétique des populations de La Réunion révèle l'existence d'hybrides interspécifiques (notés « B'' ») entre MEAM1 (noté « B' ») et IO (noté « Ms »).	59
Figure IV-1 : Global repartition of <i>B. tabaci</i> collection sites in and around market gardening areas of La Réunion.	69
Figure IV-2 : DAPC based on n= 1562 individuals using 11 microsatellite loci.	74
Figure IV-3 : The MED-Q species was the only species for which a substructure (K=3) was observed with the Bayesian analysis.	79

Figure IV-4: Individuals ordered by their probability of assignment to the MEAM1 and the IO genetic clusters (in green or blue, respectively).	79
Figure IV-5: Backcross direction (as indicated by the probability of assignment to MEAM1) of the 29 identified hybrids, in relationship to sampled environment.	80
Figure IV-6: Resistance genotypes of <i>B. tabaci</i> species collected in La Réunion, at a point mutation in the IIS4-5 linker of <i>para</i> -type voltage gated sodium channel gene: L925I.	81
Figure V-1: Global repartition of sampled <i>B. tabaci</i> field populations in and around market gardening areas of La Réunion.	97
Figure V-2: Relationship between resistance levels to acetamiprid (LC ₅₀) and measurements of six fitness-related traits of seven MEAM1 field-collected populations, plus the reference laboratory population: (a) fecundity, (b) female adult life expectancy, (c) hatching rate, (d) egg-to-adult survival, (e) lifetime reproductive success and (f) body size.	107
Figure VI-1: Courbes dose-réponse de la population P64 testée au Plenum avant génotypage (courbe bleue) et après séparation des individus IO (courbe verte) et MEAM1 (courbe rouge).	116
Figure VI-2 : Exemple de résultats expérimentaux obtenus à la suite de tests de résistance de type dose-discriminante sur des populations d'aleurodes MEAM1.	117
Figure VI-3 : Courbes dose-réponse obtenues suite au traitement des populations MEAM1 P17 (en bleu) et P33 (en rouge) au Decis Protech® (molécule active : deltaméthrine), et comparées à la courbe obtenue pour la population MEAM1 de référence (en noir).	118

Listes des tables

Table IV-1: <i>B. tabaci</i> sampling in La Réunion: location of collection site, date of collection, environment, host plant and number of species and hybrids found.	75
Table IV-2: Population genetic diversity indices.	77
Table IV-3: Resistance genotype frequency of the sodium channel gene for MEAM1, IO, MEAM1-IO hybrids and MED-Q DNA samples collected in La Réunion.	82
Table IV-S1. Loci used for nuclear and mitochondrial DNA analysis.....	89
Table IV-S2: F_{ST} matrix for MEAM1 populations.....	90
Table IV-S3: F_{ST} matrix for IO populations.....	90
Table V-1: Non-linear regression analysis of mortality data for populations of <i>B. tabaci</i> from La Réunion tested with two insecticides in leaf-dip bioassays.	103
Table V-2: Pairwise comparisons of LC_{50} to acetamiprid between groups of MEAM1 populations collected in the same environment (greenhouse, open field, field surroundings and non-cultivated site).....	106
Table V-S1. <i>B. tabaci</i> field populations sampling in La Réunion: species, collection date, location, environment, host plant, survey of farmers' usage of insecticides and experiments conducted on the population.....	112
Table V-S2. Effect of population on fitness-related traits.	113

I. Introduction générale

La sécurité alimentaire reste un enjeu majeur du XXI^{ème} siècle : entre l'accroissement de la population mondiale et le changement climatique, les défis sont nombreux pour produire une nourriture de qualité en quantité suffisante. Parmi ces défis, le contrôle des ennemis des cultures occupe une place centrale. Ce contrôle est d'autant plus nécessaire que les échanges commerciaux à l'échelle globale, ainsi que les modifications du climat, accroissent les opportunités d'introduction d'[espèces](#) potentiellement envahissantes. Même si de nombreuses inquiétudes sont exprimées vis-à-vis des impacts liés à l'utilisation des pesticides, ils tiennent aujourd'hui encore une place essentielle dans la lutte contre les ennemis des cultures. Après la Seconde Guerre mondiale, leur usage est devenu massif et répété, induisant l'évolution de [résistances](#) chez les populations traitées ([Bass et al. 2015](#)). Les processus évolutifs des organismes sont intimement liés à toutes ces problématiques, qu'ils soient intrinsèques aux espèces (capacité reproductive, distance de dispersion...) ou liés à l'environnement. La résistance aux pesticides chez les populations de [ravageurs](#) des cultures est en effet l'un des exemples les plus frappants d'évolution rapide ([Hawkins et al. 2019](#)).

Les insecticides ont donc joué le rôle d'un puissant moteur de l'évolution sur ces populations de ravageurs. Ainsi, sous cette pression de sélection, l'évolution des organismes a été tributaire de l'apparition de mutations (ou de la présence préalable des [allèles](#) de résistance), de leur coût (contre-sélection), de leur diffusion dans les populations (ou espèces) par migration (flux de gènes, structure génétique) et/ou par [hybridation](#), conduisant à leur [introgression](#) ([Song et al. 2011](#), [Hawkins et al. 2019](#)). La compréhension de l'ensemble de ce phénomène suppose de pouvoir décrire les différentes étapes mises en jeu, et de tenir compte des différents facteurs qui influent sur les capacités évolutives des espèces concernées.

Afin de mieux comprendre certains de ces processus, nous avons étudié l'évolution de la résistance aux insecticides utilisés pour lutter contre trois espèces du complexe d'espèces de ravageurs *Bemisia tabaci*, dans le contexte insulaire tropical de La Réunion. Ces espèces d'aleurodes sont non seulement capables de générer des dégâts directs, liés à la spoliation de sève phloémienne, mais aussi de transmettre de nombreux phytovirus (notamment aux Solanacées), qui provoquent des pertes de rendement très importantes ([Perring 2001](#)). Le complexe d'espèces *B. tabaci* comprend plus de 40 [espèces cryptiques](#), souvent liées à des zones géographiques (par exemple, l'espèce « New World » trouvée en Amérique, ou encore les espèces subsahariennes « SSA » d'Afrique), et présentes sur l'ensemble du globe ([De Barro et al. 2011](#), [Kanakala and Ghanim 2019](#)). Toutefois, deux d'entre elles (MEAM1 et MED-Q)

sont connues pour leur capacité invasive spectaculaire, qui leur a permis de coloniser tous les continents en seulement quelques années. Une première vague d'invasion qui s'est répandue dans le monde au départ du Moyen-Orient/Asie mineure, a été décrite pour l'espèce MEAM1 dans les années 80, suivie dans les années 2000 par une seconde vague d'invasion de l'espèce MED-Q ([De Barro et al. 2011](#)). Ces deux espèces d'aleurodes MEAM1 et MED-Q ont d'ailleurs été introduites sur l'île de La Réunion vers la fin des années 90 et en 2010, respectivement. Une espèce d'aleurode indigène (IO) résidait déjà sur l'île, sans provoquer de dégâts notables dans les agrosystèmes ([Delatte et al. 2005](#), [Thierry et al. 2015](#)). Quelques années après l'arrivée de l'espèce MEAM1, un processus d'hybridation interspécifique avec l'espèce résidente a été observé, mais à faible échelle ([Delatte et al. 2006](#), [Thierry et al. 2011](#)). L'espèce MEAM1 a aussi beaucoup impacté le paysage agricole de l'île, car en plus des dégâts directs liés à ses pullulations, elle est arrivée avec l'un des phytovirus les plus virulents sur Solanacées, le *Tomato yellow leaf curl virus* ([Delatte et al. 2005](#), [Delatte et al. 2007b](#), [Delatte et al. 2007a](#), [Lefeuvre et al. 2010](#)). Depuis cette première invasion, l'un des principaux moyens de préserver la culture de tomate sur l'île a été l'application de produits insecticides tout au long de l'année. Une large gamme de molécules insecticides est (ou a été) utilisée contre ce ravageur, faisant appel à tous les modes d'actions connus ciblant : le système nerveux et les muscles, la croissance et le développement, la respiration, les voies digestives, ou encore agissant de manière non spécifique ou encore inconnue ([Horowitz et al. 2020](#)). Toutefois, les molécules insecticides neuroactives sont de loin celles qui ont été les plus utilisées. Notamment, parmi ces insecticides, de forts niveaux de résistance chez les Hémiptères (dont *B. tabaci*) ont été décrits pour les pyréthrinoïdes ([Alon et al. 2006](#), [Casida and Durkin 2013](#)). Cette résistance est liée à l'apparition de mutations dans la région du canal sodique et appelée « knockdown resistance » ou *kdr* ([Milani 1954](#), [Milani and Travaglini 1957](#), [Casida and Durkin 2013](#)).

C'est dans ce contexte de forte pression insecticide, et d'invasion biologique en milieu insulaire, que j'ai étudié la répartition des espèces d'aleurodes du complexe *B. tabaci* dans les agrosystèmes de La Réunion, en lien avec la résistance des populations de ces espèces. Dans une première partie de synthèse bibliographique, j'ai cherché à présenter brièvement les concepts de biologie évolutive utiles à la compréhension du contexte de mon étude. Afin d'aborder la question de l'évolution de la résistance ; la partie qui suit traite des différents modes d'action des molécules insecticides, et des mécanismes de résistance associés. Ensuite, je présente mon modèle d'étude *Bemisia tabaci*, et procède à un état de l'art des résistances connues à ce jour chez ce complexe d'espèces. Pour finir, je décris et analyse le contexte agronomique réunionnais, au sein duquel s'inscrivent mes objectifs de thèse.

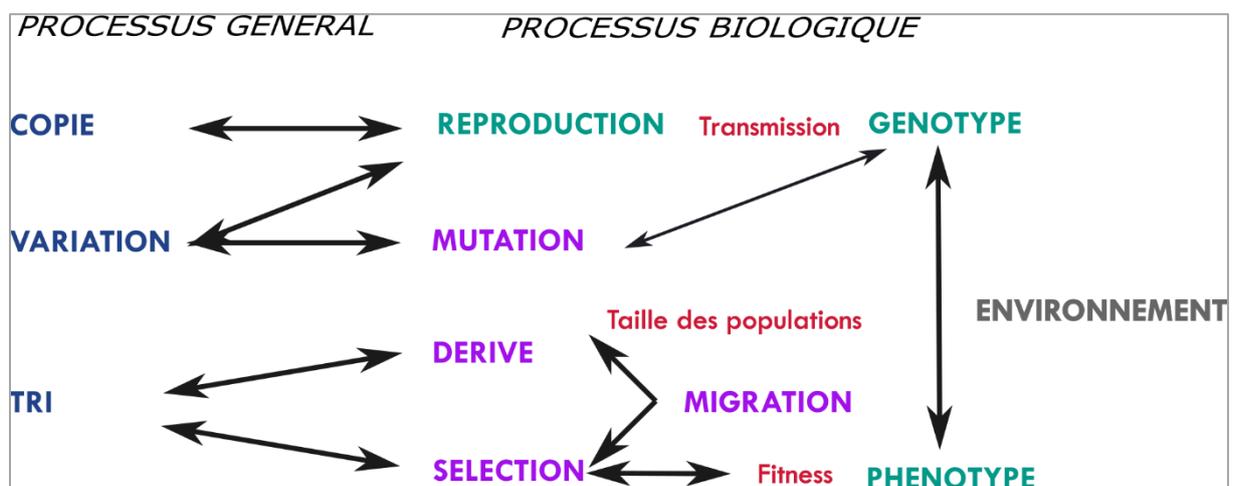


Figure II-1 : Représentation schématique des processus sur lesquels repose la théorie de l'évolution. Les forces évolutives apparaissent en violet.

II. Synthèse bibliographique

II.1. Éléments de biologie évolutive

Le sujet de cette thèse se situe à l'interface entre des thématiques de recherche fondamentales de la biologie évolutive, et d'autres thématiques beaucoup plus appliquées que sont la résistance aux insecticides et les invasions biologiques. Il paraît dès lors assez logique de débiter cette introduction par une brève présentation des concepts de biologie évolutive utiles à la compréhension de ce travail. Nous commencerons par des éléments très généraux, pour ensuite s'intéresser à trois thématiques évolutives qui sont importantes pour cette thèse : l'évolution en contexte insulaire, les invasions biologiques et l'hybridation interspécifique. Les informations présentées dans ce chapitre reposent en grande partie sur des ouvrages relativement génériques. Plutôt que de les citer continuellement, ils seront indiqués ici : [David and Samadi \(2011\)](#), [Lefevre et al. \(2016\)](#).

II.1.1. Les forces évolutives

La théorie de l'évolution repose sur trois processus simples : la copie, la variation et le tri. Cette approche est celle de la métaphore de la bibliothèque de Babel proposée par Patrice David et Sarah Samadi (inspirés par le livre de Richard Dawkins, *L'horloger aveugle*, publié en 1989). Dans cette métaphore, les êtres vivants sont représentés par des livres recopiés, avec des erreurs qui produisent des variations, ces variations étant alors triées ([Figure II-1](#)). Ces processus s'appliquent aux êtres vivants. Le processus de copie est alors la reproduction lors de laquelle l'information génétique (sous forme d'ADN) est dupliquée. Lors de la duplication, des erreurs de copie peuvent se produire, générant alors des mutations et autres [polymorphismes](#) génétiques.

Cette variation est le matériel de l'évolution. Elle définit un ensemble de [génotypes](#). Ceux-ci vont subir un tri, soit aléatoire soit sélectif, que sont la dérive et la sélection naturelle. La dérive est simplement le reflet du hasard, d'un échantillonnage aléatoire dans l'ensemble des variants. Statistiquement, l'effet d'échantillonnage est plus grand quand la taille de l'échantillon diminue. Ainsi, dans des petites populations d'individus, la dérive est plus forte, plus rapide. La sélection naturelle correspond au tri des individus selon l'adéquation de leur [phénotype](#) avec un environnement donné. Cette adéquation détermine leur capacité à survivre et à se reproduire : elle correspond à la *fitness*, ou [valeur sélective](#). Mutation, dérive et sélection sont appelées « forces évolutives » : elles ont la capacité de modifier les fréquences des

génotypes dans une population. La quatrième force évolutive est la migration, qui modifie également les fréquences des génotypes par le déplacement des variants d'une population à l'autre.

L'évolution de la résistance aux insecticides se situe pleinement dans ce cadre-ci. Très brièvement, ce processus dépend de l'apparition d'une mutation, permettant une meilleure survie face à une pression de sélection liée au traitement par insecticide. Cette mutation va ainsi devenir rapidement fixée dans la population traitée. Elle peut ensuite se diffuser à d'autres populations, par migration des individus portant la mutation. Ce travail de thèse fait donc particulièrement appel aux processus de mutation, de sélection et de migration, détaillés ci-dessous.

II.1.1.1. Les mutations

Le premier type de variation de la séquence d'ADN est la mutation ponctuelle. Il s'agit d'un changement d'un nucléotide en un autre. Ces changements interviennent soit dans des conditions physico-chimiques particulières (par exemple sous UV), ou pendant la réplication de l'ADN à la suite d'erreurs réalisées par la [polymérase](#). Le taux de mutation est variable selon les espèces, mais aussi le long du génome. Les mutations ponctuelles peuvent être synonymes, si elles ne modifient pas la séquence codante, ou non synonymes dans le cas contraire. Cependant, même des mutations synonymes peuvent avoir un impact en raison du biais d'usage du code génétique : les ARN de transfert correspondant à certains [codons](#) sont plus rares, et ceci peut ralentir la synthèse des protéines. D'autres variations non ponctuelles existent, telles que les délétions, les insertions, les modifications de la taille de séquences répétées (par glissement de la polymérase), la duplication de gènes, les transpositions de séquences...

II.1.1.2. La sélection naturelle

La sélection repose sur la survie des individus les plus aptes (présentant la meilleure *fitness*) dans un environnement donné. Ces individus pourront alors produire (plus de) des descendants. Si le caractère qui améliore la survie est héréditaire, il sera transmis à la descendance. Ainsi, de génération en génération, les individus deviennent de plus en plus [adaptés](#) à leur environnement.

Comme indiqué précédemment, la *fitness* dépend principalement de la survie et de la reproduction d'un individu. Les traits intimement liés à la *fitness* sont appelés [traits d'histoire de vie](#). Ce sont, par exemple : le temps de développement, l'âge à la première reproduction, ou

encore le nombre et la taille des œufs. Idéalement, on peut supposer que l'évolution conduit à l'optimisation des traits d'histoire de vie : avoir une survie maximale et produire beaucoup de descendants. Cet organisme idéal hypothétique est nommé le démon darwinien. Cependant, les ressources accessibles étant limitées, il est impossible de maximiser simultanément tous les traits d'histoire de vie. En conséquence, il existe des compromis énergétiques entre ces traits, on parle alors de compromis évolutifs ou trade-offs. Par exemple, [Jonsson and Jonsson \(1999\)](#) ont montré qu'il existait une corrélation négative entre la taille des œufs et le nombre d'œufs produits (fécondité) chez la truite commune (*Salmo trutta*) pour des populations anadromes, d'eau douce ou d'élevage ([Figure II-2](#)).

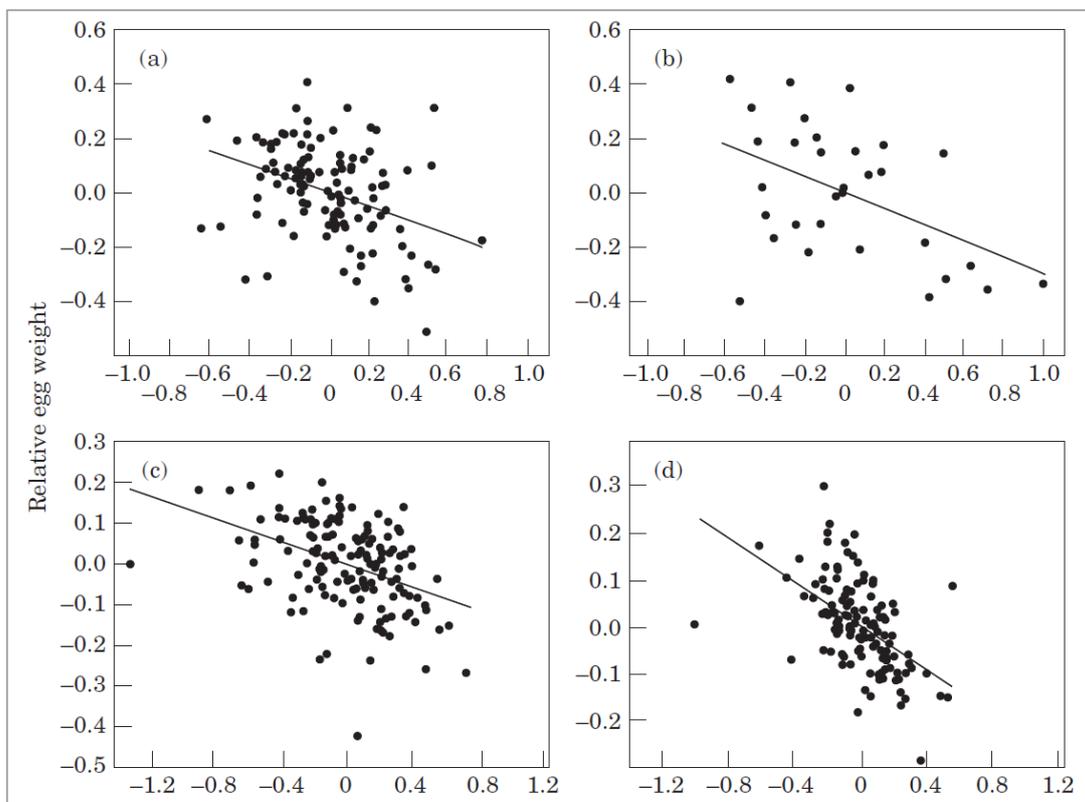


Figure II-2 : D'après [Jonsson and Jonsson \(1999\)](#) ; différentes régressions permettant de rendre compte de l'existence d'un compromis entre la taille des œufs et la fécondité, chez la truite commune (*Salmo trutta*), pour des populations anadromes, d'eau douce ou d'élevage, frayant pour la première fois ou non.

Pour conclure, parlons brièvement de l'expression « sélection naturelle ». Elle permet de faire la distinction avec la sélection « artificielle » : celle opérée par l'homme. La sélection artificielle est réalisée dans un but précis : obtenir des variétés agricoles plus productives, sélectionner des races d'animaux avec des caractères extrêmes (chez les chiens, les poules...), ou encore mener des expériences de laboratoire pour étudier les processus évolutifs (on parle

alors plutôt de sélection expérimentale). La sélection naturelle peut cependant être d'origine totalement anthropique : pollution, traitements chimiques, destruction d'habitats, etc. Ainsi, l'évolution de la résistance aux insecticides est une évolution naturelle, c'est à dire non contrôlée, induite par des activités anthropiques.

II.1.1.3. La migration

Tout comme la mutation, la migration apporte de nouveaux variants au sein d'une population. Deux grandes méthodes permettent d'évaluer le taux de migration : la démographie des populations (avec par exemple les techniques de capture, marquage, recapture...impossibles à mettre en place sur des espèces de très petite taille), et la génétique des populations (méthode indirecte).

La génétique des populations permet d'étudier et de prédire l'évolution des fréquences alléliques. L'hypothèse nulle en génétique des populations s'appelle l'équilibre de Hardy-Weinberg, et repose sur plusieurs hypothèses fortes : l'absence de sélection, [la panmixie](#) (reproduction au hasard), un effectif très grand et l'absence de migration. Dans ces conditions, les fréquences génotypiques sont de la forme p^2 , q^2 , $2pq$ (p et q étant les fréquences des deux allèles d'un [locus](#) biallélique). On teste donc l'adéquation des données obtenues contre cette hypothèse nulle. Le rejet de cette hypothèse indique que les forces évolutives sont en action, ou que le régime de reproduction n'est pas panmictique.

Pour simplifier (un peu) le système, on utilise très souvent des marqueurs génétiques non soumis à la sélection (aussi appelés marqueurs neutres) comme les motifs microsatellites, des motifs di, tri ou tetra nucléotidiques répétés. Le polymorphisme de ces marqueurs codominants consiste en la variation du nombre de motifs compris dans la séquence considérée. Ces marqueurs sont généralement très polymorphes, abondants dans les génomes et faciles à scorer. Ce sont les marqueurs qui ont été utilisés au cours de ma thèse ([Figure II-3](#)).

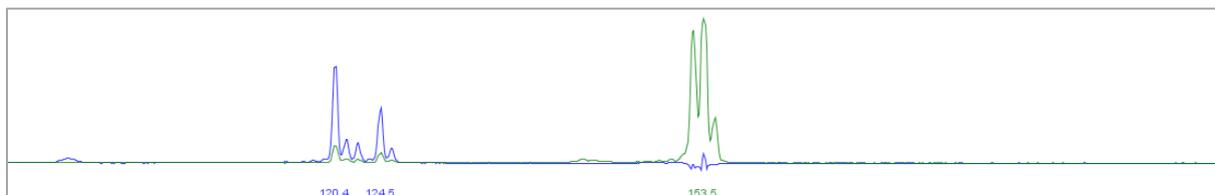


Figure II-3 : Visualisation de deux marqueurs microsatellites grâce au logiciel Geneious™.

II.1.2. Biologie insulaire

Les milieux insulaires sont considérés comme des laboratoires naturels permettant d'étudier/ de faciliter l'étude des processus évolutifs. La première caractéristique évidente des écosystèmes insulaires est leur isolement géographique. D'un point de vue évolutif, cela signifie que l'on se situe dans un système clos, et que les flux de gènes sont limités avec l'extérieur. Les études de génétique des populations en milieu insulaire s'en trouvent simplifiées. De plus, chaque événement de colonisation par une espèce représente un [goulot d'étranglement](#), soit un échantillon (biaisé) du pool génétique initial. Ainsi, les populations insulaires ont des tailles efficaces plus faibles que des populations continentales dont elles sont issues.

L'absence de flux de gènes, les goulots d'étranglement et la petite taille des populations augmentent les divergences évolutives potentielles avec d'autres populations (insulaires ou continentales), sous l'effet de la dérive. La sélection naturelle est cependant moins efficace sur des populations de petite taille et présentant peu de variabilité génétique. Par contre, des flux de gènes limités et des environnements contrastés entre îles (ou entre île et continent), renforcent les processus d'adaptation locale qui se caractérisent par des divergences phénotypiques entre populations. Ces divergences fortes liées à l'insularité peuvent ainsi aboutir à la spéciation. C'est le très fameux exemple des pinsons des Galápagos, rendu célèbre par Charles Darwin. Ces phénomènes sont à l'origine d'un nombre élevé [d'espèces endémiques](#) dans les îles ([Kier et al. 2009](#)). Ils expliquent aussi la forte vulnérabilité des écosystèmes insulaires à toute perturbation ([Berglund et al. 2009](#)). De cette façon, les îles sont bien plus sensibles que les régions continentales aux impacts des invasions biologiques.

II.1.3. Les invasions biologiques

On parle d'invasion biologique lorsqu'une espèce arrive en dehors de son aire de répartition d'origine, qu'elle s'y établit et qu'elle y prolifère. Une espèce introduite hors de son aire d'origine mais qui ne s'y établit pas n'est pas invasive, elle est simplement exotique. On notera qu'une espèce native de la zone géographique considérée, et s'y multipliant fortement, peut être considérée comme envahissante mais n'est pas invasive.

L'introduction d'espèces en dehors de leurs aires d'origine résulte évidemment d'une migration des espèces, associée ou non à l'action de l'Homme. L'effet anthropique peut être intentionnel, comme dans l'introduction d'espèces de cultures, d'élevage ou pour la lutte biologique. Il peut être aussi involontaire et augmente continuellement avec l'accroissement

des échanges commerciaux globaux et de la mobilité humaine. Ainsi, les invasions biologiques se sont multipliées au XX^{ème} siècle. Elles sont devenues des problèmes écologiques extrêmement coûteux au niveau mondial, car elles perturbent l'agriculture, altèrent radicalement les écosystèmes et favorisent l'émergence de maladies.

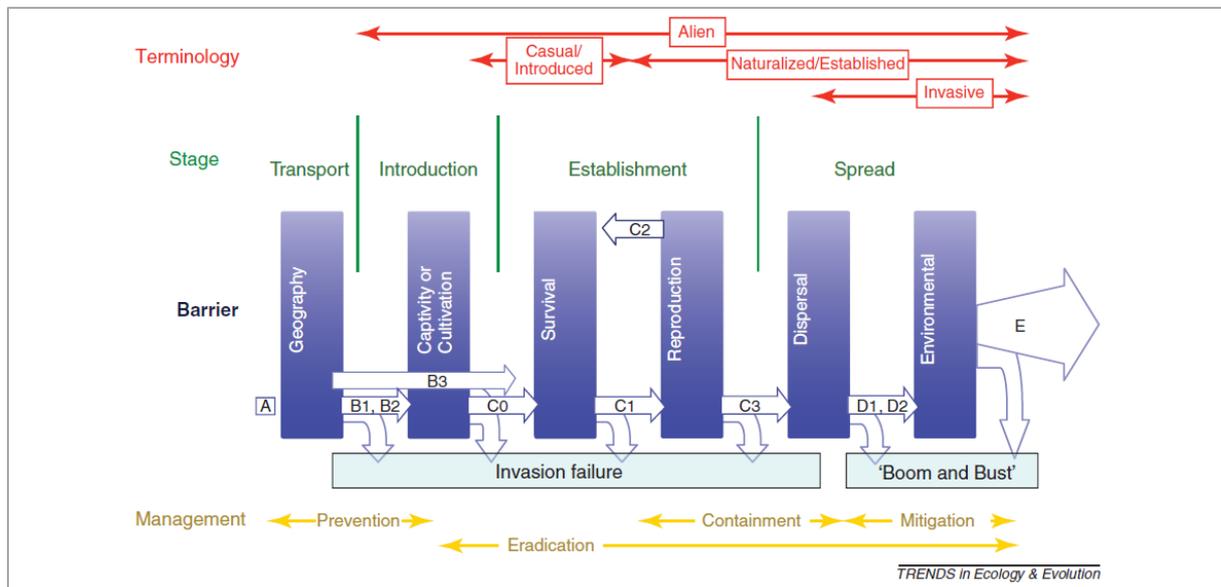


Figure II-4 : D'après [Blackburn et al. \(2011\)](#) ; le processus d'invasion peut être divisé en une série d'étapes (en vert), et à chaque étape il y a des barrières à surmonter (blocs bleus) pour qu'une espèce ou une population puisse passer à l'étape suivante. Les espèces sont désignées différemment dans la terminologie (en rouge), selon le stade du processus d'invasion auquel elles sont parvenues. Différentes interventions de gestion (en jaune) s'appliquent aux différents stades. Les flèches blanches décrivent le mouvement des espèces le long du cadre d'invasion par rapport aux barrières, et les codes alphanumériques associés aux flèches concernent la catégorisation des espèces.

Une invasion réussie (pour l'espèce invasive) suppose l'adéquation entre une espèce (invasive) et un écosystème (envahi) ([Williamson 1999](#), [Facon et al. 2006](#), [Blackburn et al. 2011](#)). Elle compte plusieurs étapes ([Figure II-4](#)), dont la première est l'établissement de l'espèce invasive : elle dépend en premier lieu de la capacité de dispersion (intrinsèque ou extrinsèque) à longue distance de cette espèce. Ainsi pour un insecte, ses capacités de vol peuvent entrer en compte, mais sa capacité d'auto-stop par d'autres voies (vent, courant, autres animaux dont l'homme, plantes) est primordiale.

Dans un second temps, l'espèce nouvellement arrivée doit s'installer, trouver sa niche. Cette étape est facilitée par la présence de niches vacantes ou l'absence de groupes fonctionnels proches, ce qui peut être le cas dans les îles, dans des milieux néoformés ou dans des milieux perturbés. Elle suppose en quelque sorte une préadaptation de l'espèce invasive à l'environnement rencontré. L'absence de niche vacante provoquera alors de la [compétition](#) avec

les espèces autochtones. L'issue de cette compétition peut être le déplacement ou la disparition d'espèces résidentes. Ce cas illustre alors de meilleures performances de l'espèce invasive comparée aux espèces locales dans une niche donnée. Une hypothèse explicative est celle appelée *Enemy release* : l'absence de coévolution de l'espèce invasive avec des ennemis naturels est bénéfique. C'est sur cette hypothèse que se fonde une partie des méthodes de lutte biologique.

Les modifications environnementales (dont les changements globaux) peuvent favoriser les invasions biologiques. A l'inverse, la supposée faible variance génétique des espèces introduites (effet d'échantillonnage, goulot d'étranglement) freine les possibilités d'adaptation au nouvel environnement. Cependant, les introductions multiples sont fréquentes et les goulots d'étranglement peuvent permettre une purge d'allèles délétères et donc une plus faible dépression de consanguinité ([Facon et al. 2006](#)). Enfin, les invasions biologiques peuvent permettre la mise en contact d'espèces phylogénétiquement proches, auparavant isolées. Ceci peut alors créer des zones d'hybridation entre espèces.

II.1.4. Hybridation interspécifique et introgression

L'hybridation interspécifique se définit simplement comme le croisement de deux individus de deux espèces différentes. Mais cette définition déplace le problème à la capacité de définir une espèce ; question épineuse et pourtant notion centrale en biologie évolutive. Ensemble d'individus interfertiles ou lignée de métapopulations évoluant séparément, l'idée principale est celle de la capacité à se reproduire avec les individus de la même espèce, et une limitation de la reproduction en dehors de l'espèce. L'hybridation est de ce fait un phénomène intéressant qui offre un regard privilégié sur les processus de spéciation en cours, et qui bouscule les limites taxonomiques posées.

Dans le contexte des invasions biologiques, de nombreux cas d'hybridation entre espèces invasive et native ont été répertoriés, et même parfois des hybridations entre deux espèces invasives ([Facon et al. 2005](#)). Ce type de contact secondaire entre espèces ou populations peut générer de nouvelles solutions évolutives par la mise en commun de fonds génétiques différenciés. Les hybrides peuvent alors présenter des phénotypes transgressifs, plus extrêmes que les phénotypes des espèces mises en contact, et avoir une meilleure valeur adaptative ([Rhymer and Simberloff 1996](#), [Ellstrand and Schierenbeck 2000](#), [Facon et al. 2006](#)).

L'observation d'une meilleure *fitness* chez les individus hybrides par rapport à leurs parents est un phénomène bien connu, aussi nommé hétérosis ou vigueur hybride. Cet effet est attendu quand l'hybridation permet d'éviter le fardeau de mutations délétères (qui ne sont alors plus à l'état homozygote), ou quand il y a overdominance entre les allèles hérités des espèces parentales. L'effet inverse peut aussi s'observer (et produira donc des hybrides moins aptes que leur parents) : il s'agit de la dépression hybride. L'hybridation peut également compenser la perte de diversité génétique issue des événements de goulots d'étranglement, typiques des invasions biologiques.

L'hybridation entre espèces native et introduite peut être vue comme une menace pour l'intégrité génétique de l'espèce native et sa survie, ou comme un potentiel d'innovation évolutive et de création d'une nouvelle espèce. Lorsqu'un hybride se reproduit avec un individu d'une des espèces parentales, on parle de rétrocroisement. Ce phénomène peut entraîner la présence d'allèles spécifiques d'une espèce dans un fond génétique de l'autre espèce. Ce principe est largement utilisé en agronomie, dans les schémas de sélection pour l'amélioration des variétés des plantes cultivées. On cherche à intégrer un allèle avantageux d'une espèce dans une autre espèce, par hybridation et rétrocroisement. Un exemple d'introgession récemment rendu célèbre est celui du génome de Néandertal (*Homo neanderthalensis*) dans la lignée humaine ([Figure II-5](#)). Cet exemple intéressant rappelle que les génomes des deux espèces partagent déjà des similarités, qui les rattachent à un ancêtre commun. Les segments introgressés deviennent de plus en plus petits au cours du temps (et donc des rétrocroisements), par recombinaison.

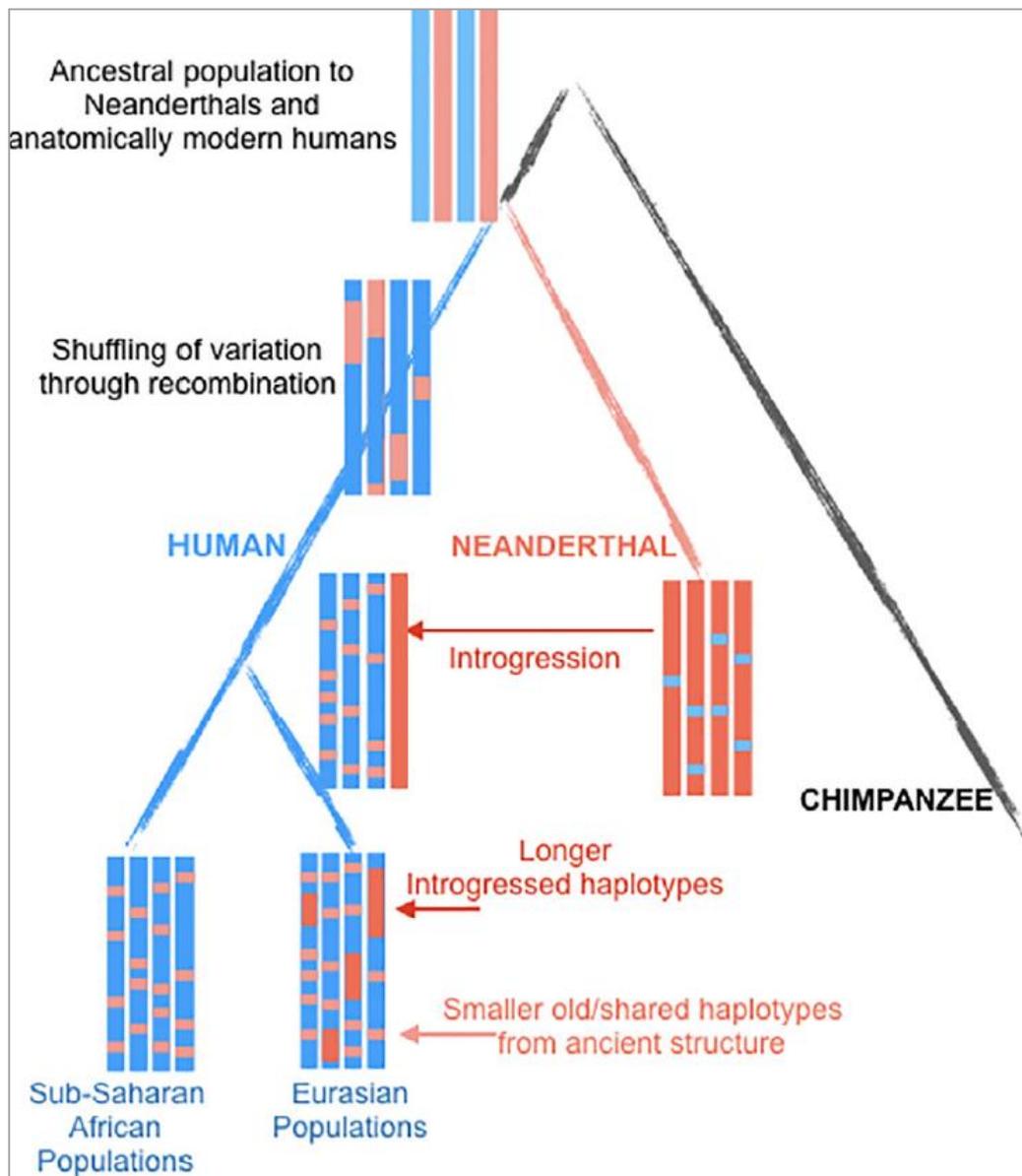


Figure II-5 : D'après [Gokcumen \(2020\)](#) ; un schéma simple de l'introgression de Néandertal. Les morceaux représentés en orange/rouge sur les chromosomes montrent les segments d'ADN qui sont partagés avec les chromosomes de Neandertal. Notez que les plus petits morceaux peuvent être attribués à la population ancestrale des humains et des Néandertaliens, tandis que la signature de l'introgression se trouve dans les haplotypes plus longs qui peuvent être attribués à l'événement d'introgression le plus récent.

II.2. Modes d'action des insecticides et mécanismes de résistance

II.2.1. Modes d'action des insecticides

L'activité insecticide d'un produit de synthèse a été découverte pour la première fois en 1939 par le chimiste Suisse Paul Müller. Il s'agissait du Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT). Celui-ci affecte le système nerveux périphérique des insectes, en se fixant sur les canaux sodiques des neurones. C'est en décembre 1943 qu'est reportée la première utilisation à large échelle de cet insecticide, à des fins de santé publique : le contrôle des poux du corps, responsables de la transmission du typhus à Naples ([Davies et al. 2007](#)). Par la suite le DDT a très largement été utilisé dans la lutte vectorielle contre le paludisme dans les années 1950. Grâce à cette molécule, des succès majeurs ont été obtenus, comme celui de l'éradication en 1975 du paludisme endémique en Europe ([Davies et al. 1996](#)). Que cela soit pour des raisons liées à la santé publique, ou par rapport aux contrôles des populations de ravageurs des cultures, l'utilisation d'insecticides de synthèse s'est généralisée après la Seconde Guerre mondiale.

La toxicité et la spécificité des insecticides sont une conséquence de leur [mode d'action](#) biochimique au niveau cellulaire ou physiologique. Alors que la toxicité est déterminée par la dose interne nécessaire pour provoquer la mort d'un organisme, la spécificité quant à elle dépend des mécanismes biochimiques ou physiologiques ciblés par l'insecticide. Ces mécanismes peuvent soit varier considérablement d'un taxon à l'autre, soit être similaires chez tous les animaux. La classification mise en place par l'*Insecticide Resistance Action Committee* (IRAC) fait aujourd'hui référence ([Figure II-6](#)). Elle comprend jusqu'à présent 31 modes d'action, classés selon les 5 grands types de cibles physiologiques : les molécules insecticides ciblant le système nerveux et les muscles (encarts bleus), celles ciblant la croissance et le développement (encarts verts), celles visant la respiration (encarts roses) ou encore les voies digestives (encarts orange), et enfin les molécules insecticides dont le mode d'action est non spécifique ou encore inconnu à ce jour (encarts gris). Nous nous limiterons ici à la description des modes d'action qui concernent les deux premiers types de cibles physiologiques (système nerveux et muscles, puis croissance et développement), puisqu'ils concernent les principales substances actives qui ont été, ou sont utilisées, pour lutter contre *B. tabaci*.

Parmi les insecticides ciblant le système nerveux central des insectes, 12 modes d'action ont été définis. Nous ne les détaillerons pas tous ici, mais seulement les modes d'actions 1, 3, 4 et 9.

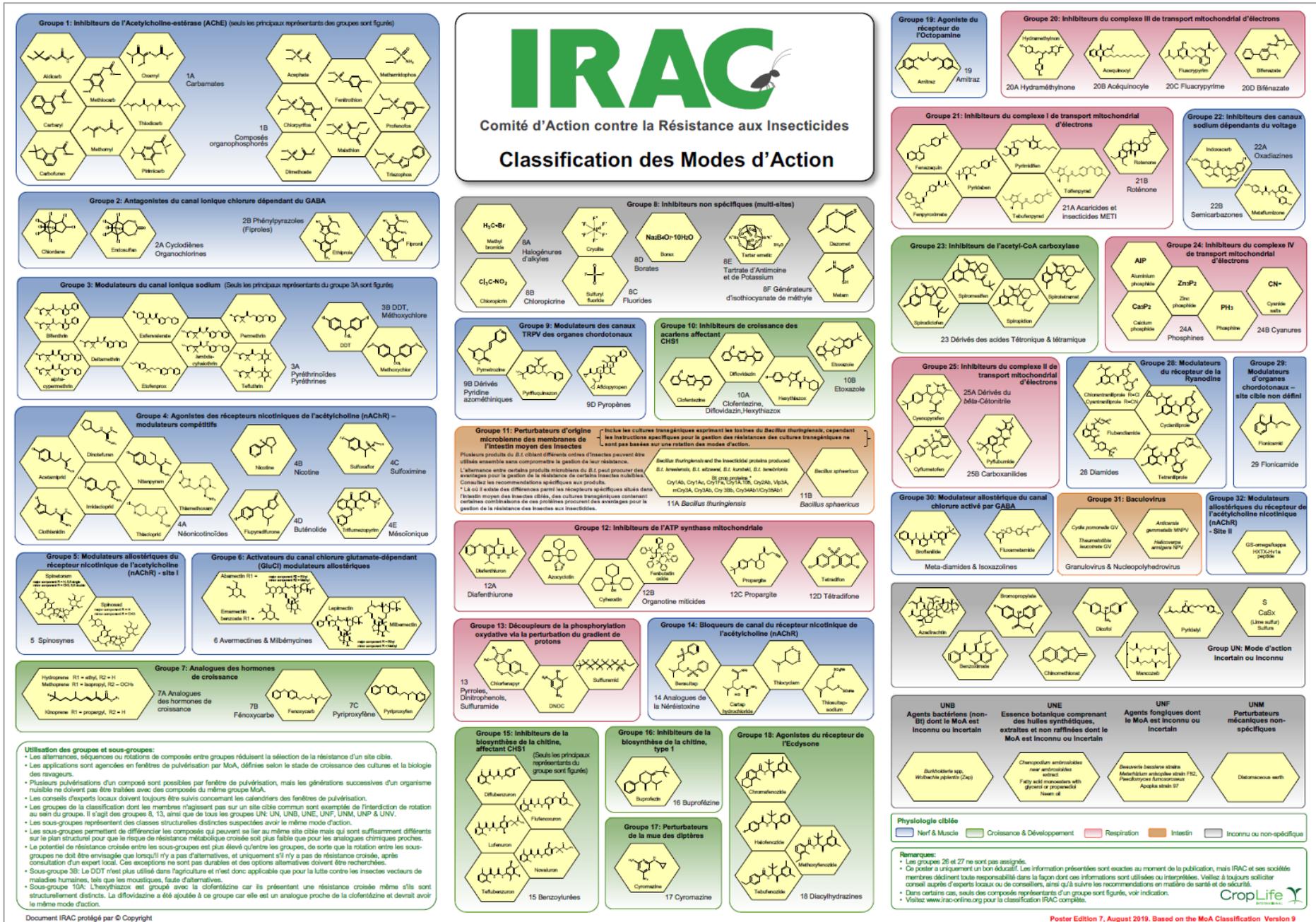


Figure II-6 : Classification établie par l'IRAC des molécules insecticides selon leur mode d'action (<https://irac-online.org/>).

Les substances actives du groupe 1 sont des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE), comprenant les carbamates et organophosphorés (Figure II-7). Ces derniers sont les premiers insecticides neuroactifs sortis après la découverte du DDT. A suivi le développement des pyréthrinoïdes (groupe 3), puis celui des néonicotinoïdes (groupe 4).

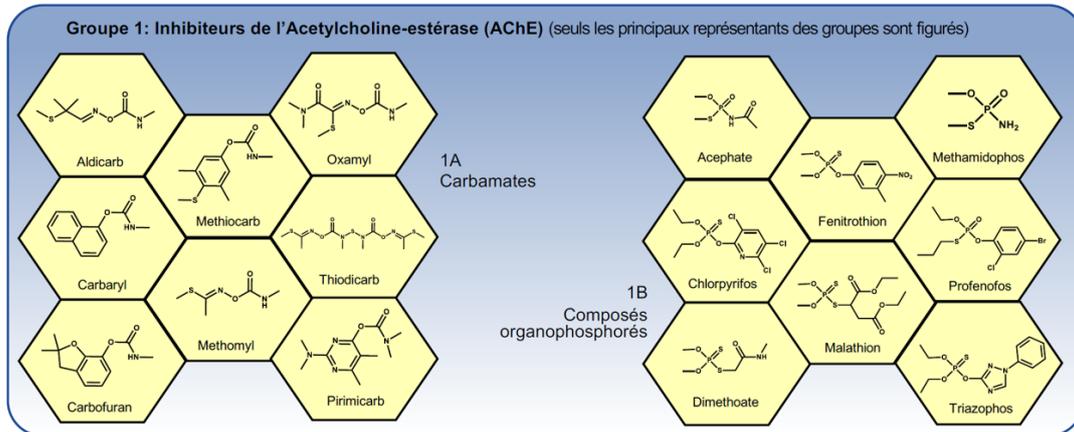


Figure II-7 : Le groupe 1 comprend les carbamates et les organophosphorés, des insecticides qui agissent comme des inhibiteurs de l'AChE.

La toxicité des carbamates et des organophosphorés est liée à l'inhibition de l'AChE, qui est responsable de l'hydrolyse de l'acétylcholine (ACh) dans les régions synaptiques des terminaisons nerveuses cholinergiques, chez les insectes et les mammifères (Figure II-8). Les inhibiteurs de l'AChE provoquent l'accumulation d'ACh, ce qui entraîne une stimulation excessive des récepteurs cholinergiques et provoque la mort de l'insecte (Casida and Durkin 2013).

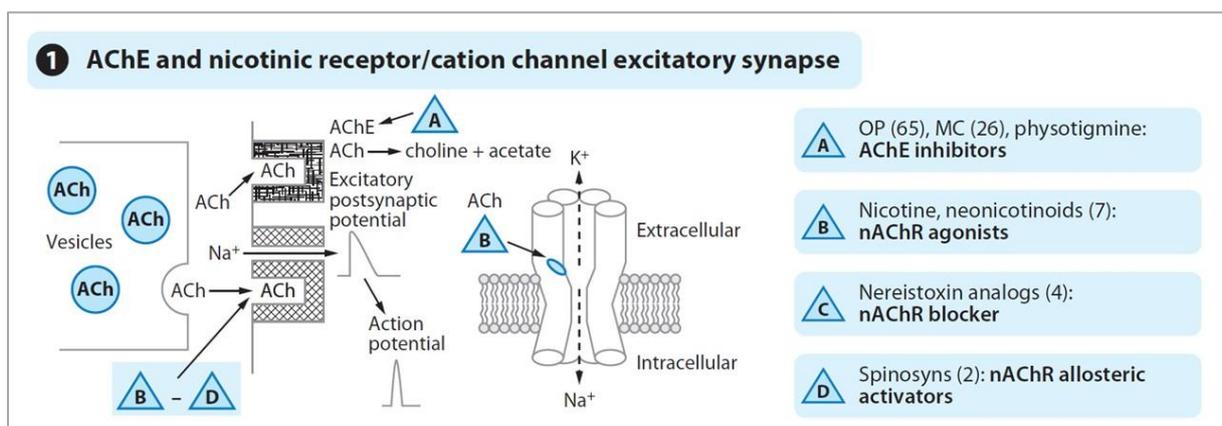


Figure II-8 : D'après Casida and Durkin (2013) ; représentation schématique du mode d'action de plusieurs insecticides, dont les inhibiteurs de l'AChE et les agonistes du récepteur nicotinique de l'ACh.

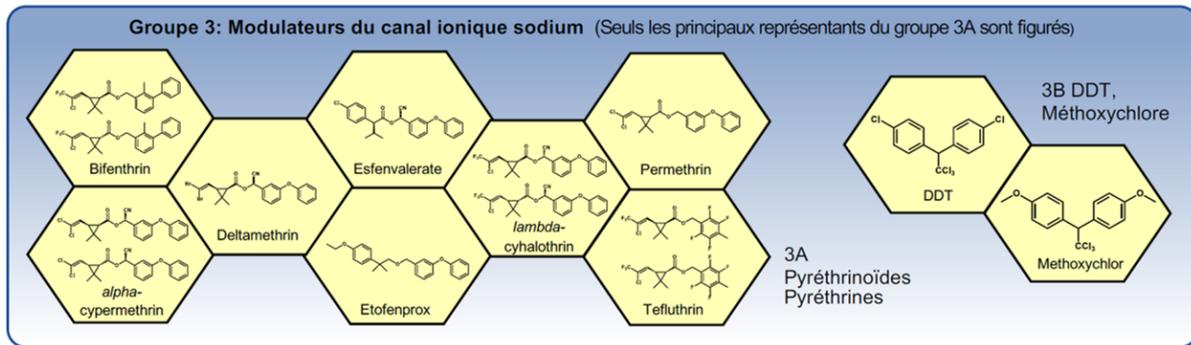


Figure II-9 : Les insecticides du groupe 3, groupe auquel appartient les pyréthriinoïdes, ont pour cible le canal sodique.

Le groupe 3 comprend des molécules insecticides ayant pour cible le canal sodique (Figure II-9). Parmi elles, les pyréthriinoïdes synthétiques agissent sur les protéines des canaux sodium dépendant du voltage, que l'on trouve dans les membranes des cellules nerveuses des insectes (Yamamoto 1970 ; Figure II-10). Le bon fonctionnement de ces canaux est essentiel à la transmission de l'influx nerveux, et ce processus est perturbé par la liaison des insecticides, ce qui entraîne une paralysie et, à terme, la mort de l'insecte. Certaines populations d'insectes nuisibles ont développé des modifications de la protéine du canal sodique, aux sites de liaison de la molécule insecticide (Figure II-11), qui empêchent la liaison de celle-ci et font que l'insecte développe une résistance (Davies et al. 2007).

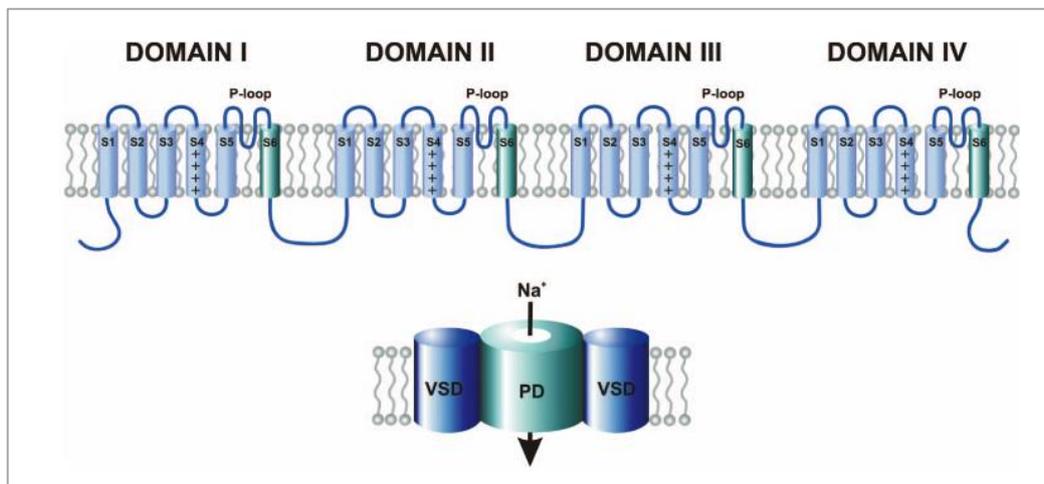


Figure II-10 : D'après Davies et al. (2007) ; topologie transmembranaire du canal sodique. La sous-unité formant les pores est constituée d'une chaîne polypeptidique unique avec quatre domaines homologues internes (I - IV), chacun ayant six hélices transmembranaires (S1 - S6). Les domaines s'assemblent pour former un pore aqueux central (PD), bordé par les hélices S5, S6 et les lieurs S5 - S6 (*P-loops*). Les hélices S1 - S4 sont responsables de la sensibilité au voltage du canal et s'assemblent pour former quatre domaines de détection de voltage (VSD) indépendants.

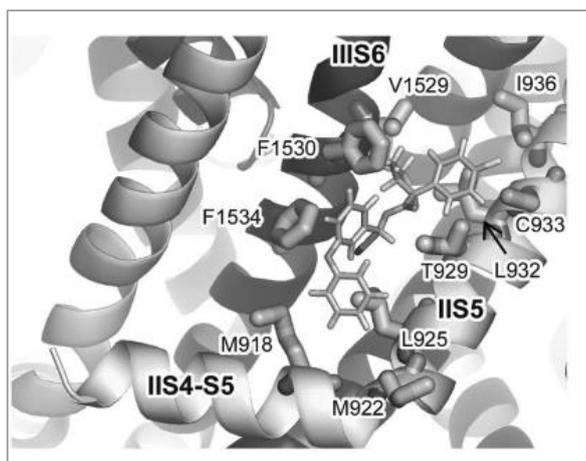


Figure II-11 : Modifiée d'après [O'Reilly et al. \(2006\)](#) ; modélisation du site de fixation supposé des pyréthrinoïdes sur le canal sodique.

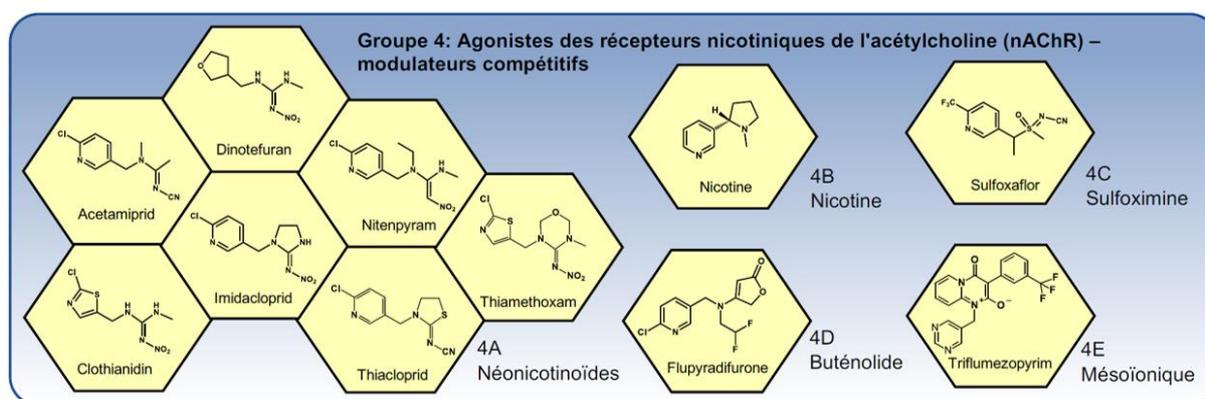


Figure II-12 : Le groupe 4 comprend plusieurs familles de molécules insecticides, dont les néonicotinoïdes, qui ont toutes pour cible le système nerveux.

Les néonicotinoïdes sont dérivés de la nicotine par association à différentes autres molécules. C'est par exemple l'association de la nithiazine, hautement insecticide (mais photolabile), avec un groupement nitrométhylène qui a conduit à des composés photostabilisés sélectifs pour les insectes : les néonicotinoïdes ([Figure II-12](#)). La première des molécules à être commercialisée fut l'imidaclopride en 1991 ([Simon-Delso et al. 2015](#)).

Les néonicotinoïdes sont des insecticides aux propriétés systémiques. Leurs caractéristiques physico-chimiques leur permettent l'entrée dans les tissus végétaux et leur translocation vers toutes les parties du végétal. Cette famille de molécules insecticides a été particulièrement plébiscitée, du fait de ses caractéristiques (toxicité faible pour les vertébrés, persistance, solubilité dans l'eau...) : c'est pourquoi il s'agit encore aujourd'hui d'un groupe majeur, parmi les plus utilisés dans le monde ([Simon-Delso et al. 2015](#)).

Les insecticides néonicotinoïdes agissent sur la transmission de l'influx nerveux : ce sont des agonistes du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) des insectes ([Nagata et al. 1998](#) ; [Figure II-13](#)). L'action s'effectue en deux temps : une accumulation d'ACh au niveau du site qui entraîne une stimulation excessive des récepteurs et bloque la propagation de l'influx nerveux ([Schroeder and Flattum 1984](#)). L'insecte exposé à un néonicotinoïde présente des contractions abdominales, des mouvements erratiques d'ailes ou des tremblements, suivis de la prostration et de la mort ([Sheets 2002](#)).

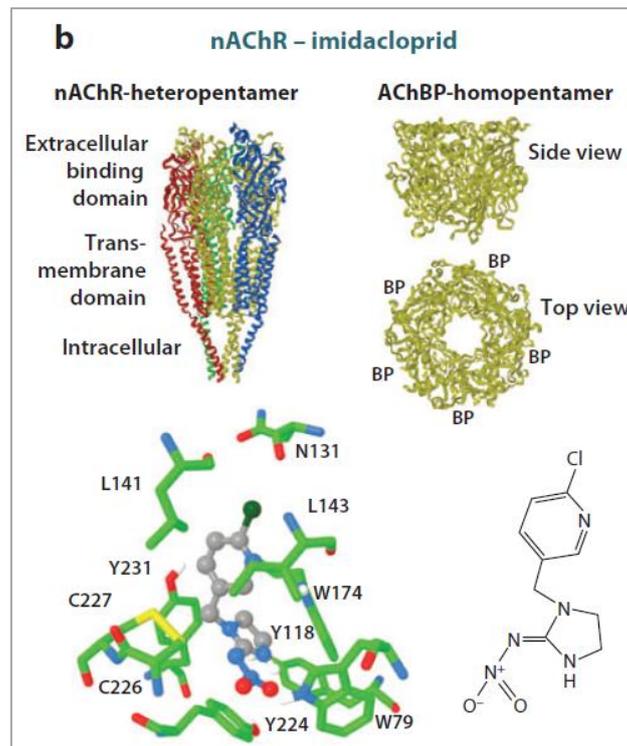


Figure II-13 : Modifiée d'après [Casida and Durkin \(2013\)](#) ; modèles structuraux de l'insecticide et de sa cible, dans le cas de l'imidaclopride et du nAChR, montrant les positions d'amarrage proposées et certains résidus de sites de liaison.

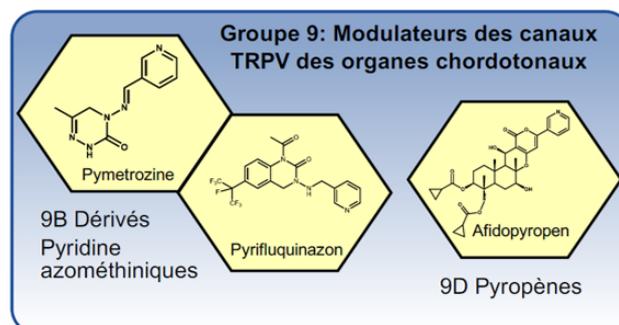


Figure II-14 : Le groupe 9 de la classification de l'IRAC comprend les modulateurs du canal TRPV et inclut les dérivés de la pyridine-azométhrine, dont la pymétozine.

Les insecticides du groupe 9, qui sont des modulateurs du canal TRPV ([Figure II-14](#)), ont une activité sélective contre les Hémiptères ([Fuog et al. 1998](#)). Ils agissent sur le comportement alimentaire, en inhibant l'insertion du stylet dans la plante. Des expériences menées sur l'action de cette molécule sur des pucerons montrent que la pymétozine n'a pas d'effet toxique général sur l'insecte, mais interfère avec la régulation nerveuse du comportement alimentaire, ce qui entraîne la mort par famine au bout de quelques jours ([Harrewijn and Kayser 1997](#)). Plus précisément, la pymétozine agirait sur le canal du récepteur potentiel vanilloïde transitoire (TRPV), qui se compose de deux protéines, Nanchung (Nan) et Inactive (Iav) et affecterait les [organes chordotonaux](#) des insectes ([Salgado 2017](#)). Ce mode d'action a été décrit chez plusieurs insectes, dont la cicadelle brune ([Wang et al. 2019](#)).

Les TRPV font partie des canaux ioniques, qui sont des protéines membranaires contenant un pore transmembranaire rempli d'eau, qui conduit de manière sélective des ions spécifiques à travers la membrane ; ainsi que des domaines extracellulaires et intracellulaires impliqués dans l'ouverture et la fermeture du canal. Les canaux ioniques sont présents dans toutes les cellules et régulent le volume cellulaire, établissant un potentiel membranaire de repos, le transport des fluides et la signalisation cellulaire ([Salgado 2017](#)).

Parmi les insecticides ciblant la croissance et le développement, sept modes d'action ont été définis. Comme stipulé ci-dessus, nous ne détaillerons pas tous les modes d'action de cette classe, mais uniquement le groupe des analogues des hormones de croissance (ou analogues des hormones juvéniles abrégées HJ), groupe qui comprend le pyriproxifène ([Slama 1971](#) ; [Figure II-15](#)).

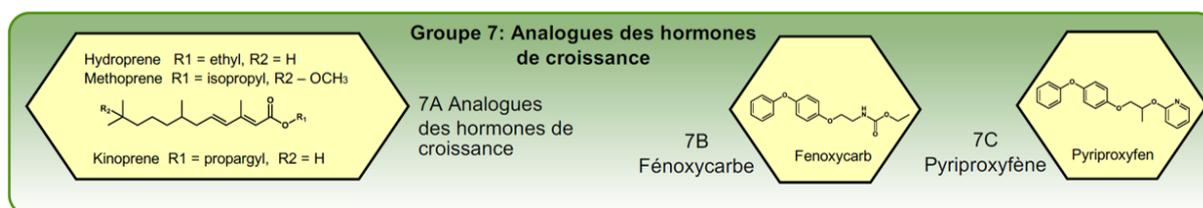


Figure II-15 : Le groupe 7 de la classification de l'IRAC est celui des analogues des hormones de croissance.

Les substances ayant ce mode d'action bloquent la métamorphose des larves en adultes reproducteurs. L'action des HJ au niveau moléculaire a longtemps été mal comprise et n'a commencé à être dévoilée que récemment, lors de l'évolution des premières résistances et de l'identification d'un gène associé (tolérant au méthoprène, *Methoprene-tolerant* : « Met »). Les

analogues des HJ seraient des agonistes d'un récepteur intracellulaire des HJ. Le mécanisme d'action serait lié à la formation d'un complexe entre l'HJ, la Met et la protéine Taiman ([Figure II-16](#)). Ce complexe induirait la transcription des gènes cibles. En outre, l'HJ pourrait potentialiser cette réponse via la membrane cellulaire, et induire un complexe qui inhibe la métamorphose de l'insecte. En effet, lorsque cette voie est activée par l'HJ au cours de la période post-embryonnaire de développement, lorsque les larves/nymphes n'ont pas encore la capacité de se métamorphoser, il y a maintien de l'état juvénile de l'insecte ([Jindra et al. 2013](#), [Jindra et al. 2015](#), [Jindra and Bittova 2020](#)).

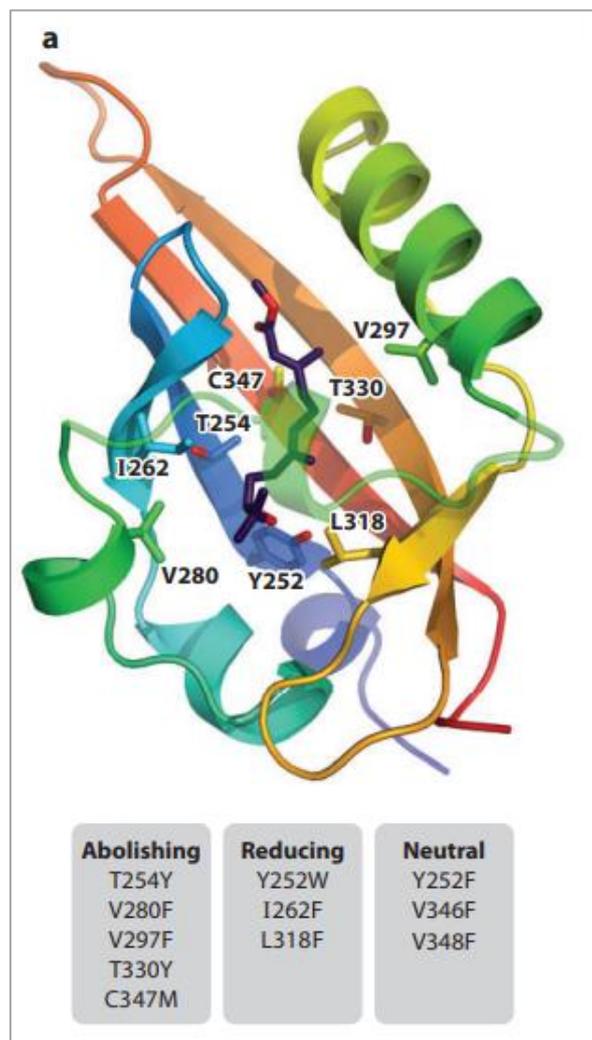


Figure II-16 : Modifiée d'après [Jindra et al. \(2013\)](#) ; un modèle de l'interaction entre le complexe Met et l'hormone juvénile. Huit mutations ont été représentées, certaines ayant le potentiel de réduire voire de supprimer la liaison entre le complexe Met et l'HJ (se référer au tableau à trois colonnes).

II.2.2. Description des mécanismes de résistance

La pression de sélection induite par l'utilisation de ces produits insecticides, efficaces et bon marché, a abouti à l'évolution de résistances chez les populations d'insectes visées par ces traitements. La résistance à un insecticide est définie comme la capacité, héritable pour un insecte, à survivre à un traitement insecticide appliqué en respectant toutes les préconisations d'usage (dose, stade de l'insecte traité, période de traitement, conditions environnementales...). L'individu transmettra cette capacité à sa descendance. Cette adaptation des populations de ravageurs peut, *in fine*, poser problème car elle peut aboutir à une perte d'efficacité presque totale des traitements. Le contrôle des vecteurs de maladies n'est alors plus assuré, ou les cultures ne sont plus protégées efficacement contre les ravageurs.

Les phénotypes de résistance aux insecticides cachent une grande diversité de [mécanismes](#) sous-jacents ([Figure II-17](#)). On les classe en général en deux grandes catégories : [les mécanismes de résistance liés à la cible](#) et les mécanismes de résistances non liés à la cible ([R4P Network 2016](#)). La mutation du gène codant pour la protéine cible de l'insecticide entraîne, par la modification de la conformation de la protéine, une moins grande affinité avec la molécule de synthèse : on parle de résistance liée à la cible. Lorsque la résistance est le résultat d'une dégradation, le plus souvent due à des enzymes de détoxification, on parle de résistance non liée à la cible. Ces deux types de résistance sont non exclusives et peuvent se retrouver combinées au sein d'un même individu. Lorsqu'une même modification génétique confère une résistance à plusieurs substances actives, on parle de [résistance croisée](#). Lorsque plusieurs modifications génétiques sont associées dans un même individu et confèrent des résistances à plusieurs substances actives, on parle de [résistance multiple](#). La base génétique de la résistance est importante car elle aura un impact sur la transmission du spectre de résistance, d'un individu à sa descendance. Lors d'une reproduction sexuée, une résistance croisée ne sera pas affectée, tandis qu'une résistance multiple pourra être dissociée dans la descendance.

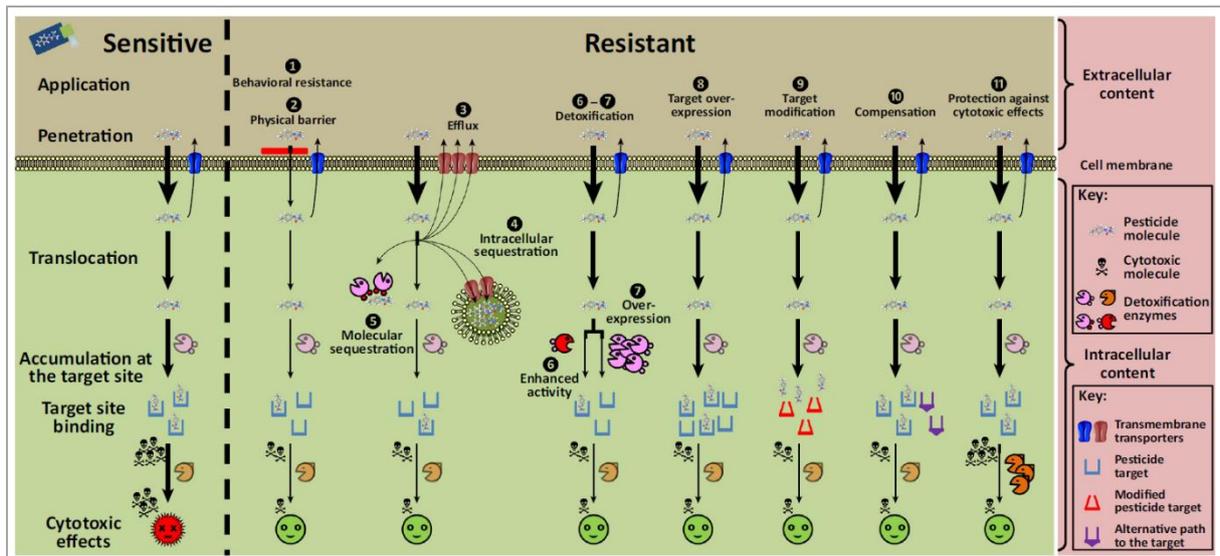


Figure II-17 : D'après [R4P Network \(2016\)](#) ; les différents mécanismes de résistance aux pesticides développés par les organismes nuisibles. Les génotypes résistants ont des mécanismes qui sont absents ou régulés différemment des génotypes sensibles, et qui interfèrent avec l'action des pesticides, leur permettant de survivre. Les mécanismes de résistance peuvent interférer avec toutes les étapes de l'action des pesticides, depuis le contact du pesticide avec l'organisme nuisible après application, jusqu'au déclenchement d'effets cytotoxiques suite à la liaison du pesticide à son site cible. La résistance comportementale (1) réduit l'exposition de l'organisme nuisible à un pesticide. Cela inclut une augmentation de la répulsion ou de l'irritation lorsqu'il est exposé aux pesticides, une modification des préférences de l'habitat de l'organisme nuisible vers des habitats non traités, et une modification du cycle de vie entraînant l'absence du stade de développement de l'organisme nuisible visé par le pesticide à la date du traitement. La pénétration des pesticides peut être limitée par des modifications des propriétés physico-chimiques de la cuticule, de l'épiderme ou du tube digestif de l'organisme nuisible (2). Plusieurs types de mécanismes peuvent réduire l'accumulation du pesticide sur son site cible : l'excrétion par des transporteurs (efflux accru, 3), la compartimentation intracellulaire (4) ou la séquestration (5), une détoxification accrue en raison d'isoformes plus actives contre le pesticide (6), ou la surproduction d'enzymes neutralisant les pesticides (7). D'autres possibilités comprennent la compensation de l'inhibition du site cible du pesticide par une voie alternative ou une enzyme (10), ou par la neutralisation des molécules cytotoxiques sur les pesticides (11). Tous ces mécanismes de résistance sont non liés à la cible. Les mécanismes de résistance liés à la cible impliquent une augmentation de la concentration de protéine cible intracellulaire (surexpression de la cible, 8) ou des modifications structurelles diminuant la liaison aux pesticides (9). Ces mécanismes de résistance ne sont pas mutuellement exclusifs et peuvent être combinés au sein d'un même génotype.

II.2.3. L'exemple historique du contrôle des moustiques

Les succès obtenus dans la lutte contre les moustiques vecteurs du paludisme ont amené l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) à proposer en 1955 un plan d'éradication mondial de cette maladie par l'utilisation du DDT. Mais l'organisation internationale a dû, dès 1976, se résoudre à passer d'un objectif d'éradication à un objectif de contrôle du paludisme. Parmi les raisons principales ayant entraîné ce changement d'objectif, la résistance aux insecticides des vecteurs a joué un rôle majeur ([Hemingway and Ranson 2000](#)). La première utilisation du DDT pour le contrôle des moustiques date de 1946. Dès 1947, les premiers cas de résistances au DDT furent décrits chez *Aedes tritaeniorhyncus* et *A. sollicitans* ([Brown 1986](#)). A ce jour, des résistances à un ou plusieurs insecticides ont été décrites chez plus de 100 espèces de moustiques ([Hemingway and Ranson 2000](#)). Depuis plusieurs années, des doses diagnostiques ont été développées pour tester simplement, et de manière homogène à travers le monde, la résistance des moustiques aux insecticides (voir sur le site de l'OMS : www.who.org). Le problème de la résistance aux insecticides, dans la lutte contre les vecteurs à l'échelle mondiale, est tel qu'un plan global pour la gestion de la résistance aux insecticides des vecteurs du paludisme a été publié par l'OMS en 2012.

Plusieurs mécanismes expliquent la résistance des moustiques aux insecticides. Les deux principaux mécanismes sont les résistances liées à la cible et les résistances métaboliques (non liées à la cible) ([Liu 2015](#)). Quatre classes d'insecticides seulement sont autorisées dans la lutte vectorielle des moustiques adultes, par ordre d'année d'autorisation : les organochlorés (e.g. DDT), les organophosphorés (e.g. malathion), les carbamates (e.g. bendiocarbe) et les pyréthriinoïdes (e.g. lambda-cyhalothrine). Mais ces quatre classes d'insecticides, qui ciblent toutes le système nerveux central des insectes, représentent en réalité seulement deux modes d'action : les organophosphorés et les carbamates inhibent l'AChE, et les pyréthriinoïdes et le DDT sont des modulateurs du canal sodique voltage-dépendant ([Nauen 2007](#)). Pour ces deux modes d'action, les deux types de mécanismes ont été identifiés. Les mutations de cible dites *kdr* et *MACE* confèrent une résistance de cible aux pyréthriinoïdes et au DDT, et aux organophosphorés et carbamates, respectivement. Les résistances métaboliques ont des effets parfois partiellement croisés. La surexpression de monooxygénases (cytochrome à P450) entraîne une résistance aux pyréthriinoïdes et, dans une moindre mesure, au DDT et aux organophosphorés. Il a été montré qu'une glutathion S-transférase spécifique était impliquée dans la résistance au DDT. La surexpression d'estérase (par amplification ou par mutation) entraîne des niveaux de résistance importants aux organophosphorés et, dans une moindre

mesure, aux carbamates. En plus de ces mécanismes principaux, une implication de l'épaisseur et de la structure de la cuticule localisée sur les pattes des moustiques vis-à-vis de la résistance aux pyréthriinoïdes a été démontrée récemment ([Balabanidou et al. 2016](#), [Yahouédo et al. 2017](#)).

La menace que font peser les résistances des moustiques adultes sur le contrôle du paludisme est bien réelle, et appelle à mettre en œuvre des stratégies de management de ces phénomènes. Toutes les stratégies intégrées de gestion de la résistance aux insecticides reposent en premier lieu sur la surveillance du phénomène, ce que permettent les protocoles de bioessais mis en place par l'OMS. Lorsque le problème est détecté, il reste toutefois à définir une stratégie de lutte. Les stratégies proposées sont en général de deux types : (i) la rotation des modes d'action dans l'espace et ou dans le temps et (ii) le mélange de plusieurs modes d'action. Ces deux stratégies ont des limites. La première nécessite une assez grande diversité de modes d'action différents, pour pouvoir assurer une utilisation répétée d'un même mode d'action suffisamment espacée dans le temps. Elle suppose également l'existence d'un coût de la résistance, et l'existence de tels coûts a très rarement été démontrée ([Bass and Ffrench-Constant 2017](#)). La seconde, si elle peut sembler plus efficace de prime abord, est par contre plus risquée, en particulier si un des deux modes d'action associés a déjà montré des signes de résistance par le passé. Cette seconde option pose également des problèmes en termes de toxicité et d'écotoxicité du mélange. Plus globalement, ces deux types de stratégies se heurtent à la difficulté du facteur humain ([Mallet 1989](#)). Dans le cas des moustiques, une étude a pu montrer des coûts de la résistance importants (allant jusqu'à 42%), les *Culex pipiens* résistants montrant une mortalité hivernale bien supérieure à celle de leurs congénères sensibles ([Gazave et al. 2001](#)). Pour la même espèce, des preuves indirectes de coût de la résistance ont pu être montrées par l'étude d'un cline entre des populations de *C. pipiens* échantillonnées sur un transect s'étendant d'une zone traitée vers une zone non traitée ([Lenormand et al. 1999](#)). Ceci a permis de proposer une stratégie spatialisée de lutte vectorielle, prenant en compte les capacités de migration des insectes ainsi que le coût de la résistance ([Lenormand et al. 1999](#)). Dans le cas des moustiques, la très faible diversité de molécules homologuées, relativement à ce qui peut exister en agriculture dans la lutte contre les ravageurs, pose des problèmes pour les deux types de stratégies de management de la résistance. En effet, aujourd'hui dans le monde seuls 12 insecticides sont autorisés pour la lutte contre les vecteurs du paludisme, dont le DDT ([Nauen 2007](#)). La plupart de ces molécules ne sont pas autorisées en Europe, où seuls les pyréthriinoïdes sont pour l'instant utilisés dans la lutte vectorielle contre les moustiques adultes. Impossible donc d'envisager des stratégies d'alternance ou de mosaïque spatiale d'utilisation de différents modes d'action. Ce n'est pas encore le cas en agriculture, où une diversité de modes d'action

est encore actuellement disponible. Néanmoins, cette diversité diminue d'année en année sous la pression sociale de craintes vis-à-vis de l'environnement et de la santé humaine. L'exemple de l'interdiction des néonicotinoïdes en France est à ce titre emblématique.

II.3. Modèle étudié : le complexe d'espèces *Bemisia tabaci*

II.3.1. Définition et systématique

Nomenclature et statut des espèces

Ordre	Hemiptera
Sous-ordre	Sternorrhyncha
Super-famille	Aleyrodoidea
Famille	Aleyrodidae
Genre	<i>Bemisia</i>

Figure II-18 : Nomenclature et statut des espèces appartenant au genre *Bemisia*.

La famille des Aleyrodidae fait partie de l'ordre des Hémiptères et se compose de plus de 1200 espèces dans le monde (Figure II-18). Ce sont essentiellement des insectes piqueurs-suceurs de sève phloémienne (Binkmoenen and Mound 1990). L'aleurode *Bemisia tabaci* a été décrit pour la première fois en Grèce sous le nom d'*Aleurodes tabaci* par Gennadius (1889). Depuis cette date, sa diversité géographique, sa large gamme d'hôtes et sa grande plasticité au stade nymphal ont donné lieu à différentes appellations dans le monde (Perring 2001). Le genre *Bemisia* a été créé en 1914 par Quaintance et Baker (1914), mais il faudra attendre 1936 pour que Takahashi l'y affecte sur critères morphologiques (Takahashi 1936). Depuis, le genre *Bemisia* contient 37 espèces et est considéré comme probablement originaire d'Asie (Mound and Halsey 1978). *B. tabaci* est identifié sur la base de caractéristiques morphologiques de la larve du quatrième et dernier stade larvaire, ou *puparium* (Martin 1987, Gill 1990 ; Figure II-19), et est communément appelé aleurode, ou mouche blanche en raison du dépôt cireux blanc qui recouvre entièrement le corps et les ailes de l'adulte (Figure II-20).

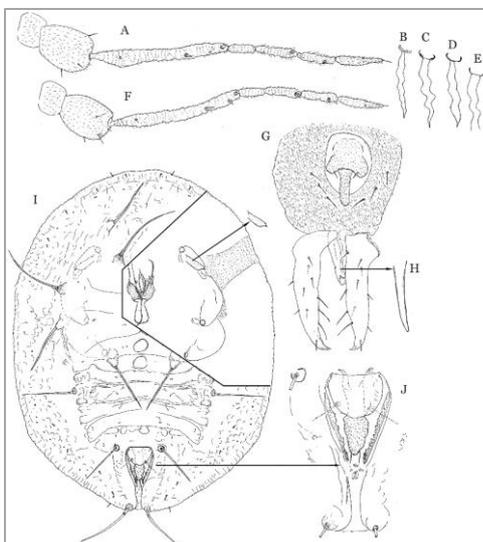


Figure II-19 : Illustrations d'après Tay et al. (2012) : d'un *puparium* (I, J), des variations de la glande cimentaire de trois femelles adultes (C-E) et d'une vue latérale de l'aedeagus d'un mâle adulte (H) provenant de spécimens de *B. tabaci* recueillis par Gennadius sur des plants de tabac à Agrinio, Grèce, en 1889. Ces illustrations sont accompagnées de croquis de l'antenne (A) et de la glande cimentée (B) d'une femelle ; et de l'antenne (F) et de l'apex postérieur d'un mâle adulte (G) de spécimens collectés en Chine, et déterminés comme provenant de la même espèce (Méditerranée) sur la base d'une analyse d'ADN.

Figure II-20 : Photo montrant une femelle (à gauche) et un mâle (à droite) *Bemisia tabaci*, espèce Middle-East Asia Minor 1 (MEAM1), ainsi que leurs œufs sur feuille de chou (crédit photo : A. Franck, CIRAD, UMR PVBMT).



Au début des années 1950, le concept de [biotypes](#) (ou de races hôtes) a été introduit pour définir ou décrire les espèces de *B. tabaci*. En effet, les populations d'aleurodes présentaient des variations de caractéristiques biologiques et écologiques ne pouvant, selon les auteurs, se rapporter à une seule entité biologique ([Mound 1963](#)). Ces différenciations portent essentiellement sur des variations d'ordre biologique ou génétique. Les différences biologiques citées sont liées à des différences : de fécondité ([Delatte et al. 2009](#)), de comportement ([Liu et al. 2007](#)), de gamme d'hôtes ([Saleh et al. 2012](#), [Malka et al. 2018](#)), de phytotoxicité ([Yokomi et al. 1995](#)), de capacité de transmission de phytovirus ([Chi et al. 2020](#)), d'endosymbiotes secondaires ([Zchori-Fein et al. 2014](#)) ou encore de résistance aux insecticides ([Horowitz et al. 2020](#)). Les variations d'ordre génétique ont été démontrées grâce à l'utilisation de divers marqueurs moléculaires : par marqueurs protéiques, RAPD-PCR, PCR-RFLP, microsatellites, ou séquençage de gènes ribosomiaux ou mitochondriaux ([Brown et al. 1995](#), [Frohlich et al. 1999](#), [Delatte et al. 2005](#), [Hadjistylli et al. 2016](#), [Ally et al. 2019](#)). Ainsi, un nombre croissant de biotypes a été décrit dans le monde, et ces biotypes ont été nommés en utilisant l'alphabet romain (A, B, B2, J, K, L, M, MS, Q ...).

Toutefois depuis 2011, la nomenclature de cette espèce a été révisée et « l'espèce » *B. tabaci* est dorénavant considérée comme un complexe [d'espèces cryptiques](#) ([De Barro et al. 2011](#)). Cette dénomination de complexe a été définie à partir d'analyses moléculaires, basées sur le séquençage partiel [du gène mitochondrial cytochrome oxydase 1](#). Le terme « biotype » n'est plus employé au sein de ce complexe d'espèces et de nouveaux noms d'espèces (basés sur leur origine géographique) ont été attribués à ces anciennes dénominations. Ainsi en 2011, l'ensemble des données moléculaires disponibles a permis de répartir ces biotypes en 24 espèces sur un critère de seuil de divergence nucléotidique de 3,5 %, elles-mêmes regroupées

dans 11 [clades phylogénétiques](#) sur un critère de seuil de divergence nucléotidique de 11 % (sur 657 pb de la région centrale du gène mtCOI ; [Boykin et al. 2007](#), [Dinsdale et al. 2010](#), [De Barro et al. 2011](#)). Ce seuil de différenciation spécifique a été rehaussé à 4 % en 2013 ([Lee et al. 2013](#)). A partir de cette date, de nouvelles espèces ont encore été rajoutées à cette liste, et à ce jour 45 espèces différentes ont été décrites ([Figure II-21](#)) : Africa, Asie I, Asie I-Inde, Asie II 1-12, Asie II-13, Asie III, Asie IV, Asie V, Australie (AUSI), Australie II (AUSII), Australie/Indonésie, Chine1-5, Océan Indien, Ru, Moyen-Orient Asie Mineure I (MEAM1), Méditerranée (MED, que nous écrirons « MED-Q » par la suite, sauf dans le chapitre 2), MED ASL, MEAMK, Nouveau Monde 1-2, Japon 1-2, Ouganda, Italie1, Spain 1 et Afrique subsaharienne 1-5 ([Tay et al. 2017](#), [Vyskocilova et al. 2018](#), [Kanakala and Ghanim 2019](#), [Wongnikong et al. 2019](#)).

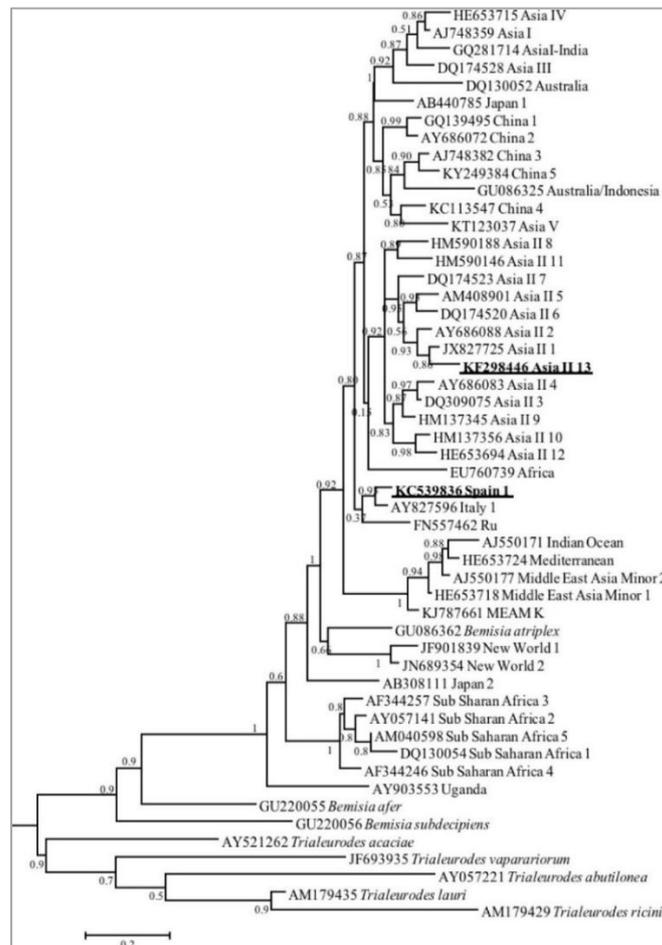


Figure II-21 : D'après [Kanakala and Ghanim \(2019\)](#) ; arbre phylogénétique bayésien (modèle GTR+G) basé sur l'analyse de séquences partielles du gène mtCOI, présentant 44 espèces décrites à ce jour dans le complexe d'espèces *Bemisia tabaci*. A noter que l'espèce MEAM2 a été remise en cause et n'est plus considérée comme telle ([Tay et al. 2017](#)). Une 44^{ème} espèce a été décrite, subdivisant l'espèce Méditerranéenne MED en « MED » (que nous appelons « MED-Q » par la suite) et « MED ASL » ([Vyskocilova et al. 2018](#)) ; ainsi qu'une 45^{ème}, subdivisant l'espèce Australie en « AUS I » et « AUS II » ([Wongnikong et al. 2019](#)), ne figurant pas sur l'arbre.

Au sein du groupe d'espèces d'Afrique subsaharienne nommé « SSA », il semblerait qu'il pourrait exister une plus grande richesse spécifique non encore explorée à ce jour, et réciproquement, certaines espèces définies sur critères « phylogénétiques » seraient caduques. Par exemple, SSA3 et SSA4 ne seraient qu'une seule et même espèce ([Wosula et al. 2017](#)). Récemment, [Mugerwa et al. \(2018\)](#) ont mis en avant l'existence potentielle de 12 ou 13 espèces en Afrique de l'Est, ajoutant 7 espèces à celles décrites (SSA1-13) ; toutefois de plus amples analyses sont requises afin de bien confirmer ces ajouts, et nous nous baserons ici sur cette liste de 45 espèces au sein de ce complexe.

Comme expliqué ci-dessus, le ravageur *B. tabaci* a été reconnu comme un complexe d'espèces, espèces qui sont donc morphologiquement identiques, mais qui diffèrent grandement par leurs caractéristiques biologiques et génétiques. Les premières délimitations d'espèces au sein de ce complexe se sont basées sur le concept « d'espèce phylogénétique » ; toutefois les chercheurs ont aussi voulu confirmer ces délimitations en se basant sur le concept « d'espèce biologique » (dans la mesure du possible), défini par la capacité de deux entités à s'accoupler avec succès et à produire une descendance viable ([Mayr 1942](#)). C'est ainsi que les deux dernières espèces décrites, MED ASL et AUSII, ont pu être différenciées avec certitude. Malheureusement, trop peu d'études biologiques confirmant le rang d'espèce (au sens biologique) au sein de ce complexe ont été conduites ([Liu et al. 2012](#), [Vyskocilova et al. 2018](#), [Wongnikong et al. 2019](#)).

II.3.2. Biologie de l'organisme

Le cycle de développement de *B. tabaci* comprend successivement un stade œuf et quatre stades larvaires (L1 à L4), avant d'aboutir à l'adulte ([Byrne and Bellows Jr 1991](#), [Basu 1995](#)). La femelle pond en général ses œufs sur la face abaxiale des feuilles supérieures de la plante hôte ([Gameel 1977](#)). D'une longueur d'environ 0,2 mm, les œufs sont maintenus à la plante hôte par le biais d'un court pédicelle inséré directement dans les tissus foliaires ([Paulson and Beardsley 1985](#)). Au moment de la ponte, ils arborent une couleur blanchâtre à jaunâtre, qui vire progressivement au marron au cours du développement embryonnaire. L'aleurode femelle peut pondre au-delà de 300 œufs au cours de sa vie ([Gangwar and Gangwar 2018](#)). Cependant, des facteurs biotiques tels que l'espèce et la plante hôte considérées, ainsi que des facteurs abiotiques, comme la température et l'humidité par exemple, influent sur la fécondité ([Basu 1995](#), [Guo et al. 2010](#), [Guo et al. 2012](#)). A titre d'exemple, la fécondité moyenne de

l'espèce MED-Q sur plants de tomate a été estimée à 105,3 œufs à 21°C, contre 41 œufs à 35°C ([Bonato et al. 2007](#)). Sur cette même plante hôte, la fécondité de l'espèce MEAM1 serait comprise entre 74 et 170 œufs à 30°C ([Delatte et al. 2009](#)).

L'éclosion des œufs donne naissance au seul stade larvaire mobile de cette espèce (L1 dit *crawler*). Cette première larve mesure entre 0,2 et 0,3 mm de long, se nourrit sur la face abaxiale de la feuille et ne dure que quelques heures. A la mue suivante, elle perd ses pattes et devient donc sessile ([Basu 1995](#)). Les stades suivants s'accompagnent d'un grossissement de la larve et de quelques changements morphologiques. Cependant, le dernier stade larvaire ou « pupa », devient le siège d'une quasi-métamorphose. En effet la pupa, d'une longueur de 0,7 mm, est caractérisée par une couleur jaunâtre, l'apparition de tâches oculaires rouges puis noires et des ébauches de pattes et d'ailes. A ce stade, il n'y a plus de prise alimentaire. A l'issue du développement larvaire, l'aleurode adulte émerge de la partie antérieure du *puparium*, au travers d'une ouverture médiane en forme de « T » ([Berlinger 1986](#) ; [Figure II-22](#)).

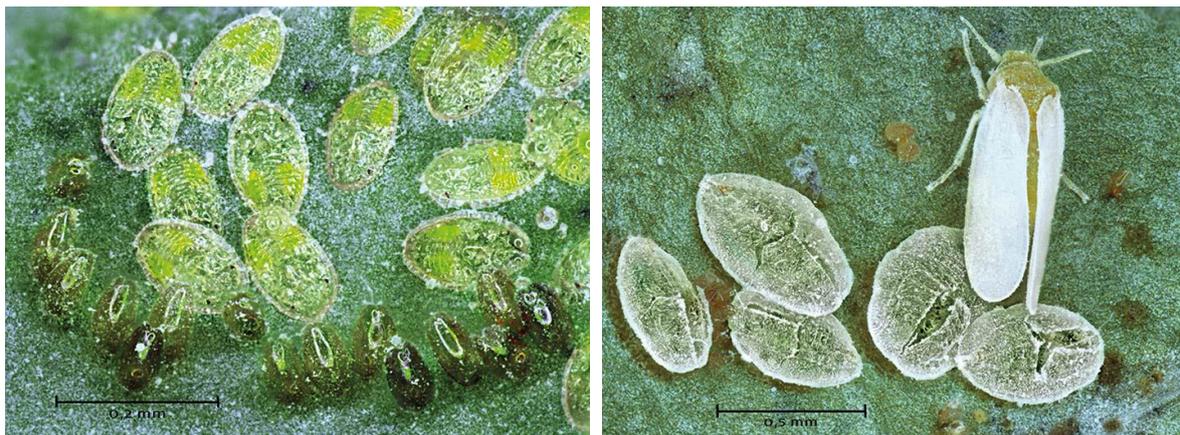


Figure II-22 : Photos montrant des stades larvaires de l'espèce MEAM1 sur feuille de chou (à gauche), ainsi qu'un aleurode adulte entouré d'exuvies avec des fentes en « T » (crédit photo : A. Franck, CIRAD, UMR PVBMT).

Comme pour la fécondité, la durée entre chacun des six stades de développement de *B. tabaci* va fortement dépendre de l'espèce étudiée ([Zang et al. 2006](#)), de la plante hôte ([Muñiz 2000](#), [Muñiz and Nombela 2001](#), [Kakimoto et al. 2007](#)), de la température et de l'humidité de l'environnement ([Gerling et al. 1986](#), [Drost et al. 1998](#)), ainsi que du statut d'infection par les endosymbiotes ([Himler et al. 2011](#), [Xue et al. 2012](#)). Pour exemple, les adultes de l'espèce MED-Q, lorsqu'ils sont élevés sur plants de tomate, émergent après un minimum de 20 jours à 30°C et un maximum de 56 jours à 17°C ([Bonato et al. 2007](#)). Aussi, sur la même plante hôte, cette durée est de 19 jours à 30°C contre 89 jours à 15°C pour l'espèce MEAM1, et de 21 jours à 30°C pour l'espèce IO ([Delatte et al. 2009](#)).

La taille des adultes est de l'ordre du millimètre, sachant que les femelles sont en général légèrement plus grandes que les mâles. Les adultes s'accouplent environ dix heures après leur émergence, sur la plante hôte, et de multiples fois tout au long de leur vie ([Li et al. 1989](#), [Liu et al. 2007](#)). *B. tabaci* est une espèce multivoltine, ce qui signifie qu'elle peut engendrer jusqu'à une quinzaine de générations par an, si les conditions climatiques lui sont favorables ([Gerling 1990](#)). C'est une espèce haplodiploïde ([Byrne and Devonshire 1996](#), [Denholm et al. 1998](#)). Comme chez la plupart des aleurodes, sa reproduction est de type [parthénogénétique arrhénotoque](#) ([Bonato et al. 2006](#)). Les femelles fécondées peuvent en effet réguler le sexe de leur progéniture par fécondation sélective des œufs : elles pondent des œufs diploïdes (2n) et haploïdes (n), les premiers donnant naissance à des femelles, les seconds à des mâles ([Normark 2004](#)). Les femelles non fécondées quant à elles ne pondent que des œufs haploïdes. Enfin, le sex-ratio des descendants est affecté par l'âge du parent femelle, puisque les jeunes femelles donnent naissance à plus de femelles qui produisent des œufs que les femelles plus âgées ([Berlinger 1986](#)).

Les adultes se nourrissent de sève élaborée (aussi appelée sève phloémienne), grâce à leurs pièces buccales de type piqueur-suceur, et plus particulièrement à leur stylet, qu'ils enfonce entre les cellules jusqu'à atteindre les tubes criblés. Plus rarement, ils peuvent aussi se nourrir de sève brute (ou sève xylémienne), très diluée et malheureusement pauvre en nutriments ([Jiang et al. 1999](#)). Une telle alimentation est déséquilibrée, puisqu'elle est riche en glucides mais déficiente en acides aminés qui sont vitaux pour l'aleurode, et qu'il ne peut pour autant pas se procurer dans son environnement. C'est pourquoi *Portiera aleyrodidarum* est un endosymbiote primaire obligatoire chez *B. tabaci* : il synthétise les acides aminés essentiels à sa survie ([Baumann et al. 2004](#), [Thao and Baumann 2004](#)). Il est jusqu'à présent le seul endosymbiote primaire détecté chez cette espèce ([Rao et al. 2015](#)).

Les endosymbiotes obligatoires sont des microorganismes intracellulaires, jouant un rôle critique dans la biologie de leur hôte ([Baumann et al. 2006](#), [Xie et al. 2012](#), [Rao et al. 2015](#)). La plupart sont des procaryotes et détectés uniquement dans des cellules spécialisées appelées bactériocytes ([Moran and Telang 1998](#), [Luan et al. 2018](#)). A ces endosymbiotes primaires s'ajoutent des endosymbiotes secondaires (ou facultatifs), qui peuvent avoir des effets aussi bien négatifs que positifs sur leurs hôtes, et dont la contribution n'est pas essentielle à la survie ni à la reproduction de *B. tabaci*. On les retrouve dans les bactériocytes mais aussi dans l'hémolymphe ([Su et al. 2014](#)). Le complexe d'espèces *B. tabaci* possède l'un des plus grands cortèges endosymbiotiques avec sept endosymbiotes secondaires différents : *Cardinium*,

Wolbachia, *Rickettsia*, *Arsenophonus*, *Hamiltonella*, *Fritschea* et *Hemipteriphilus* ([Everett et al. 2005](#), [Chiel et al. 2007](#), [Gottlieb et al. 2008](#), [Bing et al. 2013](#)).

La prévalence de ces endosymbiotes secondaires a évolué rapidement au sein du complexe, aboutissant à la présence de certaines associations uniquement chez quelques espèces de *B. tabaci*. En effet, de par leur mode de transmission verticale, différentes associations de cortèges endosymbiotiques sont des fois observées entre espèces. C'est le cas par exemple d'*Hamiltonella*, endosymbiote détecté uniquement chez l'espèce MEAM1 jusqu'à présent, tandis que *Wolbachia* et *Arsenophonus* n'ont été retrouvés que chez l'espèce MED-Q ([Gueguen et al. 2010](#)). Leur prévalence est importante car 95% des aleurodes sont infectés par au moins un endosymbiote secondaire et 45% par au moins deux, ce dernier cas constituant ce que l'on appelle une multi-infection ([Gueguen et al. 2010](#)).

Il a été montré que, selon les espèces de *B. tabaci*, les endosymbiotes secondaires pouvaient jouer différents rôles au sein de leur hôte : ils peuvent induire une incompatibilité cytoplasmique, améliorer la valeur sélective de l'individu ([Himler et al. 2011](#)), assurer une protection contre les prédateurs ([Mahadav et al. 2008](#)), aider à l'atténuation de certains stress ([Brumin et al. 2011](#), [Shan et al. 2014](#), [Su et al. 2014](#)), ou encore être à l'origine d'une sensibilité accrue aux insecticides ([Kontsedalov et al. 2008](#), [Ghanim and Kontsedalov 2009](#)). Une meilleure compréhension de l'influence qu'ont les facteurs biotiques et abiotiques sur la prévalence et la diversité des endosymbiotes au sein de ce complexe d'espèces aidera à comprendre encore davantage leurs rôles au sein de leurs hôtes ([Zchori-Fein et al. 2014](#)).

II.3.3. Répartition géographique et gamme d'hôtes

Le complexe d'espèces *B. tabaci* est retrouvé à travers le monde sur tous les continents, excepté l'Arctique et l'Antarctique. Toutefois, il est surtout associé aux zones tropicales et subtropicales ([Brown et al. 1995](#)). La majorité des espèces de ce groupe ont des origines géographiques assez distinctes, et comme précisé ci-dessus, de grands groupes par zones géographiques ont été observés. Par exemple, les espèces présentes en Asie font partie du groupe « Asia », celles retrouvées en Afrique font partie du groupe « SSA », et ainsi de suite.

Au sein de ce complexe d'espèces, deux se démarquent par leurs capacités d'invasion spectaculaires : le MEAM1 et le MED-Q. En effet, à la fin des années 1980, l'espèce MEAM1 - nommée successivement *Bemisia argentifolii* ([Bellows Jr et al. 1994](#)), biotype « B » ([Brown et al. 1995](#)) puis MEAM1 ([De Barro et al. 2011](#)) - devient invasive mondialement, et au début

des années 2000, c'est au tour de l'espèce MED-Q ([Brown et al. 2005](#), [Hsieh et al. 2007](#), [De Barro et al. 2011](#)). Actuellement, l'espèce MED-Q a été signalée dans le monde entier, dans plus de 40 pays, notamment aux Etats-Unis, au Japon ([Ueda and Brown 2006](#)), en Israël ([Horowitz et al. 2003](#)), en Chine ([Chu et al. 2006](#), [Ahmed et al. 2009](#)), au Mexique ([Martinez-Carrillo and Brown 2007](#)), au Guatemala ([Bethke et al. 2009](#), [McKenzie et al. 2012](#)), en Italie ([Parrella et al. 2012](#)) et dans plusieurs pays d'Afrique ([Delatte 2005](#), [Delatte et al. 2015](#), [Mugerwa et al. 2018](#), [Ally et al. 2019](#)). Toutefois, les mécanismes de ce processus d'invasion restent flous, et de nombreuses hypothèses ont été avancées, notamment sur le plan de la biologie des espèces, comme : i) la supériorité de l'espèce MEAM1 vis-à-vis des espèces résidentes lors de l'accouplement, se traduisant d'une part par sa capacité à ajuster le sex-ratio en faveur de l'augmentation de sa population (distorsion du sex-ratio en faveur des femelles), mais aussi par sa capacité à interférer avec l'accouplement entre individus indigènes ([Liu et al. 2007](#)) ; ii) une fécondité plus élevée vis-à-vis des espèces résidentes pour l'espèce invasive ([Delatte et al. 2009](#)) ; iii) la capacité de certaines populations au sein du complexe à développer une résistance aux insecticides ([Naranjo and Legg 2010](#), [Luan et al. 2012](#), [Horowitz and Ishaaya 2014](#), [Horowitz et al. 2020](#)). iv) Un autre facteur, susceptible d'influencer la dynamique et l'adaptation des populations de ces aleurodes dans un nouveau milieu, est leur capacité à utiliser de nombreuses plantes hôtes ([De Barro et al. 2006](#), [Zang et al. 2006](#), [Malka et al. 2018](#)).

Les espèces du complexe *B. tabaci* sont considérées comme des ravageurs ayant la capacité de coloniser un large éventail de plantes cultivées et ornementales. En effet, elles ont été décrites sur plus de 500 espèces de plantes hôtes ([Brown et al. 1995](#)). Néanmoins, il existe des variations considérables dans l'utilisation des plantes hôtes au sein du complexe d'espèces, allant d'une association étroite avec une ou quelques espèces végétales, à une grande polyphagie ([Brown et al. 1995](#)).

Une étude récente, basée sur une analyse des données publiées et expérimentales, a montré qu'il existait une gradation dans le niveau de polyphagie au sein du complexe *B. tabaci*. Selon cette étude, l'espèce MEAM1 peut être considérée comme un véritable "généraliste", les espèces Asia-I, IO, MED-Q et SSA-1 peuvent être considérées comme des espèces ayant une gamme d'hôtes "étendue", tandis que les autres peuvent être grossièrement divisées en deux groupes de gammes d'hôtes plus ou moins restreintes. La mise en correspondance de ces données avec les ordres de plantes hôtes ([Figure II-23](#)) a permis d'identifier neuf ordres (appartenant aux clades des Astérides et des Rosides) qui sont communément partagés par la plupart des espèces de *B. tabaci* : *Asterales*, *Fabales*, *Rosales*, *Cucurbitales*, *Malvales*, *Malpighiales*, *Brassicales*, *Solanales* et *Lamiales*. Des analyses plus approfondies ont ainsi

révélé l'existence d'un mécanisme de détoxification commun, partagé par les groupes d'espèces de *B. tabaci* les plus performants, ce qui pourrait leur avoir permis de s'adapter à un large éventail de plantes hôtes et de nouveaux environnements ([Malka et al. 2018](#)).

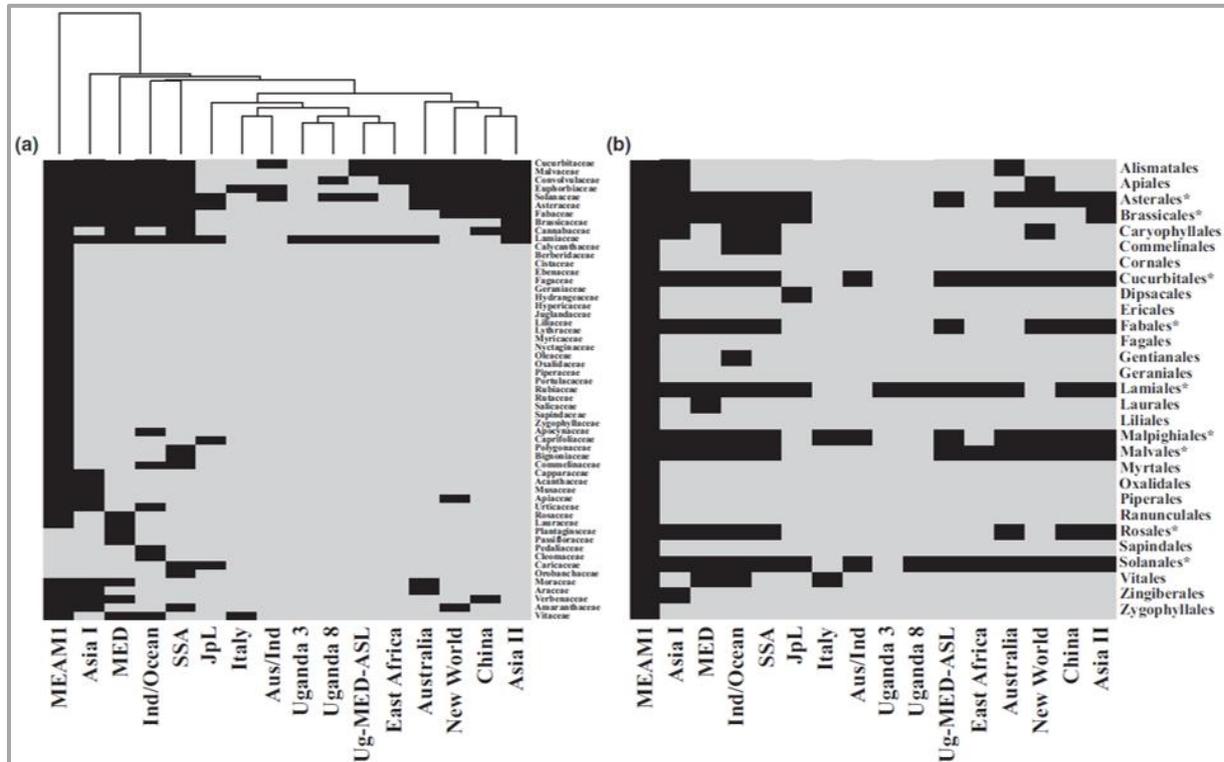


Figure II-23 : D'après [Malka et al. \(2018\)](#); gamme d'hôtes des espèces de *B. tabaci* selon (a) les familles botaniques et (b) l'ordre des plantes, montrant que neuf des ordres (avec les astérisques) sont communément partagés par la plupart des espèces de *B. tabaci*.

II.3.4. Impact économique

Depuis la fin des années 1980 et l'invasion des espèces MEAM1 et MED-Q, ces aleurodes sont devenus l'une des principales menaces de certains agrosystèmes, causant des millions de dollars de pertes annuelles, dues non seulement aux dommages directs causés par leur alimentation, mais aussi aux maladies causées par les virus transmis ([Lapidot and Polston 2010](#)).

Les stades immatures de cet insecte piqueur-suceur, tout comme les adultes, se nourrissent directement de la plante hôte. De fortes pullulations d'aleurodes entraînent un affaiblissement des plants, lui-même responsable d'une réduction de la vigueur et donc du rendement ([Polston et al. 2014](#)). D'autres dégâts ont été spécifiquement observés pour l'espèce

MEAM1. En effet, cette espèce peut induire des troubles physiologiques sur la tomate, en provoquant un mûrissement irrégulier et une dépréciation des fruits ([McCollum et al. 2004](#)). De même, pour cette espèce et l'espèce IO, il a été reporté l'apparition de symptômes d'argentures ou *silverleafing* sur feuilles de Cucurbitacées ([Yokomi et al. 1990](#), [Delatte et al. 2005](#)).

Les espèces du complexe *B. tabaci* sont également responsables de dommages liés à l'excrétion d'une substance collante, appelée miellat, sur les feuilles et les fruits des plantes colonisées, déclenchant le développement de moisissures appelées « fumagine » (*Capnodium spp.*), qui entravent la photosynthèse et affectent la croissance de la plante ([Byrne and Bellows Jr 1991](#)). Ces moisissures peuvent aussi entraîner la dépréciation des fibres de coton, et le miellat quant à lui, pose des problèmes lors de l'étape du filage ([Horowitz et al. 2011](#)).

Plus important encore, les aleurodes sont responsables de la transmission de très nombreux virus végétaux ([Navas-Castillo et al. 2011](#)) qui provoquent des épidémies dévastatrices, affectant la sécurité alimentaire dans le monde entier. Toutes les espèces appartenant au complexe d'espèces *B. tabaci* sont des vecteurs de virus végétaux appartenant à cinq familles de cinq genres viraux : (i) Begomovirus (famille : Geminiviridae), (ii) Crinivirus (famille : Closteroviridae), (iii) Torradovirus (famille : Secoviridae), (iv) Ipomovirus (famille : Potyviridae) et (v) Carlavirus (famille : Betaflexiviridae) ([Polston et al. 2014](#)).

Parmi les virus de ces cinq genres transmis par les aleurodes, 90 % appartiennent au genre des Begomovirus ([Jones 2003](#), [Brown et al. 2015](#)). Cette famille, qui comprend plus de 360 espèces, est apparue dans le monde entier comme le groupe de phytovirus le plus destructeur au cours des deux dernières décennies, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales ([Kanakala and Ghanim 2019](#)).

La famille des Geminiviridae est un groupe de virus végétaux à génome d'ADN simple brin, encapsulé dans des particules géminées qui infectent les plantes monocotylédones ou dicotylédones. Les membres de la famille sont regroupés en neuf genres (Mastrevirus, Begomovirus, Curtovirus, Topocovirus, BeCurtovirus, Eragrovirus, Capulavirus, Grablovirus, et TurnCurtovirus), en fonction de l'organisation du génome, de la transmission du vecteur et de sa gamme d'hôtes ([Zerbini et al. 2017](#)). Les espèces du genre des Begomovirus (virus à ADN simple brin) sont transmises de manière persistante et circulante par les aleurodes du complexe d'espèces *B. tabaci*, et provoquent en général des enroulements foliaires et des mosaïques jaunes sur de nombreuses cultures et adventices. Parmi les virus transmis appartenant à ce genre, on peut citer le *Tomato yellow leaf curl* (TYLCV), responsable d'une des maladies les plus dévastatrices affectant la production de tomates. Ce virus est très probablement originaire d'Iran, où l'on a trouvé la plus grande diversité génétique de TYLCV. Il a ensuite envahi le

bassin du Moyen-Orient, y compris Israël, où il a été décrit pour la première fois en 1964 ([Cohen and Harpaz 1964](#)), puis les Amériques, et s'est répandu dans le monde entier ([Lefevre et al. 2010](#)). Les plants de tomates infectés présentent les symptômes d'un rabougrissement sévère, une nécrose foliaire, un enroulement, la réduction de la taille des feuilles et la diminution de la production de fruits ([Figures II-24](#)). Les pertes de rendement peuvent être catastrophiques, dans les champs gravement infectés des régions tropicales et subtropicales ([Rojas et al. 2018](#), [Annu et al. 2019](#)).

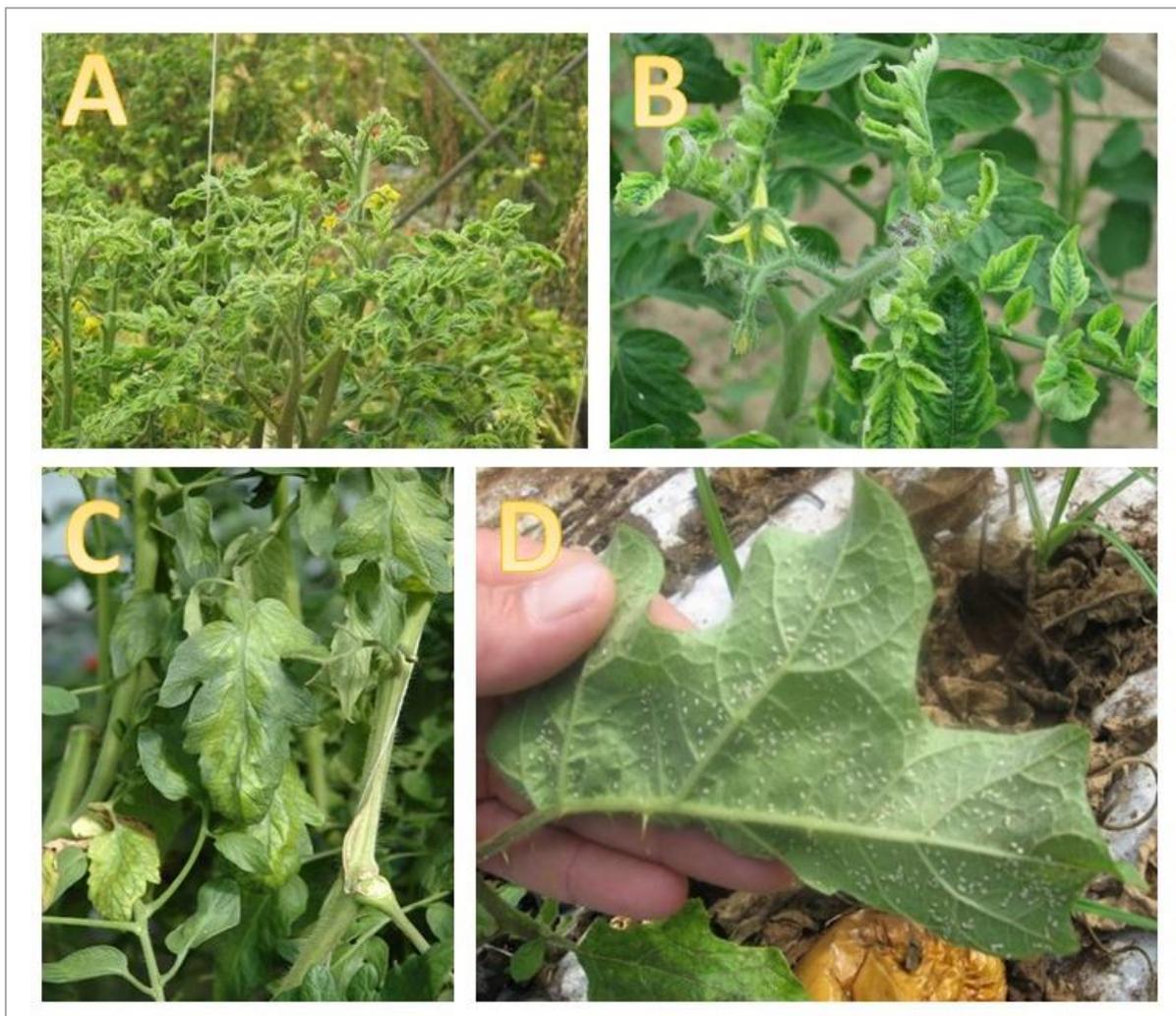


Figure II-24 : Les photos A et B montrent des symptômes de TYLCV (Begomovirus) sur plants de tomate à La Réunion ; la photo C montre des symptômes de ToCV (Crinivirus) sur plants de tomate à La Réunion ; et la photo D montre une pullulation d'aleurodes sur plant d'aubergine, à La Réunion (crédit photo : H. Delatte, CIRAD, UMR PVBMT).

II.4. La résistance aux insecticides chez *Bemisia tabaci*

En raison de son efficacité et de sa commodité, la lutte chimique par l'emploi d'insecticides demeure à ce jour la principale stratégie utilisée pour la gestion des populations d'aleurodes ([Palumbo et al. 2001](#), [Horowitz et al. 2011](#), [Basit 2019](#), [Horowitz et al. 2020](#)). De par leur nature toxique, ces produits sont souvent également nocifs pour les ennemis naturels de *B. tabaci* et perturbent donc la gestion intégrée de ce ravageur. La lutte chimique tend ainsi à se restreindre, en raison à la fois des préoccupations environnementales mais aussi suite à une évolution très large des résistances de *B. tabaci* vis-à-vis de la plupart des insecticides autorisés ([Palumbo et al. 2001](#), [Horowitz et al. 2007](#)). Par conséquent, des efforts considérables sont non seulement investis dans le développement de nouveaux insecticides hautement spécifiques à *B. tabaci*, mais aussi dans la recherche et la conception de méthodes de lutte alternatives. Ainsi, l'utilisation de plantes hôtes résistantes aux virus transmis par *B. tabaci* ([Lapidot and Friedmann 2002](#)) constitue une stratégie de management alternative intéressante.

Si les populations de *B. tabaci* sont si difficiles à gérer sur le terrain, c'est notamment à cause de leur fort taux de croissance démographique, et de leur grande capacité à évoluer rapidement des résistances ([Horowitz et al. 2011](#)). En effet, la résistance aux insecticides chez *B. tabaci* est aujourd'hui largement répandue et vaut pour la plupart des classes chimiques employées, y compris celles arrivées récemment sur le marché ([Basit 2019](#), [Horowitz et al. 2020](#)). Selon l'*Arthropods Pesticide Resistance Database* ([Whalon et al. 2019](#)), on compte désormais environ 650 cas signalés de résistance aux insecticides dans le genre *Bemisia*, cas qui concernent plus de 60 substances actives différentes. Toutefois, il existe une grande variabilité des niveaux de résistance : entre les populations au sein d'une même espèce, entre différentes espèces et selon les substances actives considérées. La majorité des cas de résistance reportés concerne les espèces invasives MED-Q et MEAM1, mais aussi deux espèces du groupe asiatique, Asia I et II. Des [facteurs de résistance](#) à divers cyclodiènes, organophosphorés, carbamates ou encore pyréthrinoïdes, allant de 7 à plus de 4000, ont été détectés. La littérature fait aussi mention de facteurs de résistance aux néonicotinoïdes ou à la buprofézine de l'ordre de 2000 ([Basit 2019](#)). [Horowitz et al. \(2020\)](#) sont les auteurs d'une revue sur la résistance aux insecticides chez *B. tabaci* : la table dans laquelle ils reportent tous les cas récents et notables de résistance aux insecticides est consultable dans [les annexes](#).

II.4.1. Les organophosphorés et les carbamates

Les insecticides organophosphorés (OP) et les carbamates sont des inhibiteurs de l'AChE : ils affectent l'influx nerveux chez l'insecte. Les OP ont été mis sur le marché dès 1944, et les carbamates 12 ans plus tard. Largement utilisés, les premiers cas de résistance aux OP ont été signalés 14 ans après leur introduction et seulement 5 ans après pour les carbamates ([Brattsten 1990](#)). Plusieurs études biochimiques sur *B. tabaci* ont montré l'existence de deux mécanismes moléculaires qui peuvent conférer aux populations cette résistance aux OP : une résistance liée à la cible via la diminution de l'affinité entre les OP et l'AChE (résistance liée à une mutation non synonyme dans le gène *ace2*), et un mécanisme de résistance non liée à la cible par détoxification impliquant une surexpression de la carboxylestérase par modification du contrôle transcriptionnel ([Byrne et al. 1994](#), [Alon et al. 2008](#)). D'une manière générale, la résistance aux OP est très répandue chez *B. tabaci* : elle a été décrite non seulement dans de nombreux pays, mais aussi chez plusieurs espèces du complexe ([Horowitz et al. 2007](#), [Ahmad et al. 2010](#), [Naveen et al. 2017](#)).

Dès 1995, des populations des espèces MEAM1 (Etats-Unis, Israël, Chypre, Belize, Angleterre), New World (anciennement « biotype A » ; Etats-Unis) ainsi que d'autres espèces non identifiées avec précision (« non-MEAM1 »), ont montré de forts niveaux de résistance aux OP ([Cahill et al. 1995](#)). Au Pakistan, la plupart des populations de *B. tabaci* (l'espèce n'ayant pas été déterminée) testées se sont montrées résistantes aux carbamates et aux OP ([Ahmad et al. 2010](#)). En Turquie, des populations de l'espèce MEAM1 ont un niveau de résistance entre 20 et 310 fois supérieur à celui de la population la plus sensible ([Erdogan et al. 2008](#)). De même, l'apparition de cette résistance en Inde a été décrite chez les espèces Asia-I et Asia-II-1 ([Naveen et al. 2017](#), [Roy et al. 2019](#)).

II.4.2. Les pyréthriinoïdes

Les pyréthriinoïdes sont des dérivés de neurotoxines de plantes qui s'attaquent au système nerveux central des insectes, par le biais des canaux sodiques voltage dépendants de type *para* (*vgsc*, de l'anglais *voltage-gated sodium channel*). Ils entraînent ainsi une paralysie suivie d'une mort rapide. La résistance de cible aux pyréthriinoïdes est liée à deux mutations, L925I et T929V, positionnées dans une séquence codant pour le lieu (IIS4-5) de deux segments transmembranaires du canal sodique ([Schuler et al. 1998](#), [Lee et al. 2000](#), [Morin et al. 2002](#)). En 2009, [Tsagkarakou et al.](#) publient une méthode de génotypage rapide des mutations

précédemment décrites : il s'agit d'une PCR-RFLP (basée sur une digestion enzymatique différentielle en fonction de la présence ou non de la mutation) et sur une amplification PCR allèle-spécifique. Chez les aleurodes, la résistance aux pyréthriinoïdes est largement répandue, bien que son amplitude ainsi que les patrons de résistance observés varient selon les pays et les systèmes de culture ([Horowitz et al. 2020](#)). Par exemple à Chypre, comme au nord-ouest de la Chine, l'espèce MEAM1 montre des niveaux très élevés de résistance à la cyperméthrine et à la bifenthrine ([Ma et al. 2007](#), [Vassiliou et al. 2011](#)). En Inde, ce sont les espèces Asia-I et Asia II-1 qui présentent une résistance à la cyperméthrine ([Naveen et al. 2017](#)). Des cas de résistance à la lambda-cyhalothrine ainsi qu'à la cyperméthrine ont également été démontrés dans d'autres régions chinoises, et concernaient l'espèce MED-Q ([Yuan et al. 2012](#), [Yao et al. 2017](#)).

II.4.3. Les régulateurs de croissance : pyriproxifène et buprofézine

Le pyriproxifène et la buprofézine font partie de la classe des régulateurs de croissance des insectes. Le pyriproxifène est une molécule analogue de l'hormone juvénile. Chez *B. tabaci*, son application provoque un déséquilibre du système hormonal qui impacterait fortement l'embryogenèse et la mue ([Ishaaya and Horowitz 1995](#)). La buprofézine est un inhibiteur de biosynthèse de la chitine de type 1. Cette molécule impacte les stades de développement et supprime l'embryogénèse chez les aleurodes ([Yasui et al. 1985](#), [Ishaaya et al. 1988](#)). Le pyriproxifène et la buprofézine ont été largement utilisés car longtemps considérés comme inoffensifs pour l'environnement. Toutefois ces dernières années, plusieurs études ont montré que ces molécules pouvaient avoir un effet adverse plus ou moins marqué sur l'environnement. Ces effets ont été observés par exemple sur l'activité microbienne des sols ([Badawy et al. 2013](#), [Raju and Venkateswarlu 2013](#)), le développement embryonnaire des poissons ([Marimuthu et al. 2013](#)), ou encore sur le comportement et les traits de vie d'auxiliaires parasitoïdes ([Asadi et al. 2019](#)). Le mécanisme de résistance observé pourrait être métabolique, avec l'implication potentielle des cytochromes P450 ([Nauen et al. 2015](#)). De tout le complexe d'espèces, c'est MED-Q qui est concernée par le plus grand nombre de cas de résistance reportés ([Horowitz et al. 2020](#)).

II.4.4. Les néonicotinoïdes

Les insecticides néonicotinoïdes sont des agonistes hautement sélectifs des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChR), des canaux ioniques situés dans le système nerveux central des insectes. Ils perturbent la transmission nerveuse, entraînant la paralysie et la mort de l'insecte cible en peu de temps (Tomizawa and Casida 2005, Jeschke et al. 2011). Le premier insecticide néonicotinoïde, l'imidaclopride, a été mis sur le marché en 1991 (Figure II-25).

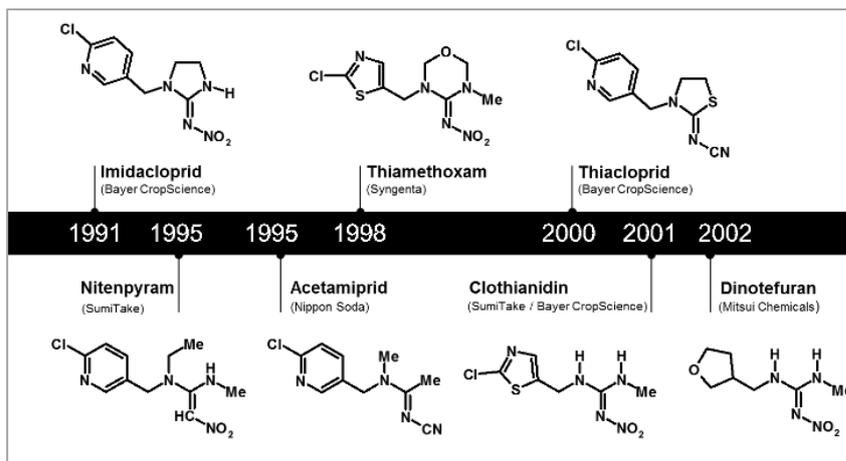


Figure II-25 : Chronologie de mise sur le marché des premiers insecticides néonicotinoïdes, figure issue de Bass et al. (2015).

Cette catégorie d'insecticides comprend au moins sept composés majeurs, dont la part de marché dépassait 25% des ventes mondiales totales d'insecticides en 2015 (Bass et al. 2015). Quelques années après leur autorisation, des premiers phénotypes résistants ont été détectés. C'est un mécanisme non lié à la cible qui est responsable : il s'agit d'une résistance métabolique par détoxification, liée à la surexpression de la CYP6CM1 (cytochromes P450). La glutathion S-transférase semble pouvoir également participer à la détoxification contre les néonicotinoïdes (du moins contre le thiaméthoxame, Yang et al. 2013). L'apparition très rapide de résistance contre les néonicotinoïdes semble ne pas être un évènement unique (Horowitz et al. 2004). Des résistances aux néonicotinoïdes ont été décrites chez l'espèce MEAM1 en Turquie (Satar et al. 2018), pour les espèces Asia I et Asia II-1 en Inde (Naveen et al. 2017), mais la majorité des populations résistances détectées dans le monde se trouvent chez l'espèce MED-Q (Horowitz et al. 2020). Les niveaux de résistance observés sont souvent extrêmement élevés (avec des facteurs de résistance parfois supérieurs à 1000), rendant l'utilisation des néonicotinoïdes totalement inefficace. Néanmoins, malgré l'ampleur des phénomènes de résistance, les

néonicotinoïdes restent encore une composante majeure de nombreux programmes de lutte contre les ravageurs ([Bass et al. 2015](#)).

II.4.5. La famille des pyridine-azométhrines : cas de la pymétozine

La pymétozine agit comme un modulateur des canaux TRPV (pour *transient receptor protein vanillin*), qui sont des récepteurs ionotropiques de l'organe chordotonal des insectes, activés par des ligands de la famille des vanilloïdes. Malheureusement, plusieurs cas de résistance croisée ont été reportés de par le monde, au sein de populations déjà résistantes aux néonicotinoïdes et appartenant soit à l'espèce MEAM1 soit à l'espèce MED-Q ([Gorman et al. 2010](#)). Le mécanisme sous-jacent de cette résistance est lié à la surexpression du cytochrome P450 CYP6CM1, qui permet l'hydroxylation de la pymétozine ([Nauen et al. 2013](#), [Nauen et al. 2015](#)). Cette surexpression a également été corrélée à la résistance à l'imidaclopride et à d'autres néonicotinoïdes ([Karunker et al. 2008](#), [Panini et al. 2017](#)). Ce mécanisme de détoxification conférant une résistance croisée entre l'imidaclopride, d'autres insecticides néonicotinoïdes et la pymétozine, illustre ainsi le risque d'apparition accrue de ce type de résistance lorsqu'une stratégie de gestion des aleurodes employant ces molécules en alternance est appliquée ([Nauen et al. 2013](#)).

II.4.6. Les nouvelles classes d'insecticides : kétoénols et diamides

Les kétoénols sont dérivés des acides tétronique (le spiromésifène) et tétramique (le spirotétramate) ([Horowitz et al. 2020](#)). Ils agissent comme des inhibiteurs de l'acétyl-coenzyme A carboxylase, enzyme impliquée dans la première étape de synthèse des acides gras. Ces molécules insecticides sont tout particulièrement efficaces contre les juvéniles, mais affectent également la fécondité et la fertilité des femelles adultes ([Bretschneider et al. 2003](#), [Nauen et al. 2003](#), [Brück et al. 2009](#)). De faibles niveaux de résistance ont d'abord été reportés à cette molécule chez des populations des espèces MED-Q ou Asia I-II ([Fernández et al. 2009](#), [Roy et al. 2019](#)). Mais plus récemment, des niveaux très élevés de résistance ont été identifiés dans des populations espagnoles et australiennes de *B. tabaci* appartenant aux espèces MED-Q et MEAM1 ([Lueke et al. 2020](#)), ainsi qu'une résistance croisée au spirotétramate chez l'espèce

MED-Q ([Bielza et al. 2018](#)), confirmant l'augmentation des niveaux de résistance pour cette nouvelle classe de molécules insecticides.

Les diamides agissent sur les récepteurs de la ryanodine des insectes, des canaux tétramériques calciques situés dans les tissus neuromusculaires. Ils constituent la classe chimique la plus récente sur le marché ([Nauen and Steinbach 2016](#)). Parmi les insecticides appartenant à cette classe chimique commercialisée, le cyantraniliprole est celui qui est préconisé contre les aleurodes ([Lahm et al. 2009](#)). Chez *B. tabaci*, l'espèce MED-Q a démontré une résistance faible à modérée au cyantraniliprole en Chine, après seulement une année d'utilisation ([Wang et al. 2018](#)). En revanche, aucune variation de la sensibilité à cette molécule n'a encore été détectée en Europe à ce jour ([Grávalos et al. 2015](#)).

II.5. Cadre de l'étude : l'île de La Réunion

II.5.1. Géomorphologie et climat

II.5.1.1. Géomorphologie

L'île de la Réunion est un département d'outre-mer français, ainsi qu'une région administrative, situé dans la zone sud-ouest de l'Océan Indien (SOOI), soit à 700 km à l'est de Madagascar et à près de 10000 km de l'Hexagone ($21^{\circ}06''S$; $55^{\circ}36''E$; [Figure II-26](#)). Il s'agit de la plus jeune et de la plus grande des îles de l'archipel des Mascareignes (avec une superficie de 2512 km^2), dont font également partie les îles Maurice (1865 km^2) et Rodrigues (104 km^2).

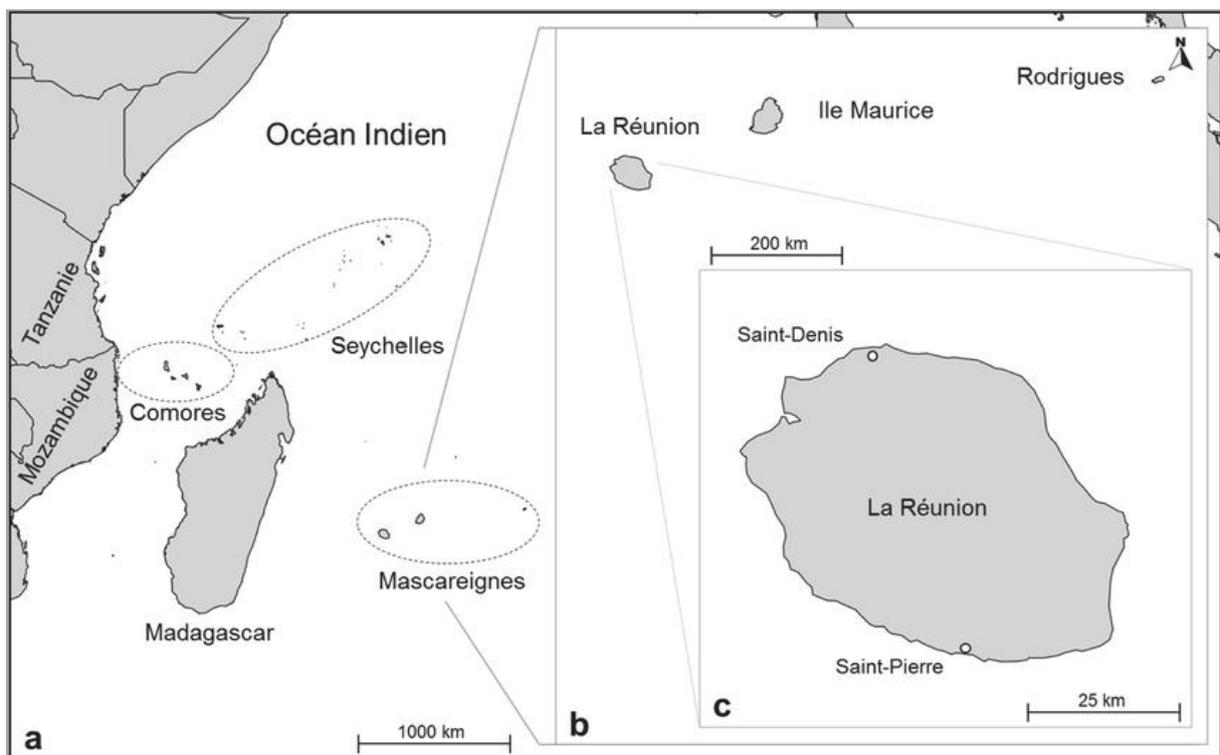


Figure II-26 : Situation géographique de l'île de La Réunion dans l'Océan Indien. Figure empruntée à [Sanchez et al. \(2012\)](#).

La Réunion aurait émergé, selon la datation des laves les plus anciennes, il y a $2,0 \pm 0,05$ millions d'années ([McDougall 1971](#)), par un volcanisme de point chaud ([Bonneville et al. 1988](#)), à l'origine de son point culminant : le Piton des Neiges (3071 m). Eteint depuis plus de 12000 ans ([Deniel et al. 1992](#)), cet ancien volcan constitue le premier massif montagneux de l'île, entouré de plusieurs sommets dépassant les 2000 m ([Figure II-27](#)). L'affaissement des anciennes chambres magmatiques, conjugué à une érosion très active, est à l'origine de trois grandes dépressions appelées « cirques », qui creusent le massif : les cirques de Mafate au nord-

ouest, de Salazie au nord-est et de Cilaos au sud de l'île. A l'est de Salazie, se trouve un quatrième cirque appelé cirque des Marsouins, mais ce dernier a été partiellement comblé lors de la dernière éruption du Piton des Neiges ([Kieffer 1990](#)). Dans le sud-est de l'île, séparé du premier par de hautes plaines, se trouve un second massif montagneux, celui du Piton de la Fournaise (2632 m). Il s'agit également d'un volcan de point chaud, mais c'est l'un des plus actifs de la planète. La datation des roches les plus anciennes de l'édifice volcanique indique qu'il se serait formé il y a environ 530000 ans ([Gillot and Nativel 1989](#)). Les précipitations fréquentes que connaissent les hauteurs de La Réunion forment des cours d'eau, qui achèvent d'entailler les versants en de profondes ravines, qui courent jusqu'à l'océan. Enfin, au pied de ces montagnes s'étend le littoral, avec plus de 200 km de côtes, sur lequel se concentre la majorité des villes et donc de la population.

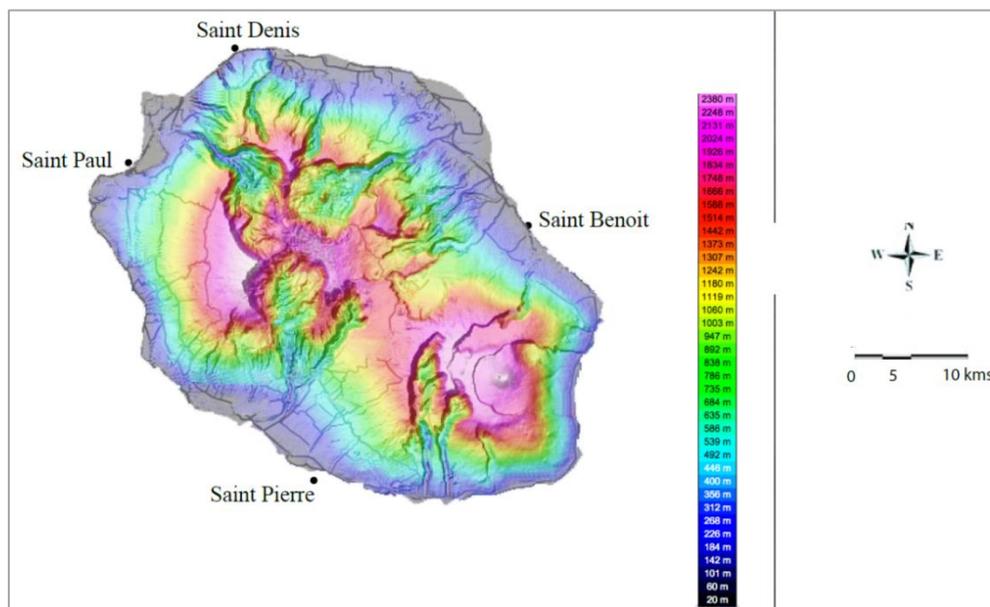


Figure II-27 : Carte de la topographie de La Réunion (<http://cartes-topographiques.fr>).

La colonisation par l'Homme des îles de l'archipel des Mascareignes a eu lieu au XVII^{ème} siècle, et plus précisément en 1660 à La Réunion avec l'installation des premiers français ([Cheke 2010](#)). Même s'il s'agit d'un événement récent, de nombreux habitats naturels ont été détruits, et ce de manière irréversible, emportant avec eux les deux-tiers de la faune vertebrée terrestre endémique de l'île ([Cheke 1987](#), [Mourer-Chauvire et al. 1999](#)). Cependant, grâce à ses ravines, pitons et remparts, le cœur de l'île est resté quasi intact. Ainsi, à l'échelle de l'archipel, La Réunion est l'île la plus préservée avec 25% des habitats naturels originaux conservés ([Strasberg et al. 2005](#)). Par ailleurs, Madagascar et les îles de l'Océan Indien

(archipels des Mascareignes, des Comores et des Seychelles) figurent sur la liste des 35 points chauds (ou *hotspots*) de biodiversité mondiale, en grand danger de disparition ([Myers et al. 2000](#), [Mittermeier et al. 2011](#)). C'est pourquoi en 2007, 42% de la surface de l'île est devenue parc national. Enfin, depuis 2010, les pitons, cirques et remparts sont inscrits au Patrimoine mondial de l'Unesco.

II.5.1.2. Climat

Le relief de l'île est à l'origine d'une multitude de microclimats, mais aussi d'une démarcation nette entre deux régions aux pluviométries très distinctes : la côte-au-vent, qui est la côte est de l'île, directement exposée aux alizés océaniques qui déversent d'importantes précipitations lorsqu'ils rencontrent les massifs montagneux ; et la côte-sous-le-vent, ou côte ouest qui, au contraire, bénéficie de la protection des massifs ([Figure II-28](#)). Du fait de la proximité du Tropique du Capricorne, il règne sur l'ensemble de l'île un climat tropical humide, caractérisé par l'alternance d'une saison sèche, l'été austral, et d'une saison des pluies pendant l'hiver austral ([McGregor and Nieuwolt 1998](#)). La Réunion étant située dans l'hémisphère sud, les saisons y sont inversées par rapport à l'Hexagone. Ainsi, l'hiver austral, caractérisé par un temps frais et sec (hormis pour la côte-au-vent), commence en mai et s'achève en novembre. Les températures moyennes oscillent entre 18 et 28°C sur la zone littorale, et entre 8 et 10°C aux alentours des 1000 m d'altitude. Aux altitudes les plus élevées, la température peut chuter en-dessous de 0°C, et les gelées sont fréquentes la nuit en plein cœur de l'hiver. L'été austral, de novembre à avril, est donc la saison chaude, avec de nombreuses précipitations et des nuages fréquents à l'intérieur des terres et en altitude. Les températures moyennes oscillent entre 21 et 31°C sur le littoral, et entre 10 et 24°C en altitude ([Jumaux et al. 2011](#)).

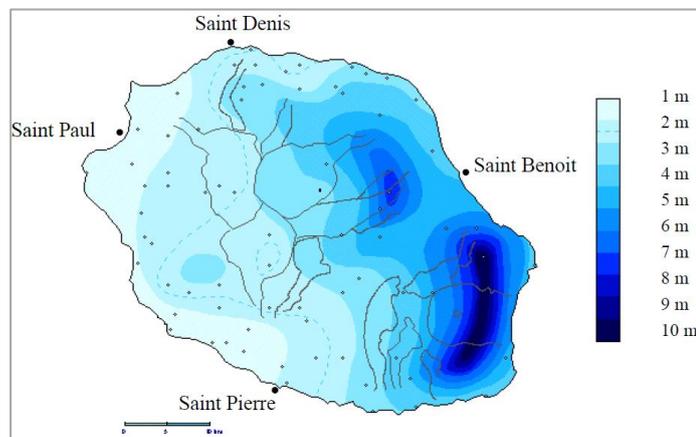


Figure II-28 : Carte de la pluviométrie moyenne annuelle à La Réunion (Atlas Climatique de La Réunion, 1997)

Du mois de novembre au mois d'avril, c'est la période cyclonique, durant laquelle des phénomènes météorologiques exceptionnels, de taille et d'intensité variables, apportent pluies torrentielles et vents violents. Par ailleurs, La Réunion est reconnue au niveau international pour ses nombreux records mondiaux de pluie, détenus pour des durées comprises entre 12 et 24 heures, et entre 3 et 15 jours (Météo France).

II.5.2. Production maraîchère et traitements phytopharmaceutiques

II.5.2.1. Occupation des sols

A La Réunion, ce sont 41943 ha de Surface Agricole Utile (SAU) qui sont exploités - 47943 si l'on tient compte des activités des particuliers non exploitants - ([Agreste DAAF de La Réunion 2018](#)) soit 20% de la surface totale de l'île. C'est un espace relativement réduit, du fait des contraintes géomorphologiques exposées précédemment. L'agriculture emploie 2% des réunionnais et sa contribution au Produit Intérieur Brut régional (PIB) est de 1,1% ([Bourgeois et al. 2018](#)). Cultivée sur 22700 ha (54% de la SAU) majoritairement répartis sur le littoral, la canne à sucre (*Saccharum officinarum*) est la première production végétale et compte pour 33,5% dans la valeur de la production agricole annuelle, soit 146 M€ ([Agreste DAAF de La Réunion 2019b](#)). La filière Canne-Sucre-Rhum est le premier secteur agro-industriel de l'île : elle représente à elle seule 50% des exportations réunionnaises en valeur ([Agreste DAAF de La Réunion 2019b](#)).

II.5.2.2. Maraîchage

La filière fruits et légumes réunionnaise, à laquelle étaient dédiés 5000 ha en 2018 soit 12% de la SAU, couvre près de 70% des besoins en frais de l'île ([Agreste DAAF de La Réunion 2019a](#)). La production totale en légumes était estimée à 52750 tonnes en 2017, dont 16400 tonnes pour la tomate à elle seule (*Solanum lycopersicum* L., 31%), ingrédient incontournable de la culture culinaire réunionnaise ([Agreste DAAF de La Réunion 2019a](#)). Les exploitations maraîchères sont des structures de dimension familiale, dont la surface n'excède pas 1 ha en moyenne ([Agreste DAAF de La Réunion 2015](#)). Bien que réparties sur l'ensemble de l'île, elles sont prédominantes dans le sud, et se rencontrent jusqu'à 1500 m d'altitude. Puisque les systèmes de culture sous abri permettent de pallier certaines contraintes biotiques et abiotiques, leur superficie a été multipliée par 10 en 20 ans ([Agreste DAAF de La Réunion 2019a](#)). Pour

deux tiers des exploitants, les cultures maraîchères viennent seulement en complément d'une autre activité principale, comme l'élevage ou la culture de la canne à sucre par exemple ([Agreste DAAF de La Réunion 2019a](#)). Les ravageurs des cultures, qui peuvent être vecteurs de maladies, sont une grande menace pour la pérennité de la filière. La pression est plus forte dans un pays au climat tropical humide comme La Réunion, par rapport à des pays tempérés, puisque les conditions qui favorisent l'enchaînement des cycles des ravageurs au cours d'une même année y sont réunies. Face à cette menace constante, la réponse est souvent chimique et systématique.

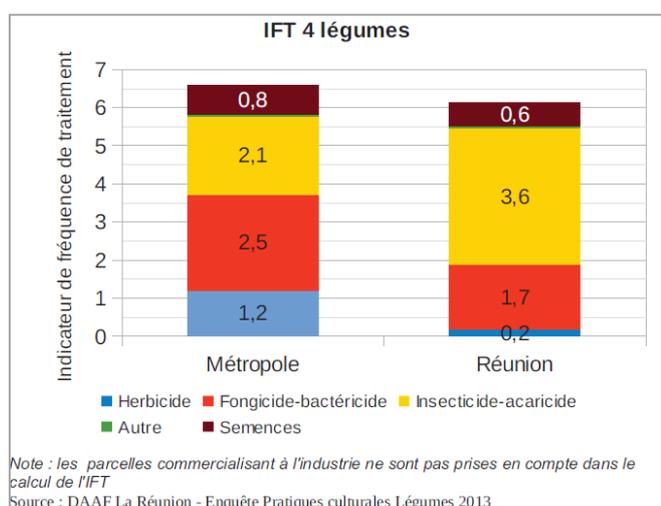
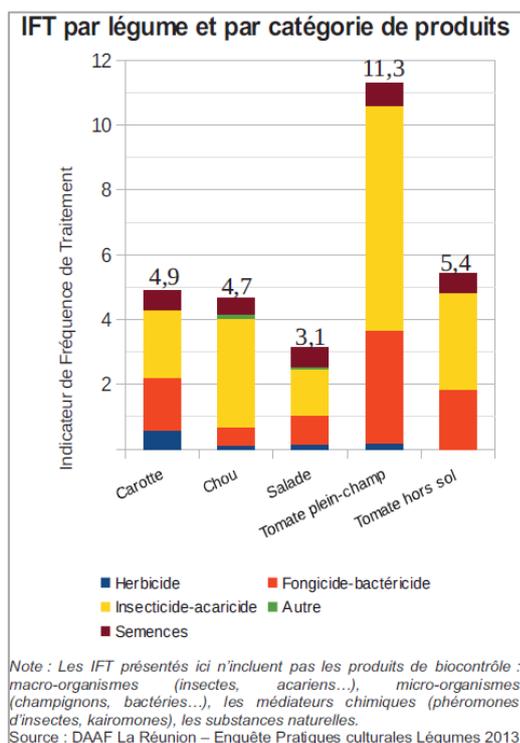
II.5.2.3. Traitements phytopharmaceutiques en culture de tomate

La Réunion, en tant que département français, est engagée dans une démarche de réduction de l'emploi des produits phytopharmaceutiques à des fins de préservation de l'environnement et de protection de la santé des producteurs et consommateurs de denrées agricoles. L'Indicateur de Fréquence de Traitement (IFT) est un outil de suivi de cette progression puisqu'il « comptabilise le nombre de doses homologuées (DH) appliquées sur un hectare pendant une campagne culturale », sachant que « la dose homologuée est définie comme la dose efficace d'application d'un produit sur une culture et pour un organisme cible (bioagresseur) donnés » ([Brunet et al. 2008](#)). L'IFT est un témoin de la pression phytosanitaire exercée sur les cultures et leurs ravageurs, permettant à l'agriculteur de situer ses pratiques culturales au regard de celles du territoire et de les moduler en conséquence.

Le volume n°102 d'Agreste, publié en décembre 2016 par la Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt (DAAF) de La Réunion, restitue les résultats d'une enquête réalisée en 2014 (portant sur la campagne 2013) auprès de 495 exploitations, au sujet des « traitements phytosanitaires en cultures de carotte, chou à feuilles, salade, tomate » ([Agreste DAAF de La Réunion 2016](#)). En ce qui concerne la tomate, deux modalités y sont étudiées : la tomate cultivée en plein air et en pleine terre, que l'on appelle tomate de plein champ, et la tomate cultivée sous abri avec un substrat que l'on appelle tomate hors-sol. Les résultats présentés dans les trois prochains paragraphes, ont donc cette étude pour source.

Pour la tomate de plein champ et la tomate hors-sol, comme pour les autres légumes enquêtés, l'IFT des insecticides et acaricides est plus élevé que celui des fongicides, bactéricides, herbicides et autres ([Figure II-29](#)). La culture de tomate de plein champ possède un IFT total plus de deux fois supérieur à celui de la culture de tomate hors-sol (respectivement 11,3 et 5,4). En effet, à La Réunion 43% des producteurs de tomate de plein champ ont recours

à des traitements systématiques, contre 25% seulement chez les producteurs de tomate hors-sol. La quasi-totalité des surfaces en tomate de La Réunion est concernée par au moins un traitement insecticide, alors que dans l'Hexagone cela concerne 76% des surfaces. Bien que l'IFT total pour les 4 légumes enquêtés soit sensiblement le même à La Réunion (6,1) que dans l'Hexagone (6,6), les insecticides et acaricides représentent les deux tiers des usages dans le premier cas (3,6), contre seulement un tiers dans le second (2,1 ; [Figure II-30](#)). Les avermectines, les pyréthriinoïdes et les néonicotinoïdes sont les trois grandes familles de molécules insecticides qui couvrent au moins 70% des utilisations à La Réunion en cultures de tomate de plein champ et de tomate hors-sol. Le caractère tropical du territoire de La Réunion, associé à une réglementation d'homologation des produits phytosanitaires d'origine européenne, peut aboutir à une inadéquation entre les ennemis des cultures et les moyens de lutte autorisés.



Figures II-29 (à gauche) et II-30 (à droite) : IFT selon les légumes cultivés à La Réunion et par catégorie de produits phytosanitaires (à gauche) ; IFT de 4 légumes cultivés à La Réunion (carotte, chou à feuilles, salade, tomate) par rapport à l'IFT appliqué sur ces mêmes cultures en France métropolitaine (à droite). Ces graphiques ont pour source la DAAF de La Réunion.

Les aleurodes sont la cible de 42% des traitements insecticides sur les cultures de tomate hors-sol, alors que sur les cultures de tomate de plein champ il s'agit des noctuelles (36% ; [Figure II-31](#)). Les « autres insectes » (absence de précision qui pourrait traduire un problème d'identification de la part des producteurs) constituent une part importante des cibles des traitements insecticides, notamment en culture de tomate de plein champ (>30%). Ainsi, selon l'environnement de culture, la pression insecticide diffère.

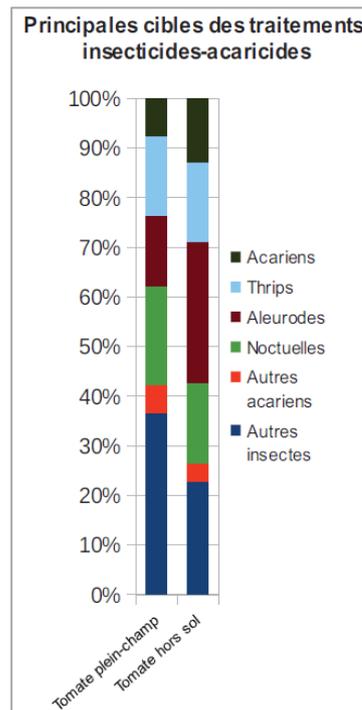


Figure II-31 : Principales cibles des traitements insecticides et acaricides (source : DAAF de La Réunion, Enquête Pratiques culturales Légumes 2013).

Bien que 31% des producteurs réunionnais continuent de traiter de manière systématique, la majorité d'entre eux décident de leurs interventions en fonction des ravageurs qu'ils observent sur leurs cultures. Parmi les autres méthodes de lutte rencontrées à La Réunion, en particulier chez les producteurs de tomate hors-sol, nous pouvons citer l'emploi de pièges physiques, de pièges à phéromones et de lampes UV. La protection agroécologique des cultures repose en partie sur la dynamique des populations d'auxiliaires. Même si les lâchers de macro-organismes n'ont pas été comptabilisés dans l'enquête Agreste pour des raisons techniques, l'existence à La Réunion d'une biofabrique appelée « La Coccinelle », prouve que ces méthodes sont également utilisées sur l'île. Cette biofabrique fait de l'élevage de masse d'insectes auxiliaires (7 espèces différentes en 2019, une dizaine à l'horizon 2020), notamment dans le cadre de la lutte contre les aleurodes sur cultures potagères.

II.5.3. *Bemisia tabaci*, le principal ravageur sur tomate

B. tabaci a été décrit pour la première fois à La Réunion en 1938 ([Bourriquet 1938](#)). Jusqu'à la fin des années 1990, celui-ci n'a jamais été considéré comme un problème pour la culture de la tomate à La Réunion. L'espèce IO est indigène à La Réunion, et a aussi été détectée à Maurice, aux Seychelles, à Madagascar et en Afrique de l'Est ([Delatte et al. 2005](#), [Sseruwagi et al. 2005](#), [Delatte et al. 2011](#)), puis à Rodrigues et aux Comores ([Delatte et al. 2011](#)), ainsi qu'en Afrique centrale ([Tocko-Marabena et al. 2017](#)). Suite à la première détection du TYLCV sur l'île de La Réunion en 1997 ([Peterschmitt et al. 1999](#)), associée à une pullulation inédite de *B. tabaci* sur cultures maraîchères, des analyses moléculaires ont été menées afin d'identifier les populations en présence ([Delatte et al. 2005](#)). Grâce à la comparaison de séquences du gène mitochondrial COI et à l'emploi de marqueurs RAPD, la présence de deux espèces a pu être mise en évidence ([Delatte et al. 2005](#)). Il s'agissait de l'espèce invasive MEAM1, ainsi introduite à la fin des années 1990 et responsable de cette sévère épidémie de TYLCV ([Delatte et al. 2007a](#)). Ainsi, avant l'introduction de l'espèce MEAM1 à La Réunion (et avec elle, celle du TYLCV), aucune mesure de protection des cultures n'avait été entreprise dans le but d'éradiquer *B. tabaci* ([Delatte et al. 2007a](#)). Au début des années 2010, suite à une nouvelle pullulation observée sur le terrain dans le sud de La Réunion, l'introduction d'une nouvelle espèce de *B. tabaci* est suspectée ([Thierry et al. 2015](#)). Grâce à l'analyse de données moléculaires et à l'étude de la diversité de la communauté endosymbiotique présente dans les populations de La Réunion, une seconde espèce invasive d'aleurode est identifiée : l'espèce MED-Q (Q1 et Q2 ; [Thierry et al. 2015](#)). Depuis lors, les trois espèces coexistent sur l'île.

Des préférences écologiques et des dynamiques différentes ont été mises en évidence chez les espèces MEAM1 et IO ([Delatte et al. 2006](#), [Delatte et al. 2009](#)). En effet, l'espèce indigène, localement adaptée, a été retrouvée sur l'ensemble de l'île, mais semble majoritaire dans l'est ([Figure II-32](#) ; [Thierry et al. 2011](#)). L'espèce invasive MEAM1 quant à elle, bien que présente également sur toute l'île, pullule dans les zones de maraîchage de la côte ouest, notamment dans les serres de tomate où elle est l'espèce dominante ([Thierry et al. 2011](#)). Alors que IO et MEAM1 vivent en [sympatrie](#) au sein de plusieurs sites sur l'île, ils tendent à se séparer selon les plantes hôtes (et par extension, selon l'habitat) : MEAM1 a montré une préférence pour les cultures d'intérêt agronomique, et IO pour les adventices ([Delatte et al. 2009](#) ; [Figure II-32](#)). D'autre part, des observations menées en laboratoire ont mis en évidence le fait que, sur plante cultivée, MEAM1 pouvait se distinguer de son homologue IO quant à sa valeur sélective (ou *fitness*). En effet, sur tomate, MEAM1 a démontré une capacité de reproduction plus

efficace, avec des durées de stades larvaires moindres et une fécondité supérieure (Delatte et al. 2009). Ceci conférerait à l'espèce invasive un avantage sélectif sur l'espèce résidente, et cela sans qu'aucun compromis n'ait été observé, dans les conditions de l'expérience (Delatte et al. 2009). Néanmoins, il a été constaté sur le terrain que l'espèce résidente restait prédominante sur les plantes hôtes de type adventices, ainsi qu'au sein d'un climat à humidité élevée (Delatte et al. 2009). Enfin, en ce qui concerne l'espèce MED-Q, l'analyse des données moléculaires de la campagne d'échantillonnage d'avril 2010 a montré que sa présence était, à cette époque, restreinte à la commune de Saint-Pierre (Thierry et al. 2015).

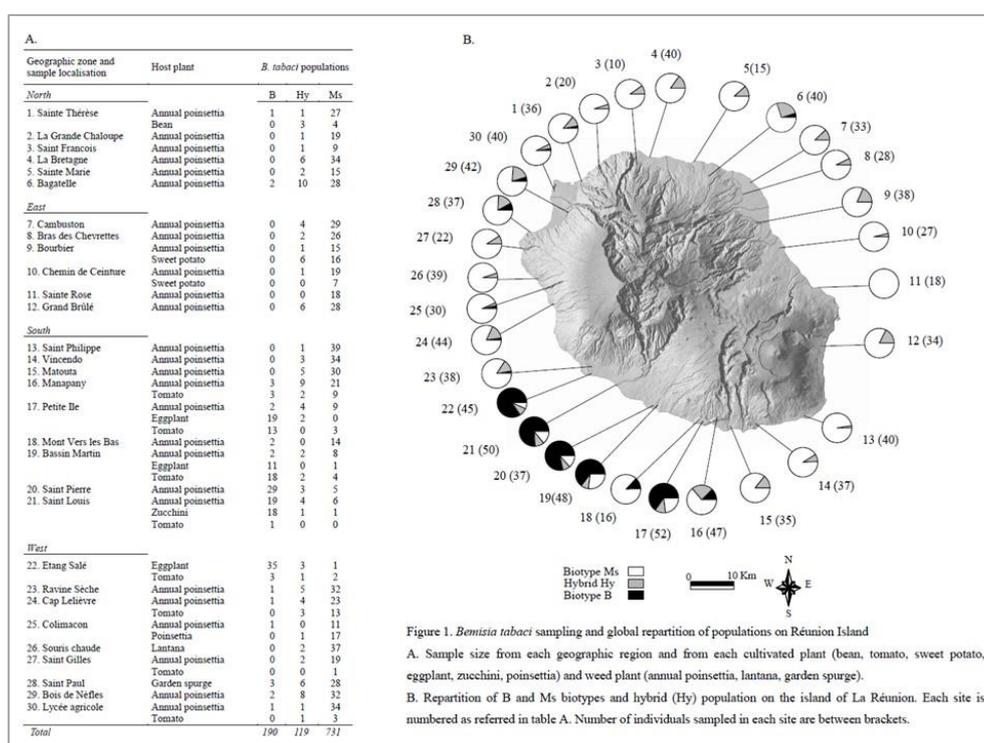


Figure II-32 : D'après Thierry et al. (2011); résultats de la campagne d'échantillonnage des populations d'aleurodes (avril 2006).

Des hybrides des deux espèces IO et MEAM1 ont été collectés sur le terrain, à plusieurs reprises et sur différents sites d'échantillonnage en l'espace de 9 ans (Delatte et al. 2006, Delatte et al. 2011, Thierry et al. 2015 ; Figure II-33). Pour la première fois de par le monde, la possibilité d'hybridation interspécifique en conditions naturelles de deux espèces de *B. tabaci* a été démontrée. Cependant, ces hybrides étaient présents en forte quantité en début d'invasion, puis en très faible quantité 9 ans après, au sein de populations à majorité d'individus « purs » MEAM1 ou « purs » IO (Delatte et al. 2006, Delatte et al. 2011, Thierry et al. 2015). La ségrégation partielle dans l'espace des niches occupées par les deux espèces contribue à un

isolement reproducteur prézygotique, mais elle n'est pas suffisante pour expliquer les faibles taux d'hybridation. Une des hypothèses avancées est que ces hybridations seraient non aléatoires, caractérisées par l'existence d'un déséquilibre nucléo-cytoplasmique chez les hybrides ([Thierry et al. 2011](#)). Ce phénomène serait à l'origine d'un isolement reproducteur postzygotique, qui contribuerait également à la diminution significative des hybrides entre IO et MEAM1 au cours du temps. Toutefois, ce phénomène n'expliquerait qu'en partie l'isolement, et d'autres mécanismes pré- ou post-zygotiques seraient à l'œuvre. Durant la campagne d'échantillonnage d'avril 2010, aucun hybride entre IO et MED-Q ou entre MEAM1 et MED-Q n'a été détecté ([Thierry et al. 2015](#)). En effet, bien que MEAM1 et MED-Q vivent en sympatrie dans les conditions naturelles, biologiquement, ils ne peuvent pas s'hybrider ([Elbaz et al. 2010](#), [Saleh et al. 2012](#), [Qin et al. 2016](#)).

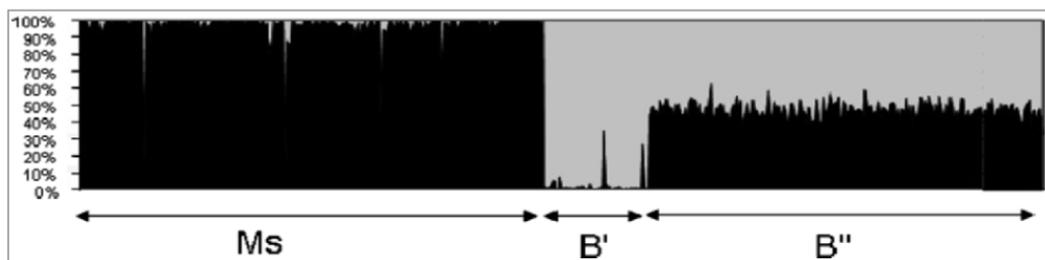


Figure II-33 : D'après [Delatte et al. \(2007a\)](#) ; l'analyse de la structure génétique des populations de La Réunion révèle l'existence d'hybrides interspécifiques (notés « B' ») entre MEAM1 (noté « B' ») et IO (noté « Ms »).

Sachant que les espèces IO et MEAM1 sont capables de s'hybrider, et que de nombreux mécanismes de résistance aux insecticides ont été mis en évidence chez MEAM1 ([Basit 2019](#), [Horowitz et al. 2020](#)), nous ne pouvons pas, *a priori*, exclure la possibilité d'introgession d'(un) allèle(s) de résistance chez l'espèce résidente, ainsi que sa (leur) diffusion au sein des populations, sous la pression de sélection imposée par les traitements insecticides. Aussi, l'espèce IO n'a jamais été considérée comme une espèce invasive ; cependant, d'un point de vue phylogénétique, elle est regroupée avec MEAM1 et MED-Q au sein du clade des espèces « invasives » ([Delatte et al. 2005](#), [Boykin et al. 2007](#) ; [Figure II-21](#)). De plus, il a été montré que l'espèce IO était capable d'induire des symptômes d'argenture sur *Cucurbita sp.*, et qu'elle était aussi efficace que l'espèce MEAM1 pour transmettre le TYLCV ([Delatte et al. 2005](#)). Pour toutes ces raisons, les risques que pourrait représenter l'espèce IO pour l'agriculture de la zone SOOI ne doivent pas être négligés. Toutefois, chez cette espèce, les mécanismes de résistance aux insecticides n'ont jamais été étudiés, et de même, nous ne savons rien des niveaux de résistance des populations de MEAM1 et de MED-Q présentes à La Réunion.

III. Objectifs de la thèse

L'objectif général de ce travail de thèse est d'étudier l'évolution de la résistance aux insecticides chez trois espèces cryptiques du modèle *Bemisia tabaci*, dans un contexte d'invasion biologique en milieu insulaire.

En tant que vecteurs de nombreuses maladies virales, les populations d'aleurodes font l'objet d'une surveillance rapprochée. Dans les systèmes agricoles, ces espèces sont la cible de traitements insecticides répétés, visant à contrôler leurs populations. La présence de différentes espèces dans la même zone soulève des questions d'ordre pratique, mais également d'un point de vue plus fondamental. Premièrement, ces espèces peuvent présenter des caractéristiques biologiques différentes (par exemple, concernant l'efficacité avec laquelle elles transmettent un virus ou leurs traits d'histoire de vie), et démontrer des préférences écologiques (par exemple, pour le choix de la plante hôte). Deuxièmement, l'invasion par des espèces exotiques peut engendrer de la compétition (compétition par exploitation, déplacements compétitifs, etc.), de l'hybridation avec les espèces résidentes, ou encore l'introduction de nouveaux phytovirus dans la région.

L'hybridation (même partielle) peut renforcer les invasions biologiques, par la création de phénotypes transgressifs, plus extrêmes que les phénotypes des espèces (ou populations) mises en contact. Cela se traduit par des valeurs sélective et adaptative supérieures, chez les descendants issus de croisements interspécifiques. Pratiquement, dans le cas de ravageurs agronomiques, ce phénomène peut modifier l'efficacité des stratégies de lutte.

Comme détaillé précédemment, depuis son introduction sur l'île à la fin des années 1990, l'espèce exotique invasive MEAM1 est un fléau pour le maraîchage réunionnais. La réponse repose souvent sur l'emploi de produits phytosanitaires, ce qui peut conduire à l'évolution de résistances vis-à-vis de ces produits. Dans ce contexte, mon travail de thèse se décline en quatre grands axes, détaillés comme suit.

Afin de concevoir des mesures de contrôle et de gestion appropriées face à ce complexe d'espèces de ravageurs des cultures, il est primordial de commencer par faire l'état des lieux de la répartition des espèces résidente et invasives à La Réunion, et en particulier au sein des agroécosystèmes. J'ai cherché à comprendre cette distribution en fonction des différents écosystèmes échantillonnés (zone non agricole, abords de cultures, plein champ ou serre). De même, j'ai étudié la diversité génétique et la structure des populations au sein des espèces, selon différents facteurs abiotiques et biotiques. La dernière question abordée dans ce premier axe est

celle de l'hybridation interspécifique : sa fréquence, ses caractéristiques (sens d'hybridation), sa répartition et l'implication d'un tel phénomène sur les populations résidentes et introgressées, vis-à-vis de l'acquisition d'une résistance aux insecticides. Le milieu insulaire est ici un contexte particulier, puisque les mécanismes évolutifs y sont généralement plus rapides.

Je suis partie de deux hypothèses : i) la pression de sélection des traitements insecticides pourrait impacter la répartition des espèces d'aleurodes indigène et invasives à La Réunion, au sein des agroécosystèmes ; ii) l'hybridation entre l'espèce invasive MEAM1 et l'espèce résidente IO serait impliquée dans l'évolution de la résistance aux insecticides chez les espèces cryptiques d'aleurodes du complexe d'espèces *B. tabaci* à La Réunion.

Ces flux de gènes et hybridations interspécifiques permettent la diffusion d'allèles résistants entre populations et espèces. J'ai donc ensuite étudié une mutation déjà décrite chez *B. tabaci sensu lato*, connue pour conférer une résistance aux pyréthriinoïdes. J'ai étudié les allèles présents chez les trois espèces étudiées, ainsi que leurs fréquences dans les populations de La Réunion (selon le même échantillonnage que pour la génétique des populations). Ici aussi, j'ai apporté une attention particulière à l'impact de l'hybridation sur la présence de la mutation chez les différentes espèces.

Mes hypothèses de départ sont : i) les espèces invasives portent la(les) mutation(s) qui confère(nt) la résistance aux pyréthriinoïdes (à l'image de ce qui est observé à travers le monde), alors que IO ne la(les) porte pas ; ii) l'hybridation permet l'introgression de l'allèle de résistance (qui est bénéfique lors de traitements insecticides) chez l'espèce IO.

Ces deux axes de recherches sont groupés en une même publication en préparation, et constituent le premier chapitre du présent manuscrit.

Dans un second temps, j'ai évalué les niveaux de résistance aux insecticides des différentes populations pour l'espèce MEAM1 et l'espèce IO (l'espèce MED-Q et les hybrides étant trop rares et donc difficiles à tester), grâce à la conduite de bioessais. Un des objectifs était de relier le niveau de résistance estimé à la pression insecticide appliquée (ou *a minima*, avec le type de milieu de prélèvement).

Nos hypothèses sont les suivantes : i) l'espèce invasive MEAM1 est plus résistante aux insecticides que IO ; ii) des niveaux de résistance plus élevés sont rencontrés dans les zones où les traitements sont fréquents (les plein-champs et les serres, comparés aux abords de systèmes cultivés et aux milieux non cultivés).

A la suite de cette évaluation de la résistance, j'ai cherché à mettre en évidence un coût pour la *fitness*, associé à la résistance aux insecticides, chez l'espèce MEAM1. La présence

d'un coût lié à la résistance est un élément important pour la gestion à long terme des populations d'aleurodes. En effet, en l'absence de traitements insecticides, un coût associé à l'allèle résistant peut aboutir à une contre-sélection de cet allèle et donc à la baisse de sa fréquence dans la population. Mon but était donc de mesurer des traits d'histoire de vie liés à la *fitness* (fécondité, survie, taux d'éclosion...), sur un ensemble de populations montrant des niveaux de résistance contrastés. L'hypothèse est très simplement que des populations plus résistantes présentent des *fitness* plus faibles en absence de traitements.

Ces deux derniers axes de recherche font l'objet d'une publication parue dans la revue *Pest Management Science* et constituent le chapitre 2 de ce manuscrit.

A la suite de ces deux chapitres, je discute des résultats obtenus pour y apporter à la fois une vision évolutive globale des processus mis en évidence, mais aussi une vision plus pratique orientée vers la gestion de ces populations de ravageurs agronomiques.

IV. Chapitre 1

Evolution de la répartition des espèces d'aleurodes invasives (MEAM1, MED-Q) et indigène (IO) vis-à-vis de la distribution des allèles de résistance aux pyréthrinoïdes dans un contexte d'hybridation interspécifique[†]

Résumé

Dans un contexte de changement climatique et de croissance continue des échanges commerciaux à l'échelle mondiale, les invasions biologiques ont un impact de plus en plus important, tant d'un point de vue économique, écologique que sanitaire. De nombreuses espèces invasives sont des ravageurs des cultures qui peuvent générer des pertes agricoles importantes. La probabilité d'invasion dépend de nombreux facteurs qui concernent à la fois l'espèce introduite et l'environnement d'arrivée. Une fois arrivée dans un nouveau milieu, l'installation de l'espèce introduite dépend de l'adéquation entre ses capacités biologiques et ce milieu. Ainsi, la résistance aux insecticides peut jouer un rôle de facilitation pour l'installation d'insectes ravageurs. En outre, les invasions biologiques peuvent également menacer les espèces locales, par compétition interspécifique ou par hybridation.

A La Réunion, l'espèce résidente d'aleurode IO ne constituait pas une menace pour l'agriculture. Les invasions successives des espèces de ce complexe cryptique d'aleurodes, MEAM1 puis plus récemment MED-Q, ont changé la donne et ont mené à l'utilisation intensive d'insecticides pour contrôler ces vecteurs de maladies virales. En utilisant des marqueurs moléculaires neutres (microsatellites) et sous sélection (allèles de résistance aux pyréthrinoïdes), cette étude fait le point sur la distribution de ces trois espèces sur l'île de La Réunion et la présence d'évènements d'hybridation, tout en essayant de comprendre le rôle de la résistance aux insecticides dans les évolutions des répartitions constatées sur le terrain.

Cinquante-six populations d'aleurodes ont été échantillonnées dans les agrosystèmes (serres et plein champs), mais aussi aux abords d'agrosystèmes et en zones non agricoles. Au total, 1562 individus ont été génotypés à l'aide de 11 marqueurs microsatellites, et des analyses de génétique des populations ont été menées. L'identification des espèces a été confirmée sur

[†] Ce chapitre est en préparation en vue d'une soumission à une revue internationale à comité de lecture.

un sous-échantillonnage de 286 individus par séquençage (du gène mtCOI). Ces analyses confirment la présence des trois espèces, avec une prédominance de l'espèce MEAM1 dans les zones échantillonnées. Cette espèce est majoritairement présente dans les agrosystèmes, alors que l'espèce IO a surtout été identifiée dans les milieux non agricoles et sur les abords des agrosystèmes. L'aire de distribution de la seconde espèce introduite MED-Q (l'une des espèces les plus invasives au monde), reste à ce jour très limitée et confinée aux agrosystèmes. On observe une plus faible diversité génétique pour les espèces invasives, ainsi qu'attendu à la suite de goulots d'étranglement. La différenciation génétique observée chez l'espèce locale est très faible, alors qu'une structure modérée a été relevée pour l'espèce MED-Q.

Sur l'ensemble des individus échantillonnés, on trouve un très faible pourcentage d'hybrides (2%). Il y a peu d'hybrides de première génération : la plupart des hybrides identifiés sont issus de plusieurs générations de rétrocroisements. La présence, même en faible proportion, d'hybrides indique que l'isolement reproducteur entre les deux espèces est incomplet. L'assignation de ces hybrides semble liée au milieu échantillonné : les individus sont plutôt rétrocroisés avec MEAM1 dans les agrosystèmes (milieu de prédilection de MEAM1), et plutôt rétrocroisés avec IO en bordure de champ et en zone non agricole.

Dans un second temps, l'ensemble des individus ont été génotypés par PCR-RFLP pour une mutation conférant la résistance aux pyréthrinoïdes. Les résultats sont très tranchés : les individus de l'espèce IO sont tous homozygotes sensibles, tandis que les individus de l'espèce MEAM1 sont très majoritairement homozygotes résistants (99,6%). Les hybrides MEAM1-IO rétrocroisés vers IO sont tous sensibles, tout comme tous les individus de l'espèce IO analysés : il n'y a donc aucun signe d'introggression d'un allèle de résistance vers l'espèce IO. Au contraire, les hybrides rétrocroisés vers MEAM1 portent l'allèle de résistance (à l'état d'homozygote 94%). De même, les 9 individus de l'espèce MEAM1 portant un allèle de sensibilité sur les loci conférant la résistance au pyréthrinoïdes, portent aussi, sur un troisième locus, une mutation synonyme identique à celle portée par l'espèce IO (et fixée dans ces populations). Cet allèle pourrait être la trace d'une hybridation ancienne entre ces espèces. Ainsi, l'hybridation interspécifique générerait l'apport d'un allèle de sensibilité à l'espèce invasive MEAM1. Tous les individus de l'espèce MED-Q portent également au moins un allèle de résistance.

Pour conclure, la distribution des espèces et la présence de mutations conférant une résistance aux pyréthrinoïdes offrent une image très contrastée entre espèces invasives résistantes, majoritaires dans les agrosystèmes, et espèce indigène sensible plutôt associée aux milieux non cultivés. L'espèce MED-Q n'a pas vu son aire de distribution s'étendre avec le temps, et l'espèce IO n'a pas acquis d'allèle de résistance malgré les pressions de sélection

imposées par les traitements insecticides répétés, et sa capacité marginale à s'hybrider avec MEAM1.

Evolution of the distribution of invasive (MEAM1, MED-Q) *versus* native (IO) whitefly species regarding the distribution of a resistance allele to pyrethroids: in a context of interspecific hybridization

IV.1. Introduction

Biological invasions, which could be defined as the successful establishment and spread of species outside their native range ([Pimentel et al. 2001](#)), are one of the world's costliest ecological concerns ([Wilcove and Chen 1998](#)). Indeed, they are partly responsible of the loss of biodiversity, by altering ecosystems and natural habitats ([Singer et al. 2008](#)), disrupting agriculture and posing multiple threats to native species (through competition, predation, hybridization or even introduction of parasites and diseases ; [Ruesink et al. 1995](#), [Rhymer and Simberloff 1996](#), [Vitousek et al. 1996](#), [Daszak et al. 2000](#)). Not all introduced species settle permanently in a new environment, they must be able to pass through a few critical steps: transport or emigration, introduction, establishment, expansion and proliferation ([Lockwood et al. 2005](#), [Blackburn and Jeschke 2009](#)). In each of these different steps, evolutionary mechanisms may play an important role ([Facon et al. 2006](#)).

During biological invasion, previously isolated species or populations (i.e. [allopatric](#) populations) can be brought into contact and hybridize. Hybridization can generate new evolutionary solutions, through the pooling of differentiated genetic backgrounds and the increase of genetic variation. Due to the creation of novel genotypes, hybrids may exhibit more extreme transgressive phenotypes (compared to their parents), and may display an enhanced fitness ([Rhymer and Simberloff 1996](#), [Ellstrand and Schierenbeck 2000](#)). Admixture offers many benefits to invaders, suggesting that hybridization could play an important role in biological invasions ([Verhoeven et al. 2011](#)). Concerning agricultural pests, hybridization can alter the effectiveness of control strategies.

As they arrive in a new environment, invasive species have to face novel selection pressures, biotic as well as abiotic. Invasion success in agroecosystems may be promoted by insecticide treatments. In fact, insecticide use is a major selective force driving the evolution of insect pests and it may also increase the rate of mutations via epigenetic processes ([Brevik et al. 2018](#)). For example, one possible reason for the spread of thrips *F. occidentalis* is that intensive insecticide use in horticulture have selected an insecticide resistant strain, allowing its establishment in glasshouses across North America, and later to Europe, Asia, Africa and

Australia ([Kirk and Terry 2003](#)). [Piiroinen et al. \(2013\)](#) have demonstrated that the phenotypic traits of insect pests that allow them to thrive under insecticide exposure, may also facilitate global invasions. For instance, sublethal pyrethroid insecticide exposure has transgenerational positive effects on fitness-related traits in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*, traits that are known to facilitate population growth and invasion success ([Margus et al. 2019](#)). Although many insect pest populations have shown resistance to pyrethroids, it remains one of the most commonly used insecticide class because it shows low risk to mammals ([Vais et al. 2001](#), [Smith et al. 2018](#)). A well-known and major pyrethroid resistance mechanism in insects, commonly referred to as knockdown resistance or ‘*kdr*’, is targeting the voltage-gate sodium channel gene ([Guerrero et al. 1997](#), [Morin et al. 2002](#), [Kasai et al. 2011](#), [Brito et al. 2013](#)). Thus, monitoring the spread of *kdr* mutant alleles among pest populations in the field is considered to be an accurate method to predict the efficacy of pyrethroids.

Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) is a highly adaptable insect pest, distributed throughout tropical and subtropical regions worldwide, and responsible for heavy crop losses ([Perring 2001](#), [De Barro et al. 2011](#)). Because of its ability to transmit more than 200 phytoviruses to an impressive range of host plants, it is threatening food security around the world ([Navas-Castillo et al. 2011](#)). *B. tabaci* is considered to be a cryptic species complex with at least 40 morphologically indistinguishable species ([De Barro et al. 2011](#), [Hu et al. 2018](#), [Mugerwa et al. 2018](#), [Kanakala and Ghanim 2019](#)). Two of these cryptic species are invasive worldwide: the Middle East Asia Minor 1 species (MEAM1) and the Mediterranean species (MED-Q), formerly known as B and Q biotypes, respectively ([De Barro et al. 2011](#), [Vyskocilova et al. 2018](#)).

The MEAM1 whitefly species was responsible of a first worldwide invasion, observed in the late 1980s and concomitant with the expansion of the trade of ornamentals ([Cheek and Macdonald 1994](#), [Perring 2001](#)). Indeed, from the Middle East–Asia Minor region (its region of origin), it has invaded more than fifty countries worldwide ([De Barro et al. 2011](#)). It has been followed in early 2000s by the MED-Q species, which has spread globally from the countries bordering the Mediterranean basin ([Horowitz et al. 2003](#), [De Barro et al. 2011](#)). Both species have evolved resistance to insecticides from most chemical classes ([Basit 2019](#)), but MED-Q was reported to have a larger spectrum of resistance than MEAM1 to insecticides such as pyriproxyfen and neonicotinoids ([Horowitz et al. 2005](#)). This difference between resistance statuses may have played a role in the displacement of the MEAM1 species by the MED-Q species in some countries ([Horowitz et al. 2020](#)).

In the island of La Réunion, three species of this whitefly complex have been described. The indigenous species IO, coexisting with two invasive species: MEAM1 and MED-Q. The arrival of the MEAM1 species was dated to the late 90ies, together with the first description of the *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV, genus: *Begomovirus*, family: *Geminiviridae*) ([Peterschmitt et al. 1999](#), [Delatte et al. 2005](#)), that implied high yield losses on tomato crops, and the use of phytosanitary control measures for this pest ([Delatte et al. 2007a](#)). Two studies based on the analysis of the genetic diversity of the whitefly populations have described the occurrence of interspecific hybridization between both MEAM1 and IO species, with ecological concerns regarding this hybridization ([Delatte et al. 2006](#), [Delatte et al. 2011](#)). Then in 2010, the MED-Q species was first detected on the island ([Thierry et al. 2015](#)). Therefore, to further explore the interactions between those resident and invasive species we studied (i) the evolution of the distribution of the three species since their first description on the island, (ii) their genetic diversity and structure, and iii) the evolution of the interspecific hybridization, in relation to the distribution of the *kdr* alleles conferring resistance to pyrethroids in agrosystems, subjected to high insecticide pressure.

IV.2. Materials and methods

IV.2.1. *Bemisia tabaci* collection and DNA extraction

La Réunion is a French subtropical island, with a high-altitudinal gradient (from 0 to 3071 meters above sea level - masl), located in the southwest Indian Ocean at 700 km east of Madagascar. Adult whiteflies were sampled in 56 different sites of this island, from April 2016 to December 2017 ([Figure IV-1](#)). Sampling was mostly done in agricultural areas, all over the island, along the coastal strip from 0 to 500 masl, where market gardening production is more important. Each collection site corresponds to a type of environment (greenhouse, open field, field surroundings or non-cultivated area).

At each collection site, GPS coordinates were recorded and about 50 individuals were sampled at random on crops or weeds, by vacuuming plant foliage with a mouth aspirator. Cultivated host plants included tomato *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae), eggplant *Solanum melongena* L. (Solanaceae), cucumber *cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae), and melon *Cucumis melo* L. (Cucurbitaceae); and weeds included Mexican fireplant *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae), bean *Vigna* sp. L. (Fabaceae), lantana

Lantana camara L. (Verbenaceae), *innoxia Datura innoxia* Mill. (Solanaceae), turpeth
Operculina turpethum.

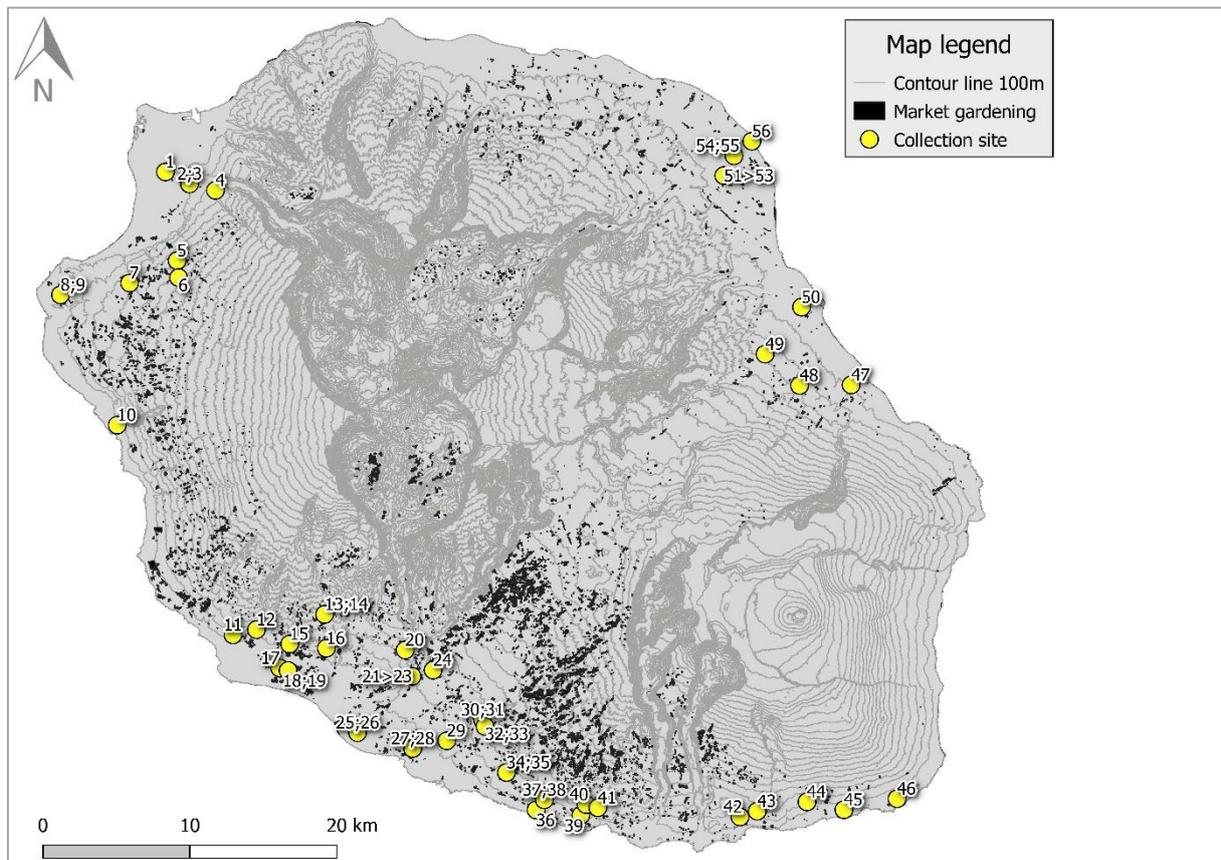


Figure IV-1: Global repartition of *B. tabaci* collection sites in and around market gardening areas of La Réunion. Each site is named as referred to in [Table IV-1](#).

Adult whiteflies were conserved in tubes containing 95% ethanol, and held at -20°C in the laboratory until DNA extraction. Collected adult whiteflies were sexed under a Leica MZ6 stereomicroscope ([Calvert et al. 2001](#)). Indeed, only adult females were used for the population genetic analyses due to the haplo-diploid status of the species. A non-destructive DNA extraction method was used as described in [Tocko-Marabena et al. \(2017\)](#). Then, extractions were conserved at -30°C until further use.

IV.2.2. Mitochondrial DNA amplification and sequencing

Taxonomic identification of the cryptic species of the *B. tabaci* complex is based on the sequencing of the partial 3' mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) ([De Barro et al. 2011](#)). Polymerase chain reactions (PCR) were performed as described in [Ally et al. \(2019\)](#), using the primer pair designed by [Mugerwa et al. 2018](#) (Supporting information, [Table IV-S1](#)). DNA Amplicons were then sent to Macrogen Europe laboratory for sequencing. Sequences were manually edited and aligned using Geneious™ software R10.2.6 ([Kearse et al. 2012](#)), and then compared with reference sequences from GenBank using the BLAST algorithm.

IV.2.3. Nuclear microsatellite PCR amplification and genotyping

Nuclear microsatellite PCR amplification was done using 11 loci, combined in three multiplex primer reactions ([Table IV-S1](#)). PCR amplification, dilution of PCR products, formamide denaturation of DNA and genotyping was according to [Ally et al. \(2019\)](#). Nuclear microsatellite genotyping was carried out with an Applied Biosystem© 3130XL DNA sequencer. Peaks were scored manually using GeneMapper™ software v4.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

IV.2.4. Population genetic analysis

MICRO-CHECKER software was used to correct genotyping errors in our microsatellite data, identifying non-amplified alleles, short allele dominance and the scoring of stuttering peaks ([Van Oosterhout et al. 2004](#)). For each of our three cryptic species, mean number of allele per population, allelic richness, observed heterozygosity, expected heterozygosity, and fixation indices ([Weir and Cockerham 1984](#)) were calculated using GENEPOP v4.7 ([Raymond 1995](#)). Hardy-Weinberg equilibrium was tested and *p*-value adjusted with Bonferroni correction. [Linkage disequilibrium](#) was tested with GENEPOP between pairwise populations and markers. The software BOTTELNECK v1.2.02 ([Piry et al. 1999](#)) was used to test the temporary excess of heterozygosity that results from a decrease of the effective population size. Deviations from expected heterozygosity were computed through 1000 permutations, with the stepwise mutation model (SMM) and the two-phased model of mutation (TPM).

IV.2.5. Population structure analysis

[Bayesian cluster analyses](#) were performed to assess genetic population structure between our populations. The first analysis was done with the latest version of the Structure software ([Pritchard et al. 2000](#)). We first analyzed the whole dataset, including MEAM1, IO and MED-Q species; setting Structure with a 100 000 burn in iteration (10%) and followed by 1 000 000 Markov Chain Monte-Carlo (MCMC) iterations. The number of assumed clusters (K) was set to a range going from 1 to 20, each step being repeated 5 times. The best K was estimated by means of Δk as described by [Evanno et al. \(2005\)](#), using the online program Structure Harvester ([Earl and VonHoldt 2012](#)). Then, a Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) was performed in R ([R Core Team 2020](#)), between those genetic clusters, using the ‘adegenet’ package v2.1.3 ([Jombart and Ahmed 2011](#)). The two (Structure and DAPC) analyses were congruent and analyses were further carried out.

Because of the existence of hybrids between both MEAM1 and IO species ([Delatte et al. 2006](#)), we analyzed a first subset excluding MED-Q species, in order to better identify these individuals. We further split the whole dataset into three other subsets, each species being taken alone to decipher their substructure. For these four analyses of population structure (MEAM1& IO, MEAM1, IO and MED-Q), Structure was also set with 100 000 burn in length with run length of 1 000 000 MCMC. The number of assumed clusters was set to a range going from 1 to 20, but each step was repeated 5 times. The best K was estimated with Structure Harvester ([Earl and VonHoldt 2012](#)), then structure software was run again for the best K, 50 times. Clumpak on the web ([Kopelman et al. 2015](#)) was used to summarize the best K posterior probabilities and to graphically represent the bar plot output average over the 50 repetitions.

Matrix of the pairwise F_{ST} genetic distances between populations of each species, together with Bonferroni corrected p -value, were achieved using GENEPOP v4.7 ([Raymond 1995](#)). Correlation between genetic differentiation (either F_{ST} or $F_{ST}/(1-F_{ST})$) and different geographic distances between sampling locations were tested, in order to detect isolation by distance (IBD, [Slatkin 1993](#)) using the ISOLDE program in GENEPOP ([Raymond 1995](#)). Geographic distances were estimated as the log-transformed Euclidean distances between locations and as the combined distances along the minimum spanning tree between locations.

IV.2.6. *Kdr* mutation identification

IV.2.6.1. PCR-RFLP visual reading

A polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) diagnostic assay developed by [Tsagkarakou et al. \(2009\)](#) was used in this study to detect the mutation known to confer resistance to pyrethroids (i.e. the resistant *kdr*). Two mutations on a portion of the voltage-gated sodium channel gene are responsible for this resistance for the MED-Q species (linked to two described non-synonymous mutations, either of them conferring an amino acid change: L925I and T929V), and one for the MEAM1 (involving the first locus and amino acid change: L925I). This diagnostic assay was performed on the whole dataset. Briefly, a 184 bp fragment was amplified ([Table IV-S1](#) to see primer pair sequences) following the PCR amplification protocol described by [Tsagkarakou et al. \(2009\)](#) - with slight modifications - and using GoTaq® DNA Polymerase provided by Promega™. The PCR amplified fragment was then fully digested with restriction enzyme DdeI (Promega™), yielding fragments of different size depending on the *kdr* genotype. As susceptible allele contains one site for restriction enzyme DdeI, digestion of the PCR product results in a restriction pattern of two fragments (124 and 60 pb). The restriction site is non-functional when the resistant allele is present, leading to an intact fragment of 184 pb after enzyme digestion. This method allows to visualize homozygous such as heterozygous individuals at this locus. The QIAxcel® Advanced Instrument, an automated capillary electrophoresis device supplied by Qiagen™, was used to perform gel electrophoresis and to visualize restriction patterns.

IV.2.6.2. *Kdr* mutation Sequencing

In order to ensure sequence conservation, the sodium channel *kdr* region was sequenced for 12% of the whole dataset (including: 98% of all MED-Q, 7% of all MEAM1, 7% of all IO, and 100% of hybrid genotypes) using the above described primers and methodology. Then, PCR products were sequenced in both directions by Macrogen Europe laboratory ([Table IV-S1](#)). Sequences were manually edited and aligned using Geneious™ software R10.2.6 ([Kearse et al. 2012](#)). The resulting consensus sequences were compared with reference sequences from GenBank using the BLAST algorithm.

IV.2.7. Interspecific hybridization

Interspecific hybridization between the different species was assessed using the Bayesian clustering analysis performed by structure software, and further confirmed by the DAPC analysis. Individuals were considered hybrid when their assignment to the MEAM1 or IO cluster was comprised between 10 and 90% ([Vähä and Primmer 2006](#), [Delatte et al. 2011](#)). We used Kruskal–Wallis one-way analysis of variance: (i) to assess the effect of the environment (greenhouse, open field, field surroundings or non-cultivated area) on assignment probabilities of hybrids (i.e. direction of backcrosses), and (ii) to test if there was a link between the *kdr* genotype and assignment probability to parental species.

IV.3. Results

IV.3.1. Species identification and distribution

Bayesian clustering analyses performed with STRUCTURE and the DAPC allowed the clear determination of three main groups in our dataset ([Figure IV-2](#)). The sequencing of the mtCOI barcoding region of 286 individuals from each group further confirmed that these groups were the three species already identified in La Réunion: MEAM1, IO and MED-Q. All sequences had 100% identity with accessions already published on La Réunion: n° AJ550175 for MEAM1, n° AJ877264 for IO, n° JN090173 for MED-Q. The whole dataset comprises 59.3 % of MEAM1, 35.5% of IO and 3.2% of MED-Q, respectively ([Table IV-1](#)).

In the sampled sites, MEAM1 was mainly found in greenhouses, open fields and field surroundings ([Table IV-1](#)). The IO species was found mostly in non-cultivated areas and in field surroundings. Finally, the MED-Q species was a minority present in 4 sites, only in cultivated areas in the south west side of La Réunion ([Figure IV-1](#)).

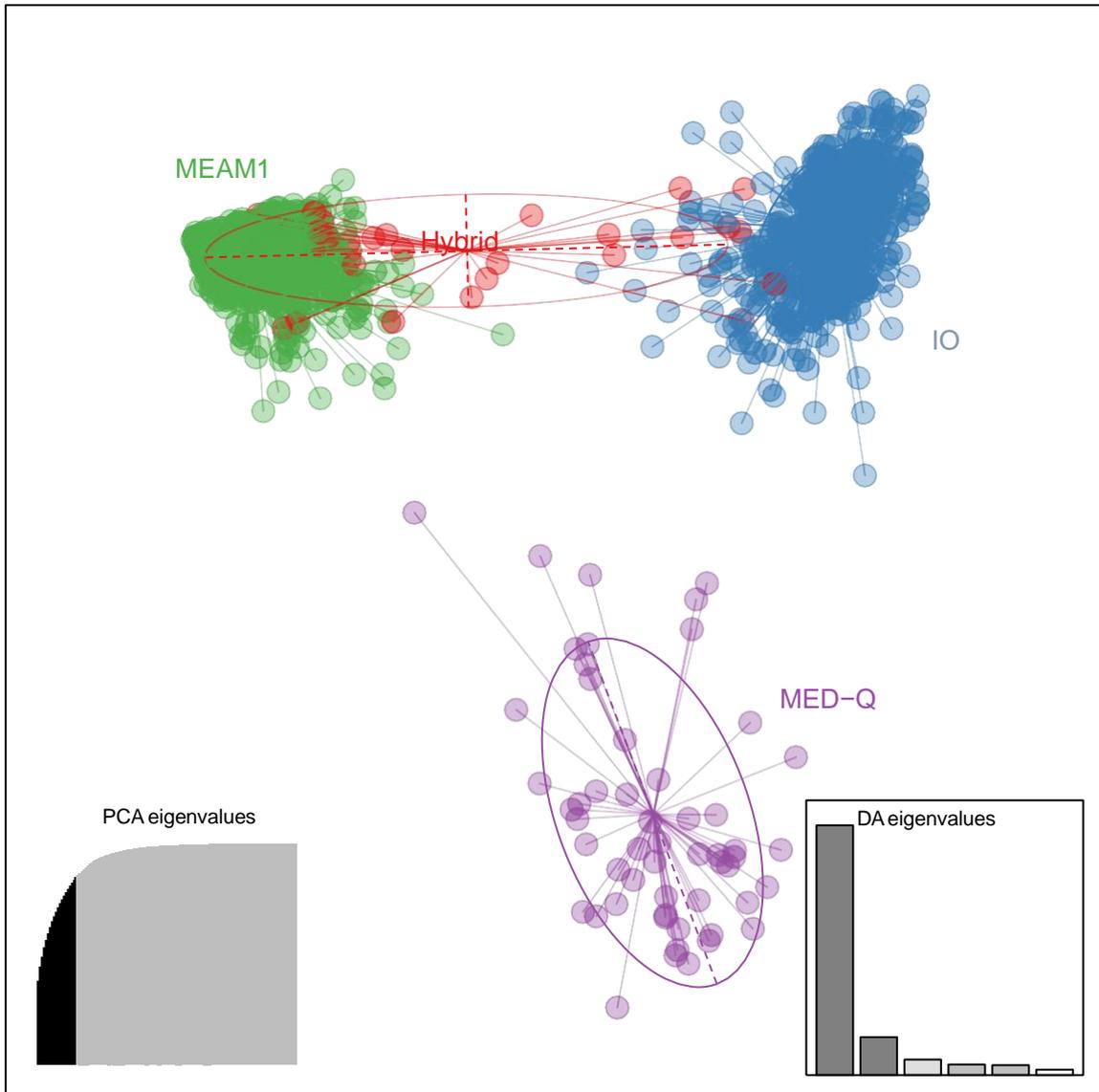


Figure IV-2: DAPC based on n= 1562 individuals using 11 microsatellite loci. Dots of different colours indicate individuals from different genetic clusters. PCs eigenvalues and discriminant factors retained are indicated.

Table IV-1: *B. tabaci* sampling in La Réunion: location of collection site, date of collection, environment, host plant and number of species and hybrids found.

Site	GPS coordinates		Date	Environment	Host plant	N of <i>B. tabaci</i>			
	Latitude	Longitude				MEAMI	IO	Hybrid	MED-Q
1	20°57'55.7"S	55°18'06.2"E	Nov-16	Open field	Tomato	29	1	1	0
2	20°58'23.1"S	55°19'02.8"E	Apr-17	Greenhouse	Tomato	3	25	1	0
3	20°58'23.1"S	55°19'02.8"E	Apr-17	Field surroundings	Weeds	1	29	1	0
4	20°58'37.78"S	55°20'3.75"E	Apr-17	Non-cultivated	Weeds	0	3	1	0
5	21°1'13.58"S	55°18'31.53"E	Oct-16	Greenhouse	Tomato	30	0	0	0
6	21°1'51.26"S	55°18'34.51"E	Dec-17	Field surroundings	Weeds	0	12	0	0
7	21°2'2.35"S	55°16'39.00"E	Dec-17	Non-cultivated	Weeds	0	32	0	0
8	21°2'27.08"S	55°13'55.82"E	Apr-17	Open field	Tomato	4	22	1	0
9	21°2'27.08"S	55°13'55.82"E	Apr-17	Field surroundings	Weeds	1	19	5	0
10	21°7'18.71"S	55°16'6.19"E	Nov-17	Non-cultivated	Weeds	4	27	1	0
11	21°15'8.68"S	55°20'34.19"E	May-17	Open field	Tomato	12	0	0	9
12	21°14'57.55"S	55°21'29.75"E	Nov-17	Open field	Tomato	2	27	0	0
13	21°14'25.14"S	55°24'10.97"E	May-16	Open field	Tomato	14	2	0	1
14	21°14'25.14"S	55°24'10.97"E	May-16	Field surroundings	Weeds	12	0	0	0
15	21°15'30.45"S	55°22'47.66"E	Oct-16	Greenhouse	Tomato	26	0	0	0
16	21°15'40.57"S	55°24'14.12"E	May-16	Field surroundings	Weeds	22	2	0	0
17	21°16'23.61"S	55°22'23.62"E	Oct-16	Non-cultivated	Weeds	3	19	1	0
18	21°16'29.39"S	55°22'43.24"E	Oct-16	Open field	Tom+Egg†	52	1	0	2
19	21°16'29.39"S	55°22'43.24"E	Oct-16	Field surroundings	Weeds	18	0	1	0
20	21°15'46.3"S	55°27'20.3"E	Dec-17	Non-cultivated	Weeds	4	28	0	0
21	21°16'45.15"S	55°27'35.90"E	Oct-16	Greenhouse	Tomato	15	0	0	17
22	21°16'45.15"S	55°27'35.90"E	Nov-17	Open field	Eggplant	38	0	1	24
23	21°16'45.15"S	55°27'35.90"E	Oct-16	Field surroundings	Weeds	28	0	0	1
24	21°16'31.74"S	55°28'25.77"E	Dec-17	Field surroundings	Weeds	32	0	0	0
25	21°18'49.62"S	55°25'25.70"E	Oct-16	Greenhouse	Tomato	31	0	1	0
26	21°18'49.62"S	55°25'25.70"E	Oct-16	Field surroundings	Weeds	30	0	0	0
27	21°19'26.19"S	55°27'35.63"E	May-16	Field surroundings	Weeds	5	15	0	0
28	21°19'26.19"S	55°27'35.63"E	Oct-16	Greenhouse	Cucumber	29	0	1	0
29	21°19'9.59"S	55°28'56.36"E	Nov-17	Open field	Eggplant	25	1	5	0
30	21°18'23.47"S	55°30'21.69"E	Oct-16	Greenhouse	Melon	26	0	0	0
31	21°18'23.47"S	55°30'21.69"E	Oct-16	Field surroundings	Weeds	21	0	0	0
32	21°18'38.17"S	55°30'27.02"E	Oct-16	Greenhouse	Eggplant	42	0	0	0
33	21°18'38.17"S	55°30'27.02"E	Jun-16	Field surroundings	Weeds	11	3	0	0
34	21°20'21.56"S	55°31'16.66"E	Oct-16	Greenhouse	Tomato	28	0	0	0
35	21°20'21.56"S	55°31'16.66"E	Oct-16	Field surroundings	Weeds	20	3	1	0
36	21°21'45.58"S	55°32'25.80"E	Oct-16	Greenhouse	Melon	59	0	0	0
37	21°21'23.31"S	55°32'45.36"E	Oct-16	Greenhouse	Tomato	27	0	0	0
38	21°21'23.31"S	55°32'45.36"E	Apr-17	Field surroundings	Weeds	2	28	1	0
39	21°21'58.64"S	55°34'11.30"E	Dec-17	Greenhouse	Melon	30	0	2	0
40	21°21'34.59"S	55°34'23.86"E	Jun-16	Greenhouse	Tomato	2	0	0	0
41	21°21'41.91"S	55°34'51.80"E	Dec-17	Non-cultivated‡	Weeds	2	30	0	0
42	21°22'5.20"S	55°40'27.56"E	Oct-16	Open field	Tomato	32	0	0	0
43	21°21'52.63"S	55°41'8.43"E	May-17	Greenhouse	Tomato	31	0	0	0
44	21°21'32.80"S	55°43'6.28"E	May-17	Greenhouse	Tomato	31	0	1	0
45	21°21'50.95"S	55°44'33.44"E	Apr-17	Non-cultivated	Weeds	0	26	0	0
46	21°21'27.50"S	55°46'39.13"E	Oct-16	Greenhouse	Eggplant	27	0	1	0
47	21°6'4.21"S	55°44'58.39"E	Apr-17	Non-cultivated	Weeds	0	22	0	0
48	21°6'4.55"S	55°42'56.75"E	Apr-16	Field surroundings	Weeds	0	25	1	0
49	21°4'54.13"S	55°41'36.01"E	Apr-16	Non-cultivated	Weeds	0	10	0	0
50	21°3'9.99"S	55°43'2.98"E	Oct-16	Non-cultivated	Weeds	0	23	0	0
51	20°58'15.49"S	55°40'2.19"E	Oct-16	Field surroundings	Weeds	30	1	0	0
52	20°58'15.49"S	55°40'2.19"E	Oct-16	Open field	Eggplant	32	0	0	0
53	20°58'15.49"S	55°40'2.19"E	Oct-17	Greenhouse	Tomato	32	0	0	0
54	20°57'31.51"S	55°40'26.43"E	Apr-16	Open field	Tomato	0	34	1	0
55	20°57'31.51"S	55°40'26.43"E	Apr-16	Field surroundings	Weeds	0	23	0	0
56	20°56'59.50"S	55°41'8.85"E	Oct-16	Non-cultivated	Weeds	0	31	0	0
Total N of <i>B. tabaci</i> species						955	524	29	54

Weeds: Mexican fireplant *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae), bean *Vigna sp.* L. (Fabaceae), lantana *Lantana camara* L. (Verbenaceae), inoxia *Datura innoxia* Mill. (Solanaceae), turpeth *Operculina turpethum* (Convolvulaceae), cotton *Gossypium sp.* (Malvaceae); crops: tomato *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae), eggplant *Solanum melongena* L. (Solanaceae), cucumber *cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae), melon *Cucumis melo* L. (Cucurbitaceae); NA: not available;

† host plants are tomato and eggplant crops; ‡ sugarcane field without any insecticide treatment.

IV.3.2. Genetic diversity

In total, 1562 females *B. tabaci* were extracted and genotyped successfully, with individuals having less than 40% of missing values. No linkage disequilibrium was observed between all pairs of loci tested within each species, and between each pair of populations of those species. The average allelic richness was very similar between the three species, with in average 2.4 (SE: +/-0.03) for MEAM1, 2.5 (SE: +/-0.03) for IO and 2.3 (SE: +/-0.06) for MED-Q, respectively. A higher level of heterozygosity was observed for IO (in average over all populations: 40.3% +/-0.7%) than for the two other species (29.7% +/- 0.6% for MEAM1 and 30.3 % +/-3.3 % for MED-Q). The F_{IS} values ranged from -0.05 to 0.25 for MEAM1, from -0.76 to 0.096 for IO and 0.005 to 0.354 for MED-Q, respectively. Significant departures from Hardy-Weinberg equilibrium were observed for 12 populations (out of 34) of the MEAM1 sampled in all the different agroecosystems, for 4 populations (out of 21) of the IO sampled in open fields or non-cultivated areas, and for 2 populations (out of 3) of the MED-Q sampled in open fields or greenhouse ([Table IV-1](#); [Table IV-2](#)).

The analysis of bottleneck performed on IO populations did not reveal any significant signal of bottleneck (One-tailed Wilcoxon sign-rank tests, $P > 0.05$) in the recent past with the SMM model. On the contrary to MEAM1 that showed that almost all populations had undergone a significant bottleneck (One-tailed Wilcoxon sign-rank tests, $P < 0.05$) on the SMM but not IAM model.

Table IV-2: Population genetic diversity indices. Species of whiteflies, site number where individuals were collected, number of individual sampled (N), mean number of alleles per population (N_a), allelic richness (R_a), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and fixation indices (F_{is}) presented together with Bonferroni corrected p-value from Hardy-Weinberg equilibrium test, are indicated.

Species	Site	N of <i>B. tabaci</i>	N_a	R_a	H_o	H_e	F_{is}
MEAMI	1	29	43	2.541	0.299	0.324	0.096
	5	30	40	2.386	0.267	0.323	0.190***
	11	12	36	2.548	0.356	0.344	0.010
	13	14	30	2.199	0.260	0.292	0.146
	14	12	28	2.155	0.235	0.283	0.213
	15	26	42	2.396	0.357	0.344	-0.023
	16	22	44	2.628	0.295	0.364	0.222**
	18	52	47	2.473	0.330	0.348	0.061***
	19	18	42	2.429	0.299	0.318	0.087
	21	15	38	2.544	0.351	0.347	0.024
	22	38	42	2.464	0.287	0.330	0.143
	23	28	41	2.436	0.308	0.330	0.085*
	24	32	38	2.073	0.270	0.263	-0.011
	25	31	40	2.335	0.295	0.311	0.067*
	26	30	40	2.274	0.285	0.303	0.077
	27	5	21	1.909	0.236	0.264	0.212
	28	29	44	2.426	0.325	0.328	0.028
	29	25	46	2.551	0.364	0.363	0.019
	30	26	45	2.489	0.259	0.338	0.250***
	31	21	35	2.254	0.282	0.316	0.131
	32	42	46	2.389	0.292	0.323	0.107*
	33	11	27	2.184	0.273	0.311	0.169
	34	28	50	2.445	0.291	0.332	0.143
	35	20	37	2.361	0.330	0.311	-0.026
	36	59	44	2.347	0.296	0.323	0.093**
	37	27	42	2.370	0.283	0.317	0.125**
	39	30	44	2.364	0.261	0.312	0.173**
	42	32	45	2.500	0.318	0.331	0.054*
	43	31	37	2.456	0.328	0.339	0.049
	44	31	38	2.130	0.238	0.272	0.142
	46	27	38	2.362	0.300	0.338	0.131***
	51	30	42	2.395	0.288	0.330	0.145
	52	32	44	2.343	0.330	0.309	-0.052
53	32	39	2.300	0.295	0.308	0.056	
IO	2	25	35	2.579	0.392	0.391	0.022
	3	29	38	2.511	0.386	0.392	0.034
	6	12	28	2.461	0.420	0.400	-0.009
	7	32	33	2.382	0.414	0.394	-0.037***
	8	22	31	2.497	0.382	0.387	0.037
	9	19	31	2.525	0.422	0.414	0.013
	10	27	32	2.377	0.417	0.386	-0.061
	12	27	40	2.834	0.430	0.430	0.018**
	17	19	31	2.511	0.390	0.401	0.058
	20	28	28	2.233	0.344	0.353	0.043
	27	15	29	2.447	0.335	0.352	0.084
	38	28	35	2.655	0.408	0.392	-0.021
	41	30	31	2.255	0.371	0.369	0.011
	45	26	31	2.421	0.461	0.414	-0.092
	47	22	31	2.419	0.407	0.392	-0.011
	48	25	35	2.516	0.420	0.392	-0.049
	49	10	28	2.507	0.386	0.382	0.044
	50	23	36	2.684	0.452	0.414	-0.066*
	54	34	35	2.667	0.390	0.424	0.096*
	55	23	32	2.392	0.419	0.382	-0.076
56	31	35	2.583	0.415	0.407	-0.003	
MED-Q	11	9	30	2.363	0.240	0.330	0.354
	21	17	35	2.218	0.316	0.308	0.005*
	22	24	40	2.445	0.353	0.375	0.087*

Each site is named as referred to in [Table IV-1](#).

IV.3.3. Population structure

Within species, the genetic differentiation between populations was low (overall F_{ST} for IO= 0.007, MEAM1 F_{ST} = 0.03, and MED-Q F_{ST} =0.07), but significant. Whenever it was possible, different environments were sampled in a same site (i.e. sites 2-3; 8-9; 13-14; 27-28; 34-35 ; [Figure IV-1](#), [Table IV-1](#)). In none of those sites with whitefly collections performed in different environments (i.e. greenhouse, open-field, or field-surroundings) any significant genetic distances were observed for MEAM1 (Supporting information, [Table IV-S2](#)); however, several pairwise genetic distances between distant sites were significant. Nevertheless, no substructure was observed between any groups of individuals, or populations of this species (structure analysis, best K population=1; data not shown). Then, to determine how much of the variation between populations (observed with the F_{ST} matrix) could be explained by the distance between sites, the correlation between genetic and geographic distance (both linear and non-linear distances, following the minimum spanning trees between sites) was evaluated. There was no significant correlation between genetic and geographic distances of populations of the MEAM1 species (both Mantel tests $P > 0.05$).

Similar results were observed for IO populations, showing no substructure between groups of individuals, or populations, using either Bayesian analysis (Best K population=1; data not shown) or looking at F_{ST} genetic distances between different environments (Supporting information, [Table IV-S3](#)). Indeed, only a single pairwise genetic distance was found to be significantly different (S20 with S56), with two sites that were far apart (east and west coast of the island, respectively; [Figure IV-1](#)).

The MED-Q species was the only species for which a substructure was observed with the Bayesian analysis ([Figure IV-3](#)), with the best number of clusters of three. However, those clusters did not reflect differentiation between sampled sites or other obvious environmental constraints. It has to be noticed that this result implies a very small number of samples ($n=50$), spread over only four sites, close to each other ([Figure IV-1](#)).

IV.3.4. Hybrids

Individuals were considered hybrid when their Bayesian assignment ([Figure IV-4](#)) to the MEAM1 or IO cluster was between 10 and 90%, they were also well separated on the X-axis of the DAPC analysis ([Figure IV-2](#)). Accordingly, there were 29 hybrids, which represents only 2% of the whole dataset. The mtCOI (therefore maternally transmitted) haplotype gives the direction of the initial crossing: an IO mtCOI haplotype signs a cross between a female IO

and a male MEAM1 (and *vice versa*). Consequently, we found as many interspecific mating with female IO or with female MEAM1 (13 *versus* 16). The distribution of assignment probabilities indicate that most hybrids derived from backcrosses, mostly toward the MEAM1 species.

Hybrids were found in all environments. However, assignment probabilities of hybrids were significantly linked with the sampled environment: individuals derived from backcrosses with MEAM1 (respectively IO) were preferentially found in agrosystems (respectively non-cultivated areas; [Figure IV-5](#): $\text{Chisq} = 8.2805$, $p\text{-value} = 0.04056$).

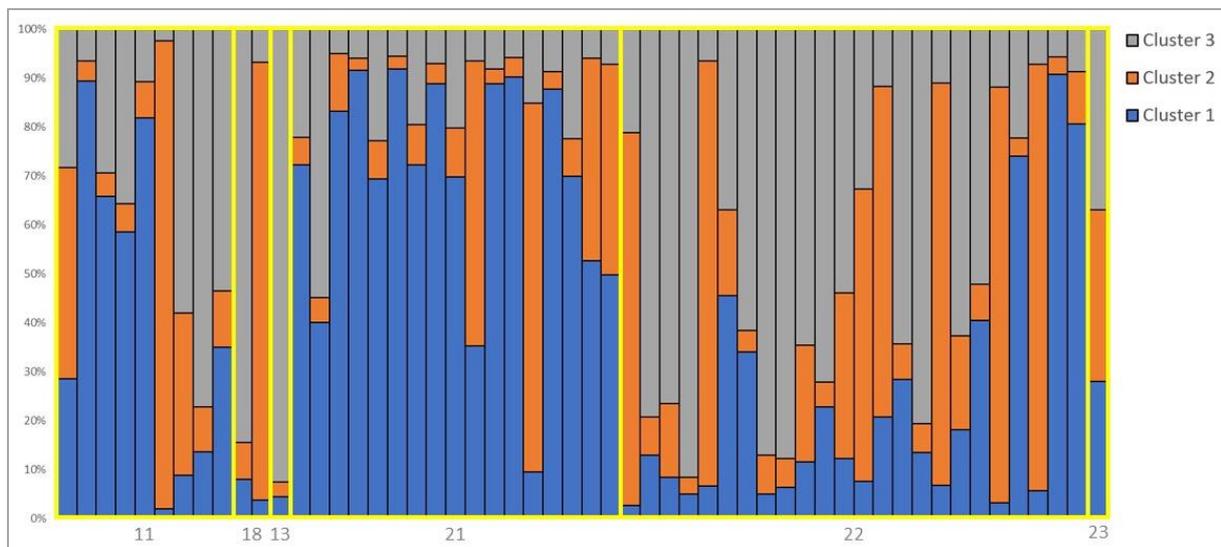


Figure IV-3: The MED-Q species was the only species for which a substructure ($K=3$) was observed with the Bayesian analysis. Numbers in grey (x-axis) correspond to sampling sites.



Figure IV-4: Individuals ordered by their probability of assignment to the MEAM1 and the IO genetic clusters (in green or blue, respectively).

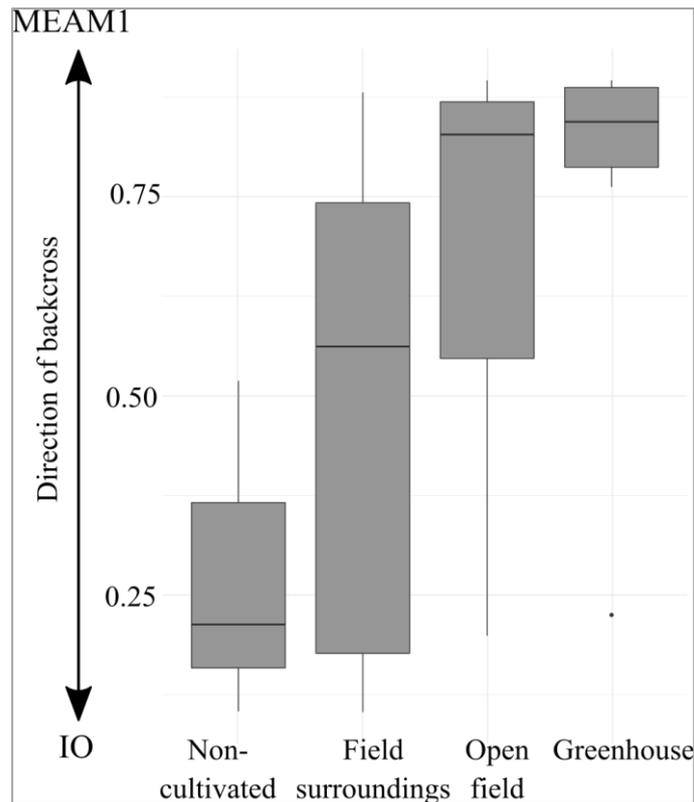


Figure IV-5: Backcross direction (as indicated by the probability of assignment to MEAM1) of the 29 identified hybrids, in relationship to sampled environment.

IV.3.5. *Kdr* mutation

The region of the sodium channel gene carrying the *kdr* mutation was successfully genotyped for 98% (n=1537) of the sampled individuals ([Figure IV-6](#)).

Individuals of the MEAM1 species were overwhelmingly (99 %) homozygous resistant (RR), whereas all individuals of the IO species were homozygous susceptible (SS) at this locus (L1; [Table IV-3](#), [Figure IV-6](#)). MED-Q individuals showed a combination of RR (~36%), RS (~49%) and SS (~15%) at the same locus ([Figure IV-6](#)). However, this latter species displays a second locus carrying a mutation conferring resistance to pyrethroids (T929V), here referred to as L2 ([Tsagkarakou et al. 2009](#) ; [Table IV-3](#)). Therefore, a MED-Q individual can have a susceptible genotype (SS) for this first locus, but can display resistance to pyrethroids thanks to the second mutation in the second locus. Due to this specificity, most of the MED-Q *kdr* regions were sequenced successfully (n=50), together with almost all MEAM1-IO hybrids (n=28), and a few individuals of pure MEAM1 and IO (n=92; [Table IV-3](#), [Figure IV-6](#)). The different sequences were checked and confirmed the mutation present in the MEAM1 and MED-Q individuals for the first locus of the *kdr* region ([Table IV-3](#)). All MED-Q individuals

sequenced carried at least one resistance allele, no susceptible homozygotes (loci L1 and L2) were found for this species in our sampling. All the MEAM1 sequenced were homozygous resistant (RR). For the first time, we also noticed a mutation at the L2 locus for one MEAM1. All sequences in the region of the sodium channel gene carrying the *kdr* of IO species were homozygous susceptible at the two loci observed (L1 and L2), as expected according to the PCR-RFLP results ([Figure IV-6](#)).

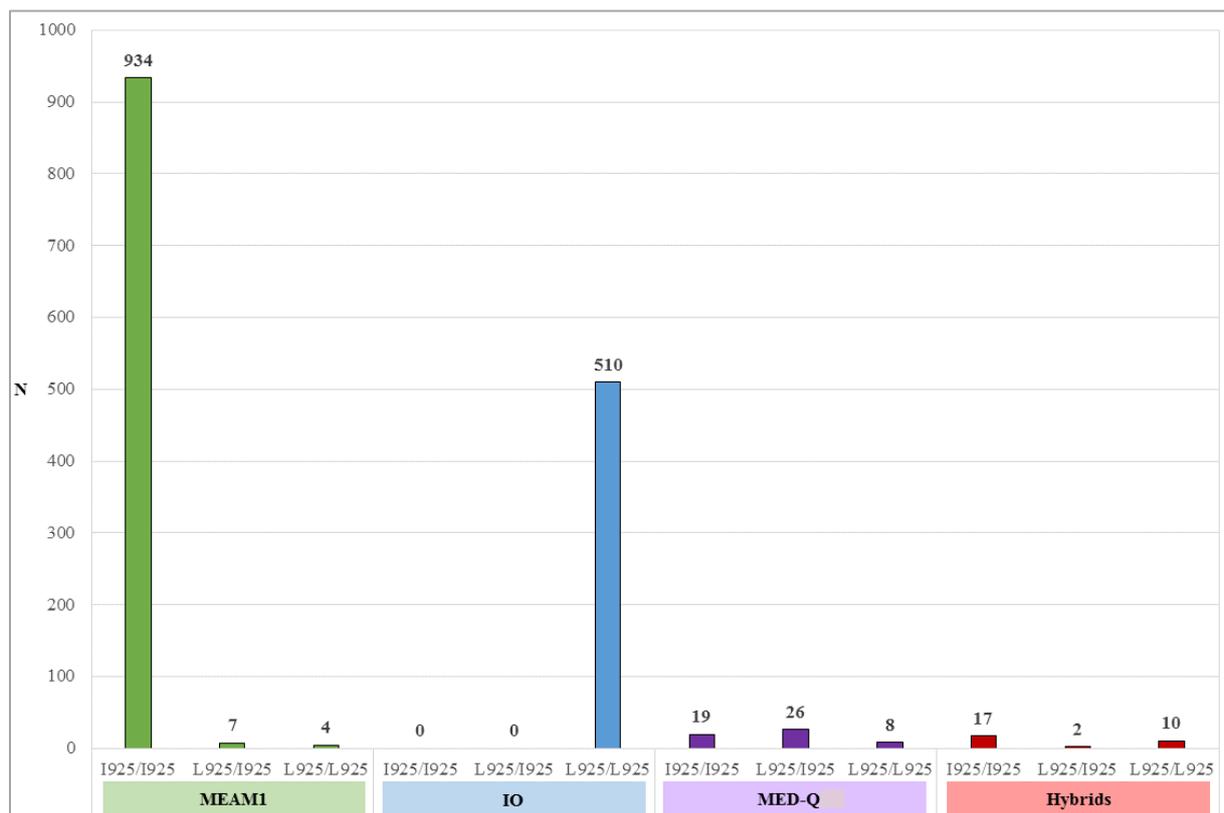


Figure IV-6: Resistance genotypes of *B. tabaci* species collected in La Réunion, at a point mutation in the IIS4-5 linker of *para*-type voltage gated sodium channel gene: L925I. Each site is named as referred to in [Table IV-1](#); N is the number of whiteflies; I925 and L925 are the resistant and the susceptible alleles, respectively.

Another mutation was detected in the [intron](#) right after the 5' end of all sequences of IO species (locus "L3", [Table IV-3](#)). The same mutation at the L3 locus was also found in all sequences of the MED-Q species (no heterozygote was observed). Only 15.5% of the MEAM1 species carried this mutation. This mutation was always found in association with RS or SS genotypes for the 9 individuals investigated. No RR genotype was found to carry this mutation. We can notice that five of the MEAM1 individuals were found heterozygous at this locus.

For the hybrids, the *kdr* genotype was linked with assignment probability to parental species (Chisq= 18.616, p-value = 9.069e-05). Hybrid individuals backcrossed to IO were all

homozygous susceptible (SS). There is therefore no indication of introgression of a resistance allele from MEAM1 to IO. Nevertheless, we found 2 heterozygous (RS) hybrids backcrossed towards MEAM1. The mutation at the L3 locus was also detected in 11 out of the 29 hybrids, and a single of them was heterozygous at this locus ([Table IV-3](#)). Nine of these 11 hybrids were backcrossed towards IO, and a single of them was backcrossed towards MEAM1. There is therefore an indication of introgression of the L3 mutation from IO to MEAM1.

Table IV-3: Resistance genotype frequency of the sodium channel gene for MEAM1, IO, MEAM1-IO hybrids and MED-Q DNA samples collected in La Réunion. Three loci were investigated: L1, L2 and L3 (the latter being in the intron region).

Species	N	Genotypes		
		L1	L2	L3
MEAM1 (N=58)	49	A/A	AC/AC	T/T
	4	A/T	AC/AC	C/T
	1	A/T	AC/GT	C/T
	4	T/T	AC/AC	C/C
IO (N=34)	34	T/T	AC/AC	C/C
Hybrids (N=28)	17	A/A	AC/AC	T/T
	1	A/T	AC/AC	C/T
	10	T/T	AC/AC	C/C
MED-Q (N=50)	16	A/A	AC/AC	C/C
	26	A/T	AC/GT	C/C
	1	T/T	AC/GT	C/C
	7	T/T	GT/GT	C/C

IV.4. Discussion

In this study we were able to show that MEAM1 species was found as the predominant species in agrosystems, and MED-Q was only found in few restricted areas. No evolution of the distribution of either the indigenous IO species or the invasive MEAM1 species have been recorded since the invasion of MED-Q. Furthermore, we detected interspecific hybrids between IO and MEAM1, but in lower number than previously reported. Finally, we were able to show very high frequency of *kdr* alleles conferring resistance to pyrethroids in all MED-Q, and in 99% of MEAM1 individuals tested, whereas the indigenous IO was 100% susceptible.

IV.4.1. Species distribution evolution

Our study clearly indicates that the resident indigenous species IO was mainly associated with non-cultivated environments or field surroundings, whereas the two invasive species were almost restricted to agrosystems. Those ecological preferences were expected according to previous studies conducted in La Réunion: MEAM1 was dominant on vegetable crops whereas IO was found on weeds ([Delatte et al. 2006](#), [Delatte et al. 2009](#), [Thierry et al. 2015](#)).

MEAM1 species, an invader of this insular ecosystem, was first reported in 1997 in the southern part of the island, and in a very short period of time (3 years) it has colonized all the tomato growing area of the west coast of the island. In 2003, MEAM1 was found in the whole fringe around the island (0-600 m *asl*), including the whole eastern part. This led to high economic losses reaching up to 85% in outdoor and/or protected tomato crops ([Delatte 2005](#), [Delatte et al. 2007a](#)), showing a successful process of invasion for this MEAM1 species. Since then, this species has become the principal threat on tomato production on the island. Nevertheless, despite its resident status of over 20 years on this island, it seems that this species has not fully stabilized, with populations not at the *Hardy-Weinberg* equilibrium, lower heterozygosity recorded than the indigenous species, genetic differentiation between distant sites (but without any IBD), and still detection of signals of bottlenecks. However, the absence of nuclear substructure within MEAM1 species, moderate genetic diversity and low mtCOI haplotype diversity (no new haplotype found), are not in favor of a new invasion or multiple invasions of this species on the island, but might be signals of a founder effect on the initial invasive population. On the contrary, IO was found to have a higher level of heterozygosity and higher diversity compared to both invasive species, with most of the sampled populations being at the equilibrium of *Hardy-Weinberg*. In addition, no bottleneck was found associated to any

populations of this species, and low levels of genetic differentiation even between distant populations are in agreement with and endemic, well established species.

Note that on a small isolated island such as La Réunion, regularly swept by cyclones, it is not surprising that a small flying insect like *B. tabaci* displays high gene flows. Only the mountains and circuses in the heart of the island could constitute barriers to gene flow, but the coastal fringe with most of the interlinked agricultural areas would allow the mixing of the populations. It could also be possible that the agrosystem constitutes a patchier environment (limiting gene flow) for MEAM1 compared to the non-cultivated environment exploited by IO.

Opposite to the evolution of MEAM1, there is no demographic or geographic expansion of the worldwide invasive MED-Q species. MED-Q was first detected in 2010 in La Réunion ([Thierry et al. 2015](#)), on eggplant in St Pierre (south part of the island). Since then, this species has only been found in four very close localities of the southern part of the island (mostly on crops), less than 30 km from the epicenter of the invasion. MED-Q is expected to have higher competitive abilities compared to MEAM1, as indicated by the frequent replacement of MEAM1 by MED-Q: in China, Japan, South Korea or Spain ([Horowitz et al. 2003](#), [Pascual and Callejas 2004](#), [Shatters et al. 2006](#), [Chu et al. 2010](#), [Chu et al. 2012](#), [Pan et al. 2015](#)). This replacement can even be fairly rapid as in China or in Florida, where MED-Q replaced MEAM1 in less than 5 years ([Guo et al. 2012](#), [McKenzie and Osborne 2017](#)). It was hypothesized that the higher competitive ability of MED-Q compared to MEAM1 was linked to a higher insecticide resistance in the former species ([Horowitz et al. 2005](#), [Prabhaker et al. 2005](#), [Pan et al. 2015](#)). Because of the low occurrence of the species, insecticide resistance could not be assessed using bioassays in the MED-Q populations in La Réunion ([Taquet et al. 2020](#)). However, genotyping and sequencing of the *kdr* mutation indicates that this species is also armed against pyrethroids, but other mechanisms of resistance might also be involved. Nevertheless, it appears that MED-Q has not expanded its range during the last 8 years in La Réunion, and did not displaced MEAM1 in agricultural areas. Similarly, a recent survey showed that MED-Q is more on ornamentals than on crops, contrary to MEAM1 in Georgia, USA ([McKenzie et al. 2020](#)). Other factors must therefore come into play. In particular, ecological or environmental factors can have a dramatic impact on species repartition and/or competitiveness.

Finally, we found a genetic structure within the MED-Q species. This substructure, which does not match with any factors explored here, might also reflect a potential signal of multiple invasion events for this species, as suggested in early studies using either microsatellites markers ([Thierry et al. 2015](#)), either SNP data over the whole genome ([Elfekih](#)

[et al. 2018](#)). However, the limited number of MED-Q individual sampled prevents from further analyses on this aspect.

IV.4.2. Hybridization

We found around 2% of hybrids between MEAM1 and IO, the two major species found in La Réunion, in our dataset. This confirms that the reproductive isolation between the two species is incomplete ([Delatte et al. 2006](#), [Thierry et al. 2011](#)). A few individuals were found to be first generation hybrids, but most were found to result from multiple generations of backcrossing between the two species. Hybrids from backcrosses were frequently assigned more strongly to the MEAM1 species, which may be explained by the predominance of this species in the sampled sites. Hybrids between those two species have been described in La Réunion since 2006. In the early invasion process of MEAM1 (2001-2002) on the island, higher rate of hybridization was found, reaching up to 38% ([Delatte et al. 2006](#)), then it decreased over years reaching around 11% in 2006 ([Thierry et al. 2011](#)). This decrease in the frequency of hybrids may either be due to the sampled environments: a larger diversity of environments was studied in 2001-2006 in both studies, or to a lower probability of encounters of IO and MEAM1 in agricultural areas, implying less possibilities to obtain hybrids (niche partitioning). Another hypothesis could be that the MEAM1 species is progressively genetically overwhelming the IO species in the agricultural niche, because of its greater fitness in this environment. In La Réunion, these two species have been shown recently to radically differ in terms of insecticide resistance, the MEAM1 species being highly resistant to two heavily used insecticides, whereas the IO species seems to remain susceptible to both insecticides ([Taquet et al. 2020](#)).

In this study, we defined any individual with proportion of ancestry greater than 0.1 and less than 0.9 as a hybrid. A less stringent definition of hybridism could have been used ([Vähä and Primmer 2006](#)), as we were able to track individuals showing some introgression, even when their assignment to one species was greater than 99%. However, changing the threshold of ancestry would have not changed our results significantly and would not have affected the qualitative output of our study on hybrids. Furthermore, in the samples considered as “pure” MEAM1 and IO based on the nuclear analysis, we never had any wrong assignation with the mtCOI sequenced.

IV.4.3. *Kdr* mutation

All the MED-Q individuals in La Réunion displayed either one or the two mutations conferring the *kdr* resistance to pyrethroids, with 26 individuals carrying both mutations. This result is showing an extremely high level (100%) of resistant genotypes. Such a high level of allele frequencies has never been reported, at least never to that extent ([Gauthier et al. 2014](#)). This result might be explained by (i) a low number of samples; (ii) the fact that MED-Q populations were found in agrosystems and might have been selected due to insecticide pressure. In contrast, this second mutation was never found in our sampled MEAM1 individuals as expected ([Alon et al. 2006](#)), except from one individual. Further investigation should be conducted to assess the occurrence of this mutation (hybridization between both species, high selection pressure on those populations leading to this mutation...).

Our study reveals also a contrasted pattern in the frequency of the first *kdr* mutation (L1) between the invasive MEAM1 and the resident IO species. The L1 mutation has been found to be nearly fixed in La Réunion MEAM1 populations, and fully absent from the IO populations. In Cyprus, several MEAM1 populations displayed high frequency of this allele and also showed an association between the frequency of the resistant allele and bifenthrin (a pyrethroid insecticide) resistance ([Vassiliou et al. 2011](#)). We have not formally tested the association between genotypic and phenotypic resistance to pyrethroids. However, we estimated the LC₅₀ associated with deltamethrin for several MEAM1 populations and found that it was very high, which is in agreement with the high frequency of resistant allele (>150 mg.L⁻¹ of Decis Protech[®], unpublished). Recently, [Gnankiné et al. \(2018\)](#) showed that this mutation came from 2% to complete fixation for all MED-Q (and MED ASL) populations in less than 10 years in Burkina Faso. Such a surge in a resistance allele frequency would not take place without a high selection pressure linked to a heavy use of pyrethroid insecticides. This has led to the rapid fixation of the *kdr* resistant allele. We don't know if the same phenomenon occurred in La Réunion for MEAM1, but it can be hypothesized. Another explanation would be that the mutation was already fixed in the MEAM1 individuals which invaded La Réunion in late 90's. Indeed, resistance to pyrethroids was described in whiteflies as early as 1995 ([Cahill et al. 1995](#)).

In contrast to MEAM1, the resistant mutation was never found in the IO populations, which implies either that it was not subjected to the same insecticide pressure as MEAM1 (i.e. IO is mostly found out of agrosystems : [Delatte et al. 2006](#), [Delatte et al. 2009](#)), or that it was not able to evolve resistance due to molecular constraints (e.g. [Weill et al. 2004](#)). We

hypothesized that the hybridization between MEAM1 and IO could have allowed the introgression of resistant alleles from the invasive species to the indigenous one. However, we found no indication of introgression of any *kdr* allele from MEAM1 to IO, but rather a potential introgression of the susceptible allele from IO to MEAM1. This susceptible allele is present at low frequency in the MEAM1 species. This further suggests that MEAM1 species has invaded with the resistant allele at a homozygous state whereas this susceptible allele might originate from the IO species. Thus, the hybridization between MEAM1 and IO could explain the maintenance of a low frequency of susceptible alleles in MEAM1, despite a probable strong counter-selection of these alleles in the homozygous state. Indeed, the level of dominance of the *kdr* alleles is not known in *B. tabaci*, but a codominance between resistant and sensitive allele is described in a Lepidoptera ([Bouvier et al. 2001](#)). Heterozygotes would therefore have a better fitness than susceptible homozygotes during an insecticide treatment, and would thus be less counter-selected.

The lack of introgression of *kdr* alleles in the other direction from MEAM1 to IO may seem surprising. One hypothesis would be that this resistant allele has a higher fitness cost for IO than for MEAM1. This could be explained if MEAM1 has a reduced cost of resistance according to the selection of a modifier gene elsewhere in the genome. In this case, IO needs to acquire both the resistant allele and the modifier gene to avoid counter-selection in absence of insecticide treatment. This would decrease the probability of introgression of the resistant allele in IO genome.

The low number of hybrids leads to caution regarding the conclusions that can be drawn, however, presently; there is no indication of a role of hybridization in the evolution of resistance in whitefly studied here.

IV.4. Conclusion

The historical evolution of the three whitefly species in La Réunion is highlighted by their insecticide resistance ability. Here is the hypothetic reconstitution of this evolution, based on our and previously published results.

IO initially present in the island, constituted no threat to crops and was therefore not subjected to insecticide. The invasion of MEAM1 drastically modified the situation. Hybridization between IO and MEAM1 was initially important, but it was later reduced by insecticide treatment to control MEAM1 populations in agrosystems, which constrained IO in non-agricultural areas. Indeed, as MEAM1 induced great yield losses in La Réunion (particularly on tomatoes), high insecticide treatment (in intensity and variety of treatments) was applied to crops. MEAM1 species displayed high resistance to insecticide, possibly even before its invasion, and became predominant in agrosystems. This led to the relative isolation of MEAM1 and IO, in two ecosystems, but with a low proportion of migrants enabling low frequency hybridization. We still don't know what is limiting the expansion of MEAM1 into the non-agricultural areas. It could be the cost associated with resistance, poor adaptation to local plants or other ecological constraints. The more recent invasion of MED-Q does not seem to have impacted much the IO/MEAM1 situation. Contrary to our expectation, this species did not expand over the last decade.

Following the two invasion events, the whitefly species distribution has not drastically evolved in the past years, and each species seems to be contained in its initial ecological niche, with MEAM1 spread in all agrosystems and MED-Q restricted to a small area close to its initial first description. IO was widely present, but in much lower numbers, especially in agrosystems. Furthermore, the initial hypothesis of indigenous species not being equally armed regarding to insecticide resistance, facing both invasive MEAM1 and MED-Q species, is validated. Very high levels of resistance for both invasive species were found together with generally high gene flow between whitefly populations of the broadly spread MEAM1 species. This could have allowed locally appearing resistance alleles to spread over the island, and might have been one of the process triggering those high *kdr* allele frequencies. As a conclusion, the non-spread of the invasive MED-Q in the insular environment cannot only be explained by differential levels of pyrethroid resistance, but other insecticide resistance or factors must be in play, in particular ecological or environmental factors.

IV.5. Supporting information

Table IV-S1. Loci used for nuclear and mitochondrial DNA analysis.

LN	Reference	Primer sequence (5'-3')
MS145	(Dalmon et al. 2008)	F: CCTACCCATGAGAGCGGTAA R: TCAACAAACGCGTTCTTCAC
P59	(Delatte et al. 2006)	R: TTTGCCAACTGAAGCACATCAATCA
P7	(Delatte et al. 2006)	F: AGGGTGTCTCAGGTCAGGTAGC R: TTTGCGTAATAGAAAA
WF2H06	(Hadjistylli et al. 2014)	F: TATTCGCCAATCGATTCTT R: CGGCGGAAATTTTCGATAAA
WF1G03	(Hadjistylli et al. 2014)	F: CTCCAAAATGGGACTTGAAC R: GTAGAAGCCACACATACTAGCAC
WF1D04	(Hadjistylli et al. 2014)	F: GTTGTTAGGTTACAGGGTTTGTC R: GTCTTTACTTCTTTTCTCCG
P5	(Delatte et al. 2006)	F: ATTAGCCTTGCTTGGGTCTCT R: TTTGCAAAAACAAAAGCATGTGTCAAA
CIRSSA2	(Ally et al. 2019)	F: ACAATGCATGTTGATTGTGAA R: TGAAAATGTCTACGGCCAGA
CIRSSA6	(Ally et al. 2019)	F: CATATCGGTCATTATCCGCA R: CATCAGGCTGGAAAGACGAG
CIRSSA13	(Ally et al. 2019)	F: AGTGCTGAAGGTCCACCGTA R: GGGATTTCCAGGGGTTAAGA
CIRSSA41	(Ally et al. 2019)	F: TGGGTGCATGGTTCTTACAG R: TATCCGGTCGACAAACACAA
IIS4-5	(Morin et al. 2002) (Tsagkarakou et al. 2009)	F: GCCAAATCCTGGCCAAC R: GAGACAAAAGTCCTGTAGC
mtCOI	(Mugerwa et al. 2018)	F: TGRTTTTTTGGTCATCCRGAAGT R: TTTACTGCACTTTCTGCC

Locus name (LN), source reference, and primer sequence.

Table modified from [Tsagkarakou et al. \(2009\)](#) and [Ally et al. \(2019\)](#).

Table IV-S2: F_{ST} matrix for MEAM1 populations. All bolded numbers are significant (Bonferroni corrected p-value).

	S11	S13	S14	S15	S16	S18	S19	S1	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28	S29	S30	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	S39	S42	S43	S44	S46	S51	S52	S53	S5	
S11	0																																		
S13	-0.013	0																																	
S14	0.015	-0.004	0																																
S15	0.010	0.031	0.040	0																															
S16	0.001	0.003	0.036	0.047	0																														
S18	0.006	0.015	0.032	0.005	0.032	0																													
S19	0.010	-0.001	-0.019	0.022	0.033	0.020	0																												
S1	0.005	0.016	0.036	0.056	0.026	0.034	0.033	0																											
S21	0.014	0.028	0.039	0.028	0.024	0.002	0.023	0.028	0																										
S22	-0.001	0.004	0.002	0.029	0.027	0.019	-0.002	0.017	0.016	0																									
S23	0.005	0.003	0.026	0.031	0.002	0.016	0.015	0.003	0.009	0.009	0																								
S24	0.065	0.076	0.122	0.120	0.064	0.093	0.120	0.109	0.077	0.086	0.094	0																							
S25	-0.001	0.009	0.010	0.044	0.014	0.026	0.007	0.015	0.015	0.011	0.005	0.093	0																						
S26	0.012	0.016	0.050	0.065	0.009	0.036	0.046	0.035	0.021	0.037	0.016	0.040	0.014	0																					
S27	0.004	-0.001	0.002	0.032	-0.009	0.020	0.014	0.027	-0.006	0.011	-0.011	0.051	-0.002	-0.016	0																				
S28	-0.004	-0.003	-0.002	0.020	0.011	0.009	-0.005	0.005	0.010	0.000	-0.002	0.095	-0.002	0.025	0.007	0																			
S29	0.017	0.048	0.067	0.012	0.037	0.015	0.056	0.063	0.038	0.043	0.044	0.114	0.059	0.073	0.050	0.038	0																		
S30	-0.010	0.001	0.003	0.036	0.007	0.019	0.022	0.041	0.025	0.011	0.011	0.096	0.010	0.020	0.000	0.005	0.046	0																	
S31	0.021	0.012	0.017	0.075	0.014	0.049	0.037	0.045	0.056	0.037	0.032	0.111	0.028	0.046	0.049	0.024	0.064	0.018	0																
S32	0.006	0.002	-0.001	0.030	0.012	0.017	0.005	0.023	0.025	0.009	0.005	0.111	0.005	0.035	0.018	-0.005	0.039	-0.001	0.006	0															
S33	0.008	-0.003	-0.004	0.043	-0.010	0.028	0.009	0.016	0.021	0.008	-0.006	0.074	0.005	0.009	-0.015	-0.001	0.046	-0.001	-0.009	-0.007	0														
S34	-0.005	-0.002	0.022	0.029	0.021	0.009	0.015	0.038	0.017	0.013	0.027	0.051	0.020	0.018	0.014	0.010	0.041	0.013	0.036	0.023	0.019	0													
S35	0.004	0.002	0.008	0.028	0.017	0.016	0.001	0.030	0.027	-0.003	0.015	0.072	0.017	0.029	0.033	0.000	0.038	0.001	0.036	0.004	0.007	0.002	0												
S36	0.012	0.029	0.068	0.039	0.040	0.020	0.055	0.050	0.022	0.041	0.042	0.032	0.046	0.024	0.035	0.045	0.048	0.078	0.057	0.046	0.007	0.028	0												
S37	0.000	0.003	-0.002	0.017	0.017	0.007	-0.004	0.019	0.014	0.007	0.007	0.118	-0.001	0.032	0.015	-0.011	0.033	0.000	0.022	-0.007	0.003	0.012	0.004	0.046	0										
S39	0.037	0.056	0.099	0.080	0.051	0.021	0.057	0.082	0.038	0.065	0.070	0.003	0.072	0.028	0.019	0.070	0.071	0.071	0.107	0.092	0.066	0.029	0.049	0.009	0.086	0									
S42	0.018	0.012	0.030	0.050	0.005	0.021	0.029	0.019	0.021	0.026	0.003	0.108	0.013	0.021	0.015	0.007	0.044	0.010	0.024	0.004	0.000	0.027	0.015	0.053	0.003	0.079	0								
S43	0.020	0.017	0.056	0.052	0.015	0.022	0.025	0.020	0.031	0.039	0.010	0.109	0.036	0.031	0.024	0.020	0.040	0.037	0.042	0.027	0.017	0.034	0.031	0.048	0.025	0.075	0.001	0							
S44	0.030	0.017	0.039	0.062	0.052	0.039	0.027	0.065	0.058	0.028	0.060	0.100	0.052	0.060	0.077	0.033	0.070	0.033	0.062	0.042	0.045	0.011	0.009	0.049	0.033	0.077	0.050	0.062	0						
S46	0.038	0.064	0.093	0.041	0.080	0.028	0.067	0.075	0.037	0.060	0.058	0.148	0.079	0.099	0.084	0.067	0.040	0.074	0.088	0.069	0.081	0.056	0.072	0.061	0.062	0.103	0.080	0.074	0.092	0					
S51	0.000	-0.005	0.018	0.034	0.016	0.016	0.019	0.036	0.030	0.018	0.018	0.068	0.021	0.023	0.023	0.010	0.054	0.009	0.020	0.012	0.009	-0.001	0.008	0.025	0.013	0.058	0.026	0.035	0.030	0.063	0				
S52	0.001	-0.007	0.016	0.049	0.021	0.035	0.022	0.047	0.056	0.025	0.032	0.079	0.026	0.035	0.040	0.021	0.060	0.013	0.013	0.016	0.016	0.007	0.018	0.043	0.020	0.071	0.035	0.052	0.031	0.072	0.003	0			
S53	0.018	0.001	-0.003	0.034	0.021	0.026	-0.002	0.048	0.041	0.015	0.018	0.122	0.014	0.043	0.019	0.005	0.051	-0.006	0.030	0.002	0.012	0.025	0.008	0.067	-0.002	0.097	0.018	0.043	0.037	0.088	0.018	0.019	0		
S5	0.018	0.003	-0.004	0.051	0.019	0.044	0.012	0.023	0.052	0.021	0.011	0.112	0.016	0.043	0.008	0.010	0.070	0.022	0.022	0.010	-0.013	0.040	0.025	0.073	0.016	0.104	0.021	0.039	0.061	0.097	0.024	0.026	0.018	0	

Table IV-S3: F_{ST} matrix for IO populations. All bolded numbers are significant (Bonferroni corrected p-value).

	S10	S12	S17	S20	S27	S2	S38	S3	S41	S45	S47	S48	S49	S50	S54	S55	S56	S6	S7	S8	S9	
S10	0																					
S12	0.001	0																				
S17	0.012	0.004	0																			
S20	0.000	0.006	0.013	0																		
S27	0.012	0.018	0.012	0.001	0																	
S2	0.012	0.013	0.027	0.004	0.036	0																
S38	0.008	0.004	-0.001	0.000	0.006	0.017	0															
S3	0.007	-0.006	-0.005	-0.005	0.015	0.000	-0.001	0														
S41	-0.002	-0.001	-0.001	0.006	0.023	0.022	0.004	-0.002	0													
S45	0.018	0.006	0.003	0.015	0.038	0.018	0.014	0.002	0.014	0												
S47	0.006	-0.003	-0.001	0.003	0.020	0.006	-0.003	-0.009	-0.004	0.011	0											
S48	-0.005	0.002	0.007	-0.002	0.021	-0.008	0.008	-0.006	-0.005	0.010	-0.001	0										
S49	0.020	0.001	0.031	0.035	0.079	0.034	0.047	0.015	0.016	0.030	0.009	0.022	0									
S50	0.005	-0.003	0.001	0.011	0.034	0.005	0.001	-0.003	-0.003	0.006	-0.010	-0.002	0.014	0								
S54	0.002	0.000	0.003	0.008	0.021	0.010	0.011	-0.002	0.001	0.012	0.000	-0.005	0.010	-0.003	0							
S55	-0.002	-0.004	0.005	-0.004	0.019	-0.010	0.004	-0.009	0.001	0.009	-0.007	-0.010	0.014	-0.005	0.004	0						
S56	0.021	0.000	0.017	0.030	0.054	0.020	0.015	0.005	0.006	0.020	0.002	0.007	0.0									

V. Chapitre 2

Evaluation de la résistance aux insecticides et de son coût chez une espèce exotique envahissante *versus* une espèce résidente au sein du complexe d'espèces *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae) à l'île de La Réunion[‡]

Résumé

L'application d'insecticides a contribué à réduire les populations d'insectes ravageurs des cultures à travers le monde. Le revers de la médaille de ces traitements très efficaces est l'évolution très fréquente de résistances vis-à-vis de ces produits. L'évolution de la résistance aux insecticides repose sur la sélection, par le traitement insecticide, d'individus portant une ou des mutations qui confèrent une moins grande sensibilité aux substances actives. L'utilisation sur d'importantes surfaces et de manière répétée, d'une même substance active, va procurer un avantage sélectif important aux individus possédant les génotypes les plus résistants : ils vont ensuite transmettre leurs gènes préférentiellement à la génération suivante. Cet avantage est dépendant de la présence du traitement insecticide : en l'absence de traitement, une résistance peut devenir coûteuse et être contre-sélectionnée. Cette contre-sélection retarde la diffusion et la fixation des allèles de résistance, ce qui peut être mis à profit pour une gestion intégrée des ravageurs des cultures. Le coût de la résistance peut être dû à la perte de fonction de la protéine mutée qui a un rôle biologique important, ou à la réallocation d'énergie pour des mécanismes de résistance plutôt qu'à d'autres fonctions importantes qui peuvent avoir un impact négatif sur la *fitness* (=la capacité d'un individu à transmettre ces gènes à la génération suivante).

A La Réunion, le climat tropical favorise des densités importantes d'aleurodes toute l'année. Si des solutions alternatives se développent, les traitements insecticides sont encore majoritairement utilisés. Cette étude vise dans un premier temps à estimer les niveaux de résistance des populations de MEAM1 et IO dans différents sites et contextes agricoles. Cette estimation des niveaux de résistance se base sur la mesure des [CL₅₀](#), la concentration d'insecticide létale pour 50% des individus testés. Deux insecticides ont été testés, le Suprême[®]

[‡] Ce chapitre a fait l'objet d'une publication : **Taquet, A., H. Delatte, B. Barrès, C. Simiand, M. Grondin, and H. Jourdan-Pineau** (2020) Insecticide resistance and fitness cost in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) invasive and resident species in La Réunion Island. *Pest Management Science* 4, 1235-1244. La version présentée ici a été légèrement modifiée.

20 SG (substance active : acétamipride) et le Plenum[®] 50 WG (substance active : pyméthrozine), appartenant à deux familles différentes (donc ayant des cibles moléculaires distinctes) : la famille des néonicotinoïdes et la famille des pyridine-azométhrines, respectivement. Quinze populations ont été échantillonnées sur le terrain, en visant des populations "pures" IO ou MEAM1, puis élevées au laboratoire pour obtenir des effectifs suffisants. Pour deux populations en mélange, un génotypage *a posteriori* (marqueurs microsatellites) de tous les individus testés a permis d'analyser séparément les espèces.

Les tests biologiques révèlent des résistances modérées à fortes au Suprême pour l'espèce MEAM1. Pour le Plenum, la résistance est tellement forte dans la plupart des populations pour l'espèce MEAM1 qu'il a été impossible d'atteindre des taux de mortalité importants, même en limite de solubilité de l'insecticide. De son côté, l'espèce IO est sensible aux deux insecticides testés.

Ces hauts niveaux de résistances mesurés au laboratoire sur MEAM1 font écho aux pertes d'efficacité rapportées sur le terrain par les agriculteurs. Cependant, les deux insecticides testés, encore largement utilisés au début de notre étude, sont à présent interdits. On pourrait donc supposer que les niveaux de résistance de MEAM1 pourraient diminuer dans le temps, si toutefois il existe un coût à ces résistances.

Pour en savoir plus, nous avons testé la présence d'un coût de résistance vis-à-vis de l'acétamipride chez l'espèce MEAM1. Ainsi, nous avons mesuré des traits liés à la *fitness* (survie adulte, fécondité, taux d'éclosion, survie larvaire...) chez sept populations montrant des niveaux de résistance variés à l'acétamipride (en plus de la population de référence du laboratoire). Nos résultats montrent bien des différences inter-populations pour les traits d'histoire de vie mesurés. Par contre, ces différences ne sont absolument pas liées aux niveaux de résistance à l'acétamipride. Ainsi, il ne semble pas y avoir de coût lié à la résistance à l'acétamipride chez l'aleurode MEAM1. Ceci peut s'expliquer par plusieurs mécanismes : le remplacement au cours du temps de la mutation résistante initiale par de nouvelles mutations moins coûteuses, ou bien la préexistence de la mutation avant la pression d'insecticide.

Cette étude a apporté la première estimation de la résistance chez l'espèce IO. Cette espèce est toujours sensible, malgré sa présence dans ou à proximité des agrosystèmes. Au contraire, MEAM1 est très résistante, ce qui reflète l'échec de la stratégie actuelle de gestion de ce ravageur.

**Insecticide resistance and fitness cost in *Bemisia tabaci*
(Hemiptera: Aleyrodidae) invasive and resident species
in La Réunion Island**

Running title: Insecticide resistance and fitness cost in *B. tabaci* MEAM1 and IO species

**Alizée Taquet,^a Hélène Delatte,^{a*} Benoit Barrès,^b Christophe Simiand,^a Martial Grondin^a
and Hélène Jourdan-Pineau^a**

^a CIRAD, UMR PVBMT, Pôle de Protection des Plantes, Saint-Pierre, France

^b Université de Lyon, Anses, INRA, USC CASPER, Lyon, France

* **Correspondence to:** H Delatte, CIRAD, UMR PVBMT, Pôle de Protection des Plantes, 7
chemin de l'IRAT, 97410 Saint-Pierre, La Réunion, France.

E-mail: helene.delatte@cirad.fr

Abstract

BACKGROUND: Global and intensive use of insecticides has led to the emergence and rapid evolution of resistance in the major pest *Bemisia tabaci* (Gennadius). In La Réunion, an island of the South West Indian Ocean, three whitefly species coexist, two of which are predominant, the indigenous Indian Ocean (IO) and the invasive Middle East Asia Minor 1 (MEAM1) species. To assess the resistance level of both of these species to acetamiprid and pymetrozine, whitefly populations were sampled at 15 collection sites located all over the island in agroecosystems and natural areas, and tested using leaf-dip bioassays. We also investigated the potential cost of resistance to acetamiprid by measuring six fitness-related traits for MEAM1 populations that displayed different resistance levels.

RESULTS: IO was mainly found in natural areas and was susceptible to both acetamiprid and pymetrozine. MEAM1 populations displayed evidence of high resistance to pymetrozine, whereas resistance to acetamiprid was more variable. No fitness-related costs were associated with this resistance in MEAM1 populations.

CONCLUSION: This is the first assessment of the susceptibility to insecticides for *B. tabaci* IO species. For the time being, no resistance to the tested insecticides has evolved in this species despite (i) its presence in agroecosystems and their surroundings, and (ii) its close proximity to, and possible hybridization with, the MEAM1 species. In contrast, with continuous selection pressure of insecticide treatments and in the absence of fitness cost to resistance, the invasive exotic species MEAM1 will continue to threaten agriculture in La Réunion.

Keywords: arthropod; chemical treatments; toxicity; field-evolved resistance; pest management.

V.1. Introduction

Nowadays, the estimated worldwide consumption of pesticides has reached 3.5 million tons per year ([Eyhorn et al. 2015](#)). Repeated insecticide applications resulted in a high selection pressure that has led to the rapid evolution and emergence of resistances in target pest populations ([Denholm 1988](#), [Dittrich et al. 1990](#), [Palumbo et al. 2001](#)). Indeed, the dynamics of resistance among pest populations is driven by evolutionary forces: selection by insecticide treatment, emergence of resistance-conferring mutation, migration of resistant individuals into more susceptible populations and genetic drift ([Labbé et al. 2005](#)). While resistance to insecticide confers an obvious advantage in treated environments, it may be counterselected in the absence of treatment ([Kliot and Ghanim 2012](#)). The potential lower fitness of individuals carrying resistant alleles in the absence of insecticide, is considered as a resistance cost ([Lenormand et al. 2018](#)). Such costs are due to the (near) loss of function in genes that are essential for viability or to the reallocation of resources and energy to resistance mechanisms instead of other fitness-enhancing traits ([Kliot and Ghanim 2012](#)). If fitness costs associated with resistance are high, resistant individuals can be counterselected in the absence of treatments, resulting in delayed diffusion and fixation of resistant genotypes. Therefore, identifying fitness costs is important for designing efficient integrated pest management programmes based, for instance, on alternation of classes of compound with differing modes of action ([Bass and Ffrench-Constant 2017](#)). Resistance costs can be assessed by studying the stability of resistance over time in the absence of treatment (the frequency of resistant genotypes should decrease if they are counterselected) or by comparing fitness-related traits between resistant and susceptible strains (ideally with the same genetic background).

Bemisia tabaci (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) is a pest distributed worldwide, with some members responsible for heavy crop losses ([Oliveira et al. 2001](#), [Perring 2001](#)) and with a known high evolutionary potential. Based on phylogenetic studies, it is considered to be a cryptic species complex with more than 40 morphologically indistinguishable species ([Boykin et al. 2007](#), [De Barro et al. 2011](#), [Liu et al. 2012](#), [Mugerwa et al. 2018](#)). *Bemisia tabaci* can cause three types of damage on plants: (i) direct damage by sucking phloem sap of hundreds of plant species ([Byrne and Bellows Jr 1991](#)), (ii) indirect damage by excreting honeydew that favours the growth of sooty mould fungus ([Davidson et al. 1994](#)), or (iii) by transmitting at least 320 virus species belonging to five genera: Begomovirus, Ipomovirus, Crinivirus, Torradovirus and Carlavirus ([Brown et al. 2015](#), [Zerbini et al. 2017](#)). Despite novel control agents being available, insecticides remain the most widely used tool against the whitefly *B. tabaci*

([Caballero et al. 2015](#), [Roditakis et al. 2017](#)). To date, 637 resistance cases to 61 different active substances have been recorded in the *Arthropod Pesticide Resistance Database* for the *B. tabaci* complex all over the world ([Whalon et al. 2019](#)). Among all the species belonging to the *B. tabaci* species complex, two have been identified as invasive worldwide: the Middle East Asia Minor 1 species (MEAM1) and the Mediterranean species (MED), which were formerly referred to as the B ‘biotype’ and the Q ‘biotype’, respectively ([Boykin et al. 2007](#), [De Barro et al. 2011](#)). Both of these are particularly well known for their capacity to evolve resistance to multiple important classes of insecticides ([Basit 2019](#)).

Insular environments are among the most vulnerable ecosystems in the world, partly due to their small size and isolation. Ecological impacts of invasion by non-native species are often more pronounced in islands compared to mainlands ([Mueller-Dombois and Loope 1990](#), [Gillespie and Roderick 2002](#)). La Réunion is a French tropical island located in the southwest Indian Ocean (SWIO), 700 km east of Madagascar. On this island, *B. tabaci* was first described in 1938 ([Bourriquet 1938](#)). Molecular analysis revealed the presence of an indigenous species, referred to as the Indian Ocean species (IO), formerly referred to as the Ms ‘biotype’ ([Delatte et al. 2005](#)). In 1997, a severe outbreak of Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) in the island was associated with the introduction of its vector, the invasive MEAM1 species ([Delatte et al. 2005](#)). Since then, vegetable production in La Réunion has mainly relied on chemical control options for whitefly populations ([Agreste DAAF de La Réunion 2016](#)). Among all insecticide families, neonicotinoids and pyridine azomethine derivatives have been widely used for their effectiveness against sucking pests ([Polston and Sherwood 2003](#), [Bass et al. 2015](#)). In 2010, a second invasive whitefly species was detected in La Réunion: the invasive MED species ([Thierry et al. 2015](#)). Among these three whitefly species that coexist in La Réunion, IO and MEAM1 are widespread, and found preferentially on weeds and crops, respectively ([Delatte et al. 2006](#), [Delatte et al. 2009](#)).

The IO species was described in all the islands of the south-west part of the Indian Ocean and mainland Central and East Africa ([Delatte et al. 2005](#), [Sseruwagi et al. 2005](#), [Delatte et al. 2011](#), [Tocko-Marabena et al. 2017](#)). Contrary to the MEAM1 and MED species, the IO species has never been considered invasive to date. However, they have been shown to group together in the same phylogenetic clade of ‘invasive’ species ([Delatte et al. 2005](#), [Boykin et al. 2007](#)). It is also known that MEAM1 and IO can hybridize when they are in syntopy ([Delatte et al. 2006](#), [Thierry et al. 2011](#)). Thus, introgression of MEAM1 resistant allele(s) within the IO genotype and/or selection by insecticide could lead to the evolution of insecticide resistance in the indigenous species, as shown between two mosquito sister species for

dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and pyrethroid insecticides in Mali (Norris et al. 2015), or for the resistance to anticoagulant rodenticide acquired by house mice from Algerian mice across Western Europe (Song et al. 2011). Additionally, Delatte et al. (2005) have shown that IO was able to induce silverleaf symptoms on *Cucurbita sp.*, and was as efficient as MEAM1 at acquiring and transmitting TYLCV. For all these reasons, IO could potentially represent a risk to agriculture in the SWIO that should not be neglected. However, the IO species has never been tested for insecticide resistance so far, and similarly nothing is known about the insecticide resistance status of the invasive MEAM1 populations present in La Réunion.

It is of crucial importance to highlight resistance cases and to identify potential associated costs, in order to design effective and long-term control measures that will limit resistance propagation. The aims of this study were therefore (i) to investigate the resistance level of populations of the two main *B. tabaci* species (one native, one invasive) against acetamiprid and pymetrozine, two important active substances used in La Réunion, and (ii) to assess the existence of a fitness cost associated with resistance.

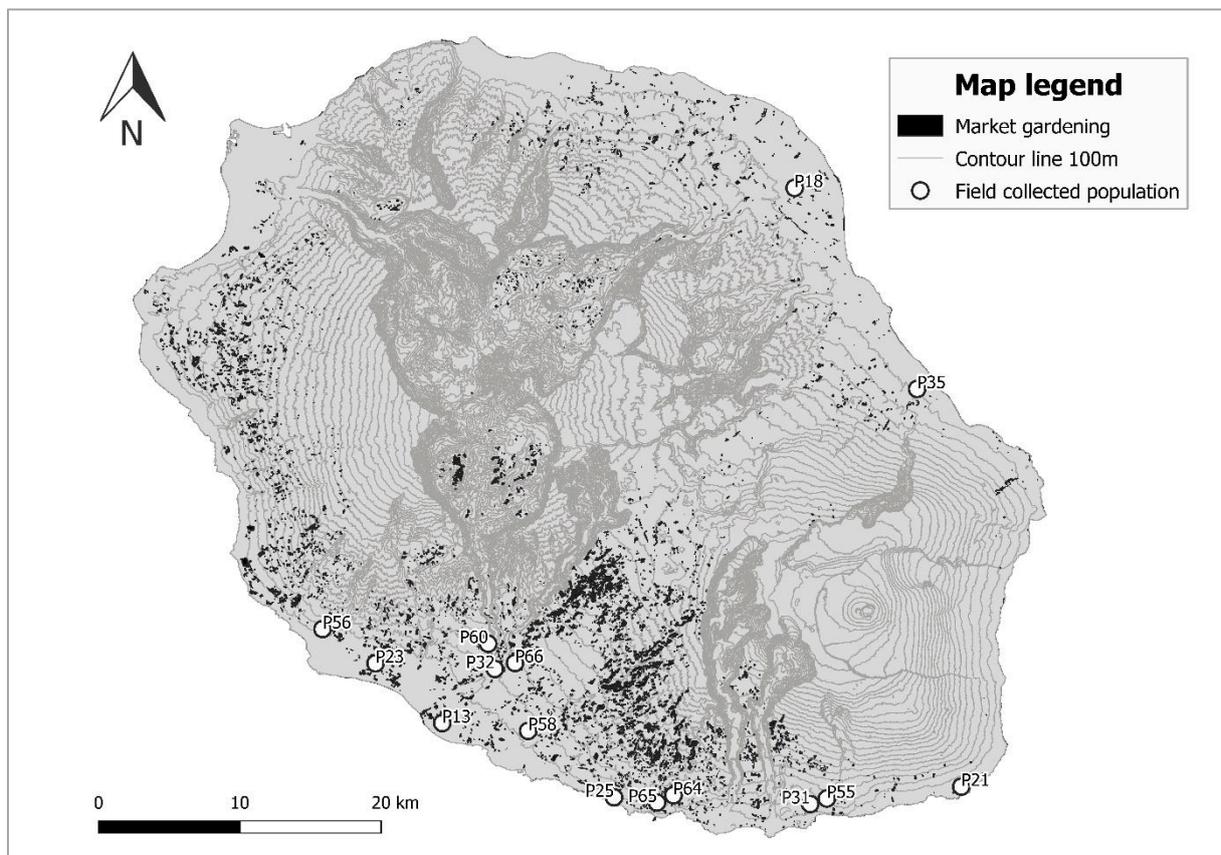


Figure V-1: Global repartition of sampled *B. tabaci* field populations in and around market gardening areas of La Réunion. Each field population is named as referred to in [Table V-S1](#).

V.2. Materials and methods

V.2.1. *Bemisia tabaci* populations

A total of 15 field populations of *B. tabaci* were investigated in this study (Supporting information, [Table V-S1](#) and [Figure V-1](#)). They were collected on cultivated plants and weeds all over the island from greenhouses, open fields, field surroundings and non-cultivated areas, from October to December 2017. Field-collected adult whiteflies were transferred to uninfested cotton seedlings (*Gossypium hirsutum* L. cv. Dora) confined inside insect-proof cages (dimensions: 32.5 × 32.5 × 32.5 cm; mesh size: 650 µm aperture). Each population was established from at least 300 individuals. They were maintained in a climate chamber at 28°C (photoperiod 12:12 h light:dark and relative humidity 60 ± 10%) until they were tested.

Susceptible populations of MEAM1 and IO, collected in La Réunion, were used as reference populations when evaluating the insecticide susceptibility of sampled populations. The reference MEAM1 laboratory population was originally sampled in 2001 from cabbage *Brassica oleracea* L. (Brassicaceae), whereas the IO was sampled on July 2017 from Mexican fireplant *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae) and lantana *Lantana camara* L. (Verbenaceae). Both whitefly species were reared on cotton plants in separate climate chambers, using identical conditions described for the field-collected populations, and were maintained without exposure to insecticides.

In addition to living individuals, 30 individuals were sampled at each collection site, preserved in 95% ethanol and held at -20°C for molecular species determination in the laboratory. After DNA extraction, each individual was genotyped using the microsatellite marker Ms145 as a diagnostic locus ([Dalmon et al. 2008](#), [Delatte et al. 2011](#)). Allele sizes under 200 base pairs (bp) are specific to the IO species, whereas alleles over 200 bp are only found in the MEAM1 species. The partial 3' mitochondrial cytochrome oxidase I gene (COI) of 53 individuals, randomly chosen from each of the two species, was sequenced in order to confirm the species identification by pairwise nucleotide comparisons with reference sequences from GenBank. For dose-response leaf-dip bioassays, only unmixed species populations were used. In the case of mixed species populations detected on field-collected individuals, *a posteriori* molecular species determination was performed on all individuals after each bioassay (IO and MEAM1, i.e. P60 and P64).

V.2.2. Dose-response leaf-dip bioassays

We investigated two of the main classes of insecticides used in La Réunion for the dose–response bioassays: formulated acetamiprid (Supreme® 20 SG, 200 g kg⁻¹, Certis) and formulated pymetrozine (Plenum 50 WG, 500 g kg⁻¹, Syngenta Crop Protection), which belong to neonicotinoids and pyridine azomethine derivatives, respectively. Acetamiprid acts as an agonist of nicotinic acetylcholine receptors, inducing hyperactivity and muscle spasms that can lead to death ([Jeschke and Nauen 2008](#)). Pymetrozine acts by suppressing stylet penetration so that whiteflies can no longer feed on the plant and die of starvation ([Harrewijn and Kayser 1997](#)).

Bioassays were performed for both insecticides on each field population (with the exception of populations P35 and P60-IO that were only tested against acetamiprid because of an insufficient number of adults available in the population) using a leaf-dip method adapted from the Insecticide Resistance Action Committee protocol 015 (IRAC; <http://www.irac-online.org/methods/>). Untreated cotton plants were pot cultivated in a growth chamber (temperature 28°C, photoperiod 12:12 h light:dark and relative humidity 70 ± 10%), away from any pests. About 6 weeks after germination, their leaves were removed and 86 mm diameter discs were cut out from them. From 4.096 and 10 g L⁻¹ stock solutions of acetamiprid and pymetrozine, respectively, two-fold or four-fold serial dilutions of insecticide were made with distilled water. Each cotton leaf disc was dipped for 5 s into one of the dilutions of the insecticide. Natural mortality was assessed with control leaf discs treated with distilled water. Leaves were laid on an agar bed (1%) in Petri dishes (88 mm in diameter), with their adaxial surface downwards.

For each field population, adult whiteflies were collected from rearing cages and anaesthetized by cold treatment before being sexed under a Leica MZ6 stereomicroscope ([Calvert et al. 2001](#)). Adult female whiteflies were placed on each treated leaf disc. Petri dishes were sealed with a transparent ventilated lid and were randomly distributed into climate chambers at 25°C (photoperiod 12:12 h light:dark). Mortality was recorded after 48 or 96 h of exposure to acetamiprid or pymetrozine, respectively. An insect was considered dead if it showed no sign of movement during 10 s. Each replicate consisted of 15 adult female whiteflies for each different concentration tested. A replicate was discarded if the mortality in the control leaf disc was greater than 15%. Each bioassay was performed with at least five concentrations (plus the control), with three to four replicates each. We did not meet some of these protocol requirements for MEAM1 field-collected population P32 and mixed species populations P60

and P64. Although population size was smaller or natural mortalities were higher than expected, we performed analysis of the mortality data.

V.2.3. Dose-response curves analysis

Dose-response curve analysis was carried out in R ([R Core Team 2017](#)) using the ‘drc’ package v.3.0.1 ([Ritz et al. 2015](#)). The insecticide concentration causing 50% whitefly mortality (lethal concentration, LC_{50}) was estimated using the three-parameter log-normal dose-response model, with unbounded level of natural mortality, similar to the log-logistic model of Finney ([Finney 1979](#)). This model calculates 95% confidence limits (CL) of LC_{50} and the slope of the curve around LC_{50} , and provides the background mortality before increasing insecticide dose has any effect.

The effect of population or environment on LC_{50} was assessed with a deviance analysis ([Crawley 2005](#)), comparing the deviance of a model specifying different values for the three parameters (i.e. LC_{50} , slope and lower limit) for each population (or each environment, see Supporting information, Table V-S1) to a model with only one value of LC_{50} for all populations (or environments). Pairwise comparisons of LC_{50} were achieved using the ‘drc’ function `compParm`. Deviance analyses and pairwise comparisons of LC_{50} for MEAM1 field-collected populations tested with pymetrozine could not be performed due to very high resistance levels among populations, leading to convergence failure.

The resistance ratio RR_{50} was computed by dividing the estimated LC_{50} value of a given field-collected population for a particular chemical by the corresponding LC_{50} value for the susceptible laboratory population. As described by [Ahmad et al. \(2007\)](#), resistance was classified as none ($RR = 1$), very low ($RR = 2 - 10$), low ($RR = 11 - 20$), moderate ($RR = 21 - 50$), high ($RR = 51 - 100$) and very high ($RR > 100$).

Finally, we tested the relationship between the background mortality and the LC_{50} to acetamiprid using a linear model and an F-test. The expectation was that resistant populations (with higher LC_{50}) should have lower survival than susceptible populations at sublethal doses if there is a high fitness cost (i.e. causing mortality in the absence of treatment) associated with resistance to acetamiprid.

V.2.4. Life history traits

We further investigated the potential cost of resistance to acetamiprid by recording six fitness-related traits (fecundity, female adult life expectancy, hatching rate, egg-to-adult survival, lifetime reproductive success and female size) for several populations that displayed different levels of resistance. Adult size can be considered as a fitness proxy in females since it is directly correlated with fecundity ([Honěk 1993](#)). The cost of pymetrozine resistance was not investigated since it was not possible to determine precisely LC_{50} values for some MEAM1 populations. Based on the previously described bioassays, we selected seven field populations of the MEAM1 species, in addition to the reference laboratory population. During the following experiments, whitefly individuals were randomly distributed over cotton plants and in climate chambers at 28°C (photoperiod 12:12 h light:dark).

Female adult life expectancy and fecundity were measured for ten females per population. To collect newly emerged females, cotton leaves with whitefly pupae were cut and placed in Petri dishes on an agar bed (1%). The next day, newly emerged adults were collected, anaesthetized by cold treatment and sexed. One female and one male (about 1 day old) were placed together in a clip-cage (modified from [Millot \(2017\)](#)) attached on a cotton leaf and cotton plants were then transferred into climate chambers. Three days later, we checked if both male and female were alive and if so the male was removed and the clip-cage (with the female) was moved to a new cotton leaf. The clip-cages were moved every 3 days to another cotton leaf until the death of the female. Eggs laid over each 3-day period were counted. Fecundity was calculated as the sum of eggs laid until death by each female. Female adult life expectancy was the number of days a female lived after emergence, and this observation was made at 3-day time intervals.

We monitored egg hatching, egg-to-adult survival and adult emergence on eggs laid on cotton leaves during the first 3 days of this experiment. Leaves were cut 15 days after the start of the experiment and placed on agarose gel in a Petri dish. Every 3 days leaves were observed using a Leica MZ6 stereomicroscope, and all individuals (larvae and adults) were counted and their developmental stages were determined. Emerged adults were repeatedly removed to avoid multiple counting. Therefore, for each female, we measured the number of eggs laid during its first 3 days of life, the number of larvae that hatched and the number of emerged adults. These data were used to estimate hatching rate (number of larvae divided by the number of eggs) and egg-to-adult survival (number of adults divided by the number of eggs). Lifetime reproductive success was estimated by multiplying egg-to-adult survival by the total number of eggs laid in

a lifetime (recorded during the duration spent in clip-cages). Finally, we measured the body size, from the tip of the head to the end of the abdomen, of 24-h-old females (20 per population) under a Leica MZ6 stereomicroscope.

All data and scripts used to perform the analyses presented in this paper are available in the zenodo repository <http://doi.org/10.5281/zenodo.3266422> and at <https://dataverse.cirad.fr/>.

V.2.5. Life history traits statistical analysis

The relation between LC_{50} and fecundity, female adult life expectancy, hatching rate and egg-to-adult survival was modeled in a generalized linear framework using R ([R Core Team 2017](#)). Fecundity and lifetime reproductive success were analysed using quasi-Poisson distribution (to account for overdispersion) whereas female adult life expectancy was analysed using a Poisson distribution. Hatching rate and egg-to-adult survival were analysed as proportion data, using a quasibinomial distribution ([Zuur et al. 2009](#)). Finally, body size was analysed in a linear regression framework. In addition, we also tested if populations differed for the measured traits using the same linear models. We tested the significance of LC_{50} (or population) using F-tests, except for Poisson-distributed variables, which required Chi-square tests.

Table V-1: Non-linear regression analysis of mortality data for populations of *B. tabaci* from La Réunion tested with two insecticides in leaf-dip bioassays.

Species	Population	Acetamiprid				Pymetrozine			
		<i>N</i>	Slope (\pm SE)	LC ₅₀ (mg.L ⁻¹) (95% CL)	RR ₅₀	<i>N</i>	Slope (\pm SE)	LC ₅₀ (mg.L ⁻¹) (95% CL)	RR ₅₀
IO	laboratory	891	0.70 (\pm0.08)	2.00 (0.95-3.05) <i>ab</i>	1.0	420	0.91 (\pm0.16)	2.62 (1.56-3.68) <i>b</i>	1.0
IO	P35	360	1.08 (\pm 0.19)	1.98 (0.85-3.11) <i>a</i>	1.0	NA	NA	NA	NA
IO	P60 ^b	100	0.45 (\pm 0.21)	1.66 (-1.92-5.24) <i>b</i>	0.8	NA	NA	NA	NA
IO	P64 ^b	209	0.97 (\pm 0.14)	2.78 (1.99-3.58) <i>b</i>	1.4	214	0.40 (\pm 0.09)	0.38 (-0.16-0.93) <i>a</i>	0.1
MEAM1	laboratory	422	0.49 (\pm0.09)	3.41 (-1.19-8.01) <i>a</i>	1.0	1199	0.37 (\pm0.03)	0.73 (2.00E-3-1.46)	1.0
MEAM1	P13	419	0.74 (\pm 0.10)	1.86E2 (1.20E2-2.53E2) <i>bc</i>	54.7	417	-	>1.00E4 ^a	-
MEAM1	P18	421	0.59 (\pm 0.10)	3.68E2 (2.07E2-5.29E2) <i>de</i>	107.9	420	-	~1.00E4	-
MEAM1	P21	422	0.58 (\pm 0.06)	6.98E1 (4.33E1-9.62E1) <i>f</i>	20.5	419	-	>1.00E4	-
MEAM1	P23	315	0.48 (\pm 0.06)	1.29E2 (6.66E1-1.92E2) <i>bcg</i>	37.9	421	1.38E-1 (-)	4.51E5 (-1.48E5-1.05E6)	6.2E5
MEAM1	P25	419	0.73 (\pm 0.10)	5.05E2 (3.32E2-6.79E2) <i>d</i>	148.2	420	-	>1.00E4	-
MEAM1	P31	419	0.75 (\pm 0.10)	6.37E1 (3.95E1-8.78E1) <i>fh</i>	18.7	420	2.25E-4 (-)	1.79 (-2.14E1-2.50E1)	2.5
MEAM1	P32	227	0.71 (\pm 0.09)	5.66E1 (3.67E1-7.64E1) <i>fh</i>	16.6	391	-	>1.00E4	-
MEAM1	P55	421	0.84 (\pm 0.13)	1.11E1 (4.73-1.75E1) <i>i</i>	3.3	417	2.21E-1 (\pm 3.40E-2)	9.92E3 (-8.92E2-2.07E4)	1.3E4
MEAM1	P56	421	0.70 (\pm 0.08)	2.46E2 (1.67E2-3.25E2) <i>be</i>	72.1	413	-	>1.00E4	-
MEAM1	P58	422	0.97 (\pm 0.16)	1.83E2 (1.25E2-2.43E2) <i>bcg</i>	53.9	420	8.22E-2 (\pm 7.29E-2)	3.43E4 (-8.34E4-1.52E5)	4.7E4
MEAM1	P60 ^b	183	0.67 (\pm 0.13)	2.92E1 (1.01E1-4.82E1) <i>h</i>	8.5	129	1.25E-1 (-)	4.79E4 (-5.60E4-1.52E5)	6.5E4
MEAM1	P64 ^b	80	0.31 (\pm 0.12)	5.37E1 (-3.42E1-1.41E2) <i>fgh</i>	15.7	145	2.73E-4 (-)	2.30 (-3.38E1-3.84E1)	3.2
MEAM1	P65	417	0.63 (\pm 0.07)	1.46E2 (9.21E1-2.00E2) <i>c</i>	42.8	421	1.01E-1 (-)	6.74E4 (-)	1.0E5
MEAM1	P66	419	0.50 (\pm 0.07)	8.82E1 (3.62E1-1.40E2) <i>c</i>	25.9	420	-	~1.00E4	-

N, number of whiteflies tested; SE, standard error; LC₅₀, concentration of insecticide killing 50% of individuals; CL, 95% confidence limits; RR₅₀, resistance ratio = LC₅₀ of each population/LC₅₀ of laboratory susceptible population (in bold). Deviance analyses could not be performed for all MEAM1 populations tested with pymetrozine, due to high resistance levels among populations.

For each insecticide and each species, LC₅₀ followed by the same letter are not significantly different; missing information due to convergence failure is represented by a dash; NA, not available.

^a Estimation of LC₅₀ equal or up to 1.00E4 mg.L⁻¹ (which is the maximal concentration tested).

^b Analysed according to the *a posteriori* species identification.

V.3. Results

V.3.1. Species identification

Analysis of the mitochondrial COI DNA sequences obtained from 53 randomly selected field-collected whiteflies showed that 46 were classified as MEAM1 species, whilst the remaining seven whiteflies were classified as IO species. All of them shared 100% nucleotide identity to the MEAM1 and IO sequences from La Réunion, already published by [Delatte et al. 2005](#) and [Delatte et al. 2006](#) (accession number: AJ550175 and AJ877264, respectively).

Genotyping of all other individuals using the Ms145 marker revealed that it was challenging to find pure IO species populations in La Réunion: we found, reared and tested for insecticide resistance only one pure IO and two mixed IO and MEAM1 species populations. All these populations were collected on weeds from non-cultivated areas (Supporting information, [Table V-S1](#)).

V.3.2. Characterization of resistance status of MEAM1 and IO field collected populations

Ten out of the 14 MEAM1 tested populations were found to be resistant to both acetamiprid and pymetrozine ($RR_{50} > 10$). Four additional populations displayed evidence of resistance to only one of the insecticides: two to acetamiprid and two to pymetrozine. By contrast, all IO field-collected populations were found to be susceptible to acetamiprid (three out of three) and pymetrozine (one out of one; [Table V-1](#)). The MEAM1 reference laboratory population was confirmed to be the most susceptible in comparison to the field-collected populations ($LC_{50} = 3.41$ and 0.73 mg L^{-1} , respectively).

The field-collected population P60-IO was the most susceptible population of IO species to acetamiprid, even more susceptible than our reference laboratory population ($RR_{50} = 0.8$). Population P35 was as susceptible as our IO reference population, presenting no significant difference between them ($LC_{50} = 1.98$ and 2.00 mg L^{-1} , respectively). Finally, population P64-IO was the least susceptible population of IO species to acetamiprid ($RR_{50} = 1.4$), but also the most susceptible to pymetrozine, even more susceptible than our IO reference population ($RR_{50} = 0.1$).

Resistance status to acetamiprid differed among MEAM1 field-collected populations, but remained in favour of a moderate to very high resistance. Populations P55, P60-MEAM1, P21, P31, P32 and P64-MEAM1 were the most susceptible ($RR_{50} = 3.3$ to 20.5), whereas P18

and P25, both collected from treated green-houses, showed very high resistance levels ($RR_{50} = 107.9$ and 148.2). Between these two extremes, populations P23, P65, P66, P13, P56 and P58 demonstrated a moderate to high resistance level ($RR_{50} = 25.9$ to 72.1).

The pattern of resistance to pymetrozine differed considerably among MEAM1 field-collected populations. First, P31 and P64-MEAM1, collected from non-treated host plants (according to our survey of farmers' usage of insecticides, see Supporting information, [Table V-S1](#)), were the only two MEAM1 susceptible populations ($RR_{50} = 2.5$ and 3.2) of our panel. On the contrary, P23, P55, P58, P60-MEAM1 and P65 displayed evidence of remarkably high resistance to this insecticide: RR_{50} reached up to over 13 000. The seven other MEAM1 field-collected populations (P13, P18, P21, P25, P32, P56 and P66) were extremely resistant to pymetrozine, since it was not possible to determine their LC_{50} values from the sequence of concentrations we tested: models failed to converge. At the highest concentration of 10 g L^{-1} , populations P66 and P18 exhibited 50% and 62% mortality, respectively, and populations P13, P21, P25, P32 and P56 only 11 – 20% mortality. Using higher concentrations of insecticide was not conceivable due to solubility limits and phytotoxicity.

With regard to resistance to acetamiprid, the collection environment (greenhouse, open field, field surroundings and non-cultivated site) had a significant effect on LC_{50} ($Chisq_4 = 138$, $P < 0.0001$) for MEAM1 populations. In this respect, MEAM1 populations sampled in greenhouses were not significantly different from MEAM1 populations taken from open fields ($t_8 = 0.885$, $P > 0.05$) and field surroundings ($t_6 = 0.402$, $P > 0.05$; [Table V-2](#)). Similarly, pairwise comparison of LC_{50} showed that resistance to acetamiprid was comparable between MEAM1 populations collected in open fields and the ones collected in field surroundings ($t_4 = 0.985$, $P > 0.05$). MEAM1 populations sampled in non-cultivated areas differed significantly from MEAM1 populations sampled in cultivated areas ($P < 0.001$) and field surroundings ($t_2 = 3.15$, $P = 1.61 \times 10^{-3}$).

Table V-2: Pairwise comparisons of LC₅₀ to acetamiprid between groups of MEAM1 populations collected in the same environment (greenhouse, open field, field surroundings and non-cultivated site).

Collection environment	Greenhouse		Laboratory		Non-cultivated		Open field	
	<i>t</i> value	<i>P</i> value						
Field surroundings	0.402	0.688	4.43	9.52E-6	3.15	1.61E-3	0.985	0.324
Greenhouse			5.09	3.57E-7	3.44	5.84E-4	0.885	0.376
Laboratory					-19.9	< 2.20E-16	-124	< 2.200E-16
Non-cultivated							-12.7	< 2.200E-16

The greater the magnitude of the *t* value, the greater the evidence against the null hypothesis. The closer the *t* value is to 0, the more likely there isn't a significant difference between populations means.

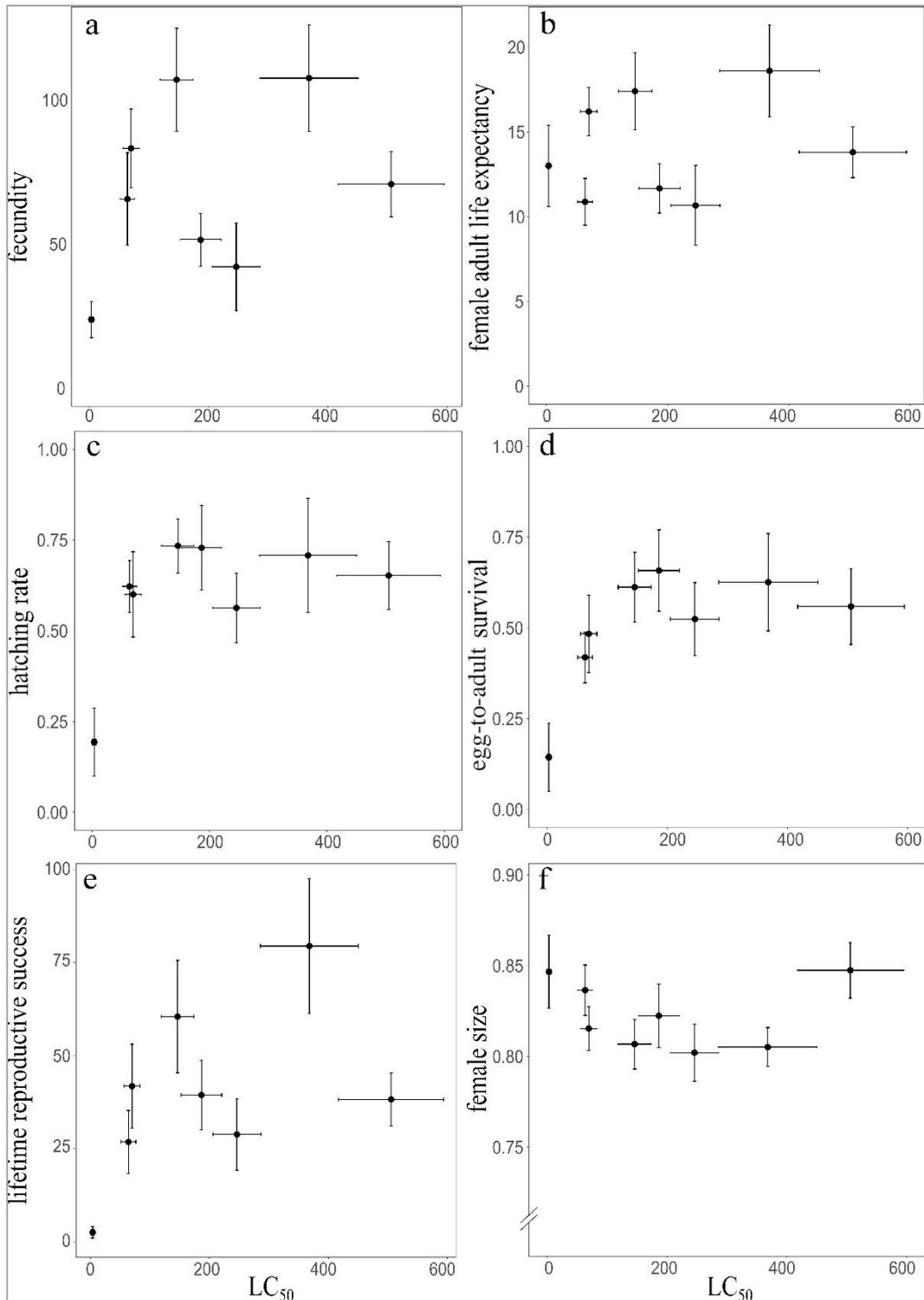


Figure V-2: Relationship between resistance levels to acetamiprid (LC_{50}) and measurements of six fitness-related traits of seven MEAM1 field-collected populations, plus the reference laboratory population: (a) fecundity, (b) female adult life expectancy, (c) hatching rate, (d) egg-to-adult survival, (e) lifetime reproductive success and (f) body size.

V.3.3. Assessment of the potential cost of resistance to acetamiprid for MEAM1 field-collected populations

The eight populations of MEAM1 species studied differed significantly for three out of six fitness-related traits measured: fecundity ($F_7 = 902$, $P = 1.60 \times 10^{-5}$), female life expectancy ($Chisq_7 = 14.2$, $P = 0.047$) and lifetime reproductive success ($F_7 = 4.98$, $P = 1.83 \times 10^{-4}$; Supporting information, [Table V-S2](#)). No significant differences between populations in terms of hatching rate, egg-to-adult survival and female adult size were found ($F_7 = 73.8$, 72.6 and 1.51 , respectively, $P > 0.05$). Importantly, no correlation between resistance levels to acetamiprid (estimated with LC_{50}) and fitness-related traits was found ([Figure V-2 \(a\) - \(f\)](#)). In addition, there was no significant relationship between background mortality and LC_{50} to acetamiprid estimated on the 15 bioassayed populations, even if background mortality significantly differed between populations ($LR_7 = 707$, $P < 0.0001$).

V.6. Discussion

This is the first report of resistance status to acetamiprid and pymetrozine in *B. tabaci* species of La Réunion populations, and it is of importance for IO species, which have never been tested elsewhere before. MEAM1 and IO *B. tabaci* populations in La Réunion displayed very different insecticide resistance profiles. The native IO species populations were all found to be sensitive to both acetamiprid and pymetrozine. During our survey, we had difficulty in finding pure IO populations in cultivated areas, as observed in previous studies ([Delatte et al. 2005](#), [Delatte et al. 2009](#)). Therefore, only a limited number of IO populations could be tested and we were unable to completely rule out the existence of resistant IO populations at a low frequency in La Réunion. In stark contrast, a vast majority of MEAM1 populations were found to be resistant to one or both insecticides.

Twelve out of 14 MEAM1 field-collected populations in La Réunion were found to be resistant to acetamiprid (a neonicotinoid), with RR_{50} varying from 15.7 to 148.2. The first case of resistance of a *B. tabaci* species to a neonicotinoid insecticide – imidacloprid – was reported in Spain in 1995 ([Cahill et al. 1996](#)). Since then, other resistance cases of MEAM1 species to neonicotinoids have been reported elsewhere ([Basit 2019](#), [Whalon et al. 2019](#)). Nonetheless, few studies have specifically tested the resistance to acetamiprid in MEAM1 species: it was often investigated because of the cross-resistance existing with thiamethoxam and imidacloprid ([Rauch and Nauen 2003](#), [Horowitz et al. 2004](#), [Prabhaker et al. 2005](#)). Similarly, 12 out of 14

MEAM1 field-collected populations tested were found to be resistant to pymetrozine. Resistance to pymetrozine was first described in a mixed population of MEAM1 and MED species collected in Europe, in Southern Spain in 1998 ([Elbert and Nauen 2000](#)). Since then it has been reported in other countries, e.g. in Cyprus, Guatemala and Mexico ([Gorman et al. 2010](#)), China ([Rao et al. 2012](#)) and Malaysia ([Shadmany et al. 2015](#)). Our results are similar to those of [Bielza et al. \(2018\)](#), who selected a lab pymetrozine-resistant population and a lab spiromesifen-resistant population, both highly resistant to pymetrozine with $LC_{50} > 10 \text{ g L}^{-1}$. For both tested insecticides, our results are in line with reports of loss of efficacy in the fields of La Réunion.

Three main hypotheses could explain the discrepancy between the resistance statuses of MEAM1 and IO species: (i) the two species live in different niches and are not subjected to the same selective pressure, (ii) the intrinsic ability to evolve insecticide resistance is different between the two species and/or (iii) pre-existing resistance conferring alleles are present in the MEAM1 invading population. The first hypothesis is unlikely since these two species can be found in close vicinity in La Réunion. Some of the sampled populations even consisted of a mix of the two species, therefore allowing hybridization ([Delatte et al. 2006](#)) and potential introgression of resistant alleles from one species to the other. Nevertheless, the scarcity of hybrids in the field ([Delatte et al. 2005](#), [Thierry et al. 2011](#)) prevented any measurement of sensitivity to insecticides in the hybrids.

The second hypothesis of different intrinsic evolutionary potential would require some further biological characterization of the two species, already knowing that MEAM1 field population size is larger than IO ([Delatte et al. 2006](#), [Delatte et al. 2009](#), [Thierry et al. 2011](#)), it has a capacity to develop under a broader range of temperatures ([Delatte et al. 2009](#)) and it is highly polyphagous ([Malka et al. 2018](#)). As an example, the evolution of resistance may be hindered in IO species by molecular constraints. Such a case has been reported on other insects such as mosquitoes (*Aedes aegypti*), where a particular codon constraint prevented the apparition of the required mutation in the acetylcholinesterase gene to confer resistance to organophosphates and carbamates ([Weill et al. 2004](#)). Whole genome sequencing of the IO species and comparison with MEAM1 (as performed by [Hussain et al. 2019](#)) could give insights into such molecular constraints to insecticide resistance by identifying high-impact variants in resistance related genes. Further investigations will be needed to better understand the mechanisms underlying the high susceptibility of the indigenous species IO.

The last hypothesis suggests that it might very well be that MEAM1 was introduced in La Réunion with its accompanying spectrum of insecticide resistances. To confirm or disprove

this hypothesis, it would be necessary to study the colonization history of the MEAM1 species and compare the mutation involved in insecticide resistance in MEAM1 populations in different countries. It has been shown that several underlying mechanisms are involved in the resistance to acetamiprid and pymetrozine ([Nauen and Denholm 2005](#), [Bass et al. 2015](#), [Nesterov et al. 2015](#)). A detoxification mechanism with overexpression of cytochrome-P450-dependent monooxygenase, encoded by an overexpressed CYP6CM1 gene, is one of them, and it has been shown that it confers resistance to neonicotinoid insecticides and pymetrozine ([Karunker et al. 2008](#), [Roditakis et al. 2011](#), [Nauen et al. 2013](#)). This mechanism might be involved in the 10 out of 14 populations from La Réunion showing resistance to both acetamiprid and pymetrozine. However, the occurrence of other resistance mechanisms cannot be ruled out since 4 out of 14 MEAM1 populations were found to be resistant to either acetamiprid or pymetrozine only ([Gorman et al. 2010](#), [Rao et al. 2012](#)). Target-site resistance to neonicotinoids has been described in other insect species. For example, in the green peach aphid, *Myzus persicae*, a single point mutation in the gene coding for the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) resulted in high levels of resistance to several neonicotinoids ([Bass et al. 2011](#)). However, no such mutation in the corresponding genomic region of *B. tabaci* has been described so far ([Bass et al. 2015](#), [Satar et al. 2018](#)). It could be interesting to investigate those populations further in order to identify the mechanism involved.

Insecticide resistance mutation is generally associated to a fitness cost, in the absence of pesticide use. Among fitness-related traits, background mortality (estimated from bioassays) as well as fecundity, female adult life expectancy and lifetime reproductive success varied between the tested MEAM1 populations. Such differences in female life history traits between populations may reflect local adaptation to contrasted environments ([Lenormand 2012](#)). Nevertheless, differences in fitness-related traits were not correlated with differences in resistance to acetamiprid. Similarly, background mortalities estimated on all bioassayed populations were not linked with LC₅₀. Hence, we could not detect any fitness cost associated with resistance.

It should be noted that experiments on fitness cost measured in the laboratory cannot predict the effective fitness cost in the natural environment ([Bass and Ffrench-Constant 2017](#)). An absence of fitness cost may be due to favourable rearing conditions in the laboratory, failing to reveal costs that would be measurable under more stressful conditions ([Lenormand et al. 2018](#)). Despite potential experimental limitations, our results are in line with [Basit et al. \(2012\)](#), who found no detrimental impact of the resistance to acetamiprid when comparing susceptible populations to an acetamiprid-selected population. Likewise, in the MEAM1 species, resistance

to pyriproxyfen was not associated with fitness cost ([Crowder et al. 2006](#)). On the contrary, [Feng et al. \(2009\)](#) found that after 36 generations of selection for resistance to thiamethoxam, a *B. tabaci* selected population showed reduced fitness (in development time, adult longevity and fecundity) compared to the susceptible laboratory population.

The lack of fitness cost found in our study may be due to various mechanisms: the emergence of new mutations elsewhere in the genome acting as modifiers ([Davies et al. 1996](#)), the replacement of the adaptive allele by less costly ones ([Guillemaud et al. 1998](#)), the duplication of the targeted gene ([Labbé et al. 2005](#)) or the pre-existence of resistance mutations prior to insecticide pressure ([Hartley et al. 2006](#)). The first three mechanisms require several generations to occur, indicating that resistance to acetamiprid is not recent in La Réunion.

The high occurrence and the high level of insecticide resistance in the La Réunion populations of a whitefly species reflect the failure of actual pest management strategies. The absence of fitness cost measured in the laboratory should theoretically translate into a maintenance of insecticides resistance in the populations, even if the selection pressure is suppressed. The recent ban on neonicotinoids in Europe in general, and in France in particular, will provide an open-air evolutionary experiment to test this hypothesis in the La Réunion field. The difference in the insecticide resistance profiles of these two species should result in different resistance management strategies. Unfortunately, it is not possible to distinguish these two species easily in the field. In addition, strategies based on alternation of insecticides would probably not be efficient on *B. tabaci* MEAM1 populations because of the high occurrence of multiple resistances in La Réunion. Other control measures, such as biological control, use of resistant varieties or modification of cultural practices, should be applied.

V.7. Acknowledgments

The authors are grateful to all farmers from La Réunion who welcomed us in their fields for sampling whitefly. We would like to thank Aëla Vancassel for her technical support during leaf-dip bioassays and life history traits monitoring. The authors acknowledge Myriam Siegwart for her advice and valuable comments on the bioassay experimental protocol. This study was funded by the CIRAD, the ‘Conseil Régional de La Réunion’ and the European Agricultural Fund for Rural Development (EAFRD). A. Taquet is a recipient of a PhD fellowship from the CIRAD and Anses. The authors acknowledge the Plant Protection Platform (3P, IBISA) where all experiments were conducted.

V.8. Supporting information

Table V-S1. *B. tabaci* field populations sampling in La Réunion: species, collection date, location, environment, host plant, survey of farmers' usage of insecticides and experiments conducted on the population.

Species	Population	Collection date	GPS coordinates		Environment	Host plant	Farmer survey		Tested for insecticide resistance		Life history traits
			Latitude	Longitude			Insecticides	Families	Acetamiprid	Pymetrozine	
IO	P35	24/10/2017	21° 6'4.21"S	55°44'58.39"E	Non-cultivated	Weeds	No		X		
IO + MEAM1	P60	24/11/2017	21°15'46.3"S	55°27'20.3"E	Non-cultivated	Weeds	No		X	X	
IO + MEAM1	P64	22/12/2017	21°21'41.91"S	55°34'51.80"E	Non-cultivated ^a	Weeds	No		X	X	
MEAM1	P13	21/11/2017	21°18'49.62"S	55°25'25.70"E	Greenhouse	Tomato	NA	NA	X	X	X
MEAM1	P18	24/10/2017	20°58'15.49"S	55°40'2.19"E	Greenhouse	Tomato	Yes	EO, NEO, PY-A	X	X	X
MEAM1	P21	07/11/2017	21°21'27.50"S	55°46'39.13"E	Greenhouse	Tomato	Yes	AVE	X	X	X
MEAM1	P23	17/11/2017	21°16'29.39"S	55°22'43.24"E	Field surroundings	Weeds	NA	NA	X	X	
MEAM1	P25	07/11/2017	21°21'45.58"S	55°32'25.80"E	Greenhouse	Melon	Yes	NEO, PY-A, SPI, TAD	X	X	X
MEAM1	P31	07/11/2017	21°22'5.20"S	55°40'27.56"E	Open field	Tomato + Eggplant	No		X	X	X
MEAM1	P32	23/11/2017	21°16'45.15"S	55°27'35.90"E	Open field	Eggplant	Yes	NEO, PY-C, PYR, SPI	X	X	
MEAM1	P55	31/10/2017	21°21'52.63"S	55°41'8.43"E	Greenhouse	Tomato	Yes	NEO, PY-A, PY-C	X	X	
MEAM1	P56	21/11/2017	21°15'8.68"S	55°20'34.19"E	Open field	Pumpkin	No		X	X	X
MEAM1	P58	21/11/2017	21°19'9.59"S	55°28'56.36"E	Open field	Eggplant	Yes	EO, NEO, PY-A, SPI	X	X	
MEAM1	P65	22/12/2017	21°21'58.64"S	55°34'11.30"E	Greenhouse	Melon	Yes	NA	X	X	X
MEAM1	P66	22/12/2017	21°16'31.74"S	55°28'25.77"E	Field surroundings	Weeds	Yes	NA	X	X	

Weeds: Mexican fireplant *Euphorbia heterophylla* L. (Euphorbiaceae), bean *Vigna sp.* L. (Fabaceae), lantana *Lantana camara* L. (Verbenaceae), innoxia *Datura innoxia* Mill. (Solanaceae); Crops: tomato *Solanum lycopersicum* L. (Solanaceae), melon *Cucumis melo* L. (Cucurbitaceae), eggplant *Solanum melongena* L. (Solanaceae), pumpkin *Cucurbita moschata* L. (Cucurbitaceae).

AVE, avermectins; EO, essential oils; NEO, neonicotinoids; PY-A, pyridine azomethine derivatives; PY-C, pyridine carboxamide derivatives; PYR, pyrethrinoids; SPI, spinosyns; TAD, tetronic acid derivatives.

NA, not available.

^a Sugarcane field without any insecticide treatment.

Table V-S2. Effect of population on fitness-related traits.

Fitness-related trait	<i>N</i>	F or Chi ²	<i>P</i> value
Fecundity	75	902	1.60E-5
Female adult life expectancy	75	14.2	0.047
Hatching rate	72	73.8	0.062
Egg-to-adult survival	72	72.6	0.063
Female adult size	160	1.51	0.169
Lifetime reproductive success	66	4.98	1.83E-4

N, number of whiteflies tested; *F*, *F* test; Chi², Chi-square test.

VI. Discussion générale et perspectives

VI.1. Discussion générale

Dans l'étude des résistances aux produits insecticides chez les insectes ravageurs des cultures, ce travail de thèse apporte une contribution certaine à l'édifice, et plutôt singulière, du fait du contexte et du cadre de notre étude. En effet c'est la première fois, dans le monde, qu'une espèce indigène du complexe d'espèces cryptiques *Bemisia tabaci* est testée afin d'évaluer sa résistance aux produits insecticides. Bien que les populations des espèces envahissantes MEAM1 et MED-Q aient fait l'objet de nombreux tests de résistance à travers le monde, il s'agit également d'une première pour les populations, désormais établies (MEAM1) ou en cours d'établissement (MED-Q), à La Réunion. Les résultats sont sans appel : l'espèce indigène était sensible à tous les insecticides testés, alors que les espèces envahissantes étaient majoritairement résistantes (voire très résistantes). De plus, la résistance à l'acétamipride semblerait ne pas avoir de coût : celle-ci peut alors se diffuser au sein des populations de La Réunion. L'utilisation d'outils moléculaires a également permis de mettre en évidence que la résistance aux pyréthriinoïdes est quasi fixée au sein des populations de MEAM1 et MED-Q étudiées.

Le milieu insulaire qui constitue le cadre de notre étude, ainsi que le contexte d'invasions biologiques successives qui le structure, nous ont offert l'opportunité d'intégrer à notre réflexion des concepts relevant de l'écologie des populations, qu'elles soient envahissantes ou indigènes. Contrairement aux études précédemment réalisées sur l'île, nous nous sommes efforcés d'analyser en particulier les agrosystèmes, environnements dans lesquels l'espèce MEAM1 s'est révélée être prédominante. Enfin, ce qui rend nos travaux particulièrement originaux, c'est aussi et surtout l'étude de l'hybridation interspécifique, ayant lieu en conditions naturelles (en faible proportion), entre l'espèce MEAM1 et IO. Cela nous a amenés à devoir évaluer l'importance de la contribution de ce phénomène dans la dynamique d'acquisition et l'évolution des résistances aux insecticides au sein du complexe d'espèces étudié.

Résistance aux insecticides : du génotype au phénotype ?

Notre étude de la résistance aux insecticides s'est faite à travers deux approches : un phénotypage par bioessais (obtention d'une courbe dose-réponse) et un génotypage. Ces deux approches sont complémentaires et renseignent sur deux étapes évolutives importantes :

l'apparition de mutations et la réponse de la sélection (qui s'applique sur les phénotypes et leur adéquation aux pressions de l'environnement).

Estimation des niveaux de résistance par courbe dose-réponse

Nos résultats d'estimation des niveaux de résistance dans les populations de MEAM1 et IO, échantillonnées dans une diversité d'environnements, confirment nos hypothèses d'une espèce envahissante résistante et d'une espèce indigène sensible. Ils sont en fait plus tranchés que ceux que nous attendions. IO ne montre aucun signe, même faible, de résistance et MEAM1 a une résistance tellement élevée à la pymétozine qu'il était impossible de déterminer la CL₅₀ pour la moitié des populations. La résistance phénotypique de MED-Q et des hybrides n'a pas pu être estimée en raison de leur faible nombre lors des échantillonnages.

Certaines populations de MEAM1 étaient à la fois résistantes au Plenum et au Suprême, ceci correspond sans doute à l'implication d'un mécanisme de résistance croisée, déjà décrit chez l'aleurode, et lié à la surexpression du gène codant pour une enzyme de détoxification (la monooxygénase cytochrome-P450-dépendante ; [Karunker et al. 2008](#), [Roditakis et al. 2011](#)). Cependant, comme quatre autres populations n'étaient résistantes qu'à l'une des deux molécules testées, il est probable que d'autres mécanismes de résistance, non encore décrits à ce jour chez *B. tabaci*, soient également impliqués. La mise en évidence de résistances croisées est fréquente dans la littérature (par exemple [Wang and Wu 2007](#), [Feng et al. 2010](#), [Basit et al. 2013](#)), et traduit en général une résistance de type métabolique, impliquant des enzymes de détoxification, dont la quantité ou encore l'activité serait augmentée et agirait sur plusieurs insecticides.

Bioessais et populations en mélange

Une des difficultés rencontrées pour l'estimation des niveaux de résistance des différentes populations d'aleurodes à La Réunion concernait le fait de ne pas pouvoir identifier immédiatement les espèces, et d'avoir des populations en mélange (MEAM1, IO ou MED-Q). Cela nous a conduits à choisir des populations supposées pures pour réaliser les tests. Cette supposition a été vérifiée *a posteriori* par génotypage, pour une partie des individus. Dans deux populations ce n'était pas le cas, et il a fallu génotyper la totalité des individus testés pour reconstituer les niveaux de résistance des deux espèces. Les courbes représentées dans la figure ci-après illustrent ce processus : en ignorant qu'on a un mélange de MEAM1 et IO, on obtient une courbe à mi-chemin entre les courbes reconstituées pour chaque espèce ([Figure VI-1](#)). Cela donne l'impression qu'il suffit de génotyper tous les individus, après un bioessai mené sur une

population en mélange, pour obtenir des estimations de résistance. Malheureusement, cela n'est pas aussi simple : le nombre d'individus testés pour chaque espèce est largement diminué par rapport à la taille d'échantillon initialement prévue, et cela induit des imprécisions fortes dans les estimations de CL_{50} . Il faut noter que le choix de travailler sur des populations pures amène en contrepartie un biais de représentativité dans les résultats : ils n'indiquent pas totalement ce qui se passe dans les zones d'interface entre les deux espèces (où les populations sont le plus mélangées et où il y a des hybrides).

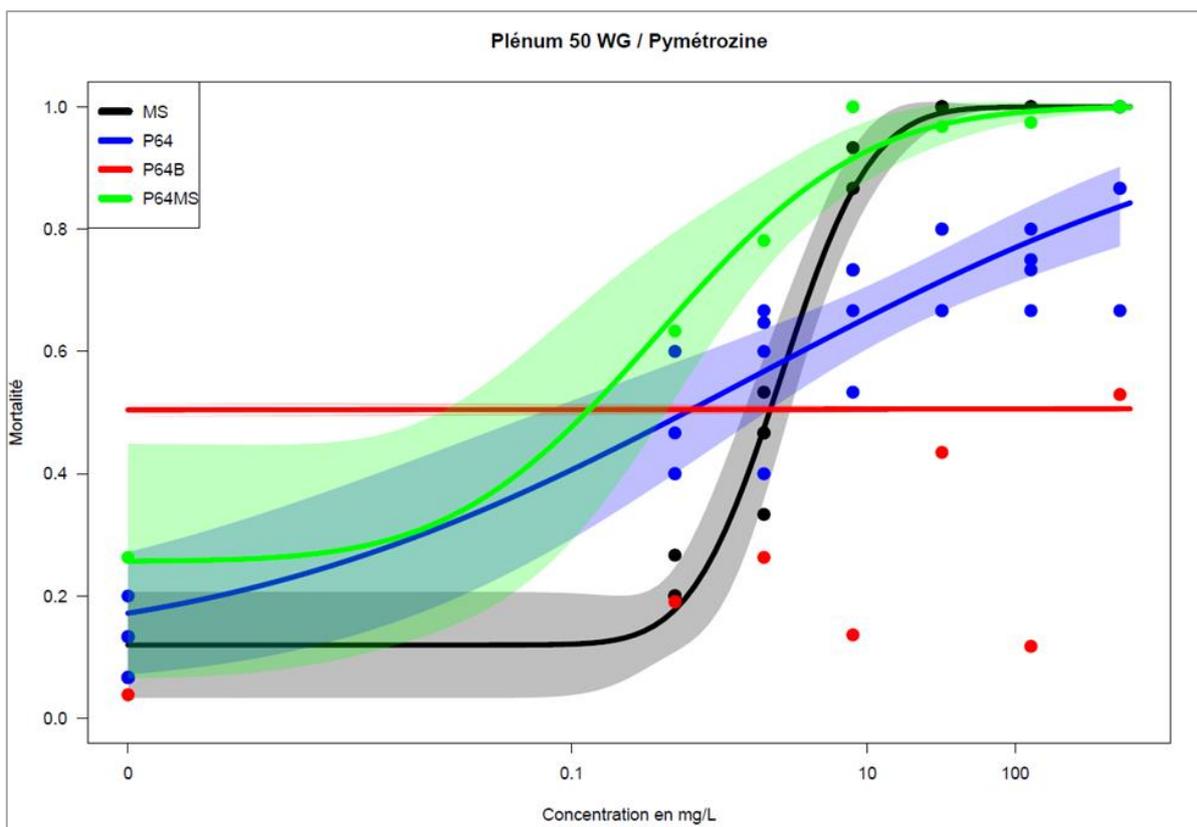


Figure VI-1: Courbes dose-réponse de la population P64 testée au Plenum avant génotypage (courbe bleue) et après séparation des individus IO (courbe verte) et MEAM1 (courbe rouge). La courbe noire notée 'MS' est celle de notre population IO de référence.

Approche dose-réponse ou dose-discriminante ?

Au début de ma thèse, une autre option que l'estimation des CL_{50} par courbe dose-réponse avait été envisagée et testée. Il s'agissait de tests avec dose discriminante ([Figure VI-2](#)) : on teste la mortalité des individus face à une seule dose, correspondant ici à la CL_{50} de la population de référence. J'avais alors testé 24 populations de MEAM1 avec 4 insecticides : le Plenum® 50 WG, le Suprême® 20 SG (comme pour l'étude en dose-réponse publiée), mais

aussi le Decis Protech® (deltaméthrine, molécule insecticide de la famille des pyréthrinoïdes) et le Prev-Am® (huile essentielle d'orange douce). Les résultats obtenus mettaient déjà en évidence des résistances pour les trois insecticides conventionnels, mais posaient aussi des questions de répétabilité des résultats. Les problèmes de répétabilité des tests insecticides sont des difficultés couramment rencontrées, même si ceux-ci sont peu souvent reportés dans la littérature. Même en standardisant tout ce qui peut l'être et en travaillant sur des clones (pucerons), la répétabilité n'est pas parfaite (communication personnelle). Cette difficulté technique nous a poussés à choisir des mesures en dose-réponse. Nous avons alors testé la résistance de deux populations MEAM1 au Decis Protech®, en comparaison à notre population de référence ([Figure VI-3](#)). Les ratios de résistance étaient faibles, mais les CL_{50} étaient importantes ; supposant ainsi un niveau de résistance déjà élevé dans la population de référence ($5,5 \text{ mL.L}^{-1}$), et des résistances fortes sur le terrain. La résistance aux pyréthrinoïdes est donc la seule que j'ai testée, d'un point de vue phénotypique et génotypique à travers la mutation *kdr*.

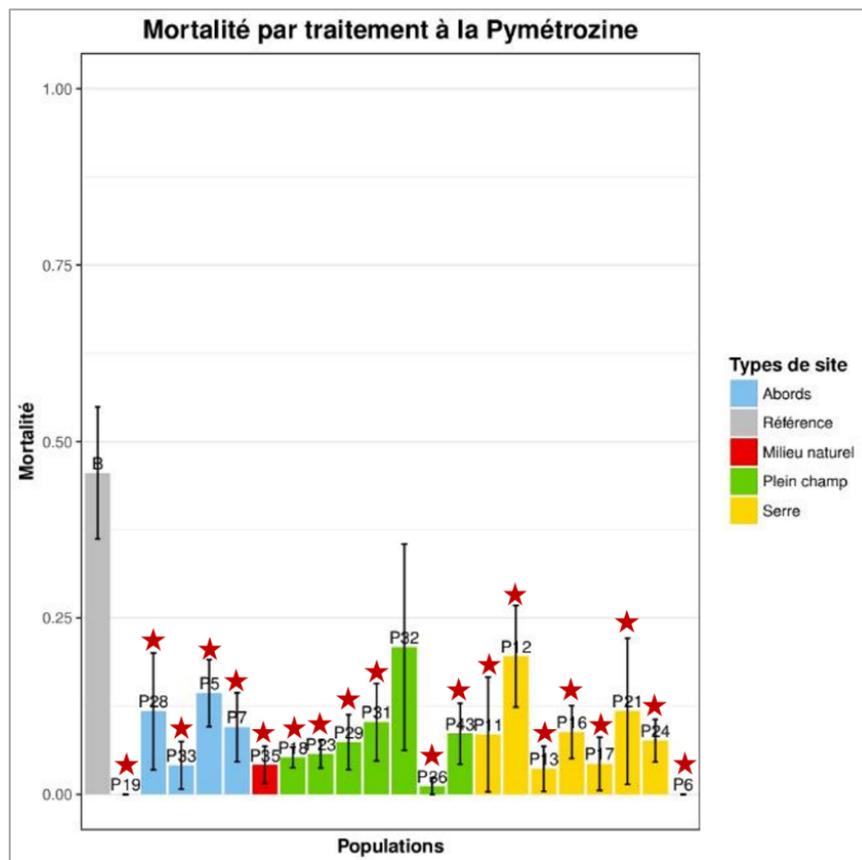


Figure VI-2 : Exemple de résultats expérimentaux obtenus à la suite de tests de résistance de type dose-discriminante sur des populations d'aleurodes MEAM1. Les 21 populations de terrain sont traitées avec une dose correspondant à la CL_{50} de la population de référence (en gris). Les étoiles rouges désignent les populations pour lesquelles nous obtenons une mortalité significativement différente de celle de la population de référence.

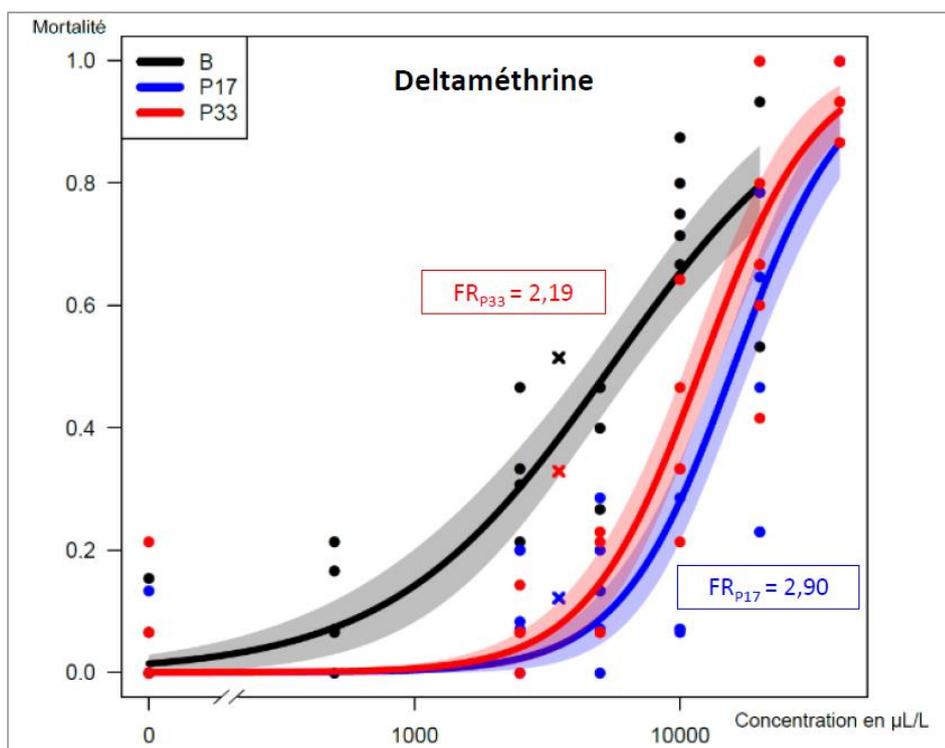


Figure VI-3 : Courbes dose-réponse obtenues suite au traitement des populations MEAM1 P17 (en bleu) et P33 (en rouge) au Decis Protech® (molécule active : deltaméthrine), et comparées à la courbe obtenue pour la population MEAM1 de référence (en noir). L'acronyme « FR » correspond au facteur de résistance, calculé par rapport à la population de référence.

*Etude de la mutation *kdr**

Il existe en fait deux mutations *kdr*, conférant une résistance aux pyréthrinoïdes, décrites chez l'aleurode *B. tabaci* : elles se situent dans le gène qui code pour le lieur entre les segments transmembranaires 4 et 5 de la sous-unité α II (IIS4-5) du canal sodique voltage-dépendant. La première mutation, notée T929V, n'a jamais été décrite chez MEAM1, contrairement à la seconde L925I ([Alon et al. 2006](#)). Un diagnostic moléculaire simple de la mutation L925I existe, et consiste en la réalisation d'une PCR-RFLP ([Tsagkarakou et al. 2009](#)).

Nous avons ainsi pu génotyper les 1537 individus de nos 56 populations (espèces MEAM1, MED-Q et IO, ainsi que les hybrides MEAM1-IO). Ceci nous donne une vision beaucoup plus large de la résistance (géographiquement et en termes d'espèces) que pour l'étude en bioessai. Ces données vont dans le même sens que les résultats de phénotypage de résistance pour IO et MEAM1 : les individus IO sont tous sensibles, alors que la mutation résistante *kdr* est quasiment fixée chez MEAM1. Une hypothèse serait que les rares individus présentant l'allèle sensible seraient issus de croisements avec IO, et que les individus MEAM1 introduits à l'origine sur l'île portaient tous la mutation à l'état homozygote.

Il n'y a pas d'études portant sur la dominance des allèles *kdr* résistants chez l'aleurode. La plupart des échantillonnages de terrain trouvent peu d'hétérozygotes, à tel point que [Tsagkarakou et al. \(2009\)](#) ont mélangé des mâles sensibles et résistants pour obtenir des profils de digestion de type hétérozygotes, de façon à pouvoir vérifier l'efficacité de leur méthode de diagnostic PCR-RFLP. La revue de [Bourguet et al. \(1996\)](#) indique que les résistances *kdr* dans le canal sodique sont des mutations semi-récessives, variant de la codominance à une presque totale récessivité. Cette récessivité a une explication physiologique : les pyréthriinoïdes induisent l'ouverture permanente du canal sodique, entraînant la mort des individus. Ainsi, des individus hétérozygotes possédant 50% de canaux sensibles à l'insecticide seraient donc phénotypiquement similaires à des individus homozygotes sensibles. En cas de codominance (comme dans l'étude de [Bouvier et al. 2001](#) concernant *Cydia pomonella*, le carpocapse des pommes et poires), les hétérozygotes RS ont une moins bonne *fitness* face à un traitement insecticide que les individus homozygotes sensibles SS. Selon ces informations, on peut supposer que les individus hétérozygotes RS sont (partiellement) contre-sélectionnés. Ainsi les hybrides entre IO et MEAM1, portant l'allèle sensible, seraient contre-sélectionnés par les traitements insecticides. Cette plus faible *fitness* des hybrides pourrait réduire leur proportion, au moins dans les agrosystèmes, apportant un élément de plus pour comprendre la baisse de la fréquence des hybrides au cours du temps à La Réunion.

Chez les individus MED-Q, les deux mutations L925I et T929V sont retrouvées, d'après les données de séquençage. Cependant, elles ne sont jamais retrouvées sur une même séquence (comme déjà mentionné), mais 26 individus portent les deux mutations. Dans l'ensemble, tous les individus MED-Q portent au moins une mutation conférant la résistance. [Alon et al. \(2006\)](#) proposent que les mutations L925I de MED-Q et MEAM1, ainsi que la mutation T929V de MED-Q, aient des origines indépendantes (et que les deux espèces sont bien séparées). Cependant, dans notre jeu de données, nous trouvons une occurrence de la mutation T929V chez un individu identifié comme MEAM1. Evidemment, un seul individu ne permet aucune conclusion, mais indique qu'il peut être intéressant de regarder de plus près ce qu'il se passe. Une explication pourrait être que cet individu serait un hybride MEAM1-MED-Q, et signerait une potentielle introgression de l'allèle résistant de MED-Q vers MEAM1. Cependant, cela contredirait les observations faites jusqu'à lors concernant l'incapacité à l'hybridation de ces deux espèces.

Le séquençage de la région *kdr* du canal sodique a permis de noter la présence systématique d'une mutation (L3) dans un intron chez les espèces IO et MED-Q, à la différence de l'espèce MEAM1 pour laquelle seulement 15,5% des individus avaient cette mutation. [Alon](#)

[et al. \(2006\)](#) décrivent ces mutations ponctuelles dans l'intron comme étant phylogénétiquement informatives pour distinguer les espèces MEAM1 et MED-Q. De façon très intéressante, chez MEAM1 cette mutation était uniquement associée à des génotypes RS ou SS. Elle est également présente chez les hybrides dont un est rétrocroisé vers MEAM1 (avec un haplotype mitochondrial IO) et un génotype *kdr* RS. L'ensemble de ces informations amène l'idée suivante : la mutation L3 signerait bien l'appartenance aux espèces MED-Q ou MEAM1, et les 15,5% d'individus portant cette mutation chez MEAM1 seraient issus d'hybridations (même lointaines) ; ils auraient acquis l'allèle L3 en même temps que l'allèle sensible. Ceci conforterait les hypothèses (i) d'introgression d'allèles sensibles, de IO vers MEAM1, responsables des quelques individus RS et SS observés parmi l'ensemble des individus RR ; et (ii) de l'introduction d'individus MEAM1 sur l'île (invasion) chez lesquels la mutation *kdr* était déjà fixée. Une autre hypothèse pour expliquer la présence d'individus MEAM1 possédant l'allèle L3, serait que cette mutation était bien présente dans la population envahissante (i.e. à l'origine de l'invasion). Il faudrait pouvoir vérifier plus largement la présence de cet allèle dans d'autres populations de MEAM1 à travers le monde, afin de pouvoir trancher entre ces scénarii.

Les coûts de la résistance

A la suite des expériences de courbe dose-réponse, nous avons profité des nombreuses populations de terrain présentes au laboratoire et montrant différents niveaux de résistance à l'acétamipride, pour aborder la question du coût associé à cette résistance. Le postulat de départ était que des populations plus résistantes auraient des valeurs de *fitness* plus faibles, en raison d'un coût infligé par les mécanismes de résistance (modification de l'efficacité d'une protéine, énergie requise pour cette résistance...). Cette notion de coût de la résistance peut être liée à deux idées majeures : (i) la *fitness* d'un individu dépend de l'environnement dans lequel il se trouve ; (ii) les ressources d'un individu sont limitées, ce qui se traduit par des compromis évolutifs ([Lenormand et al. 2018](#)).

Dans notre cas, les populations testées montrent bien des différences marquées de traits d'histoire de vie. Mais ceci n'est pas corrélé avec le niveau de résistance. En particulier, la population la plus sensible, celle du laboratoire, a des traits d'histoire de vie moins efficaces que les autres populations. Ceci dénote assez probablement de la dépression de consanguinité dans l'élevage. Les autres différences entre populations pourraient résulter d'adaptations locales à des environnements contrastés, mais il n'est pas possible de conclure sur ce point.

A partir des mesures effectuées, il n'y a pas d'indication de coût associé à la résistance à l'acétamipride chez MEAM1. Ceci pourrait être lié à des conditions expérimentales inappropriées pour mettre en évidence un coût. Il est tout à fait possible que le coût de la résistance ne s'exprime pas sur les quelques traits explorés. Nous avons aussi mesuré une croissance démographique pour une mesure plus inclusive de la *fitness*, mais cela ne change pas les résultats. D'autres traits que les traits d'histoire de vie pourraient être impactés, comme les comportements d'accouplement ou de recherche d'hôte, la capacité de vol ou la capacité vectrice (par exemple [Berticat et al. 2002](#), [Berticat et al. 2004](#), [Guedes et al. 2009](#), [Alout et al. 2013](#)). Une autre limite expérimentale est celle des conditions environnementales dans lesquelles sont menées les mesures. Ainsi, si les coûts de résistance sont faibles, il est possible qu'ils passent inaperçus. On peut alors mettre les individus en conditions plus contraignantes, pour mieux faire apparaître les coûts, mais c'est aussi prendre le risque d'avoir beaucoup de mortalité.

La dernière remarque sur notre protocole expérimental concerne le fait d'avoir comparé des populations ayant à la fois des différences de niveau de résistance à l'acétamipride et des différences génétiques. En effet, la grande majorité des études mesurant un coût de la résistance se base sur la comparaison d'une population sensible et d'une population résistante, issues d'une même souche soumise ou non à pression insecticide. Une des limites de ce type d'approche est que la sélection appliquée ainsi au laboratoire a tendance à sélectionner, en même temps que la résistance, d'autres types de traits. En effet, la pression de sélection imposée induit aussi des différences de mortalité et de densité entre traitements, qui peuvent résulter en des changements de traits d'histoire de vie (sans lien avec le coût de la résistance).

Finalement, il est fréquent de ne pas trouver de coût de la résistance, et cela a déjà été rapporté plusieurs fois chez l'aleurode ([Crowder et al. 2006](#), [Basit et al. 2012](#)). Cette absence de coût (ou plutôt atténuation du coût avec le temps) est souvent expliquée par l'émergence de nouvelles mutations moins coûteuses, ou de gènes modificateurs ([Kliot and Ghanim 2012](#)). Elle permet le maintien de la résistance dans une population, même quand la pression de sélection est supprimée, ce qui est maintenant le cas avec l'acétamipride.

Dynamique temporelle d'acquisition de la résistance

Un envahisseur venu avec sa résistance ?

Une question qui reste en suspens à l'issue de ce travail est celle qui concerne la dynamique temporelle d'acquisition de la résistance, à la fois chez MEAM1 et chez IO. Une même question, qui émerge de deux constats on ne peut plus opposés. L'espèce invasive MEAM1 présente sur le sol réunionnais démontre des niveaux de résistance très élevés à la pyméthrozine ($RR > 100$), ainsi qu'à l'acétamipride ($RR > 10000$) : comment peut-on expliquer l'existence de tels niveaux de résistance ? On peut raisonnablement considérer deux scénarii : dans le premier, les individus MEAM1 qui ont été introduits sur l'île, à la fin des années 90, étaient des individus résistants (i.e. ils ont évolué leur(s) résistance(s) sur un autre territoire). Dans le second scénario, les premiers individus introduits à La Réunion étaient sensibles aux insecticides, et ont développé leur(s) résistance(s) sur place, sous la pression des traitements insecticides. Mais alors, si l'on considère cette seconde possibilité, cela supposerait que l'espèce MEAM1 ait pu en très peu de générations acquérir une telle mutation. Des travaux en laboratoire ont montré qu'il suffisait de 36 générations à l'espèce MEAM1 pour acquérir la résistance à un néonicotinoïde, le thiaméthoxame ([Feng et al. 2009](#)). Cette seconde hypothèse ne peut donc être complètement écartée.

Une espèce indigène qui demeure sensible

L'espèce IO est fréquemment retrouvée dans les abords d'agrosystèmes et en très faible quantité dans les agrosystèmes eux-mêmes. Ainsi ces populations pourraient avoir été et être en contact avec des traitements insecticides, mais à de faibles doses qui pourraient être considérées comme sublétales. Ces expositions répétées à des doses sublétales pourraient avoir des conséquences potentielles pour l'acquisition de résistances aux insecticides. En effet, l'exposition à des doses très faibles d'insecticides peut fortement stresser une population, sans forcément la décimer, et retarder la sélection d'une résistance majeure, tout en favorisant les résistances multifactorielles ou polygéniques ([Gressel 2011](#), [Ram and Hadany 2014](#)).

Toutefois, d'autres mécanismes peuvent être mis en jeu lors de l'application de doses sublétales, comme la possibilité d'induction d'enzymes de détoxication. Ces enzymes sont largement reconnues comme d'importants mécanismes de résistance aux insecticides, et cela a même été démontré vis-à-vis des néonicotinoïdes ([Bass et al. 2015](#)). Cependant, les enzymes de détoxication sont inductibles : ce phénomène est souvent décrit pour des populations résistantes, mais l'induction peut également se produire dans des populations non résistantes,

ce qui leur permet une meilleure tolérance aux insecticides ([Hua et al. 2014](#)). Ce type de mécanisme a récemment été mis en évidence chez le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*), en réponse à de faibles doses d'imidaclopride avec l'implication des estérases (E4) et du cytochrome P450 (CYP6CY3 ; [Rix et al. 2016](#)).

De nombreuses populations de l'espèce IO, échantillonnées dans les agrosystèmes, n'ont pu être testées en bioessais au laboratoire en raison de leur faible nombre d'aleurodes, ou encore en raison de populations en mélange. Ainsi pour ces populations, nous n'avons pu reporter que les résultats de la recherche de mutations de cible conférant une résistance aux pyréthriinoïdes. Nous ne pouvons donc pas exclure l'hypothèse que la présence des individus IO dans les agrosystèmes serait liée à une résistance de type métabolique (détoxication). Une autre hypothèse (non exclusive) expliquant la présence de ces individus ne portant pas la mutation *kdr*, serait leur capacité à adopter un comportement d'évitement ([Nansen et al. 2016](#)). Ce mécanisme a déjà été décrit chez de nombreuses espèces d'insectes, et pourrait à terme permettre à l'espèce IO d'accumuler des allèles de résistance de faible ampleur, distincts de la sélection d'une mutation majeure. L'espèce IO, a été en contact avec des insecticides depuis au moins l'arrivée de l'espèce MEAM1, mais semble toujours sensible malgré tout. Ainsi l'une des dernières hypothèses serait le manque de plasticité génomique de cette espèce, qui pourrait par exemple s'évaluer sur la quantité de ses éléments transposables ([Chénais et al. 2012](#)), ou l'existence de contraintes moléculaires ([Weill et al. 2004](#)).

La résistance aux insecticides favorise-t-elle le succès d'invasion ?

Le processus d'invasion, comme nous l'avons vu précédemment, peut être considéré comme une série d'étapes qui sont initiées lorsque les propagules d'une espèce sont transportées vers une nouvelle zone. Après cette étape de transport, les nouveaux arrivants subissent des contraintes biotiques et abiotiques, et seule une petite fraction de ceux-ci s'établit et persiste. A ce stade, les espèces sont considérées comme établies ou encore « naturalisées ». Ce n'est qu'après une dernière étape, qui comprend des mécanismes de dispersion à large échelle et d'augmentation des populations (pouvant causer des dommages écologiques et économiques), qu'elles sont considérées comme envahissantes ([Blackburn et al. 2011](#)).

Sur l'île de La Réunion, l'espèce MEAM1 a franchi ces différentes étapes en un temps record. En effet, dès 1997, les premiers symptômes de Begomovirus sur tomate (le TYLCV) sont décrits ([Peterschmitt et al. 1999](#)), et en parallèle des niveaux de populations d'aleurodes encore jamais observés sur le territoire ont alerté les agriculteurs ([Reynaud et al. 2003](#), [Delatte](#)

[et al. 2005](#)). En 2003, cette espèce d'aleurode avait parcouru l'ensemble de la zone maraîchère de la côte ouest de l'île, et trois ans après elle était établie et devenait problématique dans l'ensemble des agrosystèmes de l'île ([Delatte et al. 2005](#), [Delatte et al. 2009](#)). Avec ce travail de thèse, nous avons pu constater que cette espèce, 20 ans après son arrivée, est toujours dominante dans l'ensemble des agrosystèmes de l'île. Sa distribution n'a pas évolué depuis la dernière évaluation de sa distribution ([Thierry et al. 2011](#)) : il est toujours le ravageur principal sur culture de tomate ([Agreste DAAF de La Réunion 2016](#)). Il est l'espèce dominante en plein champs comme sous serre, dans l'ensemble des sites échantillonnés. Nous pouvons donc en conclure que cette espèce s'est établie durablement et peut être considérée comme résidente. De même, nous avons aussi pu mettre en évidence que l'espèce indigène IO n'avait pas vu sa niche évoluer, tout comme ses préférences écologiques (plus forte présence dans les zones non-agricoles, et sur adventices ou autres dicotylédones non-cultivées ; [Delatte et al. 2009](#)). Cet état des lieux montre une stabilité de la niche écologique pour ces deux espèces.

En comparaison, la distribution de l'espèce MED-Q est restreinte à quelques sites et, depuis sa première description en 2010 ([Thierry et al. 2015](#)), elle n'a pas beaucoup changé (dans un rayon de moins de 30 km). De plus, elle a été retrouvée exclusivement dans les agrosystèmes et sur plantes cultivées ([Thierry et al. 2015](#)). Cette restriction géographique et de gamme de plantes hôtes est assez surprenante. En effet cette espèce, bien qu'invasive mondialement dans les agrosystèmes, a aussi beaucoup été décrite sur des plantes non cultivées ou ornementales dans sa zone d'origine ([Saleh et al. 2012](#), [Laarif et al. 2015](#)) ou dans les zones nouvellement envahies ([Zhang et al. 2014](#), [McKenzie et al. 2020](#)) : cela n'est pas le cas à La Réunion.

Dans tous les sites où l'espèce MED-Q a été collectée, elle se trouvait en sympatrie et dominée par le MEAM1, à l'exception d'un seul site. L'espèce MED-Q est supposée plus compétitive face à l'espèce MEAM1, dans des agrosystèmes subissant de fortes pressions insecticides. En Israël, la dynamique de ces deux espèces dans les plein champs était expliquée par leurs spectres différentiels de résistance, favorisant une espèce par rapport à l'autre selon les molécules utilisées ([Horowitz and Ishaaya 2014](#)). La même année, des expérimentations en laboratoire ont montré le même phénomène : MED-Q était capable de remplacer MEAM1 lorsque les populations étaient soumises à de fortes doses de traitements insecticides ([Sun et al. 2013](#)). Plus globalement, MED-Q est entré en compétition avec MEAM1 dans de nombreux pays, jusqu'à ce que celui-ci ne soit plus considéré comme l'espèce cible prioritaire.

De nombreuses populations de ces deux espèces ont été identifiées dans le monde comme résistantes, toutefois, le MED-Q semble acquérir plus rapidement des résistances aux insecticides, comme aux régulateurs de croissance (par exemple le pyriproxifène), aux

néonicotinoïdes ([Horowitz et al. 2020](#)), mais aussi à de nouvelles matières actives récemment mises sur le marché comme les diamides ([Ran et al. 2018](#)). Ainsi, l'espèce MEAM1 serait moins compétitive sous forte pression insecticide, mais en cas de faible niveau de traitement, c'est elle qui dominerait.

Il est possible que les matières actives utilisées dans les agrosystèmes de La Réunion favorisent l'espèce MEAM1, et aussi que leur fréquence soit moindre que dans certains agrosystèmes étudiés ailleurs dans le monde ([Horowitz and Ishaaya 2014](#), [Horowitz et al. 2020](#)). Cette hypothèse pourrait être corroborée par le fait de la présence, même en faible quantité, de l'espèce IO dans les agrosystèmes, malgré sa sensibilité aux matières actives étudiées au cours de cette thèse. Cela expliquerait aussi la dominance des espèces MEAM1 ou MED-Q sur l'espèce IO dans les agrosystèmes.

A ce jour, la plupart des publications comparent des niveaux de résistance entre les espèces du complexe les plus présentes dans les agrosystèmes, MED-Q et MEAM1. Il a été suggéré que leur succès d'invasion à l'échelle mondiale serait favorisé par (i) leur capacité biotique (meilleure *fitness*, comportement d'accouplement, polyphagie... [Liu et al. 2007](#), [Delatte et al. 2009](#), [Himler et al. 2011](#), [Malka et al. 2018](#)), mais aussi (ii) leur forte capacité à développer des résistances aux molécules insecticides couramment utilisées ([Horowitz et al. 2020](#)). Les résultats obtenus au cours de ma thèse confirment en partie cette hypothèse, puisque les deux espèces invasives se retrouvent presque exclusivement dans les agrosystèmes, et semblent plus compétitives face à l'espèce résidente dans ces milieux.

L'espèce IO fait partie du groupe phylogénétique des espèces invasives MED-Q/MEAM1. Elle est très polyphage tout comme celles-ci ([Malka et al. 2018](#)), a une *fitness* un peu moindre que MEAM1 ou MED-Q en conditions de laboratoire ([Bonato et al. 2007](#), [Delatte et al. 2009](#)), mais a une forte fécondité par rapport à d'autres espèces du complexe *B. tabaci*. De plus, des pullulations de l'espèce IO ont été observées en Afrique de l'Est sur des plantes cultivées comme le manioc (espèce rarement traitée aux insecticides), ou des adventices ([Ally 2019](#)). Cette espèce aurait donc le potentiel d'un très bon envahisseur, toutefois, elle n'a pas étendu sa distribution. Ainsi, nous pourrions nous demander si l'une des contraintes qui la restreint à sa répartition actuelle ne viendrait pas, en partie, de sa plus grande sensibilité aux insecticides.

Molécules appliquées et pratiques alternatives utilisées à La Réunion pour la gestion des aleurodes

Au début de ce projet, le choix des insecticides à tester était dicté par l'importance de leur utilisation à La Réunion, et le fait d'avoir des insecticides issus de différentes familles chimiques. Nous nous étions alors basés sur le rapport Agreste de la DAAF ([Agreste DAAF de La Réunion 2016](#)). Parmi les insecticides étudiés, 2 sur 3 sont maintenant interdits : le Suprême et le Plenum. Le premier (un néonicotinoïde avec pour molécule active l'acétamipride) a été interdit dès 2018, comme l'ensemble des néonicotinoïdes, avec une dérogation pour certains usages jusqu'au 1^{er} juillet 2020. Le deuxième résulte de l'interdiction de la pymétozine à partir de janvier 2020. Le Decis Protech (deltaméthrine) est toujours autorisé. On peut alors se demander s'il est pertinent de présenter des résultats pour des insecticides à présent interdits. En premier lieu, l'objectif était d'estimer des résistances issues de réponses à la sélection dans le temps par traitement insecticide, et non d'évaluer la résistance de base avant le début des traitements (comme c'est parfois le cas pour prédire l'efficacité du traitement). Ainsi la pymétozine et l'acétamipride ont eu une autorisation de mise sur le marché en fin 2001 et fin 2004, respectivement. De plus, les processus décrits sur Suprême et Plenum sont en partie généralisables et alertent sur les hauts niveaux de résistance chez l'espèce MEAM1 à La Réunion. Finalement, les mécanismes de résistance existants peuvent être peu spécifiques, comme c'est le cas pour la résistance métabolique, et permettre des résistances croisées avec des molécules toujours utilisées ([Basit 2019](#)).

A présent, plusieurs méthodes de lutte sont développées afin de diminuer la pression insecticide sur les cultures. Le premier moyen, largement mis en œuvre dans le monde et aussi à La Réunion, est l'utilisation de barrières mécaniques avec des serres étanches aux insectes. Une autre option aussi adoptée dès l'arrivée de l'espèce MEAM1 à La Réunion fut l'utilisation de variétés résistantes aux virus transmis ([Reynaud et al. 2003](#)). La dernière méthode qui connaît un développement croissant est la lutte biologique. Elle permet de limiter la taille des populations d'aleurodes grâce à l'utilisation de prédateurs ou parasitoïdes des aleurodes en serre. A La Réunion la Coccinelle, une biofabrique, dispose d'élevages d'*Encarsia formosa* et d'*Eretmocerus eremicus*, deux parasitoïdes de l'aleurode, et développe des élevages de *Nesidiocoris volucer* et *Amblyseius swirskii*, une punaise et un acarien prédateurs des œufs et larves d'aleurodes. L'ensemble de ces pratiques permettent des conduites de culture selon un cahier des charges de « lutte raisonnée », avec une diminution très forte du nombre de traitements insecticides, notamment en culture sous abris.

VI.2. Perspectives

Parmi les résultats obtenus à l'issue de ce travail de thèse, nous avons apporté des réponses non seulement au sujet de la répartition des trois espèces d'aleurode du complexe *B. tabaci* présentes sur l'île de La Réunion, mais aussi sur leurs niveaux de résistance à certaines molécules insecticides, testées par bioessais et sur la présence d'allèles conférant une résistance aux pyréthrinoïdes (*kdr*). L'espèce indigène IO a été la plus sensible aux insecticides. Elle fut retrouvée en très faible quantité dans les agrosystèmes, mais distribuée sur toute l'île et dans les différents écosystèmes échantillonnés. L'espèce MEAM1 s'est révélée dominante dans les agrosystèmes, même face à l'espèce MED-Q, présumée meilleure compétitrice dans les milieux fortement soumis à pression de sélection insecticide. Afin de pouvoir aller plus loin dans la compréhension des mécanismes limitant le succès de l'invasion de l'espèce MED-Q, et l'établissement durable de l'espèce IO dans les agrosystèmes, il serait utile de pouvoir :

- i) Tester une plus large gamme de produits insecticides sur les deux espèces MEAM1 et MED-Q, et ainsi pouvoir avoir les spectres différentiels de résistance vis-à-vis des molécules insecticides usitées ;
- ii) Cibler des sites où les populations de MED-Q ont été retrouvées en sympatrie avec du MEAM1, et faire un suivi de cette dynamique tout au long d'un cycle de culture complet. Il sera alors possible d'évaluer si cette dominance MEAM1/MED-Q perdure au cours du temps, ou bien si elle fluctue en fonction de la pression des traitements insecticides et des conditions abiotiques ;
- iii) Etudier en milieu semi-contrôlé les capacités de remplacement de MEAM1/MED-Q et IO sans pression insecticide, afin d'essayer de comprendre l'absence de MED-Q en dehors des agrosystèmes, ou encore la faible fréquence du MEAM1 dans ces zones. En fonction des résultats obtenus, des hypothèses liées à la pression des ennemis naturels (parasitoïdes ou prédateurs) dans ces zones pourraient être avancées (un exemple : des phénomènes de compétition par interférence induits par ces auxiliaires) ;
- iv) Réaliser de la sélection expérimentale sur l'espèce IO, afin de voir si cette espèce est capable d'acquérir des allèles de résistance et si oui en combien de générations ;
- v) Suivre dans le temps l'évolution de la distribution du MED-Q.

De même, au cours de cette thèse, nous n'avons finalement pas pu trancher sur le fait que les deux espèces invasives seraient ou non arrivées avec leurs résistances, et que la pression

insecticide des agrosystèmes de La Réunion aurait permis de conserver ces résistances (ou de les faire apparaître). Il serait intéressant de tester certaines idées comme :

- i) Analyser des populations anciennes (en collection au laboratoire) datant des années 2001-2008, pour voir si la résistance aux pyréthriinoïdes était déjà fixée chez MEAM1,
- ii) Réaliser un échantillonnage dans 4 à 5 ans et vérifier si la distribution des mutations aux pyréthriinoïdes est stable dans les populations de MEAM1 et MED-Q.

Finalement, l'hybridation interspécifique incomplète observée n'a pas démontré son rôle dans l'acquisition d'allèles de résistance pour l'espèce IO. Toutefois, l'inverse a été observé chez un très faible nombre d'individus rétrocroisés MEAM1. Cependant, ces observations ont été faites sur un faible nombre d'hybrides. Ainsi il serait intéressant :

- i) D'obtenir davantage d'hybrides, de tester leur *fitness* et leur résistance à divers insecticides ;
- ii) De poursuivre le suivi des populations pour voir si des hybrides interspécifiques de première génération sont encore trouvés. Dans cette optique, la mutation située dans l'intron et spécifique aux espèces IO et MED-Q, pourrait être un bon marqueur de l'hybridation, même lorsque les populations seraient rétrocroisées sur de nombreuses générations.

Références bibliographiques

- Agrete DAAF de La Réunion** (2015) Le modèle agricole réunionnais résiste : l'emploi et les surfaces exploitées se stabilisent. Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Saint-Denis, La Réunion, Volume n°95, 6 pp.
- Agrete DAAF de La Réunion** (2016) Les traitements phytosanitaires en cultures de carotte, chou à feuilles, salade, tomate. Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Saint-Denis, La Réunion, Volume n°102, 12 pp.
- Agrete DAAF de La Réunion** (2018) Mémento 2018 agricole et rural : chiffres 2017. Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Saint-Denis, La Réunion, 11 pp.
- Agrete DAAF de La Réunion** (2019a) Filière fruits & légumes. Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Saint-Denis, La Réunion, 8 pp.
- Agrete DAAF de La Réunion** (2019b) Filière Canne-Sucre-Rhum-Energie. Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt, Saint-Denis, La Réunion, 8 pp.
- Ahmad, M., M.I. Arif, and M. Ahmad** (2007) Occurrence of insecticide resistance in field populations of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. *Crop Protection* 26, 809-817.
- Ahmad, M., M.I. Arif, and M. Naveed** (2010) Dynamics of resistance to organophosphate and carbamate insecticides in the cotton whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Pakistan. *Journal of Pest Science* 83, 409-420.
- Ahmed, M.Z., Y. Shen, G. Jin, S. Ren, and B. Qiu** (2009) Population and host plant differentiation of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), in East, South and Southwest China. *Acta Entomologica Sinica* 52, 1132-1138.
- Ally, H.M.** (2019) Genetic diversity and structure of the superabundant whitefly populations, vectors of viruses causing diseases of cassava in three East African countries (Malawi, Tanzania, and Uganda). Agricultural sciences. Université de La Réunion, Saint-Denis, France. English, 262 pp.
- Ally, H.M., H. El Hamss, C. Simiand, M.N. Maruthi, J. Colvin, C.A. Omongo, and H. Delatte** (2019) What has changed in the outbreaking populations of the severe crop pest whitefly species in cassava in two decades? *Scientific Reports* 9, 1-13.
- Alon, M., F. Alon, R. Nauen, and S. Morin** (2008) Organophosphates' resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an *ace1*-type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterase. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38, 940-949.
- Alon, M., J. Benting, B. Lueke, T. Ponge, F. Alon, and S. Morin** (2006) Multiple origins of pyrethroid resistance in sympatric biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36, 71-79.
- Alout, H., N.T. Ndam, M.M. Sandeu, I. Djegbe, F. Chandre, R.K. Dabiré, L.S. Djogbenou, V. Corbel, and A. Cohuet** (2013) Insecticide resistance alleles affect vector competence of *Anopheles gambiae* s.s. for *Plasmodium falciparum* field isolates. *PLoS One* 8, e63849.
- Annu, P.K., R. Rani, and A.S. Rathi** (2019) Gemini Viruses-emerging threat to crops. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8, 2006-2012.
- Asadi, M., H. Rafiee-Dastjerdi, G. Nouri-Ganbalani, B. Naseri, and M. Hassanpour** (2019) Lethal and sublethal effects of five insecticides on the demography of a parasitoid wasp. *International Journal of Pest Management* 65, 301-312.
- Badawy, M.E.I., A. Kenawy, and A.F. El-Aswad** (2013) Toxicity assessment of buprofezin, lufenuron, and triflumuron to the earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *International Journal of Zoology* 2013, 174523.

- Balabanidou, V., A. Kampouraki, M. MacLean, G.J. Blomquist, C. Tittiger, M.P. Juárez, S.J. Mijailovsky, G. Chalepakis, A. Anthousi, and A. Lynd** (2016) Cytochrome P450 associated with insecticide resistance catalyzes cuticular hydrocarbon production in *Anopheles gambiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113, 9268-9273.
- Basit, M.** (2019) Status of insecticide resistance in *Bemisia tabaci*: resistance, cross-resistance, stability of resistance, genetics and fitness costs. *Phytoparasitica* 47, 207-225.
- Basit, M., M.A. Saleem, S. Saeed, and A.H. Sayyed** (2012) Cross resistance, genetic analysis and stability of resistance to buprofezin in cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Crop Protection* 40, 16-21.
- Basit, M., S. Saeed, M.A. Saleem, I. Denholm, and M. Shah** (2013) Detection of resistance, cross-resistance, and stability of resistance to new chemistry insecticides in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 106, 1414-1422.
- Bass, C., and R.H. Ffrench-Constant** (2017) Does resistance really carry a fitness cost? *Current Opinion in Insect Science* 21, 39-46.
- Bass, C., I. Denholm, M.S. Williamson, and R. Nauen** (2015) The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121, 78-87.
- Bass, C., A.M. Puinean, M. Andrews, P. Cutler, M. Daniels, J. Elias, V.L. Paul, A.J. Crossthwaite, I. Denholm, L.M. Field, S.P. Foster, R. Lind, M.S. Williamson, and R. Slater** (2011) Mutation of a nicotinic acetylcholine receptor β subunit is associated with resistance to neonicotinoid insecticides in the aphid *Myzus persicae*. *BMC Neuroscience* 12, 51.
- Basu, A.N.** (1995) *Bemisia tabaci* (Gennadius): crop pest and principal whitefly vector of plant viruses. Oxford & IBH Publishing, New Delhi, India, 192 pp.
- Baumann, L., M.L. Thao, C.J. Funk, B.W. Falk, J.C.K. Ng, and P. Baumann** (2004) Sequence analysis of DNA fragments from the genome of the primary endosymbiont of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Current Microbiology* 48, 77-81.
- Baumann, P., N.A. Moran, and L. Baumann** (2006) Bacteriocyte-associated endosymbionts of insects. *Prokaryotes* 1, 403-438.
- Bellows Jr, T.S., T.M. Perring, R.J. Gill, and D.H. Headrick** (1994) Description of a species of *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87, 195-206.
- Berglund, H., J. Järemo, and G. Bengtsson** (2009) Endemism predicts intrinsic vulnerability to nonindigenous species on islands. *The American Naturalist* 174, 94-101.
- Berlinger, M.J.** (1986) Host plant resistance to *Bemisia tabaci*. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 17, 69-82.
- Berticat, C., G. Boquien, M. Raymond, and C. Chevillon** (2002) Insecticide resistance genes induce a mating competition cost in *Culex pipiens* mosquitoes. *Genetics Research* 79, 41-47.
- Berticat, C., O. Duron, D. Heyse, and M. Raymond** (2004) Insecticide resistance genes confer a predation cost on mosquitoes, *Culex pipiens*. *Genetics Research* 83, 189-196.
- Bethke, J.A., F.J. Byrne, G.S. Hodges, C.L. McKenzie, and R.G. Shatters Jr** (2009) First record of the Q biotype of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, in Guatemala. *Phytoparasitica* 37, 61-64.
- Bielza, P., I. Moreno, A. Belando, C. Gravalos, J. Izquierdo, and R. Nauen** (2018) Spiromesifen and spirotetramat resistance in field populations of *Bemisia tabaci* Gennadius in Spain. *Pest Management Science* 75, 45-52.
- Bing, X.-L., Y.-M. Ruan, Q. Rao, X.-W. Wang, and S.-S. Liu** (2013) Diversity of secondary endosymbionts among different putative species of the whitefly *Bemisia tabaci*. *Insect Science* 20, 194-206.

- Binkmoenen, R.M., and L.A. Mound** (1990) Whiteflies-Diversity, Biosystematics and Evolutionary Patterns. pp. 1-11 in Gerling D. (ed.), *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept, Andover, Hampshire, United Kingdom.
- Blackburn, T.M., and J.M. Jeschke** (2009) Invasion success and threat status: two sides of a different coin? *Ecography* 32, 83-88.
- Blackburn, T.M., P. Pyšek, S. Bacher, J.T. Carlton, R.P. Duncan, V. Jarošík, J.R.U. Wilson, and D.M. Richardson** (2011) A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 26, 333-339.
- Bonato, O., K. Abdelslam, and J. Fargues** (2006) Mise en évidence expérimentale de la parthénogenèse arrhénotoque chez *Bemisia tabaci* biotype Q (Homoptera: Aleyrodidae). *Annales de la Société Entomologique de France* 42, 255-256.
- Bonato, O., A. Lurette, C. Vidal, and J. Fargues** (2007) Modelling temperature-dependent bionomics of *Bemisia tabaci* (Q-biotype). *Physiological Entomology* 32, 50-55.
- Bonneville, A., J.-P. Barriot, and R. Bayer** (1988) Evidence from geoid data of a hotspot origin for the southern Mascarene Plateau and Mascarene Islands (Indian Ocean). *Journal of Geophysical Research: Solid Earth* 93, 4199-4212.
- Bourgeois, J., A. Fleuret, and P. Paillole** (2018) L'économie réunionnaise, un secteur marchand moins développé qu'en province. Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques, Saint-Denis, La Réunion, Volume n°32, 4 pp.
- Bourguet, D., M. Prout, and M. Raymond** (1996) Dominance of insecticide resistance presents a plastic response. *Genetics* 143, 407-416.
- Bourriquet, G.** (1938) Note concernant les maladies des plantes cultivées à La Réunion. *Revue Agricole Réunion* 43, 33-38.
- Bouvier, J.-C., R. Buès, T. Boivin, L. Boudinhon, D. Beslay, and B. Sauphanor** (2001) Deltamethrin resistance in the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae): inheritance and number of genes involved. *Heredity* 87, 456-462.
- Boykin, L.M., R.G. Shatters Jr, R.C. Rosell, C.L. McKenzie, R.A. Bagnall, P.J. De Barro, and D.R. Frohlich** (2007) Global relationships of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) revealed using Bayesian analysis of mitochondrial COI DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44, 1306-1319.
- Brattsten, L.B.** (1990) Resistance mechanisms to carbamate and organophosphate insecticides. pp. 42-60 in Green M.B., H.M. Le Baron, W.K. Moberg (eds.), *Managing resistance to agrochemicals: from fundamental research to practical strategies*. ACS Symposium Series, Washington, D.C., U.S.A.
- Bretschneider, T., J. Benet-Buchholz, R. Fischer, and R. Nauen** (2003) Spirodiclofen and spiromesifen-novel acaricidal and insecticidal tetronic acid derivatives with a new mode of action. *Chimia International Journal for Chemistry* 57, 697-701.
- Brevik, K., L. Lindström, S.D. McKay, and Y.H. Chen** (2018) Transgenerational effects of insecticides-implications for rapid pest evolution in agroecosystems. *Current Opinion in Insect Science* 26, 34-40.
- Brito, L.P., J.G.B. Linss, T.N. Lima-Camara, T.A. Belinato, A.A. Peixoto, J.B.P. Lima, D. Valle, and A.J. Martins** (2013) Assessing the effects of *Aedes aegypti kdr* mutations on pyrethroid resistance and its fitness cost. *PloS One* 8, e60678.
- Brown, A.W.** (1986) Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review. *Journal of the American Mosquito Control Association* 2, 123-140.
- Brown, J.K., S.A. Coats, I.D. Bedford, P.G. Markham, J. Bird, and D.R. Frohlich** (1995) Characterization and distribution of esterase electromorphs in the whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.)(Homoptera: Aleyrodidae). *Biochemical Genetics* 33, 205-214.
- Brown, J.K., T.J. Dennehy, B. DeGain, D. Rogan, G. Harpold, F. Byrne, and R. Nichols** (2005) First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) in the USA and

- resistance to insecticides in an Arizona population. *European Whitefly Studies*, Network Newsletter, available in http://www.whitefly.org/whiteflyfomm/forum_posts.asp,
- Brown, J.K., F.M. Zerbini, J. Navas-Castillo, E. Moriones, R. Ramos-Sobrinho, J.C.F. Silva, E. Fiallo-Olivé, R.W. Briddon, C. Hernández-Zepeda, and A. Idris** (2015) Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160, 1593-1619.
- Brück, E., A. Elbert, R. Fischer, S. Krueger, J. Kühnhold, A.M. Klueken, R. Nauen, J.-F. Niebes, U. Reckmann, and H.-J. Schnorbach** (2009) Movento®, an innovative ambimobile insecticide for sucking insect pest control in agriculture: biological profile and field performance. *Crop Protection* 28, 838-844.
- Brumin, M., S. Kontsedalov, and M. Ghanim** (2011) *Rickettsia* influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype. *Insect Science* 18, 57-66.
- Brunet, N., L. Guichard, B. Omon, N. Pingault, E. Pley-Ber, and A. Seiler** (2008) L'indicateur de fréquence de traitements (IFT) : un indicateur pour une utilisation durable des pesticides. *Courrier de l'environnement de l'INRA* 56, 131-141.
- Byrne, D.N., and T.S. Bellows Jr** (1991) Whitefly biology. *Annual Review of Entomology* 36, 431-457.
- Byrne, F.J., and A.L. Devonshire** (1996) Biochemical evidence of haplodiploidy in the whitefly *Bemisia tabaci*. *Biochemical Genetics* 34, 93-107.
- Byrne, F.J., M. Cahill, I. Denholm, and A.L. Devonshire** (1994) A biochemical and toxicological study of the role of insensitive acetylcholinesterase in organophosphorus resistant *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) from Israel. *Bulletin of Entomological Research* 84, 179-184.
- Caballero, R., D.J. Schuster, N.A. Peres, J. Mangandi, T. Hasing, F. Trexler, S. Kalb, H.E. Portillo, P.C. Marçon, and I.B. Annan** (2015) Effectiveness of cyantraniliprole for managing *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) and interfering with transmission of tomato yellow leaf curl virus on tomato. *Journal of Economic Entomology* 108, 894-903.
- Cahill, M., F.J. Byrne, K. Gorman, I. Denholm, and A.L. Devonshire** (1995) Pyrethroid and organophosphate resistance in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 85, 181-187.
- Cahill, M., K. Gorman, S. Day, I. Denholm, A. Elbert, and R. Nauen** (1996) Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 86, 343-349.
- Calvert, L.A., M. Cuervo, J.A. Arroyave, L.M. Constantino, A. Bellotti, and D. Frohlich** (2001) Morphological and mitochondrial DNA marker analyses of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) colonizing cassava and beans in Colombia. *Annals of the Entomological Society of America* 94, 512-519.
- Casida, J.E., and K.A. Durkin** (2013) Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual Review of Entomology* 58, 99-117.
- Cheek, S., and O. Macdonald** (1994) Statutory controls to prevent the establishment of *Bemisia tabaci* in the United Kingdom. *Pesticide Science* 42, 135-137.
- Cheke, A.** (2010) The timing of arrival of humans and their commensal animals on Western Indian Ocean oceanic islands. *Phelsuma* 18, 38-69.
- Cheke, A.S.** (1987) An ecological history of the Mascarene Islands, with particular reference to extinctions and introductions of land vertebrates. pp 5-89 in Diamond A.W. (ed.), *Studies of the Mascarene Islands Birds*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

- Chénais, B., A. Caruso, S. Hiard, and N. Casse** (2012) The impact of transposable elements on eukaryotic genomes: from genome size increase to genetic adaptation to stressful environments. *Gene* 509, 7-15.
- Chi, Y., L.-L. Pan, S. Bouvaine, Y.-Y. Fan, Y.-Q. Liu, S.-S. Liu, S. Seal, and X.-W. Wang** (2020) Differential transmission of Sri Lankan cassava mosaic virus by three cryptic species of the whitefly *Bemisia tabaci* complex. *Virology* 540, 141-149.
- Chiel, E., Y. Gottlieb, E. Zchori-Fein, N. Mozes-Daube, N. Katzir, M. Inbar, and M. Ghanim** (2007) Biotype-dependent secondary symbiont communities in sympatric populations of *Bemisia tabaci*. *Bulletin of Entomological Research* 97, 407-413.
- Chu, D., F.H. Wan, Y.J. Zhang, and J.K. Brown** (2010) Change in the biotype composition of *Bemisia tabaci* in Shandong Province of China from 2005 to 2008. *Environmental Entomology* 39, 1028-1036.
- Chu, D., Y.-L. Tao, Y.-J. Zhang, F.-H. Wan, and J.K. Brown** (2012) Effects of host, temperature and relative humidity on competitive displacement of two invasive *Bemisia tabaci* biotypes [Q and B]. *Insect science* 19, 595-603.
- Chu, D., Y.-J. Zhang, J.K. Brown, B. Cong, B.-Y. Xu, Q.-J. Wu, and G.-R. Zhu** (2006) The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* from the Mediterranean region into China on ornamental crops. *Florida Entomologist* 89, 168-174.
- Cohen, S., and I. Harpaz** (1964) Periodic, rather than continual acquisition of a new tomato virus by its vector, the tobacco whitefly (*Bemisia tabaci* Gennadius). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 7, 155-166.
- Crawley, M.J.** (2005) *Statistics: an introduction using R*. John Wiley & Sons, West Sussex, United Kingdom, 342 pp.
- Crowder, D.W., Y. Carrière, B.E. Tabashnik, P.C. Ellsworth, and T.J. Dennehy** (2006) Modeling evolution of resistance to pyriproxyfen by the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 99, 1396-1406.
- Dalmon, A., F. Halkett, M. Granier, H. Delatte, and M. Peterschmitt** (2008) Genetic structure of the invasive pest *Bemisia tabaci*: evidence of limited but persistent genetic differentiation in glasshouse populations. *Heredity* 100, 316-325.
- Daszak, P., A.A. Cunningham, and A.D. Hyatt** (2000) Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. *Science* 287, 443-449.
- David, P., and S. Samadi** (2011) *La théorie de l'évolution : une logique pour la biologie*. Flammarion, Paris, France, 354 pp.
- Davidson, E.W., B.J. Segura, T. Steele, and D.L. Hendrix** (1994) Microorganisms influence the composition of honeydew produced by the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Insect Physiology* 40, 1069-1076.
- Davies, A.G., A.Y. Game, Z. Chen, T.J. Williams, S. Goodall, J.L. Yen, J.A. McKenzie, and P. Batterham** (1996) *Scalloped wings* is the *Lucilia cuprina* *Notch* homologue and a candidate for the *Modifier* of fitness and asymmetry of diazinon resistance. *Genetics* 143, 1321-1337.
- Davies, T.G.E., L.M. Field, P.N.R. Usherwood, and M.S. Williamson** (2007) DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB life* 59, 151-162.
- De Barro, P.J., A. Bourne, S.A. Khan, and V.A.L. Brancatini** (2006) Host plant and biotype density interactions—their role in the establishment of the invasive B biotype of *Bemisia tabaci*. *Biological Invasions* 8, 287-294.
- De Barro, P.J., S.S. Liu, L.M. Boykin, and A.B. Dinsdale** (2011) *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology* 56, 1-19.
- Delatte, H.** (2005) Study of the pathosystem Begomovirus/ *Bemisia tabaci*/ tomato on the South West islands of the Indian Ocean. Agricultural sciences. Wageningen University, Wageningen, the Netherlands. English, 160 pp.

- Delatte, H., J.-M. Lett, P. Lefeuvre, B. Reynaud, and M. Peterschmitt** (2007a) An insular environment before and after TYLCV introduction. pp. 13-23 in Czosnek H. (ed.), *Tomato yellow leaf curl virus disease : management, molecular biology, breeding for resistance*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Delatte, H., H. Holota, B. Moury, B. Reynaud, J.-M. Lett, and M. Peterschmitt** (2007b) Evidence for a founder effect after introduction of *Tomato yellow leaf curl virus*–Mild in an insular environment. *Journal of Molecular Evolution* 65, 112-118.
- Delatte, H., H. Holota, B.H. Warren, N. Becker, M. Thierry, and B. Reynaud** (2011) Genetic diversity, geographical range and origin of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Indian Ocean Ms. *Bulletin of Entomological Research* 101, 487-497.
- Delatte, H., B. Reynaud, M. Granier, L. Thornary, J.-M. Lett, R. Goldbach, and M. Peterschmitt** (2005) A new silverleaf-inducing biotype Ms of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bulletin of Entomological Research* 95, 29-35.
- Delatte, H., P. David, M. Granier, J.-M. Lett, R. Goldbach, M. Peterschmitt, and B. Reynaud** (2006) Microsatellites reveal extensive geographical, ecological and genetic contacts between invasive and indigenous whitefly biotypes in an insular environment. *Genetical Research* 87, 109-124.
- Delatte, H., P.-F. Duyck, A. Triboire, P. David, N. Becker, O. Bonato, and B. Reynaud** (2009) Differential invasion success among biotypes: case of *Bemisia tabaci*. *Biological Invasions* 11, 1059-1070.
- Delatte, H., R. Baudin, N. Becker, A.-L. Girard, T. Ramatoulaye Sidebe, J.-M. Lett, and B. Reynaud** (2015) Species and endosymbiont diversity of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on vegetable crops in Senegal. *Insect Science* 22, 386-398.
- Denholm, I.** (1988) Insecticide resistance: an avoidable pest management problem. *Aspects of Applied Biology* 17, 239-246.
- Denholm, I., M. Cahill, T.J. Dennehy, and A.R. Horowitz** (1998) Challenges with managing insecticide resistance in agricultural pests, exemplified by the whitefly *Bemisia tabaci*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 353, 1757-1767.
- Deniel, C., G. Kieffer, and J. Lecointre** (1992) New ^{230}Th - ^{238}U and ^{14}C age determinations from Piton des Neiges volcano, Reunion-a revised chronology for the differentiated series. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 51, 253-267.
- Dinsdale, A., L. Cook, C. Riginos, Y. Buckley, and P. De Barro** (2010) Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America* 103, 196-208.
- Dittrich, V., G.H. Ernst, O. Ruesch, and S. Uk** (1990) Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Sudan, Turkey, Guatemala, and Nicaragua. *Journal of Economic Entomology* 83, 1665-1670.
- Drost, Y.C., J.C. Van Lenteren, and H.J.W. Van Roermund** (1998) Life-history parameters of different biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in relation to temperature and host plant: a selective review. *Bulletin of Entomological Research* 88, 219-230.
- Earl, D.A., and B.M. VonHoldt** (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources* 4, 359-361.
- Elbaz, M., N. Lahav, and S. Morin** (2010) Evidence for pre-zygotic reproductive barrier between the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 100, 581-590.

- Elbert, A., and R. Nauen** (2000) Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern Spain with special reference to neonicotinoids. *Pest Management Science* 56, 60-64.
- Elfekih, S., P. Etter, W.T. Tay, M. Fumagalli, K. Gordon, E. Johnson, and P.J. De Barro** (2018) Genome-wide analyses of the *Bemisia tabaci* species complex reveal contrasting patterns of admixture and complex demographic histories. *PloS One* 13, e0190555.
- Ellstrand, N.C., and K.A. Schierenbeck** (2000) Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 7043-7050.
- Erdogan, C., G.D. Moores, M.O. Gurkan, K.J. Gorman, and I. Denholm** (2008) Insecticide resistance and biotype status of populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Turkey. *Crop Protection* 27, 600-605.
- Evanno, G., S. Regnaut, and J. Goudet** (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14, 2611-2620.
- Everett, K.D.E., M. Thao, M. Horn, G.E. Dyszynski, and P. Baumann** (2005) Novel chlamydiae in whiteflies and scale insects: endosymbionts 'Candidatus Fritschea bemisiae' strain Falk and 'Candidatus Fritschea eriococci' strain Elm. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, 1581-1587.
- Eyhorn, F., T. Roner, and H. Specking** (2015) Reducing pesticide use and risks-What action is needed? Briefing Paper, Helvetas, pp. 14-16.
- Facon, B., P. Jarne, J.P. Pointier, and P. David** (2005) Hybridization and invasiveness in the freshwater snail *Melanoides tuberculata*: hybrid vigour is more important than increase in genetic variance. *Journal of Evolutionary Biology* 18, 524-535.
- Facon, B., B.J. Genton, J. Shykoff, P. Jarne, A. Estoup, and P. David** (2006) A general eco-evolutionary framework for understanding bioinvasions. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 130-135.
- Feng, Y., Q. Wu, S. Wang, X. Chang, W. Xie, B. Xu, and Y. Zhang** (2010) Cross-resistance study and biochemical mechanisms of thiamethoxam resistance in B-biotype *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 66, 313-318.
- Feng, Y.T., Q.J. Wu, B.Y. Xu, S.L. Wang, X.L. Chang, W. Xie, and Y.J. Zhang** (2009) Fitness costs and morphological change of laboratory-selected thiamethoxam resistance in the B-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology* 133, 466-472.
- Fernández, E., C. Grávalos, P.J. Haro, D. Cifuentes, and P. Bielza** (2009) Insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* Q-biotype in south-eastern Spain. *Pest Management Science* 65, 885-891.
- Finney, D.J.** (1979) Bioassay and the practice of statistical inference. *International Statistical Review* 47, 1-12.
- Frohlich, D.R., I. Torres-Jerez, I.D. Bedford, P.G. Markham, and J.K. Brown** (1999) A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology* 8, 1683-1691.
- Fuog, D., S.J. Fergusson, and C. Flückiger** (1998) Pymetrozine: a novel insecticide affecting aphids and whiteflies. pp. 40-49 in Ishaaya I., D. Degheele (eds.), *Insecticides with novel modes of action: mechanism and application*. Springer, Berlin, Germany.
- Gameel, O.I.** (1977) *Bemisia tabaci*. pp. 320-322 in Kranz J., H. Schmutterer, W. Kock (eds.), *Diseases, Pests and Weeds in Tropical Crops*. Paul Parey, Berlin, Germany.
- Gangwar, R.K., and C. Gangwar** (2018) Lifecycle, distribution, nature of damage and economic importance of whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Acta Scientific Agriculture* 2, 36-39.

- Gauthier, N., C. Clouet, A. Perrakis, D. Kapantaidaki, M. Peterschmitt, and A. Tsagkarakou** (2014) Genetic structure of *Bemisia tabaci* Med populations from home-range countries, inferred by nuclear and cytoplasmic markers: impact on the distribution of the insecticide resistance genes. *Pest Management Science* 70, 1477-1491.
- Gazave, É., C. Chevillon, T. Lenormand, M. Marquine, and M. Raymond** (2001) Dissecting the cost of insecticide resistance genes during the overwintering period of the mosquito *Culex pipiens*. *Heredity* 87, 441-448.
- Gennadius, P.** (1889) Disease of tobacco plantations in the Trikonina. The aleurodid of tobacco. *Ellenike Georgia* 5, 1-3.
- Gerling, D.** (1990) Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept, Andover, Hampshire, United Kingdom, 348 pp.
- Gerling, D., A.R. Horowitz, and J. Baumgaertner** (1986) Autecology of *Bemisia tabaci*. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 17, 5-19.
- Ghanim, M., and S. Kontsedalov** (2009) Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Pest Management Science* 65, 939-942.
- Gill, R.J.** (1990) The morphology of whiteflies. pp. 13-46 in Gerling D. (ed.), *Whiteflies: their bionomics, pest status and management*. Intercept, Andover, Hampshire, United Kingdom.
- Gillespie, R.G., and G.K. Roderick** (2002) Arthropods on islands: colonization, speciation, and conservation. *Annual Review of Entomology* 47, 595-632.
- Gillot, P.-Y., and P. Nativel** (1989) Eruptive history of the Piton de la Fournaise volcano, Réunion island, Indian Ocean. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* 36, 53-65.
- Gnankiné, O., O. Hema, M. Namountougou, L. Mouton, and F. Vavre** (2018) Impact of pest management practices on the frequency of insecticide resistance alleles in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) populations in three countries of West Africa. *Crop Protection* 104, 86-91.
- Gokcumen, O.** (2020) Archaic hominin introgression into modern human genomes. *American Journal of Physical Anthropology* 171, 60-73.
- Gorman, K., R. Slater, J.D. Blande, A. Clarke, J. Wren, A. McCaffery, and I. Denholm** (2010) Cross-resistance relationships between neonicotinoids and pymetrozine in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 66, 1186-1190.
- Gottlieb, Y., M. Ghanim, G. Gueguen, S. Kontsedalov, F. Vavre, F. Fleury, and E. Zchori-Fein** (2008) Inherited intracellular ecosystem: symbiotic bacteria share bacteriocytes in whiteflies. *The FASEB Journal* 22, 2591-2599.
- Grávalos, C., E. Fernández, A. Belando, I. Moreno, C. Ros, and P. Bielza** (2015) Cross-resistance and baseline susceptibility of Mediterranean strains of *Bemisia tabaci* to cyantraniliprole. *Pest Management Science* 71, 1030-1036.
- Gressel, J.** (2011) Low pesticide rates may hasten the evolution of resistance by increasing mutation frequencies. *Pest Management Science* 67, 253-257.
- Guedes, N.M.P., R.N.C. Guedes, G.H. Ferreira, and L.B. Silva** (2009) Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and-resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. *Bulletin of Entomological Research* 99, 393-400.
- Gueguen, G., F. Vavre, O. Gnankiné, M. Peterschmitt, D. Charif, E. Chiel, Y. Gottlieb, M. Ghanim, E. Zchori-Fein, and F. Fleury** (2010) Endosymbiont metacommunities, mtDNA diversity and the evolution of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) species complex. *Molecular Ecology* 19, 4365-4376.
- Guerrero, F.D., R.C. Jamroz, D. Kammlah, and S.E. Kunz** (1997) Toxicological and molecular characterization of pyrethroid-resistant horn flies, *Haematobia irritans*:

- identification of *kdr* and *super-kdr* point mutations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 27, 745-755.
- Guillemaud, T., T. Lenormand, D. Bourguet, C. Chevillon, N. Pasteur, and M. Raymond** (1998) Evolution of resistance in *Culex pipiens*: allele replacement and changing environment. *Evolution* 52, 443-453.
- Guo, J.-Y., G.-Y. Ye, S.-Z. Dong, and S.-S. Liu** (2010) An invasive whitefly feeding on a virus-infected plant increased its egg production and realized fecundity. *PLoS One* 5, e11713.
- Guo, X.-J., R. Qiong, F. Zhang, L. Chen, H.-Y. Zhang, and X.-W. Gao** (2012) Diversity and genetic differentiation of the whitefly *Bemisia tabaci* species complex in China based on mtCOI and cDNA-AFLP analysis. *Journal of Integrative Agriculture* 11, 206-214.
- Hadjistrylli, M., G.K. Roderick, and J.K. Brown** (2016) Global population structure of a worldwide pest and virus vector: genetic diversity and population history of the *Bemisia tabaci* sibling species group. *PLoS One* 11, e0165105.
- Hadjistrylli, M., S.A. Schwartz, J.K. Brown, and G.K. Roderick** (2014) Isolation and characterization of nine microsatellite loci from *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) Biotype B. *Journal of Insect Science* 14, 148.
- Harrewijn, P., and H. Kayser** (1997) Pymetrozine, a fast-acting and selective inhibitor of aphid feeding. *In-situ* studies with electronic monitoring of feeding behaviour. *Pesticide Science* 49, 130-140.
- Hartley, C.J., R.D. Newcomb, R.J. Russell, C.G. Yong, J.R. Stevens, D.K. Yeates, J. La Salle, and J.G. Oakeshott** (2006) Amplification of DNA from preserved specimens shows blowflies were preadapted for the rapid evolution of insecticide resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103, 8757-8762.
- Hawkins, N.J., C. Bass, A. Dixon, and P. Neve** (2019) The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biological Reviews* 94, 135-155.
- Hemingway, J., and H. Ranson** (2000) Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology* 45, 371-391.
- Himler, A.G., T. Adachi-Hagimori, J.E. Bergen, A. Kozuch, S.E. Kelly, B.E. Tabashnik, E. Chiel, V.E. Duckworth, T.J. Dennehy, and E. Zchori-Fein** (2011) Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias. *Science* 332, 254-256.
- Honěk, A.** (1993) Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. *Oikos* 66, 483-492.
- Horowitz, A.R., and I. Ishaaya** (2014) Dynamics of biotypes B and Q of the whitefly *Bemisia tabaci* and its impact on insecticide resistance. *Pest Management Science* 70, 1568-1572.
- Horowitz, A.R., S. Kontsedalov, and I. Ishaaya** (2004) Dynamics of resistance to the neonicotinoids acetamiprid and thiamethoxam in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 97, 2051-2056.
- Horowitz, A.R., I. Denholm, and S. Morin** (2007) Resistance to insecticides in the TYLCV vector, *Bemisia tabaci*. pp. 305-325 in Czosnek H. (ed.), *Tomato yellow leaf curl virus disease : management, molecular biology, breeding for resistance*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Horowitz, A.R., Y. Antignus, and D. Gerling** (2011) Management of *Bemisia tabaci* whiteflies. pp. 293-322 in Thompson W.M.O. (ed.), *The whitefly, Bemisia tabaci (Homoptera: Aleyrodidae) interaction with Geminivirus-infected host plants*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

- Horowitz, A.R., S. Kontsedalov, V. Khasdan, and I. Ishaaya** (2005) Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 58, 216-225.
- Horowitz, A.R., M. Ghanim, E. Roditakis, R. Nauen, and I. Ishaaya** (2020) Insecticide resistance and its management in *Bemisia tabaci* species. *Journal of Pest Science* 93, 893–910.
- Horowitz, A.R., I. Denholm, K. Gorman, J.L. Cenis, S. Kontsedalov, and I. Ishaaya** (2003) Biotype Q of *Bemisia tabaci* identified in Israel. *Phytoparasitica* 31, 94-98.
- Hsieh, C.-H., C.-H. Wang, and C.-C. Ko** (2007) Evidence from molecular markers and population genetic analyses suggests recent invasions of the Western North Pacific region by biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Environmental Entomology* 36, 952-961.
- Hu, J., X. Zhang, Z. Jiang, F. Zhang, Y. Liu, Z. Li, and Z. Zhang** (2018) New putative cryptic species detection and genetic network analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in China based on mitochondrial COI sequences. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis* 29, 474-484.
- Hua, J., D.K. Jones, and R.A. Relyea** (2014) Induced tolerance from a sublethal insecticide leads to cross-tolerance to other insecticides. *Environmental Science & Technology* 48, 4078-4085.
- Hussain, S., M. Farooq, H.J. Malik, I. Amin, B.E. Scheffler, J.A. Scheffler, S.-S. Liu, and S. Mansoor** (2019) Whole genome sequencing of Asia II 1 species of whitefly reveals that genes involved in virus transmission and insecticide resistance have genetic variances between Asia II 1 and MEAM1 species. *BMC Genomics* 20, 507.
- Ishaaya, I., and A.R. Horowitz** (1995) Pyriproxyfen, a novel insect growth regulator for controlling whiteflies: mechanisms and resistance management. *Pesticide Science* 43, 227-232.
- Ishaaya, I., Z. Mendelson, and V. Melamed-Madjar** (1988) Effect of buprofezin on embryo genesis and progeny formation of sweet potato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology* 81, 781-784.
- Jeschke, P., and R. Nauen** (2008) Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science* 64, 1084-1098.
- Jeschke, P., R. Nauen, M. Schindler, and A. Elbert** (2011) Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 2897-2908.
- Jiang, Y.X., H. Lei, J.L. Collar, B. Martin, M. Muñiz, and A. Fereres** (1999) Probing and feeding behavior of two distinct biotypes of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato plants. *Journal of Economic Entomology* 92, 357-366.
- Jindra, M., and L. Bittova** (2020) The juvenile hormone receptor as a target of juvenoid “insect growth regulators”. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 103, e21615.
- Jindra, M., S.R. Palli, and L.M. Riddiford** (2013) The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annual Review of Entomology* 58, 181-204.
- Jindra, M., X. Bellés, and T. Shinoda** (2015) Molecular basis of juvenile hormone signaling. *Current Opinion in Insect Science* 11, 39-46.
- Jombart, T., and I. Ahmed** (2011) adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics* 27, 3070-3071.
- Jones, D.R.** (2003) Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology* 109, 195-219.
- Jonsson, N., and B. Jonsson** (1999) Trade-off between egg mass and egg number in brown trout. *Journal of Fish Biology* 55, 767-783.

- Jumaux, G., H. Quetelard, and D. Roy** (2011) Atlas climatique de la Réunion. Météo-France, Direction interrégionale de La Réunion, Sainte-Clotilde, France, 132 pp.
- Kakimoto, K., H. Inoue, T. Yamaguchi, S. Ueda, K.-I. Honda, and E. Yano** (2007) Host plant effect on development and reproduction of *Bemisia argentifolii* Bellows et Perring (*B. tabaci* [Gennadius] B-biotype)(Homoptera: Aleyrodidae). *Applied Entomology and Zoology* 42, 63-70.
- Kanakala, S., and M. Ghanim** (2019) Global genetic diversity and geographical distribution of *Bemisia tabaci* and its bacterial endosymbionts. *PLoS One* 14, e0213946.
- Karunker, I., J. Benting, B. Lueke, T. Ponge, R. Nauen, E. Roditakis, J. Vontas, K. Gorman, I. Denholm, and S. Morin** (2008) Over-expression of cytochrome P450 *CYP6CM1* is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38, 634-644.
- Kasai, S., L.C. Ng, S.G. Lam-Phua, C.S. Tang, K. Itokawa, O. Komagata, M. Kobayashi, and T. Tomita** (2011) First detection of a putative knockdown resistance gene in major mosquito vector, *Aedes albopictus*. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 64, 217-221.
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, and C. Duran** (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28, 1647-1649.
- Kieffer, G.** (1990) Grands traits morphologiques de l'île de La Réunion. pp. 75-114 in Lénat J.F. (ed.), *Le volcanisme de la Réunion : Monographie*. Centre de recherches volcaniques, Clermont-Ferrand, France.
- Kier, G., H. Kreft, T.M. Lee, W. Jetz, P.L. Ibisch, C. Nowicki, J. Mutke, and W. Barthlott** (2009) A global assessment of endemism and species richness across island and mainland regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 9322-9327.
- Kirk, W.D.J., and L.I. Terry** (2003) The spread of the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Agricultural and Forest Entomology* 5, 301-310.
- Kliot, A., and M. Ghanim** (2012) Fitness costs associated with insecticide resistance. *Pest Management Science* 68, 1431-1437.
- Kontsedalov, S., E. Zchori-Fein, E. Chiel, Y. Gottlieb, M. Inbar, and M. Ghanim** (2008) The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Pest Management Science* 64, 789-792.
- Kopelman, N.M., J. Mayzel, M. Jakobsson, N.A. Rosenberg, and I. Mayrose** (2015) Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources* 15, 1179-1191.
- Laarif, A., D. Saleh, C. Clouet, and N. Gauthier** (2015) Regional co-occurrence between distinct *Bemisia tabaci* species in Tunisia with new insights into the role of host plants. *Phytoparasitica* 43, 135-150.
- Labbé, P., T. Lenormand, and M. Raymond** (2005) On the worldwide spread of an insecticide resistance gene: a role for local selection. *Journal of Evolutionary Biology* 18, 1471-1484.
- Lahm, G.P., D. Cordova, and J.D. Barry** (2009) New and selective ryanodine receptor activators for insect control. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 17, 4127-4133.
- Lapidot, M., and M. Friedmann** (2002) Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. *Annals of Applied Biology* 140, 109-127.
- Lapidot, M., and J.E. Polston** (2010) Biology and epidemiology of *Bemisia*-vectored viruses. pp. 227-231 in Stansly P.A., S.E. Naranjo (eds.), *Bemisia: bionomics and management of a global pest*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

- Lee, S.H., T.J. Smith, P.J. Ingles, and D.M. Soderlund** (2000) Cloning and functional characterization of a putative sodium channel auxiliary subunit gene from the house fly (*Musca domestica*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30, 479-487.
- Lee, W., J. Park, G.-S. Lee, S. Lee, and S.-I. Akimoto** (2013) Taxonomic status of the *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and reassessment of the number of its constituent species. *PLoS One* 8, e63817.
- Lefevre, P., D.P. Martin, G. Harkins, P. Lemey, A.J.A. Gray, S. Meredith, F. Lakay, A. Monjane, J.-M. Lett, and A. Varsani** (2010) The spread of Tomato yellow leaf curl virus from the Middle East to the world. *PLoS Pathogens* 6, e1001164.
- Lefevre, T., M. Raymond, and F. Thomas** (2016) *Biologie évolutive*. De Boeck Supérieur, Paris, France, 1000 pp.
- Lenormand, T.** (2012) From local adaptation to speciation: specialization and reinforcement. *International Journal of Ecology* 2012, 508-458.
- Lenormand, T., N. Harmand, and R. Gallet** (2018) Cost of resistance: an unreasonably expensive concept. *Rethinking Ecology* 3, 51-70.
- Lenormand, T., D. Bourguet, T. Guillemaud, and M. Raymond** (1999) Tracking the evolution of insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*. *Nature* 400, 861-864.
- Li, T.-Y., S.B. Vinson, and D. Gerling** (1989) Courtship and mating behavior of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Environmental Entomology* 18, 800-806.
- Liu, N.** (2015) Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions. *Annual Review of Entomology* 60, 537-559.
- Liu, S.-S., J. Colvin, and P.J. De Barro** (2012) Species concepts as applied to the whitefly *Bemisia tabaci* systematics: how many species are there? *Journal of Integrative Agriculture* 11, 176-186.
- Liu, S.-S., P.J. De Barro, J. Xu, J.-B. Luan, L.-S. Zang, Y.-M. Ruan, and F.-H. Wan** (2007) Asymmetric mating interactions drive widespread invasion and displacement in a whitefly. *Science* 318, 1769-1772.
- Lockwood, J.L., P. Cassey, and T. Blackburn** (2005) The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 20, 223-228.
- Luan, J.-B., X. Jing, K.-K. Lin, M.P. Zalucki, and S.-S. Liu** (2012) Species exclusion between an invasive and an indigenous whitefly on host plants with differential levels of suitability. *Journal of Integrative Agriculture* 11, 215-224.
- Luan, J., X. Sun, Z. Fei, and A.E. Douglas** (2018) Maternal inheritance of a single somatic animal cell displayed by the bacteriocyte in the whitefly *Bemisia tabaci*. *Current Biology* 28, 459-465.
- Lueke, B., V. Douris, J.E. Hopkinson, F. Maiwald, G. Hertlein, K.-M. Papapostolou, P. Bielza, A. Tsagkarakou, T. Van Leeuwen, and C. Bass** (2020) Identification and functional characterization of a novel acetyl-CoA carboxylase mutation associated with ketoenol resistance in *Bemisia tabaci*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 166, 104583.
- Ma, D., K. Gorman, G. Devine, W. Luo, and I. Denholm** (2007) The biotype and insecticide-resistance status of whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomous Region, northwestern China. *Crop Protection* 26, 612-617.
- Mahadav, A., D. Gerling, Y. Gottlieb, H. Czosnek, and M. Ghanim** (2008) Parasitization by the wasp *Eretmocerus mundus* induces transcription of genes related to immune response and symbiotic bacteria proliferation in the whitefly *Bemisia tabaci*. *BMC Genomics* 9, 342.
- Malka, O., D. Santos-Garcia, E. Feldmesser, E. Sharon, R. Krause-Sakate, H. Delatte, S. Van Brunschot, M. Patel, P. Visendi, H. Mugerwa, S. Seal, J. Colvin, and S. Morin**

- (2018) Species-complex diversification and host-plant associations in *Bemisia tabaci*: A plant-defence, detoxification perspective revealed by RNA-Seq analyses. *Molecular Ecology* 27, 4241-4256.
- Mallet, J.** (1989) The evolution of insecticide resistance: have the insects won? *Trends in Ecology & Evolution* 4, 336-340.
- Margus, A., S. Piironen, P. Lehmann, S. Tikka, J. Karvanen, and L. Lindström** (2019) Sublethal pyrethroid insecticide exposure carries positive fitness effects over generations in a pest insect. *Scientific Reports* 9, 1-10.
- Marimuthu, K., N. Muthu, R. Xavier, J. Arockiaraj, M.A. Rahman, and S. Subramaniam** (2013) Toxicity of buprofezin on the survival of embryo and larvae of African catfish, *Clarias gariepinus* (Bloch). *PloS One* 8, e75545.
- Martin, J.H.** (1987) An identification guide to common whitefly pest species of the world (Homoptera Aleyrodidae). *International Journal of Pest Management* 33, 298-322.
- Martinez-Carrillo, J.L., and J.K. Brown** (2007) Note: First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Southern Sonora, Mexico. *Phytoparasitica* 35, 282-284.
- Mayr, E.** (1942) Systematics and the origin of species. Columbia University Press, New York, U.S.A, 334 pp.
- McCollum, T.G., P.J. Stoffella, C.A. Powell, D.J. Cantliffe, and S. Hanif-Khan** (2004) Effects of silverleaf whitefly feeding on tomato fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology* 31, 183-190.
- McDougall, I.** (1971) The geochronology and evolution of the young volcanic island of Réunion, Indian Ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 35, 261-288.
- McGregor, G.R., and S. Nieuwolt** (1998) Tropical climatology: an introduction to the climates of the low latitudes. John Wiley & Sons, Chichester, United Kingdom, 216 pp.
- McKenzie, C.L., and L.S. Osborne** (2017) *Bemisia tabaci* MED (Q biotype)(Hemiptera: Aleyrodidae) in Florida is on the move to residential landscapes and may impact open-field agriculture. *Florida Entomologist* 100, 481-484.
- McKenzie, C.L., A.N. Sparks Jr, P. Roberts, R.D. Oetting, and L.S. Osborne** (2020) Survey of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in agricultural ecosystems in Georgia. *Journal of Entomological Science* 55, 163-170.
- McKenzie, C.L., J.A. Bethke, F.J. Byrne, J.R. Chamberlin, T.J. Dennehy, A.M. Dickey, D. Gilrein, P.M. Hall, S. Ludwig, and R.D. Oetting** (2012) Distribution of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotypes in North America after the Q invasion. *Journal of Economic Entomology* 105, 753-766.
- Milani, R.** (1954) Comportamento mendeliano della resistenza alla azione abbatante del DDT: correlazione tran abbattimento e mortalia in *Musca domestica* L. *Rivista di Parassitologia* 15, 513-542.
- Milani, R., and A. Travaglino** (1957) Ricerche genetiche sulla resistenza al DDT in *Musca domestica* concatenazione del gene *kdr* (knockdown-resistance) con due mutanti morfologici. *Rivista di Parassitologia* 18, 199-202.
- Millot, P.** (2017) How can 3D printing help your lab: the example of AphiCell. In: *16ième Rencontre de Virologie Végétale (15-19 January 2017)*. Aussois, France.
- Mittermeier, R.A., W.R. Turner, F.W. Larsen, T.M. Brooks, and C. Gascon** (2011) Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. pp. 3-22 in Zachos F.E., J.C. Habel (eds.), *Biodiversity hotspots*. Springer, Berlin, Germany.
- Moran, N.A., and A. Telang** (1998) Bacteriocyte-associated symbionts of insects. *Bioscience* 48, 295-304.
- Morin, S., M.S. Williamson, S.J. Goodson, J.K. Brown, B.E. Tabashnik, and T.J. Dennehy** (2002) Mutations in the *Bemisia tabaci* para sodium channel gene associated with

- resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32, 1781-1791.
- Mound, L.A.** (1963) Host-correlated variation in *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Homoptera: Aleyrodidae). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London. Series A: General Entomology* 38, 171-180.
- Mound, L.A., and S.H. Halsey** (1978) Whitefly of the world. A systematic catalogue of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. John Wiley & Sons, Chichester, United Kingdom, 340 pp.
- Mourer-Chauvire, C., R. Bour, S. Ribes, and F. Moutou** (1999) The avifauna of Reunion island (Mascarene Islands) at the time of arrival of the first Europeans. pp. 1-38 in Olson S.L. (ed.), *Avian Paleontology at the Close of the 20th Century Proceedings of the 4th International Meeting of the Society of Avian Paleontology and Evolution*. Smithsonian Contributions to Paleobiology, Washington, D.C., U.S.A.
- Mueller-Dombois, D., and L.L. Loope** (1990) Some unique ecological aspects of oceanic island ecosystems. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 32, 21-27.
- Mugerwa, H., S. Seal, H.-L. Wang, M.V. Patel, R. Kabaalu, C.A. Omongo, T. Alicai, F. Tairo, J. Ndunguru, P. Sseruwagi, and J. Colvin** (2018) African ancestry of New World, *Bemisia tabaci*-whitefly species. *Scientific Reports* 8, 2734.
- Muñiz, M.** (2000) Host suitability of two biotypes of *Bemisia tabaci* on some common weeds. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 95, 63-70.
- Muñiz, M., and G. Nombela** (2001) Differential variation in development of the B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) on sweet pepper at constant temperatures. *Environmental Entomology* 30, 720-727.
- Myers, N., R.A. Mittermeier, C.G. Mittermeier, G.A.B. Da Fonseca, and J. Kent** (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- Nagata, K., J.-H. Song, T. Shono, and T. Narahashi** (1998) Modulation of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor-channel by the nitromethylene heterocycle imidacloprid. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 285, 731-738.
- Nansen, C., O. Baissac, M. Nansen, K. Powis, and G. Baker** (2016) Behavioral avoidance-will physiological insecticide resistance level of insect strains affect their oviposition and movement responses? *PloS One* 11, e0149994.
- Naranjo, S.E., and J.P. Legg** (2010) Biology and ecology of *Bemisia tabaci*. pp. 105-107 in Stansly P.A., S.E. Naranjo (eds.), *Bemisia: bionomics and management of a global pest*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Nauen, R.** (2007) Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. *Pest Management Science* 63, 628-633.
- Nauen, R., and I. Denholm** (2005) Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 58, 200-215.
- Nauen, R., and D. Steinbach** (2016) Resistance to diamide insecticides in lepidopteran pests. pp. 219-240 in Horowitz A.R., I. Ishaaya (eds.), *Advances in insect control and resistance management*. Springer, Cham, Switzerland.
- Nauen, R., J. Vontas, M. Kausmann, and K. Wölfel** (2013) Pymetrozine is hydroxylated by CYP6CM1, a cytochrome P450 conferring neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*. *Pest Management Science* 69, 457-461.
- Nauen, R., T. Bretschneider, A. Elbert, R. Fischer, and R. Tieman** (2003) Spirodiclofen and spiromesifen. *Pesticide Outlook* 14, 243-246.
- Nauen, R., K. Wölfel, B. Lueke, A. Myridakis, D. Tsakireli, E. Roiditakis, A. Tsagkarakou, E. Stephanou, and J. Vontas** (2015) Development of a lateral flow test to detect

- metabolic resistance in *Bemisia tabaci* mediated by CYP6CM1, a cytochrome P450 with broad spectrum catalytic efficiency. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121, 3-11.
- Navas-Castillo, J., E. Fiallo-Olivé, and S. Sánchez-Campos** (2011) Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49, 219-248.
- Naveen, N.C., R. Chaubey, D. Kumar, K.B. Rebijith, R. Rajagopal, B. Subrahmanyam, and S. Subramanian** (2017) Insecticide resistance status in the whitefly, *Bemisia tabaci* genetic groups Asia-I, Asia-II-1 and Asia-II-7 on the Indian subcontinent. *Scientific Reports* 7, 40634.
- Nesterov, A., C. Spalthoff, R. Kandasamy, R. Katana, N.B. Rankl, M. Andres, P. Jahde, J.A. Dorsch, L.F. Stam, F.J. Braun, B. Warren, V.L. Salgado, and M.C. Gopfert** (2015) TRP Channels in Insect Stretch Receptors as Insecticide Targets. *Neuron* 86, 665-671.
- Normark, B.B.** (2004) Haplodiploidy as an outcome of coevolution between male-killing cytoplasmic elements and their hosts. *Evolution* 58, 790-798.
- Norris, L.C., B.J. Main, Y. Lee, T.C. Collier, A. Fofana, A.J. Cornel, and G.C. Lanzaro** (2015) Adaptive introgression in an African malaria mosquito coincident with the increased usage of insecticide-treated bed nets. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, 815-820.
- O'Reilly, A.O., B.P.S. Khambay, M.S. Williamson, L.M. Field, B.A. Wallace, and T.G.E. Davies** (2006) Modelling insecticide-binding sites in the voltage-gated sodium channel. *Biochemical Journal* 396, 255-263.
- Oliveira, M.R.V., T.J.E. Henneberry, and P. Anderson** (2001) History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop protection* 20, 709-723.
- Palumbo, J.C., A.R. Horowitz, and N. Prabhaker** (2001) Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop protection* 20, 739-765.
- Pan, H., E.L. Preisser, D. Chu, S. Wang, Q. Wu, Y. Carrière, X. Zhou, and Y. Zhang** (2015) Insecticides promote viral outbreaks by altering herbivore competition. *Ecological Applications* 25, 1585-1595.
- Panini, M., F. Tozzi, C.T. Zimmer, C. Bass, L. Field, V. Borzatta, E. Mazzoni, and G. Moores** (2017) Biochemical evaluation of interactions between synergistic molecules and phase I enzymes involved in insecticide resistance in B- and Q-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 73, 1873-1882.
- Parrella, G., L. Scassillo, and M. Giorgini** (2012) Evidence for a new genetic variant in the *Bemisia tabaci* species complex and the prevalence of the biotype Q in southern Italy. *Journal of Pest Science* 85, 227-238.
- Pascual, S., and C. Callejas** (2004) Intra- and interspecific competition between biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Spain. *Bulletin of Entomological Research* 94, 369-375.
- Paulson, G.S., and J.W. Beardsley** (1985) Whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) egg pedicel insertion into host plant stomata. *Annals of the Entomological Society of America* 78, 506-508.
- Perring, T.M.** (2001) The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop protection* 20, 725-737.
- Peterschmitt, M., M. Granier, R. Mekdoud, A. Dalmon, O. Gambin, J.-F. Vayssières, and B. Reynaud** (1999) First report of tomato yellow leaf curl virus in Réunion Island. *Plant Disease* 83, 303.
- Piironen, S., A. Lyytinen, and L. Lindström** (2013) Stress for invasion success? Temperature stress of preceding generations modifies the response to insecticide stress in an invasive pest insect. *Evolutionary Applications* 6, 313-323.

- Pimentel, D., S. McNair, J. Janecka, J. Wightman, C. Simmonds, C. O'connell, E. Wong, L. Russel, J. Zern, and T. Aquino** (2001) Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 84, 1-20.
- Piry, S., G. Luikart, and J.M. Cornuet** (1999) BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity* 90, 502-503.
- Polston, J.E., and T. Sherwood** (2003) Pymetrozine interferes with transmission of *Tomato yellow leaf curl virus* by the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytoparasitica* 31, 490-498.
- Polston, J.E., P.J. De Barro, and L.M. Boykin** (2014) Transmission specificities of plant viruses with the newly identified species of the *Bemisia tabaci* species complex. *Pest Management Science* 70, 1547-1552.
- Prabhaker, N., S. Castle, T.J. Henneberry, and N.C. Toscano** (2005) Assessment of cross-resistance potential to neonicotinoid insecticides in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bulletin of Entomological Research* 95, 535-543.
- Pritchard, J.K., M. Stephens, and P. Donnelly** (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155, 945-959.
- Qin, L., L.-L. Pan, and S.-S. Liu** (2016) Further insight into reproductive incompatibility between putative cryptic species of the *Bemisia tabaci* whitefly complex. *Insect Science* 23, 215-224.
- Quaintance, A.L., and A.C. Baker** (1914) Classification of the Aleyrodidae Part II. *Technical Series, United States Department of Agriculture Bureau of Entomology* 27, 95-109.
- R4P Network** (2016) Trends and Challenges in Pesticide Resistance Detection. *Trends in Plant Science* 21, 834-853.
- R Core Team** (2017) R: a language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria.
- R Core Team** (2020) R: a language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria.
- Raju, M.N., and K. Venkateswarlu** (2013) Impact of pesticides combination on soil microorganisms. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 2, 29-36.
- Ram, Y., and L. Hadany** (2014) Stress-induced mutagenesis and complex adaptation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281, 20141025.
- Ran, W., J.-D. Wang, W.-N. Che, and L. Chen** (2018) First report of field resistance to cyantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, on *Bemisia tabaci* MED in China. *Journal of Integrative Agriculture* 17, 158-163.
- Rao, Q., Y.-H. Xu, C. Luo, H.-Y. Zhang, C.M. Jones, G.J. Devine, K. Gorman, and I. Denholm** (2012) Characterisation of neonicotinoid and pymetrozine resistance in strains of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Journal of Integrative Agriculture* 11, 321-326.
- Rao, Q., P.-A. Rollat-Farnier, D.-T. Zhu, D. Santos-Garcia, F.J. Silva, A. Moya, A. Latorre, C.C. Klein, F. Vavre, and M.-F. Sagot** (2015) Genome reduction and potential metabolic complementation of the dual endosymbionts in the whitefly *Bemisia tabaci*. *BMC Genomics* 16, 226.
- Rauch, N., and R. Nauen** (2003) Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 54, 165-176.
- Raymond, M.** (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity* 86, 248-249.
- Reynaud, B., G. Wuster, H. Delatte, I. Soustrade, J.-M. Lett, O. Gambin, and M. Peterschmitt** (2003) Les maladies à bégomovirus chez la tomate dans les départements

- français d'Outre-Mer: 2. Le Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) à la Réunion. *Phytoma-La Defense des Vegetaux*, 13-17.
- Rhymer, J.M., and D. Simberloff** (1996) Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27, 83-109.
- Ritz, C., F. Baty, J.C. Streibig, and D. Gerhard** (2015) Dose-response analysis using R. *PLoS One* 10, e0146021.
- Rix, R.R., M.M. Ayyanath, and G.C. Cutler** (2016) Sublethal concentrations of imidacloprid increase reproduction, alter expression of detoxification genes, and prime *Myzus persicae* for subsequent stress. *Journal of Pest Science* 89, 581-589.
- Roditakis, E., M. Stavrakaki, M. Grispou, A. Achimastou, X. Van Waetermeulen, R. Nauen, and A. Tsagkarakou** (2017) Flupyradifurone effectively manages whitefly *Bemisia tabaci* MED (Hemiptera: Aleyrodidae) and tomato yellow leaf curl virus in tomato. *Pest Management Science* 73, 1574-1584.
- Roditakis, E., E. Morou, A. Tsagkarakou, M. Riga, R. Nauen, M. Paine, S. Morin, and J. Vontas** (2011) Assessment of the *Bemisia tabaci* *CYP6CM1vQ* transcript and protein levels in laboratory and field-derived imidacloprid-resistant insects and cross-metabolism potential of the recombinant enzyme. *Insect Science* 18, 23-29.
- Rojas, M.R., M.A. Macedo, M.R. Maliano, M. Soto-Aguilar, J.O. Souza, R.W. Briddon, L. Kenyon, R.F. Rivera Bustamante, F.M. Zerbini, and S. Adkins** (2018) World management of geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology* 56, 637-677.
- Roy, D., T. Bhattacharjee, A. Biswas, A. Ghosh, S. Sarkar, D. Mondal, and P.K. Sarkar** (2019) Resistance monitoring for conventional and new chemistry insecticides on *Bemisia tabaci* genetic group Asia-I in major vegetable crops from India. *Phytoparasitica* 47, 55-66.
- Ruesink, J.L., I.M. Parker, M.J. Groom, and P.M. Kareiva** (1995) Reducing the risks of nonindigenous species introductions. *BioScience* 45, 465-477.
- Saleh, D., A. Laarif, C. Clouet, and N. Gauthier** (2012) Spatial and host-plant partitioning between coexisting *Bemisia tabaci* cryptic species in Tunisia. *Population Ecology* 54, 261-274.
- Salgado, V.L.** (2017) Insect TRP channels as targets for insecticides and repellents. *Journal of Pesticide Science* 42, 1-6.
- Sanchez, M., S. Rocha, and J.-M. Probst** (2012) Un nouveau gecko nocturne naturalisé sur l'île de La Réunion: *Hemidactylus mercatorius* Gray, 1842 (Reptilia: Squamata: Gekkonidae). *Bulletin de la Société Herpétologique de France* 142, 89-107.
- Satar, G., M.R. Ulusoy, R. Nauen, and K. Dong** (2018) Neonicotinoid insecticide resistance among populations of *Bemisia tabaci* in the Mediterranean region of Turkey. *Bulletin of Insectology* 71, 171-177.
- Schroeder, M.E., and R.F. Flattum** (1984) The mode of action and neurotoxic properties of the nitromethylene heterocycle insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 22, 148-160.
- Schuler, T.H., D. Martinez-Torres, A.J. Thompson, I. Denholm, A.L. Devonshire, I.R. Duce, and M.S. Williamson** (1998) Toxicological, electrophysiological, and molecular characterisation of knockdown resistance to pyrethroid insecticides in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 59, 169-182.
- Shadmany, M., D. Omar, and R. Muhamad** (2015) Biotype and insecticide resistance status of *Bemisia tabaci* populations from Peninsular Malaysia. *Journal of Applied Entomology* 139, 67-75.
- Shan, H.-W., Y.-H. Lu, X.-L. Bing, S.-S. Liu, and Y.-Q. Liu** (2014) Differential responses of the whitefly *Bemisia tabaci* symbionts to unfavorable low and high temperatures. *Microbial Ecology* 68, 472-482.

- Shatters, R.G., L.M. Boykin, R.A. Bagnall, R.C. Rosell, D.R. Frohlich, and C.L. McKenzie** (2006) Population genetics of *Bemisia tabaci* biotypes B and Q from the Mediterranean and the U.S. inferred using microsatellite markers. In: *Fourth International Bemisia Workshop International Whitefly Genomics Workshop (3–8 December 2006)*. Duck Key: USDA/ARS US Horticultural Research Laboratory, Fort Pierce, Florida.
- Sheets, L.P.** (2002) The neonicotinoid insecticides. pp. 79-87 in Massaro E.J. (eds.), *Handbook of Neurotoxicology*. The Humana Press, Totowa, New Jersey, U.S.A.
- Simon-Delso, N., V. Amaral-Rogers, L.P. Belzunces, J.-M. Bonmatin, M. Chagnon, C. Downs, L. Furlan, D.W. Gibbons, C. Giorio, and V. Girolami** (2015) Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 5-34.
- Singer, M.C., B. Wee, S. Hawkins, and M. Butcher** (2008) Rapid natural and anthropogenic diet evolution: three examples from checkerspot butterflies. pp. 311– 324 in Tilmon K. J. (ed.), *The evolutionary biology of herbivorous insects: speciation, specialization and radiation*. University of California Press, Berkeley, California, USA.
- Slama, K.** (1971) Insect juvenile hormone analogues. *Annual Review of Biochemistry* 40, 1079-1102.
- Slatkin, M.** (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* 47, 264-279.
- Smith, L.B., S. Kasai, and J.G. Scott** (2018) Voltage-sensitive sodium channel mutations S989P+ V1016G in *Aedes aegypti* confer variable resistance to pyrethroids, DDT and oxadiazines. *Pest Management Science* 74, 737-745.
- Song, Y., S. Endepols, N. Klemann, D. Richter, F.-R. Matuschka, C.-H. Shih, M.W. Nachman, and M.H. Kohn** (2011) Adaptive introgression of anticoagulant rodent poison resistance by hybridization between old world mice. *Current Biology* 21, 1296-1301.
- Sseruwagi, P., J.P. Legg, M.N. Maruthi, J. Colvin, M.E.C. Rey, and J.K. Brown** (2005) Genetic diversity of *Bemisia tabaci* (Gennadius)(Hemiptera: Aleyrodidae) populations and presence of the B biotype and a non-B biotype that can induce silverleaf symptoms in squash, in Uganda. *Annals of Applied Biology* 147, 253-265.
- Strasberg, D., M. Rouget, D.M. Richardson, S. Baret, J. Dupont, and R.M. Cowling** (2005) An assessment of habitat diversity and transformation on La Réunion Island (Mascarene Islands, Indian Ocean) as a basis for identifying broad-scale conservation priorities. *Biodiversity & Conservation* 14, 3015-3032.
- Su, Q., W. Xie, S. Wang, Q. Wu, M. Ghanim, and Y. Zhang** (2014) Location of symbionts in the whitefly *Bemisia tabaci* affects their densities during host development and environmental stress. *PloS One* 9, e91802.
- Sun, D.-B., Y.-Q. Liu, L. Qin, J. Xu, F.-F. Li, and S.-S. Liu** (2013) Competitive displacement between two invasive whiteflies: insecticide application and host plant effects. *Bulletin of Entomological Research* 103, 344-353.
- Takahashi, R.** (1936) New whiteflies from the Philippines and Formosa (Aleyrodidae, Hemiptera). *Philippine Journal of Science* 59, 217-221.
- Taquet, A., H. Delatte, B. Barrès, C. Simiand, M. Grondin, and H. Jourdan-Pineau** (2020) Insecticide resistance and fitness cost in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) invasive and resident species in La Réunion Island. *Pest Management Science* 76, 1235-1244.
- Tay, W.T., G.A. Evans, L.M. Boykin, and P.J. De Barro** (2012) Will the real *Bemisia tabaci* please stand up? *PLoS One* 7, e50550.
- Tay, W.T., S. Elfekih, L.N. Court, K.H.J. Gordon, H. Delatte, and P.J. De Barro** (2017) The trouble with MEAM2: Implications of pseudogenes on species delimitation in the

- globally invasive *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) cryptic species complex. *Genome Biology and Evolution* 9, 2732-2738.
- Thao, M.L., and P. Baumann** (2004) Evolutionary relationships of primary prokaryotic endosymbionts of whiteflies and their hosts. *Applied and Environmental Microbiology* 70, 3401-3406.
- Thierry, M., N. Becker, A. Hajri, B. Reynaud, J.M. Lett, and H. Delatte** (2011) Symbiont diversity and non-random hybridization among indigenous (Ms) and invasive (B) biotypes of *Bemisia tabaci*. *Molecular Ecology* 20, 2172-2187.
- Thierry, M., A. Bile, M. Grondin, B. Reynaud, N. Becker, and H. Delatte** (2015) Mitochondrial, nuclear, and endosymbiotic diversity of two recently introduced populations of the invasive *Bemisia tabaci* MED species in La Réunion. *Insect Conservation and Diversity* 8, 71-80.
- Tocko-Marabena, B.K., S. Silla, C. Simiand, I. Zinga, J. Legg, B. Reynaud, and H. Delatte** (2017) Genetic diversity of *Bemisia tabaci* species colonizing cassava in Central African Republic characterized by analysis of cytochrome c oxidase subunit I. *PLoS One* 12, e0182749.
- Tomizawa, M., and J.E. Casida** (2005) Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 45, 247-268.
- Tsagkarakou, A., D. Nikou, E. Roidakis, M. Sharvit, S. Morin, and J. Vontas** (2009) Molecular diagnostics for detecting pyrethroid and organophosphate resistance mutations in the Q biotype of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 94, 49-54.
- Ueda, S., and J.K. Brown** (2006) First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Japan by mitochondrial cytochrome oxidase I sequence analysis. *Phytoparasitica* 34, 405-411.
- Vähä, J.-P., and C.R. Primmer** (2006) Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different numbers of loci. *Molecular Ecology* 15, 63-72.
- Vais, H., M.S. Williamson, A.L. Devonshire, and P.N.R. Usherwood** (2001) The molecular interactions of pyrethroid insecticides with insect and mammalian sodium channels. *Pest Management Science* 57, 877-888.
- Van Oosterhout, C., W.F. Hutchinson, D.P.M. Wills, and P. Shipley** (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4, 535-538.
- Vassiliou, V., M. Emmanouilidou, A. Perrakis, E. Morou, J. Vontas, A. Tsagkarakou, and E. Roidakis** (2011) Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* from Cyprus. *Insect Science* 18, 30-39.
- Verhoeven, K.J.F., M. Macel, L.M. Wolfe, and A. Biere** (2011) Population admixture, biological invasions and the balance between local adaptation and inbreeding depression. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 278, 2-8.
- Vitousek, P.M., C.M. D'Antonio, L.L. Loope, and R. Westbrooks** (1996) Biological invasions as global environmental change. *American Scientist* 84, 468-478.
- Vyskocilova, S., W.T. Tay, S. van Brunschot, S. Seal, and J. Colvin** (2018) An integrative approach to discovering cryptic species within the *Bemisia tabaci* whitefly species complex. *Scientific Reports* 8, 10886.
- Wang, L.-X., C.-D. Niu, V.L. Salgado, K. Lelito, L. Stam, Y.-L. Jia, Y. Zhang, C.-F. Gao, and S.-F. Wu** (2019) Pymetrozine activates TRPV channels of brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 153, 77-86.
- Wang, L., and Y. Wu** (2007) Cross-resistance and biochemical mechanisms of abamectin resistance in the B-type *Bemisia tabaci*. *Journal of Applied Entomology* 131, 98-103.

- Wang, R., Y. Fang, C. Mu, C. Qu, F. Li, Z. Wang, and C. Luo** (2018) Baseline susceptibility and cross-resistance of cycloxaprid, a novel cis-nitromethylene neonicotinoid insecticide, in *Bemisia tabaci* MED from China. *Crop Protection* 110, 283-287.
- Weill, M., A. Berthomieu, C. Berticat, G. Lutfalla, V. Nègre, N. Pasteur, A. Philips, J.-P. Leonetti, P. Fort, and M. Raymond** (2004) Insecticide resistance: a silent base prediction. *Current Biology* 14, 552-553.
- Weir, B.S., and C.C. Cockerham** (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38, 1358-1370.
- Whalon, M.E., D. Mota-Sanchez, and R.M. Hollingworth** (2019) Arthropod Pesticide Resistance Database, Michigan State University. Available in <https://www.pesticideresistance.org/>, access date: february 15, 2019.
- Wilcove, D.S., and L.Y. Chen** (1998) Management costs for endangered species. *Conservation Biology* 12, 1405-1407.
- Williamson, M.** (1999) Invasions. *Ecography* 22, 5-12.
- Wongnikong, W., S.L. van Brunschot, J.P. Hereward, P.J. De Barro, and G.H. Walter** (2019) Testing mate recognition through reciprocal crosses of two native populations of the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) in Australia. *Bulletin of Entomological Research* 110, 1-12.
- Wosula, E.N., W. Chen, Z. Fei, and J.P. Legg** (2017) Unravelling the genetic diversity among cassava *Bemisia tabaci* whiteflies using nextRAD sequencing. *Genome Biology and Evolution* 9, 2958-2973.
- Xie, W., Q.-S. Meng, Q.-J. Wu, S.-L. Wang, X. Yang, N.-N. Yang, R.-M. Li, X.-G. Jiao, H.-P. Pan, and B.-M. Liu** (2012) Pyrosequencing the *Bemisia tabaci* transcriptome reveals a highly diverse bacterial community and a robust system for insecticide resistance. *PloS One* 7, e35181.
- Xue, X., S.-J. Li, M.Z. Ahmed, P.J. De Barro, S.-X. Ren, and B.-L. Qiu** (2012) Inactivation of *Wolbachia* reveals its biological roles in whitefly host. *PLoS One* 7, e48148.
- Yahouédo, G.A., F. Chandre, M. Rossignol, C. Ginibre, V. Balabanidou, N.G.A. Mendez, O. Pigeon, J. Vontas, and S. Cornelie** (2017) Contributions of cuticle permeability and enzyme detoxification to pyrethroid resistance in the major malaria vector *Anopheles gambiae*. *Scientific Reports* 7, 1-10.
- Yamamoto, I.** (1970) Mode of action of pyrethroids, nicotinoids, and rotenoids. *Annual Review of Entomology* 15, 257-272.
- Yang, N., W. Xie, C.M. Jones, C. Bass, X. Jiao, X. Yang, B. Liu, R. Li, and Y. Zhang** (2013) Transcriptome profiling of the whitefly *Bemisia tabaci* reveals stage-specific gene expression signatures for thiamethoxam resistance. *Insect Molecular Biology* 22, 485-496.
- Yao, F.-L., Y. Zheng, X.-Y. Huang, X.-L. Ding, J.-W. Zhao, N. Desneux, Y.-X. He, and Q.-Y. Weng** (2017) Dynamics of *Bemisia tabaci* biotypes and insecticide resistance in Fujian province in China during 2005–2014. *Scientific Reports* 7, 1-12.
- Yasui, M., M. Fukada, and S. Maekawa** (1985) Effects of buprofezin on different developmental stages of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)(Homoptera: Aleyrodidae). *Applied Entomology and Zoology* 20, 340-347.
- Yokomi, R.K., K.A. Hoelmer, and L.S. Osborne** (1990) Relationships between the sweetpotato whitefly and the squash silverleaf disorder. *Phytopathology* 80, 895-900.
- Yokomi, R.K., D.R. Jimenez, L.S. Osborne, and J.P. Shapiro** (1995) Comparison of silverleaf whitefly-induced chlormequat chloride-induced leaf silvering in *Cucurbita pepo*. *Plant Disease* 79, 950-955.

- Yuan, L., S. Wang, J. Zhou, Y. Du, Y. Zhang, and J. Wang** (2012) Status of insecticide resistance and associated mutations in Q-biotype of whitefly, *Bemisia tabaci*, from eastern China. *Crop Protection* 31, 67-71.
- Zang, L.S., W.Q. Chen, and S.S. Liu** (2006) Comparison of performance on different host plants between the B biotype and a non-B biotype of *Bemisia tabaci* from Zhejiang, China. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 121, 221-227.
- Zchori-Fein, E., T. Lahav, and S. Freilich** (2014) Variations in the identity and complexity of endosymbiont combinations in whitefly hosts. *Frontiers in Microbiology* 5, 310.
- Zerbini, F.M., R.W. Briddon, A. Idris, D.P. Martin, E. Moriones, J. Navas-Castillo, R. Rivera-Bustamante, P. Roumagnac, A. Varsani, and ICTV Report Consortium** (2017) ICTV virus taxonomy profile: Geminiviridae. *The Journal of General Virology* 98, 131-133.
- Zhang, X.-M., N.-W. Yang, F.-H. Wan, and G.L. Lövei** (2014) Density and seasonal dynamics of *Bemisia tabaci* (Gennadius) Mediterranean on common crops and weeds around cotton fields in Northern China. *Journal of Integrative Agriculture* 13, 2211-2220.
- Zuur, A.F., E.N. Ieno, N.J. Walker, A.A. Saveliev, and G.M. Smith** (2009) GLM and GAM for absence–presence and proportional data. pp. 245-259 in Gail M., K.S. Krickeberg, J.M. Samet, A. Tsiatis, W. Wong (eds.), *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer, Berlin, Germany.

Annexes



Insecticide Resistance Action Committee
www.irc-online.org

IRAC Mode of Action Classification Scheme

Issued, March 2020

Version 9.4

Prepared by: IRAC International MoA Working Group

Approved by: IRAC Executive



© Copyright 2020 Insecticide Resistance Action Committee

Page 1 of 30
Further information is available at: www.irc-online.org or enquiries@irc-online.org

Contents:

1. Scope	3
2. Purpose	3
3. What is resistance?.....	3
4. MoA, Target-site resistance and Cross-resistance	3
5. Use of alternations or sequences of different MoAs	3
6. Non-target site resistance mechanisms	4
7. The MoA Classification Scheme	4
7.1 Rules for inclusion of an insecticidal agent in the MoA list	5
7.2 The Classification Table	5
7.3 Criteria for descriptors of the quality of MoA information	15
7.4 Notes regarding sub-groups	15
7.5 General notes & MoA Classification Scheme Updates	16
Appendix 1	
Product labels: Indication of MoA of active ingredient and accompanying IRM advice	17
Appendix 2	
IRM principles recommended and endorsed by IRAC	18
Appendix 3	
MoA group descriptors	19
Appendix 4	
Procedure for allocation of new insecticidal materials to the MoA Classification	23
Appendix 5	
Active Ingredients in alphabetical order with their MOA Classification	26
Appendix 6	
Active ingredients pending registration.....	30

1. Scope

The IRAC classification is intended to cover all materials, chemical, biological or other, that are used to control insects or acarines on crops, in structures or in the environment. Some insecticides and acaricides also control nematodes, but selective nematocides are not included in the classification. Behaviour-modifying agents and predatory insects/mites are not included. Products used only by direct application to animals or humans for control of parasites are likewise not included.

Note: Inclusion in the MoA list does not necessarily signify regulatory approval.

2. Purpose

The IRAC Mode of Action (MoA) classification provides growers, advisors, extension staff, consultants and crop protection professionals with a guide to the selection of acaricides or insecticides for use in an effective and sustainable acaricide or insecticide resistance management (IRM) strategy. In addition to presenting the MoA classification, this document outlines the background to, and purposes of, the classification list, and provides guidance on how it is used for IRM purposes. Many countries now require including the IRAC group on labels, and this is recommended even if not required. Labeling guidelines are given in Appendix 1 and require that the active ingredient be listed in Appendix 5. Procedures for requesting IRAC classification of a new/unlisted active ingredient are found in Appendix 4. This document is reviewed and re-issued as needed.

3. What is resistance?

Resistance to insecticides may be defined as '*a heritable change in the sensitivity of a pest population that is reflected in the repeated failure of a product to achieve the expected level of control when used according to the label recommendation for that pest species*' (IRAC). This definition differs slightly from others in the literature, but IRAC believes it represents the most accurate practical definition of relevance to growers. Resistance arises through the over-use or misuse of an insecticide or acaricide against a pest species and results from the Darwinian selection of resistant forms of the pest and the consequent evolution of populations that are resistant to that insecticide or acaricide.

4. MoA, Target-site resistance and Cross-resistance

In many cases, not only does resistance render the selecting insecticidal or acaricidal agent ineffective, it also confers cross-resistance to other structurally related agents. This is because agents with structural similarity usually share a common target site within the pest, and thus share a common MoA. It is common for resistance to develop that is based on a genetic modification of this target site. When this happens, the interaction of the selecting insecticidal or acaricidal agent with its target site is impaired and the agent loses its pesticidal efficacy. Because all insecticidal and acaricidal agents with structural similarity share a common MoA, there is a high risk that existing or developing target-site resistance will confer cross-resistance to all agents in the same group. It is this concept of cross-resistance within a family of structurally related insecticides or acaricides that is the basis of the IRAC MoA classification.

5. Use of alternations or sequences of different MoAs

The objective of successful Insecticide Resistance Management (IRM) is to prevent or delay the evolution of resistance to insecticides, or to help regain susceptibility in insect pest populations in which resistance has already arisen. Effective IRM is thus an important element in maintaining the efficacy of valuable insecticides. It is important to recognize that it is usually easier to proactively prevent resistance from occurring than it is to reactively regain susceptibility. Nevertheless, the IRAC MoA classification will always provide valuable guidance to the design of effective IRM strategies.

Experience has shown that all effective insecticide or acaricide resistance management strategies seek to minimise the selection for resistance from any one type of insecticide or acaricide. In practice, alternations, sequences or rotations of insecticidal or acaricidal agents from different MoA groups provide a sustainable and effective approach to IRM. This ensures that selection from insecticidal agents in any one MoA group is minimised. The IRAC classification in this document is provided as an aid to insecticide selection for these types of IRM strategies. Applications are often arranged into MoA spray windows or blocks that are defined by the stage of crop development and the biology of the pest(s) of concern. Local expert advice should always be followed with regard to spray windows and timings. Several sprays of an insecticidal agent may be possible within each spray window, but successive generations of a pest should not be treated with insecticidal agents from the same MoA group.

Groups in the classification whose members do not act at a common target site are exempt from the proscription against rotation within the group. These are Group 8, Miscellaneous non-specific (multi-site) inhibitors; Group 13, Uncouplers of oxidative phosphorylation via disruption of the proton gradient; and all of the UN groups: UN, UNB, UNE, UNF, UNM, UNP and UNV.

To help delay resistance, it is strongly recommended that growers also integrate other control methods into insect or mite control programmes. Further advice is given in Appendix 2.

6. Non-target-site resistance mechanisms

It is fully recognized that resistance of insects and mites to insecticides and acaricides can, and frequently does, result from enhanced metabolism by enzymes within the pest. Such metabolic resistance mechanisms are not linked to any specific site of action classification and therefore they may confer resistance to insecticides in more than one IRAC MoA group. Where such metabolic resistance has been characterized and the cross-resistance spectrum is known, it is possible that certain alternations, sequences or rotations of MoA groups cannot be used. Similarly, mechanisms of reduced penetration of the pesticide into the pest, or behavioural changes of the pest may also confer resistance to multiple MoA groups. Where such mechanisms are known to give cross-resistance between MoA groups, the use of insecticides should be modified appropriately.

Where the resistance mechanism(s) is unknown, the intelligent use of alternations, sequences or rotations of insecticidal agents from different MoA classes remains an entirely viable resistance management technique, since such a practice will always minimise selection pressures.

7. The MoA Classification Scheme

The IRAC MOA classification scheme is based on the best available evidence of the MoA of available insecticidal and acaricidal agents. Details of the classification have been agreed upon by IRAC member companies and approved by internationally recognized industrial and academic insect toxicologists and biochemists.

Insecticidal and acaricidal agents are classified into two types of MoA groups: numbered groups whose members are known or thought to act at specific target sites, and UN groups of undefined or unknown mode of action. The only exceptions are the numbered groups 8, Miscellaneous non-specific (multi-site) inhibitors and 13, Uncouplers of oxidative phosphorylation via disruption of the proton gradient, which for historical reasons retain their legacy group numbers even though they are not acting at specific target sites. Nevertheless, it is the intention of the IRAC MoA working group going forward to only assign group numbers where there is good evidence of a common target site.

Insecticidal compounds, bacterial agents, extracts and crude oils, fungal agents, mechanical disruptors, peptides and viruses of unknown Mode of Action are classified in groups UN, UNB, UNE, UNF, UNM, UNP and UNV, respectively.

7.1. Rules for inclusion of an insecticidal agent in the MoA list

- Chemical nomenclature is generally based on ISO accepted common names
- To be included in the active list, insecticidal agents must have, or be very close to having, a minimum of one registered use in at least one country.
- In any one MoA classification sub-group, where more than one active ingredient in that sub-group is registered for use, the sub-group name is used.
- In any one MoA classification sub-group, where only one active ingredient is registered for use, the name of that exemplifying active ingredient may be used

7.2. The Classification Table

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
<i>See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.</i>		
<i>Main Group and Primary Site of Action</i>	<i>Sub-group or exemplifying Active Ingredient</i>	<i>Active Ingredients</i>
1 Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors Nerve action {Strong evidence that action at this protein is responsible for insecticidal effects}	1A Carbamates	Alanycarb, Aldicarb, Bendiocarb, Benfuracarb, Butocarboxim, Butoxy-carboxim, Carbaryl, Carbofuran, Carbosulfan, Ethiofencarb, Fenobucarb, Formetanate, Furathiocarb, Isoprocarb, Methiocarb, Methomyl, Metolcarb, Oxamyl, Pirimicarb, Propoxur, Thiodicarb, Thiofanox, Triazamate, Trimethacarb, XMC, Xylcarb
	1B Organophosphates	Acephate, Azamethiphos, Azinphos-ethyl, Azinphos-methyl, Cadusafos, Chlorethoxyfos, Chlorfenvinphos, Chlormephos, Chlorpyrifos, Chlorpyrifos-methyl, Coumaphos, Cyanophos, Demeton-S-methyl, Diazinon, Dichlorvos/ DDVP, Dicrotophos, Dimethoate, Dimethylvinphos, Disulfoton, EPN, Ethion, Ethoprophos, Famphur, Fenamiphos, Fenitrothion, Fenthion, Fosthiazate, Heptenophos, Imicyafos, Isofenphos, Isopropyl O-(methoxyaminothio-phosphoryl) salicylate, Isoxathion, Malathion, Mecarbam, Methamidophos, Methidathion, Mevinphos, Monocrotophos, Naled, Omethoate, Oxydemeton-methyl, Parathion, Parathion-methyl, Phenthoate, Phorate, Phosalone, Phosmet, Phosphamidon, Phoxim, Pirimiphos- methyl, Profenofos, Propetamphos, Prothiofos, Pyraclofos, Pyridaphenthion, Quinalphos, Sulfotep, Tebupirimfos, Temephos, Terbufos, Tetrachlorvinphos, Thiometon, Triazophos, Trichlorfon, Vamidothion
2 GABA-gated chloride channel blockers Nerve action {Strong evidence that action at this protein is responsible for insecticidal effects}	2A Cyclodiene Organochlorines	Chlordane, Endosulfan
	2B Phenylpyrazoles (Fiproles)	Ethiprole, Fipronil

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
3 Sodium channel modulators Nerve action {Strong evidence that action at this protein is responsible for insecticidal effects}	3A Pyrethroids Pyrethrins	Acrinathrin, Allethrin, <i>d-cis-trans</i> Allethrin, <i>d-trans</i> Allethrin, Bifenthrin, Bioallethrin, Bioallethrin S-cyclopentenyl isomer, Bioresmethrin, Cycloprothrin, Cyfluthrin, <i>beta</i> -Cyfluthrin, Cyhalothrin, <i>lambda</i> -Cyhalothrin, <i>gamma</i> -Cyhalothrin, Cypermethrin, <i>alpha</i> -Cypermethrin, <i>beta</i> -Cypermethrin, <i>theta</i> -cypermethrin, <i>zeta</i> -Cypermethrin, Cyphenothrin, (1 <i>R</i>)- <i>trans</i> - isomers], Deltamethrin, Empenthrin (EZ)-(1 <i>R</i>)- isomers], Esfenvalerate, Etofenprox, Fenpropathrin, Fenvalerate, Flucythrinate, Flumethrin, <i>tau</i> -Fluvalinate, Halfenprox, Imiprothrin, Kadethrin, Permethrin, Phenothrin [(1 <i>R</i>)- <i>trans</i> - isomer], Prallethrin, Pyrethrins (pyrethrum), Resmethrin, Silafluofen, Tefluthrin, Tetramethrin, Tetramethrin [(1 <i>R</i>)-isomers], Tralomethrin, Transfluthrin,
	3B DDT Methoxychlor	DDT Methoxychlor
4 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) competitive modulators Nerve action {Strong evidence that action at one or more of this class of protein is responsible for insecticidal effects}	4A Neonicotinoids	Acetamiprid, Clothianidin, Dinotefuran, Imidacloprid, Nitenpyram, Thiadoprid, Thiamethoxam,
	4B Nicotine	Nicotine
	4C Sulfoximines	Sulfoxaflor
	4D Butenolides	Flupyradifurone
	4E Mesoionics	Triflumezopyrim
5 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) allosteric modulators – Site I Nerve action {Strong evidence that action at one or more of this class of protein is responsible for insecticidal effects}	Spinosyns	Spinetoram, Spinosad

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
6 Glutamate-gated chloride channel (GluCl) allosteric modulators Nerve and muscle action {Strong evidence that action at one or more of this class of protein is responsible for insecticidal effects}	Avermectins, Milbemycins	Abamectin, Emamectin benzoate, Lepimectin, Milbemectin
7 Juvenile hormone mimics Growth regulation {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}	7A Juvenile hormone analogues	Hydroprene, Kinoprene, Methoprene
	7B Fenoxycarb	Fenoxycarb
	7C Pyriproxyfen	Pyriproxyfen
8 * Miscellaneous non-specific (multi-site) inhibitors	8A Alkyl halides	Methyl bromide and other alkyl halides
	8B Chloropicrin	Chloropicrin
	8C Fluorides	Cryolite (Sodium aluminum fluoride), Sulfuryl fluoride
	8D Borates	Borax, Boric acid, Disodium octaborate, Sodium borate, Sodium metaborate
	8E Tartar emetic	Tartar emetic
	8F Methyl isothiocyanate generators	Dazomet, Metam
9 Chordotonal organ TRPV channel modulators Nerve action {Strong evidence that action at one or more of this class of proteins is responsible for insecticidal effects }	9B Pyridine azomethine derivatives	Pymetrozine, Pyriproxyfen
	9D Pyropenes	Afidopyropen

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
10 Mite growth inhibitors affecting CHS1 Growth regulation {Strong evidence that action at one or more of this class of proteins is responsible for insecticidal effects }	10A Clofentezine Diflovidazin Hexythiazox	Clofentezine, Diflovidazin, Hexythiazox
	10B Etoxazole	Etoxazole
11 Microbial disruptors of insect midgut membranes (includes transgenic crops expressing <i>Bacillus thuringiensis</i> toxins, however specific guidance for resistance management of transgenic crops is not based on rotation of modes of action)	11A <i>Bacillus thuringiensis</i> and the insecticidal proteins they produce	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>israelensis</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i> <i>B.t.</i> crop proteins: (* Please see footnote) Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1Fa, Cry1A.105, Cry2Ab, Vip3A, mCry3A, Cry3Ab, Cry3Bb, Cry34Ab1/Cry35Ab1
	11B <i>Bacillus sphaericus</i>	<i>Bacillus sphaericus</i>
12 Inhibitors of mitochondrial ATP synthase Energy metabolism {Compounds affect the function of this protein, but it is not clear that this is what leads to biological activity}	12A Diafenthion	Diafenthion
	12B Organotin miticides	Azocyclotin, Cyhexatin, Fenbutatin oxide
	12C Propargite	Propargite
	12D Tetradifon	Tetradifon
13 * Uncouplers of oxidative phosphorylation via disruption of the proton gradient Energy metabolism	Pyrroles Dinitrophenols Sulfluramid	Chlorfenapyr DNOC Sulfluramid

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
14 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) channel blockers Nerve action {Compounds affect the function of this protein, but it is not clear that this is what leads to biological activity}	Nereistoxin analogues	Bensultap, Cartap hydrochloride, Thiocyclam, Thiosultap-sodium
15 Inhibitors of chitin biosynthesis affecting CHS1 Growth regulation {Strong evidence that action at one or more of this class of proteins is responsible for insecticidal effects }	Benzoylureas	Bistrifluron, Chlorfluazuron, Diflubenzuron, Flucycloxuron, Flufenoxuron, Hexaflumuron, Lufenuron, Novaluron, Noviflumuron, Teflubenzuron, Triflumuron
16 Inhibitors of chitin biosynthesis, type 1 Growth regulation {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}	Buprofezin	Buprofezin
17 Moulting disruptors, Dipteran Growth regulation {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}	Cyromazine	Cyromazine
18 Ecdysone receptor agonists Growth regulation {Strong evidence that action at this protein is responsible for insecticidal effects}	Diacylhydrazines	Chromafenozide, Halofenozide, Methoxyfenozide, Tebufenozide

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
19 Octopamine receptor agonists Nerve action {Good evidence that action at one or more of this class of protein is responsible for insecticidal effects}	Amitraz	Amitraz
20 Mitochondrial complex III electron transport inhibitors Energy metabolism {Good evidence that action at this protein complex is responsible for insecticidal effects}	20A Hydramethylnon	Hydramethylnon
	20B Acequinocyl	Acequinocyl
	20C Fluacrypyrim	Fluacrypyrim
	20D Bifenazate	Bifenazate
21 Mitochondrial complex I electron transport inhibitors Energy metabolism {Good evidence that action at this protein complex is responsible for insecticidal effects}	21A METI acaricides and insecticides	Fenazaquin, Fenpyroximate, Pyridaben, Pyrimidifen, Tebufenpyrad, Tolfenpyrad
	21B Rotenone	Rotenone (Derris)
22 Voltage-dependent sodium channel blockers Nerve action {Good evidence that action at this protein complex is responsible for insecticidal effects}	22A Oxadiazines	Indoxacarb
	22B Semicarbazones	Metaflumizone

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
23 Inhibitors of acetyl CoA carboxylase Lipid synthesis, growth regulation {Good evidence that action at this protein is responsible for insecticidal effects}	Tetronic and Tetramic acid derivatives	Spirodiclofen, Spiromesifen, Spiropidion, Spirotetramat
24 Mitochondrial complex IV electron transport inhibitors Energy metabolism {Good evidence that action at this protein complex is responsible for insecticidal effects}	24A Phosphides	Aluminium phosphide, Calcium phosphide, Phosphine, Zinc phosphide
	24B Cyanides	Calcium cyanide, Potassium cyanide, Sodium cyanide
25 Mitochondrial complex II electron transport inhibitors Energy metabolism {Good evidence that action at this protein complex is responsible for insecticidal effects}	25A Beta-ketonitrile derivatives	Cyenoxyrafen, Cyflumetofen
	25B Carboxanilides	Pyflubumide
28 Ryanodine receptor modulators Nerve and muscle action {Strong evidence that action at this protein complex is responsible for insecticidal effects}	Diamides	Chlorantraniliprole, Cyantraniliprole, Cyclaniliprole, Flubendiamide, Tetraniliprole

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
29 Chordotonal organ Modulators - undefined target site Nerve action (Modulation of chordotonal organ function has been clearly demonstrated, but the specific target protein(s) responsible for biological activity are distinct from Group 9 and remain undefined.)	Flonicamid	Flonicamid
30 GABA-gated chloride channel allosteric modulators Nerve action {Strong evidence that action at this protein complex is responsible for insecticidal effects}	Meta-diamides Isoxazolines	Broflanilide Fluxametamide
31 Baculoviruses Host-specific occluded pathogenic viruses (Midgut epithelial columnar cell membrane target site – undefined)	Granuloviruses (GVs) Nucleopolyhedroviruses (NPVs)	<i>Cydia pomonella</i> GV <i>Thaumatotibia leucotreta</i> GV <i>Anticarsia gemmatilis</i> MNPV <i>Helicoverpa armigera</i> NPV

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
32 Nicotinic Acetylcholine Receptor (nAChR) Allosteric Modulators - Site II Nerve action {Strong evidence that action at one or more of this class of protein is responsible for insecticidal effects}	GS-omega/kappa HXTX-Hv1a peptide	GS-omega/kappa HXTX-Hv1a peptide
UN* Compounds of unknown or uncertain MoA {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}	Azadirachtin	Azadirachtin
	Benzoximate	Benzoximate
	Bromopropylate	Bromopropylate
	Chinomethionat	Chinomethionat
	Dicofol	Dicofol
	Lime sulfur	Lime sulfur
	Mancozeb	Mancozeb
	Pyridalyl	Pyridalyl
UNB* Bacterial agents (non-Bt) of unknown or uncertain MoA {Target protein responsible for biological activity is unknown or uncharacterized}		<i>Burkholderia</i> spp <i>Wolbachia pipientis</i> (Zap)
UNE* Botanical essence including synthetic, extracts and unrefined oils with unknown or uncertain MoA {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}		<i>Chenopodium ambrosioides</i> near <i>ambrosioides</i> extract Fatty acid monoesters with glycerol or propanediol Neem oil

IRAC MoA Classification Version 9.4, March 2020		
See section 7.4 for further information on sub-groups. See section 7.3 for criteria for descriptors of the quality of MoA information.		
Main Group and Primary Site of Action	Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredients
UNF* Fungal agents of unknown or uncertain MoA {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}		<i>Beauveria bassiana</i> strains <i>Metarhizium anisopliae</i> strain F52 <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> Apopka strain 97
UNM* Non-specific mechanical disruptors {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}		Diatomaceous earth
UNP* Peptides of unknown or uncertain MoA {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}		
UNV* Viral agents (non-baculovirus) of unknown or uncertain MoA {Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}		

Targeted Physiology: ■ Nerve & Muscle ■ Growth & Development ■ Respiration ■ Midgut ■ Unknown or Non-Specific

Table Notes:

- The color scheme used here associates modes of action into broad categories based on the physiological functions affected, as an aid to understanding symptomology, speed of action and other properties of the insecticides, and not for any resistance management purpose. **Rotations for resistance management should be based only on the numbered mode of action groups.**
- Inclusion of an insecticidal agent in the classification above does not necessarily signify regulatory approval.
- MoA assignments will usually involve identification of the target protein responsible for the biological effect, although groupings can be made where insecticidal agents share distinctive physiological effects and are structurally related.
- Groups 26 and 27 are unassigned at this time and have therefore been omitted from the table.
- An insecticidal agent with an unknown or controversial MoA or an unknown mode of toxicity will be held in group 'UN' or 'UNB', 'UNE', 'UNF', 'UNM', 'UNP', UNV as applicable until evidence becomes available to enable assignment to a more appropriate MoA class.
- Actives in groups marked with an asterisk are thought not to share a common target site and therefore may be freely rotated with each other unless there is reason to expect cross-resistance. These groups are 8, 13, UN, UNB, UNE, UNF, UNM, UNP and UNV.
- Different baculoviruses that target different insect orders may be used together without compromising their resistance management. Rotation between certain specific baculoviruses may provide resistance management benefits for some pests. Consult product-specific recommendations.

7.3. Criteria for descriptors of the quality of MoA information

{Strong evidence that action at this protein (or protein complex) is responsible for insecticidal effects}	Potent effects on the function of the target protein <u>and</u> either resistance due to mutation / overexpression / removal of this protein <u>or</u> correlation of potency between effects on the protein and biological activity for a set of related insecticidal agents.
{Good evidence that action at this protein (or protein complex) is responsible for insecticidal effects}	Highly potent effects on the function of the protein combined with clearly consistent physiological effects
{Insecticidal agents affect the function of this protein, but it is not clear that this is what leads to biological activity}	Insecticidal agents (or their active principles) have moderate or low potency on the function of the protein, and there is little or no evidence associating this effect with biological activity. Insecticidal agents may be grouped because of similarity of structure and distinctive physiological effect.
{Target protein responsible for biological activity is unknown, or uncharacterized}	Insecticidal agents may be grouped because of similarity of structure and distinctive physiological effect.

7.4. Notes regarding sub-groups

Sub-groups represent distinct classes of insecticidal agents that are believed to have the same MoA but are different enough in structure or mode of interaction with the target protein that the chance of selection for either metabolic or target-site cross-resistance is reduced compared to closely related insecticidal agents. Sub-groups may also distinguish insecticidal agents that are structurally similar but known to bind differently within the target or to have differential selectivity among multiple targets. Evidence supporting lack of cross-resistance between existing compounds within the Group and the new active ingredient submission must be provided to support sub-grouping. This should include bio-assay based studies and provide quantifiable resistance ratios between susceptible and resistant strains.

The cross-resistance potential between sub-groups is higher than that between different groups, so rotation between sub-groups should be avoided. In exceptional circumstances (i.e. where effective registered insecticides from other mode of action groups are unavailable) rotation may be considered following consultation with local expert advice and where cross-resistance does not exist. These exceptions should not be considered sustainable resistance management strategies, and alternative options should be sought to maintain pest susceptibility.

The following notes provide additional information about particular sub-groups.

Sub-groups	Notes
3A & 3B	Because DDT is no longer used in agriculture, this is only applicable for the control of insect vectors of human disease such as mosquitoes.
4A, 4B, 4C, 4D & 4E	Although these compounds are believed to have the same target site, current evidence indicates that the risk of metabolic cross-resistance between subgroups is low.
10A	Hexythiazox is grouped with clofentezine because they exhibit cross-resistance, even though they are structurally distinct. Diflovidazin has been added to this group because it is a close analogue of clofentezine and is expected to have the same mode of action.
11A	Different <i>Bacillus thuringiensis</i> products that target different insect orders may be used together without compromising their resistance management. Rotation between certain specific <i>Bacillus thuringiensis</i> microbial products may provide resistance management benefits for some pests. Consult product-specific recommendations. <u>B.t. Crop Proteins</u> : Where there are differences among the specific receptors within the midguts of target insects, transgenic crops containing certain combinations of the listed proteins provide resistance management benefits.
22A & 22B	Although these compounds are believed to have the same target site, current evidence indicates that the risk of metabolic cross-resistance between subgroups is low.
25A & 25B	Although these compounds are believed to have the same target site, current evidence indicates that the risk of metabolic cross-resistance between subgroups is low.

7.5. General notes & MoA Classification Scheme Updates

- Further details on the MoA Group Descriptors are given in Appendix 3.
- A list of active ingredients in alphabetical order with their respective MoA classification is given in Appendix 5.
- The Classification Scheme has been prepared using the most up-to-date information available to IRAC. It is provided to user groups, grower organisations, extension personnel, regulatory authorities such as the US EPA and all those involved in resistance management, as an agreed definitive statement by the plant protection industry on the MoA of insecticides currently in use.
- The IRAC MoA classification is reviewed and reissued at intervals as required. The latest version is always available for reference via the IRAC website (www.irac-online.org).
- Submissions for new active ingredients together with recommendations for their inclusion in specific new or existing MoA classes, together with citations or evidence for classification should be made to IRAC through the website.
- IRAC member companies review draft versions before an agreed final version of any update is published. In addition, a number of internationally well-known insect toxicologists and biochemists can be consulted regarding additions, deletions or other changes to the list. Details of the procedures followed for allocation of new insecticidal materials to the MoA classification are given in Appendix 4.
- Changes to the listing may have serious consequences. In those countries where insecticide labels display the IRAC MoA number or class name as an aid to good IRM (see Appendix 1), changes may be especially costly to implement. In general, changes are therefore only endorsed when the scientific evidence supporting the change is compelling.
- Superseded, obsolete or withdrawn insecticidal agents for which no current registration exists, and that are no longer in common usage, are not listed.
- In a continued effort to refine the list, readers are kindly asked to inform IRAC of factual errors or omissions, citing definitive evidence wherever possible. Such submissions should be directed to IRAC via the website. Suggestions for improvements are likewise welcome.

Appendix 1

Product labels: Indication of MoA of active ingredient and accompanying IRM advice

To assist users in the selection of insecticides for use in IRM strategies employing sequences, rotations or alternations of MoA groups, IRAC is encouraging producers to clearly indicate the IRAC MoA group number and description on the product label, and to accompany this with appropriate advice of the type indicated below. Thus, in addition to the detailed product information, handling, and safety information required by local regulations, a typical label should clearly indicate the IRAC MoA Group number & description, and minimal, brief advice on IRM as indicated in the example below.

Inclusion of the IRAC group on the label is a warrant from the manufacturer that the insecticide has been classified by IRAC and is listed in Appendix 5 of this document, the only authoritative and comprehensive list of IRAC-classified insecticides. If an insecticide is not listed in Appendix 5 and falls within the scope of the IRAC classification as stated at the beginning of this document, please petition IRAC for classification of the product, as directed in Appendix 4, before drafting a label. Insecticidal materials falling outside the scope of the classification may be labeled as "Exempt from IRAC Classification".

example

Insecticide® 50 SC

**IRAC MoA Group 15
Inhibitors of chitin biosynthesis affecting CHS1
Benzoylureas**

Active Ingredient: [Compound name]
Formulation details

For resistance management purposes, Insecticide 50SC is an IRAC MoA Group 15 insecticide. Any insect population may contain individuals naturally resistant to Insecticide 50SC and other Group 15 insecticides. If these insecticides are used repeatedly, the resistant individuals may eventually dominate the pest insect population. These resistant insects may not be controlled by Insecticide 50SC or by other Group 15 insecticides. To delay the development of resistance:

- Avoid exclusive repeated use of insecticides from the same chemical sub-group, (indicated by the IRAC MoA Group number).
- Alternate with products from other IRAC MoA Groups
- Integrate other control methods (chemical, cultural, biological) into insect control programs.

For further information on resistance management and advice on IRM programmes contact your local distributor.

Appendix 2

IRM principles recommended and endorsed by IRAC

- Consult a local agricultural advisor or extension services in the area for up-to-date recommendations and advice on IPM and IRM programmes.
- Consider options for minimizing insecticide use by selecting early-maturing or pest-tolerant varieties of crop plants.
- Include effective cultural and biological control practices that work in harmony with effective IRM programmes. Adopt all non-chemical techniques known to control or suppress pest populations, including biological sprays such as Bt's, resistant varieties, within-field refugia (untreated areas) and crop rotation.
- Where possible select insecticides and other pest management tools that preserve beneficial insects.
- Use products at their full, recommended doses. Reduced (sub-lethal) doses quickly select populations with average levels of tolerance, whilst doses that are too high may impose excessive selection pressures.
- Appropriate, well-maintained equipment should be used to apply insecticides. Recommended water volumes, spray pressures and optimal temperatures should be used to obtain optimal coverage.
- Where larval stages are being controlled, target younger larval instars where possible because these are usually much more susceptible and therefore much more effectively controlled by insecticides than older stages.
- Use appropriate local economic thresholds and spray intervals.
- Follow label recommendations or local expert advice for use of alternations or sequences of different classes of insecticide with differing modes of action as part of an IRM strategy.
- Where there are multiple applications per year or growing season, alternate products of different MoA classes.
- In the event of a control failure, do not reapply the same insecticide but change the class of insecticides to one having a different MoA and to which there is no [locally] known cross-resistance.
- Mixtures may offer a short-term solution to resistance problems, but it is essential to ensure that each component of a mixture belongs to a different insecticide MoA class, and that each component is used at its full rate.
- Consideration should be given to monitoring for the incidence of resistance in the most commercially important situations and gauge levels of control obtained.
- Withholding use of a product to which resistance has developed until susceptibility returns may be a valid tactic if sufficient alternative chemical classes remain to provide effective control.

Appendix 3

MoA Group Descriptors

Nerve and Muscle Targets

Most current insecticides act on nerve and muscle targets. Insecticides that act on these targets are generally fast acting.

Group 1 Acetylcholinesterase (AChE) inhibitors

Inhibit AChE, causing hyperexcitation. AChE is the enzyme that terminates the action of the excitatory neurotransmitter acetylcholine at nerve synapses.

Group 2 GABA-gated chloride channel blockers

Block the GABA-activated chloride channel, causing hyperexcitation and convulsions. GABA is the major inhibitory neurotransmitter in insects.

Group 3 Sodium channel modulators

Keep sodium channels open, causing hyperexcitation and, in some cases, nerve block. Sodium channels are involved in the propagation of action potentials along nerve axons.

Group 4 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) competitive modulators

Bind to the acetylcholine site on nAChRs, causing a range of symptoms from hyper-excitation to lethargy and paralysis. Acetylcholine is the major excitatory neurotransmitter in the insect central nervous system.

Group 5 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) allosteric modulators – Site I

Allosterically activate nAChRs (at a site distinct from Group 32 - Site II), causing hyperexcitation of the nervous system. Acetylcholine is the major excitatory neurotransmitter in the insect central nervous system.

Group 6 Glutamate-gated chloride channel (GluCl) allosteric modulators

Allosterically activate glutamate-gated chloride channels (GluCl), causing paralysis. Glutamate is an important inhibitory neurotransmitter in insect.

Group 9 Chordotonal organ TRPV channel modulators

Bind to and disrupt the gating of Nan-lav TRPV (Transient Receptor Potential Vanilloid) channel complexes in chordotonal stretch receptor organs, which are critical for the senses of hearing, gravity, balance, acceleration, proprioception and kinesthesia. This disrupts feeding and other behaviors in target insects.

Group 14 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) channel blockers

Block the nAChR ion channel, resulting in nervous system block and paralysis. Acetylcholine is the major excitatory neurotransmitter in the insect central nervous system.

Group 19 Octopamine receptor agonists

Activate octopamine receptors, leading to hyperexcitation. Octopamine is the insect equivalent of adrenaline, the fight-or-flight neurohormone.

Group 22 Voltage-dependent sodium channel blockers

Block sodium channels, causing nervous system shutdown and paralysis. Sodium channels are involved in the propagation of action potentials along nerve axons.

Group 28 Ryanodine receptor modulators

Activate muscle ryanodine receptors, leading to contraction and paralysis. Ryanodine receptors mediate calcium release into the cytoplasm from intracellular stores.

Group 29 Chordotonal organ modulators – undefined target site

Disrupt the function of chordotonal stretch receptor organs, which are critical for the senses of hearing, gravity, balance, acceleration, proprioception and kinesthesia. This disrupts feeding and other behaviors in target insects. In contrast to Group 9, Group 29 insecticides do not bind to the Nan-lav TRPV channel complex.

Group 30 GABA-gated chloride channel allosteric modulators

Allosterically inhibit the GABA-activated chloride channel, causing hyperexcitation and convulsions. GABA is the major inhibitory neurotransmitter in insects.

Group 32 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) allosteric modulators – Site II

Allosterically activate nAChRs (at a site distinct from Group 5 - Site I), causing hyperexcitation of the nervous system. Acetylcholine is the major excitatory neurotransmitter in the insect central nervous system.

Growth and Development Targets

Insect development is controlled by the balance of two principal hormones: juvenile hormone and ecdysone. Insect growth regulators act by mimicking one of these hormones or directly perturbing cuticle formation/deposition or lipid biosynthesis. Insecticides that act on individual targets in this system are generally slow to moderately slow acting.

Group 7 Juvenile hormone mimics

Applied in the pre-metamorphic instar, these compounds disrupt and prevent metamorphosis.

Group 10 Mite growth inhibitors affecting CHS1

Inhibit the enzyme that catalyzes the polymerization of Chitin.

Group 15 Inhibitors of chitin biosynthesis affecting CHS1

Inhibit the enzyme that catalyzes the polymerization of Chitin.

Group 16 Inhibitors of chitin biosynthesis, type 1

Incompletely defined MoA leading to inhibition of chitin biosynthesis in a number of insects, including whiteflies.

Group 17 Moulting disruptors, Dipteran

Incompletely defined MoA that leads to moult disruption.

Group 18 Ecdysone receptor agonists

Mimic the moulting hormone, ecdysone, inducing a precocious moult.

Group 23 Inhibitors of acetyl CoA carboxylase

Inhibit acetyl coenzyme A carboxylase, part of the first step in lipid biosynthesis, leading to insect death.

Respiration Targets

Mitochondrial respiration produces ATP, the molecule that energizes all vital cellular processes. In mitochondria, an electron transport chain stores the energy released by oxidation in the form of a proton gradient, which drives ATP synthesis. Several insecticides are known to interfere with mitochondrial respiration by the inhibition of electron transport and/or oxidative phosphorylation. Insecticides that act on individual targets in this system are generally fast to moderately fast acting.

Group 12 Inhibitors of mitochondrial ATP synthase

Inhibit the enzyme that synthesizes ATP.

Group 13 Uncouplers of oxidative phosphorylation via disruption of the proton gradient

Protonophores that short-circuit the mitochondrial proton gradient so that ATP can not be synthesized.

Group 20 Mitochondrial complex III electron transport inhibitors

Inhibit electron transport complex III, preventing the utilization of energy by cells.

Group 21 Mitochondrial complex I electron transport inhibitors

Inhibit electron transport complex I, preventing the utilization of energy by cells.

Group 24 Mitochondrial complex IV electron transport inhibitors

Inhibit electron transport complex IV, preventing the utilization of energy by cells.

Group 25 Mitochondrial complex II electron transport inhibitors

Inhibit electron transport complex II, preventing utilization of energy by cells.

Midgut Targets

Lepidopteran-specific microbial toxins that are sprayed or expressed in transgenic crop varieties, and baculoviruses.

Group 11 Microbial disruptors of insect midgut membranes

Protein toxins that bind to receptors on the midgut membrane and induce pore formation, resulting in ionic imbalance and septicemia.

Group 31 Host-specific occluded pathogenic viruses

A baculovirus-unique Per os Infectivity Factor (PIF) protein complex on the virus promotes host-specific infection by binding to PIF targets on midgut cells that are unknown but believed to be unique for each baculovirus type. Infection is ultimately lethal.

Unknown or non-specific targets

Several insecticides are known to affect less well-described target-sites or functions, or to act non-specifically on multiple targets.

Group 8 Miscellaneous non-specific (multi-site) inhibitors

Group UN Compounds of unknown or uncertain MoA

Group UNB Bacterial agents of unknown or uncertain MoA

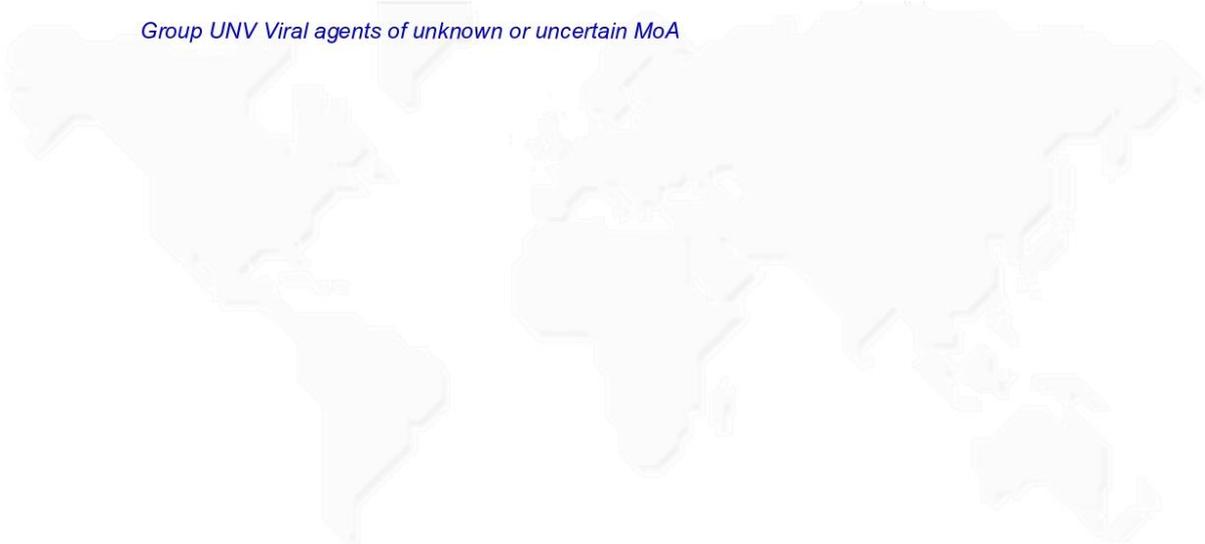
Group UNE Botanical essence including synthetic, extracts and unrefined oils with unknown or uncertain MoA

Group UNF Fungal agents of unknown or uncertain MoA

Group UNM Non-specific mechanical disruptors

Group UNP Peptides of unknown or uncertain MoA

Group UNV Viral agents of unknown or uncertain MoA



Appendix 4

Procedure for allocation of new insecticidal materials to the MoA classification

IRAC maintains the MoA Classification scheme as the definitive, globally-recognised, ultimate authority on insecticide modes of action. In order to provide the best possible information for resistance management purposes, IRAC also issues regular updates of the scheme, in which newly introduced insecticides are allocated to an appropriate MoA classification group and structural sub-group, and in which re-classification or the correction of errors or anomalies for specific insecticidal agents is undertaken in light of definitive new information. This document details how these processes are administered by IRAC.

Who is responsible for the process within IRAC?

The IRAC MoA Team comprises technical representatives of the member companies with expertise in insect toxicology, pharmacology or biochemistry. All IRAC companies are eligible to contribute technical expertise to the group. The group meets regularly to consider the content and detail of the MoA scheme and makes proposals on significant additions, deletions or reallocations of insecticidal agents within the scheme for consideration by the IRAC Executive.

Why and how often is the scheme updated?

New versions of the scheme are issued periodically as necessary, as a result of the MoA Team's consideration of new information. The introduction of major new MoA groups or the reallocation of insecticidal agents or groups would merit the issue of a new version (vN). Minor changes or corrections that do not significantly impact the scheme are undertaken automatically at intervals as necessary, and sub-versions are issued (vN.n). New sub-versions may be issued up to several times per year as required, while new full versions are not anticipated more than once per year. The potential impact of proposed significant changes on derived versions of the scheme around the world is fully appreciated, especially in countries where MoA labelling of products is used. The MoA team is cognisant of these impacts and revisions are only proposed when the evidence for change is scientifically compelling.

What evidence is needed to support MoA classification of an insecticidal agent?

Proposals for additions to the MoA scheme or for amendments to the current scheme should be submitted to the IRAC MoA team (details below). These proposals will be considered by the Team and a decision on the outcome will be provided to the proposer in due course. Published material in high quality, front line, peer-reviewed, scientific journals is especially useful as a source of information for consideration by the team, and those companies, bodies or individuals submitting proposals for consideration by the team are strongly encouraged to provide such information wherever possible. Corroborating information is also especially welcome. Unpublished material may be submitted in evidence, and the MoA team will interpret this appropriately.

Several types of data can be used to establish MoA (including the activation of pro-insecticides to their actives). Convincing evidence to support the MoA hypothesis is needed. This includes the demonstration of a clear target effect (activation, inhibition, or modulation) at concentrations that can reasonably be expected in the intoxicated organism. Preferably, these data may be corroborated by physiological and/or symptomology studies to link insect mortality to the effect on the target site. A positive structure-activity correlation of *in vitro* efficacy with insecticidal potency, and/or target site mutations conferring resistance are required to further substantiate the proposed MoA.

What are the criteria for establishing MoA Sub-groups?

Sub-groups represent distinct chemical classes that are believed to have the same MoA but are different enough in chemical structure or mode of interaction with the target protein that the

chance of selection for either metabolic or target-site cross-resistance is reduced compared to close analogs. Sub-groups may also distinguish insecticidal agents that are structurally similar but known to bind differently within the target or to have differential selectivity among multiple targets. Evidence supporting lack of cross-resistance between existing compounds within the Group and the new active ingredient submission must be provided to support sub-grouping. This should include bio-assay based studies and provide quantifiable resistance ratios between susceptible and resistant strains.

The cross-resistance potential between sub-groups is higher than that between different groups, so rotation between sub-groups should be avoided. In exceptional circumstances (i.e. where effective registered insecticides from other mode of action groups are unavailable) rotation may be considered following consultation with local expert advice and where cross-resistance does not exist. These exceptions should not be considered sustainable resistance management strategies, and alternative options should be sought to maintain pest susceptibility.

How are decisions made by the MoA Team?

Given the definitive nature of the IRAC MoA scheme, the MoA Team regards it as an absolute priority that the highest levels of scientific integrity are always employed in the consideration and discussion of allocation of insecticidal agents. In general, agreement on allocation of an insecticidal agent is usually arrived at through consensus within the Team, following detailed discussion. Major decisions, for example the introduction of new MoA classes or sub-classes are proposed to the IRAC Executive for ratification. In the event that the Team cannot agree it may choose to place the case with a panel of external MoA experts to gain their written opinion before reconsidering the case. The composition of the expert panel is agreed in advance by the Team. If after reconsidering the particular case the team is still in disagreement, the matter will be passed to the IRAC Executive for further consideration. Where individual members of the Team are subject to a conflict of interests through company affiliation or other interests, they may choose to withdraw from discussion of particular insecticidal agents as they consider appropriate.

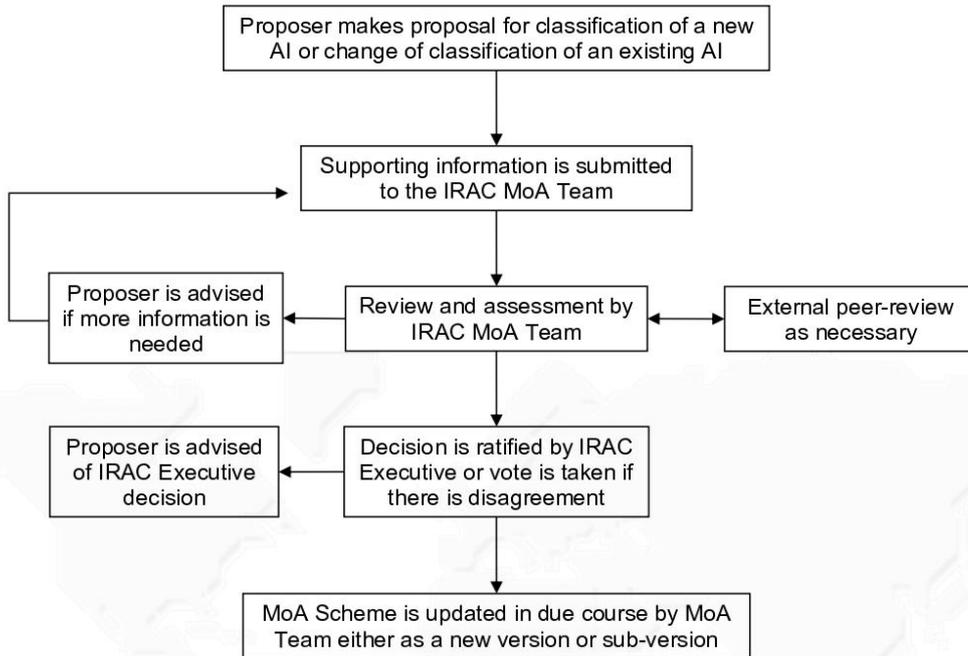
How long does this process take?

The MoA Team has a duty to make a definitive decision on allocation of an insecticidal agent as quickly as possible following receipt of appropriate supporting evidence. For straightforward cases that do not require external consultation it should generally be expected that the Team could provide feedback to proposers within 3 months. The need for external consultants may extend the process to 6 months.

To whom should proposals be sent?

Proposals for new insecticidal agents or for changes to the current IRAC MoA scheme should be submitted to the IRAC MoA Team via the IRAC International Coordinator. A link to the coordinator is provided on the IRAC website (www.ircac-online.org) at the bottom of each page under 'Contact'. Alternatively, the online request can be completed at <http://www.ircac-online.org/submit-an-active/>

Procedure for updates to IRAC MoA Classification Scheme



Appendix 5

Active Ingredients (Alphabetical Order) with MOA Classification.

This is the comprehensive reference list of IRAC-classified insecticides. If your active ingredient is not on this list and falls within the scope of this classification as defined in section 1, please contact IRAC as directed in Appendix 4.

Active Ingredient	MOA No.
Abamectin	6
Acephate	1B
Acequinocyl	20B
Acetamiprid	4A
Acrinathrin	3A
Afidopyropen	9D
Alanycarb	1A
Aldicarb	1A
Allethrin	3A
<i>alpha</i> -Cypermethrin	3A
Aluminium phosphide	24A
Amitraz	19
<i>Anticarsia gemmatalis</i> MNPV	31
Azadirachtin	UN
Azamethiphos	1B
Azinphos-ethyl	1B
Azinphos-methyl	1B
Azocyclotin	12B
<i>Bacillus thuringiensis</i>	11A
<i>Bacillus sphaericus</i>	11B
<i>Beauveria bassiana</i> strains	UNF
Bendiocarb	1A
Benfuracarb	1A
Bensultap	14
Benzoximate	UN
<i>beta</i> -Cyfluthrin	3A
<i>beta</i> -Cypermethrin	3A
Bifenazate	20D
Bifenthrin	3A
Bioallethrin	3A
Bioallethrin S-cyclopentenyl isomer	3A
Bioresmethrin	3A
Bistrifluron	15
Borax	8D

Active Ingredient	MOA No.
Boric acid	8D
Broflanilide	30
Bromopropylate	UN
Buprofezin	16
<i>Burkholderia spp.</i>	UNB
Butocarboxim	1A
Butoxycarboxim	1A
Cadusafos	1B
Calcium cyanide	24B
Calcium phosphide	24A
Carbaryl	1A
Carbofuran	1A
Carbosulfan	1A
Cartap hydrochloride	14
<i>Chenopodium ambrosioides near ambrosioides</i> extract	UNE
Chinomethionat	UN
Chlorantraniliprole	28
Chlordane	2A
Chlorethoxyfos	1B
Chlorfenapyr	13
Chlorfenvinphos	1B
Chlorfluazuron	15
Chlormephos	1B
Chloropicrin	8B
Chlorpyrifos	1B
Chlorpyrifos-methyl	1B
Chromafenozide	18
Clofentezine	10A
Clothianidin	4A
Coumaphos	1B
Cryolite	8C
Cyanide	24B
Cyanophos	1B
Cyantraniliprole	28
Cyclaniliprole	28

IRAC MoA Classification

Version: 9.4

Active Ingredient	MOA No.
Cycloprothrin	3A
<i>Cydia pomonella</i> GV	31
Cyenopyrafen	25A
Cyflumetofen	25A
Cyfluthrin	3A
Cyhalothrin	3A
Cyhexatin	12B
Cypermethrin	3A
Cyphenothrin (1 <i>R</i>)- <i>trans</i> -isomers]	3A
Cyromazine	17
<i>d-cis-trans</i> Allethrin	3A
Dazomet	8F
DDT	3B
Deltamethrin	3A
Demeton-S-methyl	1B
Diafenthiuron	12A
Diatomaceous earth	UNM
Diazinon	1B
Dichlorvos/ DDVP	1B
Dicofol	UN
Dicrotophos	1B
Diflovidazin	10A
Diflubenzuron	15
Dimethoate	1B
Dimethylvinphos	1B
Dinotefuran	4A
Disodium octaborate	8D
Disulfoton	1B
DNOC	13
<i>d-trans</i> Allethrin	3A
Emamectin benzoate	6
Empenthrin [(<i>EZ</i>)-(1 <i>R</i>)-isomers]	3A
Endosulfan	2A
EPN	1B
Esfenvalerate	3A
Ethiofencarb	1A
Ethion	1B
Ethiprole	2B
Ethoprophos	1B

Active Ingredient	MOA No.
Etofenprox	3A
Etoxazole	10B
Famphur	1B
Fatty acid monoesters with glycerol or propanediol	UNE
Fenamiphos	1B
Fenazaquin	21A
Fenbutatin oxide	12B
Fenitrothion	1B
Fenobucarb	1A
Fenoxycarb	7B
Fenpropathrin	3A
Fenpyroximate	21A
Fenthion	1B
Fenvalerate	3A
Fipronil	2B
Flonicamid	29
Fluacrypyrim	20C
Flubendimide	28
Flucycloxuron	15
Flucythrinate	3A
Flufenoxuron	15
Flumethrin	3A
Flupyradifurone	4D
Fluxametamide	30
Formetanate	1A
Fosthiazate	1B
Furathiocarb	1A
<i>gamma</i> -Cyhalothrin	3A
GS-omega/kappa HXTX-Hv1a	32
Halfenprox	3A
Halofenozide	18
<i>Helicoverpa armigera</i> NPV	31
Heptenophos	1B
Hexaflumuron	15
Hexythiazox	10A
Hydramethylnon	20A
Hydroprene	7A
Imicyafos	1B
Imidacloprid	4A

IRAC MoA Classification

Version: 9.4

Active Ingredient	MOA No.
Imiprothrin	3A
Indoxacarb	22A
Isofenphos	1B
Isoprocarb	1A
Isopropyl O-(methoxyaminothio-phosphoryl) salicylate	1B
Isoxathion	1B
Kadethrin	3A
Kinoprene	7A
<i>lambda</i> -Cyhalothrin	3A
Lepimectin	6
Lime sulfur	UN
Lufenuron	15
Malathion	1B
Mancozeb	UN
Mecarbam	1B
Metaflumizone	22B
Metam	8F
<i>Metarhizium anisopliae</i> strain F52	UNF
Methamidophos	1B
Methidathion	1B
Methiocarb	1A
Methomyl	1A
Methoprene	7A
Methoxychlor	3B
Methoxyfenozide	18
Methyl bromide	8A
Metolcarb	1A
Mevinphos	1B
Milbemectin	6
Monocrotophos	1B
Naled	1B
Neem oil	UNE
Nicotine	4B
Nitenpyram	4A
Novaluron	15
Noviflumuron	15
Omethoate	1B
Oxamyl	1A

Active Ingredient	MOA No.
Oxydemeton-methyl	1B
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> Apopka strain 97	UNF
Parathion	1B
Parathion-methyl	1B
Permethrin	3A
Phenothrin [(1R)- trans-isomer]	3A
Phenthoate	1B
Phorate	1B
Phosalone	1B
Phosmet	1B
Phosphamidon	1B
Phosphine	24A
Phoxim	1B
Pirimicarb	1A
Pirimiphos- methyl	1B
Potassium cyanide	24B
Prallethrin	3A
Profenofos	1B
Propargite	12C
Propetamphos	1B
Propoxur	1A
Prothiofos	1B
Pyflubumide	25B
Pymetrozine	9B
Pyraclofos	1B
Pyrethrins (pyrethrum)	3A
Pyridaben	21A
Pyridalyl	UN
Pyridaphenthion	1B
Pyrifluquinazon	9B
Pyrimidifen	21A
Pyriproxyfen	7C
Quinalphos	1B
Resmethrin	3A
Rotenone (Derris)	21B
Silafluofen	3A
Sodium borate	8D
Sodium cyanide	24B
Sodium metaborate	8D

IRAC MoA Classification

Version: 9.4

Active Ingredient	MOA No.
Spinetoram	5
Spinosad	5
Spirodiclofen	23
Spiromesifen	23
Spriopidion	23
Spirotetramat	23
Sulfotep	1B
Sulfoxaflor	4C
Sulfur	UN
Sulfuramid	13
Sulfuryl fluoride	8C
Tartar emetic	8E
<i>tau</i> -Fluvalinate	3A
Tebufenozide	18
Tebufenpyrad	21A
Tebupirimfos	1B
Teflubenzuron	15
Tefluthrin	3A
Temephos	1B
Terbufos	1B
Tetrachlorvinphos	1B
Tetradifon	12D
Tetramethrin	3A
Tetramethrin [(1 <i>R</i>)- isomers]	3A
Tetranilprole	28

Active Ingredient	MOA No.
<i>Thaumatotibia leucotreta</i> GV	31
<i>theta</i> -cypermethrin	3A
Thiacloprid	4A
Thiamethoxam	4A
Thiocyclam	14
Thiodicarb	1A
Thiofanox	1A
Thiometon	1B
Thiosultap-sodium	14
Tolfenpyrad	21A
Tralomethrin	3A
Transfluthrin	3A
Triazamate	1A
Triazophos	1B
Trichlorfon	1B
Triflumezopyrim	4E
Triflumuron	15
Trimethacarb	1A
Vamidothion	1B
<i>Wolbachia pipientis</i> (Zap)	UNB
XMC	1A
Xylylcarb	1A
<i>zeta</i> -Cypermethrin	3A
Zinc phosphide	24A

Appendix 6

Active Ingredients Pending Registration

Main Group and Primary Site of Action	Chemical Sub-group or exemplifying Active Ingredient	Active Ingredient
4 Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) competitive modulators Nerve action {Strong evidence that action at one or more of this class of protein is responsible for insecticidal effects}	4E Mesoionics	Dicloromezotiaz

Table 1 Recent reports of resistance to insecticides in *Bemisia tabaci* species/biotypes

Country	Years of collection	Crop	Species/biotype	Resistance to insecticides (N = none; L = low; M = moderate; H = high; VH = very high)*	References
Brazil	2013–2014	Cotton, tobacco, soybean and various vegetables	MEAM1 (B)	Resistance levels to all insecticides tested were L to VH (azadirachtin, cartap, chlorantraniliprole, diafenthiuron, imidacloprid, lambda-cyhalothrin, spiromesifen)	Dângelo et al. (2018)
Burkina Faso	2014–2015	<i>Lantana camara</i> , tomato	MED-Q1, MED-Q3	For an OP (chlorpyrifos-ethyl); a pyrethroid (deltamethrin) and a neonicotinoid (acetamiprid)—MED-Q1 was more resistant than the MED-Q3	Drabo et al. (2017)
China NW	2004–2005	Poinsettia, cotton, grape and melon	B	Pyrethroids (cypermethrin and bifenthrin)—VH; imidacloprid—L to M; pyriproxyfen—M to H; abamectin—N	Ma et al. (2007)
China, SE	2005–2014	Various crops, but mostly vegetables	B and Q	Sulfoxaflor (B)—N to L, (B, dominant)—M; pymetrozine (B, Q)—L; neonicotinoids: imidacloprid, thiamethoxam (B, Q), nitenpyram (B, Q)—L; and cyantraniliprole (B, Q)—M to H	Yao et al. (2017)
China	2007–2008	Cotton, tomato and capsicum	B and Q	Neonicotinoids—(B)—L; (Q)—M to VH; abamectin (B, Q)—L; bifenthrin (B, Q)—L to H; cypermethrin (B, Q)—M to VH; and pyriproxyfen (B, Q)—L to M	Luo et al. (2010)
China, SE	2008–2009	Cotton, various vegetables, poinsettia, and grape	B and Q	Alpha-cypermethrin (B)—VH, (Q)—M to VH; neonicotinoids: imidacloprid, thiamethoxam (B, Q)—M to VH; Spinosad (B, Q)—N to L; abamectin—N; fipronil (B, Q)—L to M	Wang et al. (2010)
China, E	2010	Gerbera, cucumber, capsicum, cabbage	Q	Dichlorvos (OP)—L; carbosulfan (carbamate)—N; cypermethrin—L; neonicotinoids: imidacloprid, nitenpyram—L to H; abamectin—N	Yuan et al. (2012)

Table empruntée à [Horowitz et al. \(2020\)](#).

Table 1 (continued)

Country	Years of collection	Crop	Species/biotype	Resistance to insecticides (N = none; L = low; M = moderate; H = high; VH = very high)*	References
China	2011–2013	Tomato, pepper, cucumber	Q	Chlorpyrifos—L; bifenthrin—L to M; neonicotinoids: imidacloprid, thiamethoxam, acetamiprid—L to H, nitenpyram—L to VH; abamectin and spinetoram—N	Wang et al. (2017)
Greece, Crete	2005–2007	Various vegetables	Med (Q)	Pirimiphos-methyl (OP)—L to M; α -cypermethrin (pyrethroid)—M to VH; imidacloprid—L to VH	Roditakis et al. (2009)
Cyprus	2006–2007	Mostly various vegetables	B	Neonicotinoids: imidacloprid, thiamethoxam—H to VH, acetamiprid—L; bifenthrin—H to VH	Vassiliou et al. (2011)
India	2010–2013	Cotton, vegetables, maize, soybean and others	Asia I, Asia II-1, and Asia II-7	Asia II-7 (reference strain) is susceptible to most insecticides; OPs—L to H (Asia I, Asia II-1); Pyrethroids—M to VH (Asia I, Asia II-1); Neonicotinoids—L to M (Asia I, Asia II-1)	Naveen et al. (2017)
India	2016–2017	Vegetable crops	Not defined	Acephate (OP)—H to VH; triazophos (OP)—M to H; Indoxacarb (Oxadiazine)—N; dinotefuran (neonicotinoid)—L to H; spiromesifen (tetronic acid derivative)—L to H; pyriproxifen—L to M; flonicamid (pyridine)—L to H	Roy et al. (2019)
Israel	2008–2010	Various vegetables and fresh herbs	B and Q	Thiamethoxam—(Q) VH; imidacloprid (B, Q)—L to H; acetamiprid—(Q)—L to H	Kontsedalov et al. (2012)
Israel	2002–2011	Cotton	B and Q	Pyriproxifen—(Q)—VH, (B)—L; acetamiprid (Q, B)—L to H; thiamethoxam—(Q, B)—M to VH	Horowitz et al. (2004), Horowitz et al. (2005), Horowitz and Ishaaya (2014)
Pakistan	2002–2007	Cotton and various vegetables	Not defined	OPs—L to M	Ahmad et al. (2010)
Pakistan	2008–2009	Cotton and sunflower	Not defined	Neonicotinoids—L to M; buprofezin—L to M; pyriproxifen—L	Basit et al. (2013)
Pakistan	2007–2010	Cotton and various vegetables	Not defined	Neonicotinoids—H; diafenthiuron—L to H	Ahmad and Khan (2017)

Table 1 (continued)

Country	Years of collection	Crop	Species/biotype	Resistance to insecticides (N = none; L = low; M = moderate; H = high; VH = very high)*	References
Spain	2006	Tomato and sweet pepper	Q	Azadirachtin—L to M; buprofezin—M to VH; Imidacloprid—L to M; methomyl—L to H; pyridaben—L; pyriproxyfen—L to M; spiromesifen—L	Fernandez et al. (2009)
Spain	2006–2012	Vegetables	Q	Cyantraniliprole—N to L	Gravalos et al. (2015)
Spain	2014–2016	Glasshouse sweet pepper and tomato	Q	Spiromesifen—L to VH; spirotetramat—L to H	Bielza et al. (2019)
Turkey	2000–2001	Cotton	B	Pyrethroids and OPs—M to VH; buprofezin—lower response in the IZMIR strain	Erdogan et al. (2008)
Turkey	2009	Cotton, tomato, cucumber, pepper	MEAM1 (B)	Neonicotinoids: acetamiprid—M to H; imidacloprid—M to VH; thiacloprid—H to VH; thiamethoxam—L to VH	Satar et al. (2018)
Turkey	2011	Cotton, squash, sesame	B	Neonicotinoids: thiamethoxam—L to H; acetamiprid—L to M	Şahin and İkten (2017)
USA, California, Arizona	2003–2005	Cotton and various vegetables	B	Neonicotinoids—H to VH (esp. imidacloprid)	Castle and Prabhaker (2013)
USA, Florida	2000–2007	Especially tomato	B	Neonicotinoids: imidacloprid (systemic bioassay)—L to H; thiamethoxam (systemic bioassay)—L to M	Schuster et al. (2010)
USA, Florida	2008–2010	Mostly tomatoes	B	Neonicotinoids—L; pyrethroids (bifenthrin)—L; buprofezin—L	Caballero et al. (2013)

Glossaire

La très grande majorité des définitions que vous trouverez ici ont été empruntées (mot pour mot/ ou traduites mot à mot), aux ouvrages et publications suivantes :

- (*) **Lefevre, T., M. Raymond, and F. Thomas** (2016) *Biologie évolutive*. De Boeck Supérieur, Paris, France, 1000pp.;
- (**) **R4P Network** (2016) Trends and Challenges in Pesticide Resistance Detection. *Trends in Plant Science* 21, 834-853.

Adaptation* : variant phénotypique qui présente la valeur sélective la plus élevée au sein d'un ensemble donné de variants dans un environnement donné.

Allèle* : désigne les différentes versions d'un même gène. Chaque allèle se différencie par une ou plusieurs différences de la séquence de nucléotides. Ces différences apparaissent par mutation au cours de l'histoire d'une espèce, ou par recombinaison génétique. Tous les allèles d'un gène occupent le même locus (emplacement) sur un même chromosome.

Allopatrique* : se dit de taxons occupant des aires géographiquement différentes et qui ne se recoupent pas.

Biotype : ensemble de caractères variants au sein d'un même organisme permettant une individualisation des souches d'une même espèce.

CL₅₀ : la concentration d'insecticide létale pour 50% des individus testés.

Clade* : ensemble de taxons qui descendent tous sans exception d'un même ancêtre commun. Il est défini par au moins une [synapomorphie](#).

Codon* : triplet de nucléotides successifs dans une séquence codante déterminant la nature de l'acide-aminé présent à la position correspondante dans la protéine codée.

Compétition interspécifique* : compétition survenant lorsque les individus d'une espèce subissent une réduction de leur taux de croissance, de fécondité et de survie comme résultante de l'exploitation de ressources ou interférences d'individus d'une autre espèce. Ce type de compétition affecte la dynamique des populations des espèces en compétition et par conséquent leur distribution spatiale et leur évolution.

Compromis* : compensation entre deux facteurs, traits ou entités que l'on ne peut pas maximiser simultanément. L'augmentation de la valeur d'un facteur se fera au détriment de la

valeur de l'autre. On peut mesurer l'intensité d'un compromis en analysant la forme de la régression entre les facteurs impliqués. Un exemple ayant fait l'objet de nombreux débats et travaux théoriques en biologie évolutive concerne le compromis entre survie et fécondité. *Trade-off* en anglais.

Déséquilibre de liaison* : écart à la libre ségrégation des caractères génétiques entre eux, le plus généralement du fait de leur proximité physique sur un chromosome mais que l'on peut aussi obtenir quand on empêche la recombinaison génétique d'avoir lieu [...] ou que le régime de reproduction s'écarte de la panmixie [...].

Espèce* : taxon de base de la systématique. Il existe plusieurs définitions dans la littérature scientifique. La définition la plus communément admise est celle du concept biologique de l'espèce énoncé par Ernst Mayr (1942) : une espèce est une population ou un ensemble de populations dont les individus peuvent effectivement ou potentiellement se reproduire entre eux et engendrer une descendance viable et féconde, dans des conditions naturelles.

Espèce endémique : espèce dont la présence est exclusivement limitée à une aire donnée.

Espèces cryptiques : fait référence à des espèces indifférenciables morphologiquement, la distinction se fait alors au niveau biologique et/ou moléculaire.

Facteur de résistance : il se calcule en divisant la concentration de substance (insecticide) causant la mort de 50 % (ou 60%, 70%, 80%...) des individus d'une population donnée, appelée CL₅₀ (ou CL₆₀, CL₇₀, CL₈₀... « CL » pour « concentration létale »), par la CL₅₀ (ou CL₆₀, CL₇₀, CL₈₀...) d'une population de référence, (plus) sensible à cette même substance. Ces différentes mesures sont réalisées dans des conditions expérimentales précises.

Gène mitochondrial cytochrome oxydase 1 : c'est l'une des trois sous-unités codées par l'ADN mitochondrial, impliquée dans le complexe respiratoire. Ce gène fait partie des 37 gènes de la mitochondrie, couramment utilisés en taxonomie pour le barcoding ou metabarcoding des insectes.

Génotype* : composition allélique de tous les gènes d'un individu. Ensemble du matériel génétique d'une cellule ou d'un organisme. Ce terme désigne également l'ensemble des allèles d'un individu ou tout simplement les allèles d'un gène ou de gènes spécifiques.

Goulot d'étranglement* : phénomène se produisant lorsqu'une population est fortement réduite sur au moins une génération. Le faible nombre de reproducteurs restants transmet donc seulement une fraction de la diversité génétique initiale aux générations ultérieures. Il en résulte un appauvrissement génétique de la population (*bottleneck* en anglais).

Hybride* : individu issu d'un croisement de deux individus de deux variétés, sous-espèces (croisement intraspécifique), espèces (croisement interspécifique) ou genres (croisement intergénérique) différents.

Introgression* : incorporation de gènes d'une espèce dans le génome d'une autre espèce par hybridation, suivie de rétrocroisements répétés.

Intron* : fragment non-codant de la séquence d'ADN d'un gène, éliminé par épissage avant synthèse de la protéine.

Isolement reproductif* : tout mécanisme empêchant – ou limitant fortement – l'hybridation de deux espèces habitant la même région, même lorsqu'elles sont étroitement apparentées. Les mécanismes peuvent être prézygotiques (isolement écologique, temporel, éthologique, mécanique, gamétique) ou postzygotiques (non-viabilité des hybrides, stérilité des hybrides).

Locus* : emplacement physique précis et invariable sur un chromosome. Un locus peut être un endroit du chromosome où se situe un gène.

Mécanisme de résistance** : tout mécanisme permettant à un génotype résistant de survivre à une concentration de pesticide qui tue ou inhibe la croissance ou le développement de génotypes sensibles.

Mode d'action** : la manière dont le pesticide fonctionne, généralement liée à une cible biochimique particulière.

Organe chordotonal : récepteurs qui renseignent l'animal sur l'orientation de son corps dans l'espace (propriocepteurs), par exemple l'organe de Johnston est un organe chordotonal situé dans le deuxième segment antennaire, qui renseigne l'animal sur sa vitesse de déplacement par rapport à l'air.

Panmixie* : régime de reproduction qui consiste en une rencontre aléatoire des gamètes lors de la formation des zygotes (association des partenaires au hasard).

Parthénogenèse* : mode de reproduction asexuée dans lequel le gamète femelle se développe sans être fécondé par un gamète mâle. Ce phénomène s'observe naturellement chez certaines espèces végétales et animales, mais peut être provoqué artificiellement.

Phénotype* : état d'un caractère observable. Le phénotype résulte de l'interaction entre l'information génétique définie par le génotype de l'individu et l'environnement dans lequel il s'est développé [...].

Phytophage* : organisme consommant des tissus végétaux : l'usage réserve habituellement ce terme aux animaux.

Polymérase* : les polymérases sont des enzymes qui ont pour rôle la synthèse d'un brin de polynucléotide (ADN ou ARN), le plus souvent en utilisant un brin complémentaire comme matrice et des nucléotides triphosphate (NTP ou dNTP) comme monomères.

Polymorphisme* : diversité des formes chez des individus appartenant à la même espèce. Le polymorphisme génétique est la coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou locus donnés, dans une population.

Ravageur** : organisme vivant nuisible à la production végétale et qui peut être un animal (arthropode, rongeur...), une plante (mauvaise herbe) ou un micro-organisme phytopathogène (bactérie, champignon...).

Résistance** : (i) capacité naturelle et héréditaire des génotypes mutants de parasites à survivre à des concentrations de pesticides qui tuent ou inhibent le développement de génotypes sauvages de la même espèce (génotypes sensibles) ; (ii) résultat de l'évolution adaptative des parasites à la suite de la sélection des génotypes les moins sensibles aux pesticides sous une pression intense de sélection des pesticides.

Résistance au site cible** : résistance ayant pour origine des modifications génétiques affectant la protéine cible du pesticide (modification de la protéine cible, amplification du gène ou modification de l'expression du gène).

Résistance croisée** : résistance à plusieurs pesticides, médiée par le même allèle. La résistance croisée peut être positive (résistance à plusieurs pesticides) ou négative (résistance à certains pesticides et hypersensibilité à d'autres).

Résistance multiple** : résistance à plusieurs pesticides par l'intermédiaire de différents allèles. Peut impliquer différents mécanismes.

Statistique bayésienne* : ensemble de méthodes statistiques où toutes les incertitudes sont décrites par des distributions de probabilité (distributions *a priori*) et où ces incertitudes sont modifiées, en présence de données nouvelles, par l'application de la formule de Bayes.

Sympatrique* : se dit de taxons occupant la même aire géographique et dont les aires de distribution se recourent.

Synapomorphie : il s'agit d'un caractère dérivé (ou apomorphique), partagé par deux ou plusieurs taxons-frères.

Traits d'histoire de vie* : trait caractérisant le cycle de vie d'une espèce. On considère généralement les traits d'histoire de vie comme des traits dont la variation va fortement modifier la valeur sélective d'un individu. Exemples : âge et taille à maturité, fécondité qualité (taille) des jeunes produits, survie, longévité, etc.

Valeur sélective* : espérance de la contribution relative aux générations ultérieures d'une classe (allèle, génotype, classe phénotypique d'individus). Elle est estimée, suivant les situations, par une ou plusieurs composantes (survie, fertilité, nombre de descendants à la génération suivante, etc.) associées à la classe considérée (*fitness* en anglais).