

# Quelques données sur les estérases de *Trichogramma maidis* (Hym. Trichogrammatidae) utilisées en systématique

Autor(en): **Debret, Bertrand / Pintureau, Bernard / Babault, Manuel**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Entomologique Suisse = Journal of the Swiss Entomological Society**

Band (Jahr): **56 (1983)**

Heft 3-4

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-402094>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Quelques données sur les estérases de *Trichogramma maidis* (Hym. Trichogrammatidae) utilisées en systématique

BERTRAND DEBRET, BERNARD PINTUREAU et MANUEL BABAULT

I.N.R.A. - Station de Zoologie et de Lutte Biologique, 37, Boulevard du Cap, F-06602 Antibes

*Some results on the esterases of Trichogramma maidis (Hym. Trichogrammatidae) used in systematics* - No trace of esterase of *Ephestia kuehniella* embryo has been discovered when this one is parasited by a *T. maidis* prenymp, then, only the 5 typical electrophoretic zones of parasitoid preimaginal instars are revealed. The molecular weight of *T. maidis* esterases is included between 60 000 and 500 000, these enzymes are not spécific of one of the 3 substrates studied.

Les estérases sont d'excellents marqueurs spécifiques chez les Trichogrammes et permettent de mener une étude taxonomique des nombreuses espèces, souvent très proches, beaucoup mieux fondée que celle utilisant les seuls caractères morphologiques (PINTUREAU & BABAULT, 1980).

Nous nous proposons ici de préciser certaines caractéristiques des estérases chez *T. maidis* PINTUREAU et VOEGELE, espèce utilisée en lutte biologique contre *Ostrinia nubilalis* HÜBNER (Lep. Pyralidae). Il s'agira d'estimer leur poids moléculaire par électrophorèse sur gel à gradient et de tester plusieurs substrats pour connaître leur degré de spécificité catalytique.

Ces données permettront de présenter une description plus affinée des caractéristiques de *T. maidis*, elle seront aussi d'un grand secours pour juger si des estérases différentes appartiennent à des loci homologues chez deux espèces proches.

Ces caractères enzymatiques seront étudiés chez les imagos, mais auparavant nous analyserons les estérases de l'hôte parasité, ici *Ephestia kuehniella* ZELLER (Lep. Pyralidae), en comparaison avec celles des stades préimaginaux de Trichogrammes correspondants. Ceci permettra de savoir si des enzymes de l'hôte persistent au cours du développement larvaire des Trichogrammes et de proposer une technique plus rapide d'analyse (à partir des hôtes parasités) utilisable pour les contrôles d'élevages intensifs à l'usage de la lutte biologique.

### MATÉRIEL ET MÉTHODE

La population de *T. maidis* étudiée provient de Moldavie soviétique et les hôtes utilisés pour l'élevage sont des œufs d'*Ephestia kuehniella* soumis aux U.V. pour arrêter le développement (œufs placés à 30 cm de 4 lampes de 40 W pendant 20 mn) et conservés moins d'une semaine à 3 °C.

La technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide homogène à 7%, en plaques, qui a été précédemment décrite (PINTUREAU & BABAULT, 1981) sera utilisée pour étudier la spécificité des estérases vis-à-vis de 3 substrats différents et pour rechercher d'éventuelles estérases de l'hôte chez l'hôte parasité.

Le substrat utilisé sera toujours le  $\beta$  naphthyl-acétate, sauf lorsque celui-ci sera comparé à deux autres:  $\alpha$  naphthyl-acétate et  $\beta$  naphthyl-butyrate.

Les extraits sont constitués de broyats de 20 individus (sauf indication contraire) pris au hasard dans la population, ce qui se justifie par la petite taille des Trichogrammes et par l'analyse génétique précédemment effectuée (PINTUREAU & BABAULT, 1981). Ces individus peuvent être des stades préimaginaux associés à leur hôte ou des imagos des 2 sexes.

L'étude du poids moléculaire des estérases a demandé l'emploi d'un gel à gradient de concentration obtenu en mélangeant progressivement des solutions de polyacrylamide à 4% et à 30% à l'aide d'un «mélangeur de gradient». Des marqueurs purifiés de poids connus sont placés de part et d'autre des échantillons étudiés, ils migreront ainsi en même temps et permettront les comparaisons. Plusieurs marqueurs de haut et de faible poids moléculaire ont été utilisés mais seuls 5 ont pu servir à évaluer le poids des estérases: thyroglobuline de thyroïde de Porc (PM : 669 000), ferritine de rate de Cheval (PM : 440 000), catalase de foie de Bovin (PM : 232 000), lactate deshydrogénase de cœur de Bovin (PM : 140 000) et albumine de sérum de Bovin (PM : 67 000). A la fin de l'électrophorèse, les parties du gel où ont migré les marqueurs sont découpées pour effectuer la révélation de ceux-ci au bleu de coomassie à 0,02%. Après les révélations, les parties du gel sont rassemblées pour effectuer les comparaisons.

L'évaluation du poids des estérases est réalisée après projection de la valeur de leur migration relative (par rapport au bleu de bromophénol) sur la droite construite à partir du logarithme du poids moléculaire et de la migration relative des marqueurs.

Nous avons d'abord effectué des électrophorèses en double dimension (une première migration sur gel homogène à 7% et une deuxième sur gel à gradient) de manière à reconnaître les estérases dans le gel à gradient, dont la position relative peut être modifiée, et à vérifier si une bande électrophorétique n'en cache pas en fait plusieurs (enzymes de même charge mais de poids différent). Ensuite seules des migrations uniques dans le gel à gradient ont été réalisées.

Nombre de répétitions - Comparaison des hôtes parasités et des Trichogrammes: 2 électrophorèses comportant chacune 2 échantillons d'œufs d'*E. kuehniella* non parasités (soumis aux U. V. et conservés à 3°C), 6 échantillons d'œufs parasités (6 jours de développement à 25°C pour 2 d'entre eux, 7 jours pour deux autres et 8 jours pour les 2 derniers) et 2 échantillons d'adultes de Trichogrammes.

- Estimation du poids moléculaire: 6 électrophorèses dont 3 avec une migration de 3H (1 en double dimension) et 3 avec une migration de 4H (1 en double dimension également). Chaque électrophorèse en dimension unique comporte 4 échantillons d'imagos.

- Comparaison des substrats: 3 électrophorèses comportant chacune 9 échantillons. Les plaques de polyacrylamide sont découpées en 3 morceaux portant chacun 3 échantillons qui seront révélés avec des substrats différents.

## RÉSULTATS

### 1) Comparaison des estérases des hôtes parasités et des Trichogrammes

Les œufs d'*E. kuehniella* non parasités ne révèlent que 2 bandes estérasiques fines aux  $R^F$  0,08 et 0,10 et une trainée diffuse à migration plus importante. Ceci

indique qu'il existe encore une activité enzymatique chez ces œufs exposés aux U. V. et dont le développement est arrêté ou sans avenir.

Les œufs parasités par des prénymphe (3<sup>e</sup> stade larvaire) de *Trichogrammes* en développement depuis 6 jours montrent les mêmes bandes que les prénymphe seules (PINTUREAU & BABAUT, 1981): bandes de R<sup>F</sup> 0,10, 0,22, 0,34, 0,50 et 0,53 correspondant aux loci Est 1, Est 2, Est L1, Est 5 et Est 6 (fig. 1).

Les œufs parasités par des nymphe de *Trichogrammes* en développement depuis 7 jours montrent les mêmes bandes, tandis que ceux parasités par des nymphe ayant 1 jour de plus révèlent une bande nouvelle, fine, au R<sup>F</sup> 0,28 correspondant au locus Est 3, alors que Est L1 ne code plus. Ceci est encore conforme aux résultats obtenus avec les nymphe étudiées indépendamment de leur hôte.

En ce qui concerne les imago, les résultats sont conformes à ceux déjà fournis (PINTUREAU & BABAUT, 1981): mêmes estérases que les nymphe avec une activité accrue et une bande supplémentaire fournie par les seules femelle au R<sup>F</sup> 0,61 (Est ♀ 1).

Ainsi, si une activité estérasique est encore décelable chez l'œuf d'*E. kuehniella*, considéré comme mort à la suite de son traitement et d'où n'éclore aucune chenille, l'œuf parasité par une prénymphe ou une nymphe de *Trichogramme* ne montre qu'une activité du parasite lui-même. Nous savons que la nature de l'hôte du *Trichogramme* ne modifie pas les estérases des imago (BABI, 1982) et cela se comprend d'autant plus facilement en sachant maintenant que les enzymes de l'hôte disparaissent rapidement au cours du développement du parasite, ceci étant en accord avec le fait que le contenu de l'hôte est ingéré en totalité bien avant le stade prénymphe (HAWLITZKY & BOULAY, 1982).

MARQUES (1982), qui a montré que la nature de l'hôte n'influe pas sur les protéines «totales» des imago d'une autre espèce de *Trichogramme*, a cependant décelé la présence de glucose-phosphate isomérase de l'hôte (*E. kuehniella*) chez

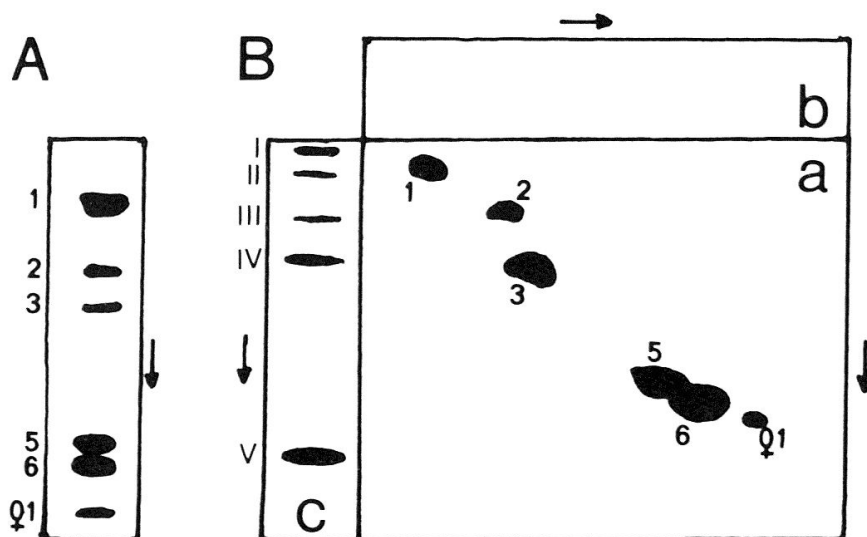


Fig. 1: Estérases des imago femelle de *T. maidis* révélées après une seule migration sur un gel de polyacrylamide homogène de 7% (A) ou après une double migration, la 2<sup>e</sup> étant effectuée sur un gel à gradient de 4 à 30% (B). Bb est le support qui a permis la première migration (gel homogène à 7%), Ba est le gel à gradient sur lequel s'effectue la 2<sup>e</sup> migration, Bc est une partie du gel à gradient dans laquelle migre (migration unique) les marqueurs de poids moléculaires (I à V). Les estérases Est 1, Est 2, Est 3, Est 5, Est 6, Est ♀ 1 sont repérées par les chiffres, les flèches indiquent les sens de migration.

les hôtes parasités par une prénymphe et des traces de phosphoglucomutase chez les hôtes parasités par une jeune prénymphe alors que les 6-phosphogluconates deshydrogénases n'apparaissent plus. Certaines enzymes de l'hôte peuvent donc persister plus longtemps que les estérases chez l'hôte parasité.

Dans le cadre des élevages intensifs mis en place pour l'utilisation des Trichogrammes en lutte biologique, il est prévu de contrôler le matériel biologique au moyen des marqueurs estérasiqes. Les résultats obtenus ici permettront d'effectuer les broyats pour l'électrophorèse directement sur les œufs parasités par des prénymphe et cela facilitera beaucoup la technique.

## 2) Estimation du poids moléculaire des estérases des imagos

Les migrations en double dimension indiquent que les estérases se séparent dans le gel à gradient dans le même ordre que dans le gel homogène et qu'aucune bande ne se dédouble. Il n'existe donc pas, parmi celles que l'on peut révéler, d'estérases de même charge mais de poids différent.

L'identité des estérases révélées dans le gel à gradient étant reconnue, nous avons effectué les comparaisons de migration avec les marqueurs. Ceux-ci ont fourni les droites de références suivantes (y: poids moléculaire, x: migration relative par rapport au bleu de bromophénol):

$$\begin{array}{l}
 \text{- Migration de 3 H} \\
 \text{- Migration de 4 H}
 \end{array}
 \left\{
 \begin{array}{l}
 \text{Log y: } -1,85 x + 5,88 \\
 \text{Log y: } -1,41 x + 5,66 \\
 \text{Log y: } -1,72 x + 5,80 \\
 \\
 \text{Log y: } -2,09 x + 6,14 \\
 \text{Log y: } -2,12 x + 6,15 \\
 \text{Log y: } -1,56 x + 5,86
 \end{array}
 \right.$$

Ces droites qui présentent une certaine variation permettent cependant d'apprécier les poids moléculaires des estérases (Tab. 1), la plus lourde est Est 1 (421 000 à 500 000) et la plus légère Est 6 (61 000 à 85 000), Est ♀ 1 n'ayant pu être repérée que dans une répétition.

Tab. 1: Poids moléculaire et activités des 6 estérases de *T. maidis*. Les poids moléculaires sont appréciés par comparaison avec des marqueurs après une migration électrophorétique de 3 H ou de 4 H à 300 V sur gel de polyacrylamide à gradient, Est ♀ 1 n'a été révélé que dans une répétition. Les activités de ces enzymes sur 3 substrats sont appréciées semi-quantitativement après une migration de 1 H 30 sur gel homogène à 7%.

Estérases	Poids moléculaires (en millier de g)						Activités		
	Migration de 3 H			Migration de 4 H			β naphthyl acétate	α naphthyl acétate	β naphthyl butyrate
	Minimum	Moyen	Maximum	Minimum	Moyen	Maximum			
Est 1	421	443	459	482	489	500	+++	+++	++
Est 2	321	328	341	284	305	339	++	++	+
Est 3	198	201	204	144	173	228	+	+	
Est 5	66	71	73	79	83	87	+++	+++	++
Est 6	61	64	67	70	78	85	+++	+++	++
Est ♀ 1					75		+		

Les estérases des Trichogrammes sont donc des protéines de poids très variable et la plus lourde atteint celui des globulines, cette diversité est d'ailleurs comparable à celle relevée chez les nématodes *Meloidogyne* (JANATI, 1979).

Cette caractérisation des estérases<sup>1</sup> de *T. maidis* pourra peut-être permettre de rapporter certaines bandes électrophorétiques différentes apparaissant chez des espèces proches à un même locus, ou tout au moins renforcer une hypothèse allant dans ce sens.

### 3) Spécificité catalytique des estérases de *T. maidis*

Certaines estérases peuvent être spécifiques d'un substrat donné, ainsi chez les nématodes *Meloidogyne* la plupart des estérases hydrolysent l' $\alpha$  naphthyl-acétate mais pas son isomère  $\beta$  (JANATI, 1979). Une telle spécificité isomérique a aussi été relevée chez les Drosophiles (PASTEUR & KASTRITIS, 1971).

Chez les Trichogrammes, toutes les estérases hydrolysent les 3 substrats utilisés ( $\alpha$  et  $\beta$  naphthyl-acétate,  $\beta$  naphthyl-butyrate) mais le butyrate révèle une moindre activité (Tab. 1). La bande faible codée par Est  $\varnothing$  1 n'apparaît avec l' $\alpha$  naphthyl-acétate ou le  $\beta$  naphthyl-butyrate qu'en doublant la quantité de matériel biologique, il en est de même pour la bande codée par Est 3 et le  $\beta$  naphthyl-butyrate.

Ainsi, le  $\beta$  naphthyl-acétate est le substrat fournissant l'activité estérasique la plus forte chez les Trichogrammes et il devra être préféré aux autres lors des études de systématique pour la comparaison des espèces.

Cette absence de spécificité catalytique entre les isomères du naphthyl-acétate et le naphthyl-butyrate a déjà été relevée chez d'autres Hyménoptères, pour lesquels une activité supérieure est aussi notée avec les chaînes carbonées courtes (TANABE *et al.*, 1970).

## CONCLUSION

Les résultats obtenus dans cette étude vont permettre une meilleure utilisation des estérases en systématique du genre *Trichogramma*, systématique qui présente 2 aspects très différents mais tout aussi importants.

Le premier aspect concerne la diagnose de l'espèce ou des espèces multipliées intensivement pour leur utilisation en lutte biologique contre certains Lépidoptères ravageurs des cultures. L'élevage doit être contrôlé régulièrement de manière à éviter toute contamination par une autre espèce et les caractères estérasiques sont pour cela les plus sûrs. Ce contrôle s'exercera également sur les insectes nouveaux provenant de la nature et qui devront venir enrichir périodiquement l'élevage. Le fait d'avoir montré que les estérases sont les mêmes chez les prénymphe ou nymphe des Trichogrammes et chez les hôtes parasités par les mêmes stades de développement permet de simplifier la technique de contrôle en effectuant les extraits directement sur les œufs-hôtes, sans dissection et sans attendre l'émergence des imagos.

Le deuxième aspect concerne la phylogénie des nombreuses espèces de Trichogrammes (plus de 60), souvent proches morphologiquement. Il s'agit ici non

<sup>1</sup> De la même manière, nous avons estimé le poids moléculaire des MDH, les 2 bandes (R<sup>F</sup> 0,07 et 0,27 sur gel à 9%; PINTUREAU & BABAUT, 1981) se séparent sur gel à gradient dans le même ordre que sur gel homogène. Les 3 répétitions (migration de 4 H) fournissent les poids suivants: 633 000 à 881 000 (moyenne: 767 000) pour la 1<sup>re</sup> enzyme et 102 000 à 156 000 (moyenne: 124 000) pour la 2<sup>e</sup>.



seulement de comparer les estérases des diverses espèces mais d'effectuer des analyses génétiques permettant le calcul de distances génétiques. Le fait de savoir qu'une bande électrophorétique n'est pas composée de 2 enzymes de même charge mais de poids différent contribue à ces analyses, qui pourront encore être affinées en vérifiant que plusieurs estérases de pHi différent ne sont pas confondues (utilisation de l'isofocalisation). L'analyse génétique, souvent confrontée à la difficulté de prouver que 2 estérases de migrations voisines, présentes chez 2 espèces proches, sont codées par 2 allèles d'un même gène ancêtre, pourra faire appel aux précisions obtenues sur les poids moléculaires, ceux-ci constituant des arguments supplémentaires pour conforter certaines hypothèses. L'étude des différents substrats aurait aussi pu conduire à de tels arguments si une spécificité catalytique avait été décelée, il n'est cependant pas exclu que d'autres substances à chaîne carbonée plus longue fournissent de tels critères spécifiques et cela devra être essayé.

#### RÉSUMÉ

Aucune trace d'estérase de l'embryon d'*Ephestia kuehniella* n'est retrouvée lorsque celui-ci est parasité par une prénymphe de *T. maidis*, à ce moment seules les 5 bandes caractéristiques des stades préimaginaux du parasitoïde sont révélées. Le poids moléculaire des estérases de *T. maidis* est compris entre 60 000 et 500 000, ces enzymes ne sont pas spécifiques de l'un des 3 substrats étudiés.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BABI A. 1982. *Etude de quatre populations de Trichogrammes (Hymenoptera, Trichogrammatidae) en relation avec trois hôtes de substitution*. Mémoire de D. E. A., Univ. Aix-Marseille, 34 pp.
- HAWLITZKY N. & BOULAY C. 1982. *Régimes alimentaires et développement chez Trichogramma maidis PINTUREAU & VOEGELE (Hym. Trichogrammatidae) dans l'œuf d'Anagasta kuehniella ZELLER (Lep. Pyralidae)*. Les Colloques de l'I. N. R. A. 9: 101-106.
- JANATI A. 1979. *Contribution à l'étude des estérases chez les Meloidogyne (Nematoda, Tylenchida)*. Thèse Docteur-ingénieur, Univ. Montpellier, 84 pp.
- MARQUES J. 1982. *Aspectos da Biologia e do perfil eletroforético enzimático de alguns Trichogrammatidae brasileiros*. Thèse, Univ. Minas Gerais, Brésil, 56 pp.
- PASTEUR N. & KASTRITIS C. D. 1971. *Developmental studies in Drosophila*. I. *Developmental Biology* 26: 525-536.
- PINTUREAU B. & BABAUT M. 1980. *Comparaison des estérases chez 19 souches de Trichogramma (Hym. Trichogrammatidae) appartenant au groupe d'espèces evanescens*. *Arch. Zool. exp. gén.* 121 (4): 249-260.
- PINTUREAU B. & BABAUT M. 1981. *Caractérisation enzymatique de Trichogramma evanescens et de T. maidis (Hym. Trichogrammatidae), étude des hybrides*. *Entomophaga* 26 (1), 11-22.
- TANABE Y., TAMAKI Y. & NAKANO S. 1970. *Variation of esterase isozymes in seven species of bees and wasps*. *Japan J. Genetics* 45 (6): 425-428.

(reçu le 1<sup>er</sup> juin 1983)