

COMPLEMENT A LA DEFINITION " IDOTEA CHELIPES , ESPECE POLYTYPIQUE" A PARTIR
DES FRACTIONS PROTEIQUES ET PARTICULIEREMENT DE L'HEMOCYANINE. COMPARAISON
AVEC IDOTEA BALTHICA BASTERI .

CHARFI-CHEIKHROUHA F. (1)

RESUME - Les électrophorogrammes des protéines sur gel de polyacrylamide à gradient de concentration (2,5 - 15 %) ont permis de mettre en évidence 24 fractions protéiques chez l'espèce polytypique I. chelipes dont 4, à activité plus intense, correspondent à l'hémocyanine. Une nette ressemblance est observée au niveau des protéinogrammes des diverses sous-espèces et populations d' I. chelipes , alors que ceux d' I.b. basteri semblent bien différents. Une différence est également notée entre les sexes au sein de la même population. Elle touche la fraction la plus lente dont l'activité est plus intense chez les femelles.

mots-clés : Idotea chelipes chelipes , Idotea chelipes bocqueti , Idotea chelipes mediterranea , Idotea balthica basteri , Tunisie, Méditerranée, Atlantique. protéinogramme, hémocyanine.

ABSTRACT -Electrophoregrams of proteins on polyacrylamid gel concentrated at 2.5 - 15% made it possible to separate 24 protein fractions in polytypic I. chelipes species, 4 of which having a higher activity and corresponding to hemocyanin. A clear ressemblance is evident in proteinograms of various sub-species and in I. chelipes populations whereas those of I.b. basteri seem to be quite different. A variation also exists between sexes within the same population. It corresponds to the slowest fraction whose activity is intenser with females.

Key-words : Idotea chelipes chelipes , Idotea chelipes bocqueti , Idotea chelipes mediterranea , Idotea balthica basteri , Tunisia, Mediterranean, Atlantic, proteinogram, hemocyanin.

INTRODUCTION

Les protéines, présentant soit une structure multimoléculaire soit une activité physiologique particulière ou bien ces 2 propriétés à la fois, constituent un matériel de choix pour les recherches moléculaires à but taxinomique. Ainsi nous avons choisi d'étudier l'hémocyanine qui présente une nette hétérogénéité selon les espèces. En effet, plusieurs auteurs dont Fine et coll. (1975), Maguire et Fielder (1975), Sevilla (1977) et Lauhier (1984) ont mis en évidence la valeur spécifique de cette protéine chez les Crustacés. Dans le même ordre d'idées, nous avons essayé les techniques électrophorétiques sur Idotea chelipes et Idotea bocqueti des côtes

(1) Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences de Tunis,
Campus Universitaire, 1060 Tunis Belvédère, Tunisie.

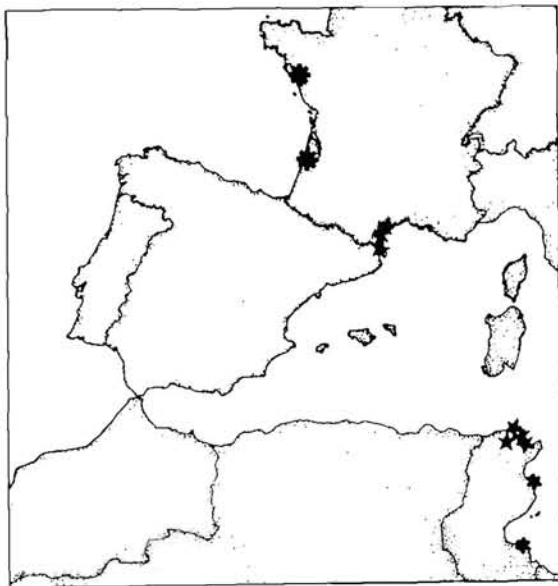


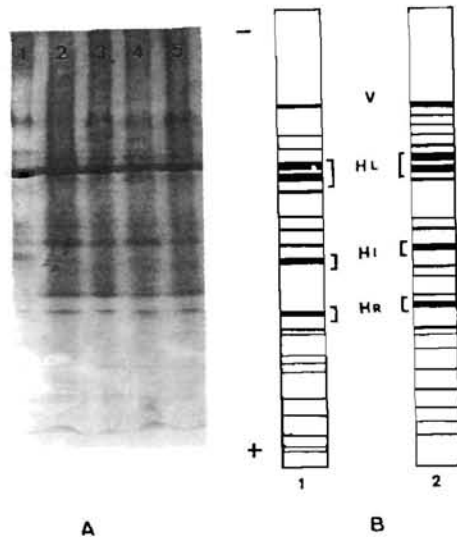
Fig. 1 Lieux de récolte d' *Idotea chelipes*.
 * *I. ch. chelipes* : marais salans du Croisic ;
 bassin d'Arcachon.
 ★ *I. ch. mediterranea* : étangs français de
 Gruissan, Leucate et Canet ; lagunes tuni-
 siennes de l'Ichkeul, Bizerte, Char-El-Melh
 et Tunis.
 ✕ *I. ch. bocqueti* : Ksibet-El-Mediouni ;
 mer de Boughrara.
I. bolthica bosteri en sympatrie avec
I. ch. mediterranea dans le lac de Bizerte.

Fig. 2

Protéinogrammes totaux après
 électrophorèse sur gel de poly-
 acrylamide à gradient linéaire
 de concentration 2,5-15%.

A. photo du gel : 1, *I. b. basteri* ♀
 2-3, *I. ch. mediterranea* ♂ et ♀ ;
 4, *I. ch. chelipes* ♀ ; 5. *I. ch.*
bocqueti ♀ .

B. Schéma du gel : 1, *I. b. basteri*
 ♀ ; 2, *I. ch. chelipes* ♀ . H: fractions
 hémocyaniques L (lentes), I (inter-
 médiaires) et R (rapides). V: pro-
 téine spécifique femelle.



tunisiennes, considérées jusqu'alors par nos études classiques comme étant 2 sous-espèces de la même espèce polytypique Idotea chelipes (Charfi-Cheikhrouha, 1980). Notre étude a été par la suite étendue à d'autres populations méditerranéennes et atlantiques des côtes françaises et à une autre espèce bien distincte I. balthica représentée par sa forme I. b. basteri.

MATERIEL ET METHODES

La répartition des stations de récolte est représentée sur la figure 1. Les échantillons sont formés de surnageant provenant de la centrifugation à 17.300 g et à 4°C pendant 10' de broyats de 5 individus dans 500 ul de saccharose 40 % et de tampon de migration tris-glycine à pH 8.6 dans les proportions 1/1. Afin d'éviter les variations dues au cycle de mue, à la congélation et au rythme circadien, nous avons opéré des animaux frais au stade C d'intermue et toujours à la même heure.

L'électrophorèse est réalisée sur un gel d'acrylamide de 1 mm d'épaisseur. Le gel de séparation, formé d'un gradient linéaire 2,5 - 15%, est surmonté d'un gel de concentration à 2,5 % d'acrylamide. La migration est effectuée à 4°C pendant 4 h sous une tension de 100 V et une intensité de 35 mA dans un tampon tris-glycine à pH 8.6 dans les proportions 0,6 g et 2,88 g/l. Quelques gouttes de bleu de bromophénol à 1 % additionnées à ce tampon, marquent le front de migration.

Les fractions protéiques sont détectées par leur coloration au bleu de Coomassie R 250 (Sigma). Quant aux fractions protéiques correspondantes à l'hémocyanine, elles sont révélées par leur activité spécifique : révélation peroxydasique selon la méthode de Shrauwen et réaction à l'acide rubéanique détectant la présence de cuivre (Horn et Kerr, 1969).

RESULTATS

Sur les 24 bandes protéiques observées sur le protéinogramme d'I. chelipes (Fig. 2), 4 sont de nature cuprique et à activité peroxydasique ; elles correspondent donc à l'hémocyanine. La plus lente, mais la plus concentrée, paraît formée de 2 fractions juxtaposées de mobilités relatives MR égales à 34 et 35. Elle constitue l'hémocyanine principale HL₁. Les 2 autres fractions, de même intensité mais de mobilités relatives différentes, constituent respectivement l'hémocyanine intermédiaire HI à MR = 55 et l'hémocyanine rapide HR à MR = 67. Ce profil électrophorétique, observé chez I. chelipes, est identique à celui d'I. bocqueti. Quant à celui d'I. balthica, il présente également les 4 fractions hémocyaniques de même aspect que celles observées chez I. chelipes mais avec des mobilités relatives plus élevées H'L₁ (MR = 35 et 36), H'I (MR = 57) et H'R (MR = 69).

Concernant l'hémocyanine, il n'existe pas de dimorphisme sexuel apparent sur le gel. Cependant, nous remarquons, pour les différentes espèces étudiées, la présence d'une bande protéique très lente, de nature cuprique et qui paraît beaucoup plus intense chez les femelles.

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'existence d'au moins 3 fractions hémocyaniques sur le gel de polyacrylamide à gradient de concentration a été déjà retrouvée chez certains Isopodes (Sevilla, 1977 ; Picaud, 1983). Nos observations coïncident bien avec celles de Kaim-Malka et coll. (1983) sur I. balthica basteri. Nos

résultats, sur la structure biochimique et le poids moléculaire de ces 3 fractions, feront l'objet d'une note ultérieure. La protéine la plus lente, se retrouvant en forte proportion chez les femelles et en très faible dose chez les mâles, semble avoir une origine extraovarienne et constitue selon Souty et Picaud (1981) la vitellogénine synthétisée au niveau du tissu adipeux.

Nous avons remarqué qu' I. balthica est génétiquement isolée, aussi bien dans la nature qu'au laboratoire, d' I. bocqueti et des 2 formes atlantique et méditerranéenne d' I. chelipes. Elle s'éloigne également par des différences morphologiques notables des 3 entités déjà citées. Très proches sur le plan morphologique, ces entités ont des exigences écologiques différentes et ne présentent pas de barrière génétique au laboratoire. Ainsi des hybrides, obtenus entre I. bocqueti et I. chelipes de nos côtes, sont féconds, ont une croissance intermédiaire entre celle des parents et présentent même une vigueur hybride. Ceux, provenant de la forme atlantique avec bocqueti et chelipes de la Méditerranée, sont morts, par excès de chaleur au laboratoire, avant la puberté.

Les résultats protéiques illustrent bien la valeur taxinomique spécifique de l'hémocyanine. En effet, I. balthica se distingue des 3 formes d' I. chelipes par ses fractions hémocyaniques plus rapides. Quant au protéinogramme d' I. chelipes, quelle que soit l'origine des populations étudiées, il présente un profil similaire avec des hémocyanines analogues. Cette stabilité structurale de l'hémocyanine, longtemps considérée comme une protéine spécifique, ne nous permet pas d'élever au rang d'espèce les 3 entités étudiées et nous porte donc à les considérer comme 3 sous-espèces : Idotea chelipes chelipes, Idotea chelipes bocqueti et Idotea chelipes mediterranea, appartenant à une même espèce polytypique Idotea chelipes.

Remerciements : Nous remercions vivement J.P. Labourg pour l'envoi des échantillons.

-
- CHARFI-CHEIKHROUHA F. 1980. Recherches systématiques, biologiques et expérimentales sur les Idotées de Tunisie (Isopodes Valvifères). Thèse 3ème cycle Univ. Tunis, 193 p.
- FINE J.-M., MARNEUX M., LAMBIN P., ROCHU D., BARON J.-C. et CHIDALIA W. 1975. Structure immunochimique de l'hémocyanine. Etude chez dix espèces de Crustacés Décapodes. Cah. Biol. Mar., 16, 246-253.
- HORN E.C., KERR M.S., 1969. The hemolymph proteins of the blue crab Callinectes sapidus I. Hemocyanins and certain other major protein constituents. Comp. Biochem. Physiol., 29, 493-508.
- KAIM-MALKA R.A., MUNOZ P., CECCALDI H.J. 1983. Electrophoresis study of hemolymph proteins of Idotea balthica basteri (Crustacea : Isopoda). Comp. Biochem. Physiol., 74 B, 433-440.
- LAULIER M. 1984. Valeur taxinomique spécifique des sous-unités hémocyaniques chez cinq espèces du genre Sphaerona (Isopodes Flabellifères). Bull. Soc. Zool. France, 109, 4, 365-376.
- MAGUIRE G.B., FIELDER D.R. 1975. Disc electrophoresis of the haemolymph proteins of some Portunid crabs (Decapoda : Portunidae) II. Physiological and taxonomic aspects. Comp. Biochem. Physiol., 52 A, 43-47.
- PICAUD J.-L. 1983. Les protéines spécifiques femelles des Crustacés Isopodes. Constitution, synthèse et certains aspects du contrôle de leur synthèse et de leur libération. Thèse Doct. Sci. Poitiers, 214 p.
- SEVILLA C. 1977. Les hémocyanines chez les Oniscoïdes. Dissociation sous l'influence du pH et données structurales. Arch. int. Physiol. Biochem., 85, 125-131.
- SOUTY C., PICAUD J.-L. 1981. Vitellogenin synthesis in the fat body of the marine Crustacean Isopoda, Idotea balthica basteri, during vitellogenesis. Reprod. Nutr. Develop., 21, 95-101.