



**HAL**  
open science

## Un modèle de symbiose : le charançon *Sitophilus oryzae*, implications évolutives

Paul Nardon, Hubert Charles, Abdelaziz Heddi

### ► To cite this version:

Paul Nardon, Hubert Charles, Abdelaziz Heddi. Un modèle de symbiose : le charançon *Sitophilus oryzae*, implications évolutives. Jean-Marie EXBRAYAT, Janine FLATIN. *L'évolution Philosophique. Science, Histoire ou Philosophie*, Librairie Philosophique, pp.297-305, 1997, 2-7116-8302-8. hal-03505994

**HAL Id: hal-03505994**

**<https://hal.inrae.fr/hal-03505994>**

Submitted on 4 Jan 2022

**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.

**SCIENCE – HISTOIRE – PHILOSOPHIE**

*Publication de l'Institut Interdisciplinaire  
d'Etudes Epistémologiques*



# **L'ÉVOLUTION BIOLOGIQUE**

## **SCIENCE, HISTOIRE OU PHILOSOPHIE ?**

**Actes du Colloque organisé  
en l'honneur du Professeur Michel DELSOL  
à Lyon en Janvier 1996**

**Sous la direction de  
Jean-Marie EXBRAYAT et Janine FLATIN**

Librairie Philosophique J. VRIN  
6, place de la Sorbonne  
75005 PARIS

1997

Institut Interdisciplinaire  
d'Etudes Epistémologiques  
25, rue du Plat - 69002 LYON



# UN MODELE DE SYMBIOSE : LE CHARANÇON *SITOPHILUS ORYZAE* IMPLICATIONS EVOLUTIVES

par P. Nardon, H. Charles, A. Heddi\*

## Résumé

La symbiose est une association interspécifique qui peut revêtir diverses formes allant du parasitisme au mutualisme. Chez le charançon *Sitophilus oryzae*, redoutable ravageur des céréales entreposées, une bactérie symbiotique, le symbiote principal, est parfaitement intégrée à la physiologie de l'hôte qui contrôle sa localisation et sa densité. Ces symbiotes fournissent notamment des vitamines et contribuent à l'adaptation de l'insecte à son milieu. La taille de leur génome est de 3 Mb à comparer à celle de 4,7 Mb chez la bactérie voisine *E. coli*. Cette perte de génome explique probablement la dépendance de la bactérie vis à vis de l'hôte. En plus du symbiote principal, une entérobactérie, certaines souches de *Sitophilus* semblent héberger des *Wolbachia* (Rickettsies). La nouvelle entité biologique créée par l'association est le symbiocosme, soumis à la sélection naturelle. La symbiose peut être interprétée comme un mécanisme sophistiqué d'acquisition de nouveaux gènes. A ce titre elle joue probablement un rôle dans l'évolution des métazoaires.

## Summary

Symbiosis is an interspecific association presenting various types from parasitism to mutualism. In the weevil *Sitophilus oryzae*, a major pest of stored cereals, a symbiotic bacterium, the principal symbiote, is perfectly integrated to the physiology of the host, which controls both its location and its growth. These symbiotes supply vitamins and allow a better adaptation of the insect to its development in cereals grains. Their genome size is 3 Mb, to compare with the 4.7 Mb of the related bacterium *E. coli*. This genome reduction probably explains the dependence of the symbiote from its host. In complement of the primary symbiote,

---

\* Laboratoire de Biologie Appliquée - UA INRA 203 SDI CNRS 5128 - Bâtiment 406 - INSA - 69621 VILLEURBANNE Cedex.

an enterobacterium, some *Sitophilus* strains seem to harbour *Wolbachia* (Rickettsies) as secondary symbiotes. The symbiocosm, the new biological unit created by these associations, is submitted to natural selection. Symbiosis can be interpreted as a sophisticated mechanism to acquire new genes. As a consequence it probably plays a role in the evolution of metazoans.

### **Introduction**

Dès 1877, le lichénologue Frank (in Sapp, 1994) proposait le terme de symbiose pour désigner des associations interspécifiques. Ce même terme devait être popularisé par De Bary (1879). La définition donnée est simple et caractérise différents types d'associations d'organismes spécifiquement distincts, allant du parasitisme au mutualisme, avec tous les degrés intermédiaires. L'un des partenaires, désigné comme l'hôte, est généralement de plus grande taille, alors que l'autre ou les autres associés sont de plus petite taille, et souvent phylogénétiquement fort éloignés. On les désigne comme étant les symbiotes. Ceux-ci peuvent être extérieurs à l'hôte (ectosymbiose : exemple des fourmis champignonnistes), ou internes (endosymbioses du tube digestif), ou même intracellulaires (endocytobioses à bactéries ou levures).

En fonction de la qualité de la relation entre les partenaires, on peut définir 5 grands types de symbiose, lesquels peuvent représenter en partie un phénomène de coévolution (Nardon et Grenier, 1993) :

- le parasitisme où l'un des associés finit par tuer l'autre ou se fait tuer.
- les symbioses primaires où la fitness de l'hôte est peu affectée, où les symbiotes ne sont pas localisés dans des cellules spécialisées, et ne se rencontrent pas chez tous les individus d'une population ou d'une espèce (symbioses à *Wolbachia* chez les insectes).
- les symbioses secondaires, qui sont essentiellement les symbioses du tube digestif. Dans ce cas, toute l'espèce est symbiotique (ruminants, insectes xylophages).
- les symbioses intégrées où la localisation et la densité du symbiote sont parfaitement contrôlées. Le symbiote est intracellulaire et tous les individus de l'espèce sont affectés (blattes, pucerons, charançons).



- enfin les symbioses organogénétiques, où le symbiote, une ancienne bactérie, s'est transformé en organite cellulaire (mitochondrie ou plaste) (cf Sapp, 1994).

La symbiose intégrée peut être considérée comme une étape évolutive vers la symbiose organogénétique. De même, la symbiose primaire pourrait évoluer peu à peu vers la symbiose intégrée, à la suite de la coévolution des associés. Ce n'est pour l'instant qu'une hypothèse, mais quoi qu'il en soit, la coévolution des partenaires aboutit à la constitution d'une nouvelle entité biologique, le symbiocosme, entité soumise à la sélection naturelle (Nardon et Grenier, 1993 ; Nardon, 1995).

### **Le modèle *Sitophilus***

Notre modèle de symbiose intégrée est le charançon *Sitophilus oryzae*, qui, partout dans le monde, est un grand ravageur des céréales entreposées, et se trouve en grande partie responsable de la famine dans certaines zones. Il doit sa nuisibilité notamment au fait qu'il héberge des bactéries symbiotiques qui lui fournissent des facteurs de croissance, notamment des vitamines (Wicker, 1983). Le symbiote principal est une protéobactérie du groupe  $\gamma 3$  (Campbell *et al.*, 1992). Cette bactérie ne se rencontre que dans l'ovaire et dans un bactériome larvaire accolé au tube digestif, mais ne communiquant pas avec ce dernier. La prolifération du symbiote principal est génétiquement contrôlée par l'hôte (Nardon et Wicker, 1981, Nardon et Grenier, 1988).

Les analyses de séquences de l'ADN ribosomal 16S (Campbell *et al.*, 1992) et d'un fragment de 700 paires de bases amplifié sur le symbiote et apparenté au gène GroE1 d'*E. coli* (réalisée par H. Charles) montrent que le symbiote principal est très proche d'*E. coli* (respectivement 82 % et 86 % d'homologie au niveau des bases). Le gène GroEL-like du symbiote principal de *Sitophilus oryzae* code pour la symbionine une protéine caractéristique de la symbiose (Charles *et al.*, 1995) et dont le rôle n'est pas encore connu. Elle appartient à la famille des protéines chaperon, et aurait des propriétés heat-shock.

Le symbiote principal a pu être isolé et la taille de son génome déterminée par la technique d'électrophorèse en champ pulsé (H. Charles, données non publiées). Elle s'avère de l'ordre de 3 Mb, à comparer à celle de 4,7 Mb pour *E. Coli*, son proche parent. Il est bien sûr très tentant de mettre la différence sur le compte de l'évolution du génome symbiotique dans le symbiocosme. L'étude de celui-ci montre que la bactérie est parfaitement intégrée à la physiologie de son hôte. Dans l'ovocyte prêt à la ponte, les symbiotes sont répartis dans tout le vitellus, mais en quantité particulièrement importante au pôle postérieur, au contact du déterminant germinale (Nardon, 1971). Quand se forment les cellules germinales au pôle postérieur de l'oeuf (Scheinert, 1933) elles vont donc englober automatiquement des bactéries. Les mitochondries sont transmises exactement selon le même processus. Le symbiote principal est donc un élément constant de la lignée germinale femelle. Il est en effet éliminé de la lignée mâle au cours de l'embryogenèse. Il gît d'ailleurs librement dans le cytoplasme, et n'est pas inclus dans une vacuole. Mais, contrairement aux mitochondries qui se retrouveront dans toutes les cellules, les bactéries n'infectent que les bactériocytes larvaires qui forment un bactériome chez les 2 sexes, et les cellules de la lignée germinale femelle : ovocytes et trophocytes. Cette bactérie se comporte donc comme un organite spécialisé. Le bactériome larvaire se dissocie au cours de la métamorphose et les bactériocytes migrent dans les coeca mésentériques antérieurs de l'adulte, d'où ils disparaîtront après 3 semaines. La densité des symbiotes est variable selon les souches (tableau 1), mais on dénombre au moins autant de bactéries que de cellules eucaryotes de l'hôte (estimées à  $10^6$  environ).

Précisons encore un dernier point important : si on peut obtenir, moyennant certaines précautions, des charançons aposymbiotiques, c'est à dire dépourvus de bactéries (Nardon, 1973) il est en revanche impossible de cultiver les bactéries symbiotiques *in vitro*, en dépit des très nombreuses tentatives. Cela trouve probablement une explication dans la diminution de la taille du génome du symbiote principal par rapport à la bactérie libre *E. coli*.

Pendant longtemps seul le symbiote principal, de grande taille (jusqu'à 15  $\mu\text{m}$  de long), était connu chez *Sitophilus*. Mais, en 1995, Werren *et al.* publient un arbre phylogénétique d'une bactérie du genre *Wolbachia* où figurent des symbiotes de *Sitophilus*. Au laboratoire, A. Heddi a testé sur 4 souches de *S. oryzae* et 4 souches de *S. zeamais*, une espèce jumelle, la présence ou l'absence de *Wolbachia* en amplifiant spécifiquement par PCR,



un fragment de 16 S et un autre du gène FtsZ. Trois souches de chaque semblent héberger les *Wolbachia* (données non publiées). Cette rickettsie pourrait donc être présente en tant que symbiote secondaire. Des études sont en cours pour préciser ce point.

**Tableau 1 :**

Influence du nombre de symbiotes principaux sur la fertilité et la durée du développement. On remarque que plus les bactéries sont nombreuses, plus le développement est rapide

Souches	R1	R2	Sb	LL	Aposymbiotes
Nombre de bactéries par BACTERIOME		2 800 000 (± 125 000)	1 400 000 (± 100 000)	950 000 (± 125 000)	0
par OVAIRE	111 000 (± 4 000)	88 800 (± 4 900)	56 500 (± 2 850)	41 900 (± 3 000)	0
Durée de développement (jours)	27,3 (± 0,2)	29,0 (± 0,1)	32,3 (± 0,1)	35,3 (± 0,1)	44,4 (± 0,1)
Fertilités/femelles -/14 jours	79 (± 9)	61 (± 1)	42 (± 2)	61 (± 6)	32 (± 2)

Le symbiocosme *Sitophilus* serait ainsi plus complexe que ce qui en était connu. Si pour l'instant nous ignorons le rôle des *Wolbachia* lorsqu'elles sont présentes, celui des symbiotes principaux est très important (tableau 1). Avec ses symbiotes, le charançon est près de deux fois plus fertile et se développe plus rapidement (jusqu'à moins 44 %). On imagine aisément que ces deux effets se répercutent sur la dynamique de développement de la population (Grenier *et al.* 1986). Les vitamines fournies (notamment acide pantothénique, biotine et riboflavine) interviennent dans le métabolisme énergétique (Heddi *et al.*, 1993) et d'autant plus qu'elles sont en plus grandes quantités. On comprend ainsi l'effet de la densité des symbiotes sur la vitesse de développement.



### Conclusion

Nous avons décrit rapidement le modèle *Sitophilus oryzae* mais il faut préciser que la symbiose n'est pas un phénomène rare, bien au contraire. Elle affecte aussi bien des hôtes végétaux qu'animaux, manifestant par là que la tendance à l'association est une propriété fondamentale du vivant, au même titre que la tendance à la compétition. Mais la philosophie néodarwinienne a sans doute contribué à son effacement. Yan Sapp, dans son livre récent (1994) a bien analysé ce phénomène (« *Evolution by association* »).

L'association symbiotique (interspécifique) crée une nouvelle entité biologique que nous appelons le symbiocosme (Nardon et Grenier, 1993). Cette nouvelle entité ne s'est pas constituée d'un coup de baguette magique, mais résulte de la coévolution des associés. Elle remet en cause le concept d'individu biologique, puisque ce que nous appelons une vache ou un charançon, désigne en réalité une association de plusieurs types d'organismes et donc de génomes (procaryotes et eucaryotes). Cette association, dans ses formes les plus évoluées, ne peut être dissociée sans dommage pour les partenaires. Une vache sans ses symbiotes ne peut plus vivre, c'est le couple vache-symbiotes qui a une signification biologique. Le concept d'individu concerne donc le symbiocosme.

D'après les études faites sur *Sitophilus oryzae* et d'autres insectes (Nardon et Grenier, 1989), le rôle de la symbiose est très important au plan de l'adaptation au milieu. En synthétisant des vitamines (Wicker, 1983) ou des acides aminés (Febvay *et al.*, 1995), les symbiotes permettent l'exploitation de milieux relativement pauvres ou déficients. Ainsi sans ses bactéries symbiotiques qui le fournissent en acides aminés essentiels, le puceron ne pourrait pas se développer aussi rapidement (7 jours) en se nourrissant exclusivement de sève phloémienne. Les charançons aposymbiotiques de fraîche date ne se développent pas sur le blé qui est pauvre en vitamines B. On les obtient seulement sur sorgho. Cependant, précisons que la relation hôte-symbiotes ne peut pas seulement s'analyser en terme d'additivité. Il y a aussi interaction, notamment au plan génétique (Nardon, 1978 ; Nardon et Grenier, 1988 ; Charles *et al.*, 1995).

Dans les symbioses intégrées, comme chez *Sitophilus oryzae*, le symbiote a perdu son autonomie et l'hôte fait alors paradoxalement figure de parasite de ses symbiotes, qu'il exploite au plan métabolique, et dont il

contrôle et la localisation et la densité. Pour la première fois, nous avons montré que le génome de la bactérie symbiotique était réduit par rapport aux formes libres. Nous pouvons avancer deux explications qui ne s'excluent d'ailleurs pas l'une l'autre : des gènes redondants ont pu être perdus, d'autres ont pu être transférés à l'hôte. *E. Coli* a 7 copies du gène codant l'ARN 23S, alors que le symbiote semble n'en avoir plus que deux. Nous savons que des gènes mitochondriaux ou plastidiques (*cf* Nardon, 1995) ont pu être transférés dans le noyau. Un tel processus pourrait se produire dans le cas de symbioses intégrées, comme cela est suggéré chez l'algue *Cyanophora paradoxa* (Schenk *et al.*, 1992).

La symbiose, si l'on admet cette hypothèse du transfert de gènes, pourrait alors s'interpréter comme un mécanisme sophistiqué de prédation génique.

Quoi qu'il en soit, même si l'on rejette l'hypothèse du transfert, le symbiote est lui même un « *kit de gènes* » acquis par l'hôte. Ainsi la fourniture de 5 vitamines à *S. oryzae* correspond au fonctionnement de 15 à 20 gènes acquis d'un coup et transmis à toute la descendance. La symbiose est donc un processus innovant. Selon la théorie endosymbiotique (Margulis, 1981), la cellule eucaryote se serait constituée par des acquisitions successives de symbiotes (notamment mitochondries et plastes). A ce niveau, le rôle dans l'évolution a donc été considérable. Qu'en est-il au niveau des métazoaires ?

Le rôle dans l'adaptation est indéniable. Cela a pu contribuer à l'évolution des espèces. Mais il existe aussi un autre phénomène qui peut jouer un rôle important dans la spéciation, c'est le phénomène d'incompatibilité uni ou bi-directionnelle lié à la présence de symbiotes (voir Grenier et Nardon, 1993). Ceux-ci peuvent engendrer une barrière reproductive qui pourrait faciliter la spéciation. C'est pourquoi nous pensons que la symbiose, en tant que processus innovant, joue aussi un rôle dans l'évolution des métazoaires.



### Bibliographie

Campbell B.C., Bragg T.S., Turner C.E., 1992. Phylogeny of symbiotic bacteria of four weevil species (Coleoptera : Curculionidae) based on analysis of 16S ribosomal DNA. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, **22** : 415-421.

Charles H., Ishikawa H., Nardon P., 1995. Presence of a protein specific of endocytobiosis (symbionin) in the weevil *Sitophilus*. *C.R. Acad. Sci. Paris.*, **318** : 35-41.

De Bary H.A., 1879. De la symbiose. *Revue internationale des sciences*, **3** : 301-309.

Febvay G., Liadouze I., Guillaud J., Bonnot G., 1995. Analysis of energetic amino acid metabolism in *Acyrtosiphon pisum* : a multidimensional approach to amino acid metabolism in aphids. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **29** : 45-69.

Grenier A.M., Nardon P., Bonnot G., 1986. Importance de la symbiose dans la croissance des populations de *Sitophilus oryzae* L. (Coléoptère Curculionidae). Etude théorique et expérimentale. *Acta Oecol. Oecol. Appl.*, **7** : 93-110.

Heddi A., Lefèbvre F., Nardon P., 1993. Effect of endocytobiotic bacteria on mitochondrial enzymatic activities in the weevil *Sitophilus oryzae*. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, **23** : 403-411.

Margulis L., 1981. Symbiosis in cell evolution. W.H. Freeman, Editor, San Francisco. 419 pages.

Nardon P., 1971. Contribution à l'étude des symbiotes ovariens de *Sitophilus sasakii* : localisation, histochimie et ultrastructure chez la femelle adulte. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **272D** : 2975-2978.

Nardon P., 1973. Obtention d'une souche aposymbiotique chez le charançon *Sitophilus sasakii* Tak. : différentes méthodes et comparaison avec la souche symbiotique d'origine. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **277D** : 981-984.

Nardon P., 1978. Etude des interactions physiologiques et génétiques entre l'hôte et les symbiotes chez le coléoptère curculionide *Sitophilus sasakii* (= *S. oryzae*), INSA/Université de Lyon : thèse, 202 pages.

Nardon P., 1995. Rôle de la symbiose dans l'adaptation et la spéciation. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **120** : 397-406.

Nardon P., Grenier A.M., 1988. Genetical and biochemical interactions between the host and its endocytobiotics in the weevils *Sitophilus* (Coleoptera, Curculionidae) and other related species, in *Cell to cell signals in plant, animal and microbial symbiosis*, S. Scannerini *et al.*, Editor, NATO ASI : Berlin. 255-270.



Nardon P., Grenier A.M., 1989. Endocytobiosis in Coleoptera : biological biochemical and genetical aspects, in *Insect endocytobiosis : morphology, physiology, genetics, evolution*, W. Schwemmler and G. Gassner, Editor, CRC Press : Boca Raton. 175-216.

Nardon P., Grenier A.M., 1993. Symbiose et évolution. *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, **29** : 113-140.

Nardon P., Wicker C., 1981. La symbiose chez le genre *Sitophilus* (Coléoptère, Curculionide). Principaux aspects morphologiques, physiologiques et génétiques. *Ann. Biol.*, **20** : 327-373.

Sapp J., 1994. Evolution by association. A history of symbiosis. *Oxford University Press* : 225 pages.

Scheinert W., 1933. Symbiose und Embryonalentwicklung bei Russel Käfern. *Z. Morphol. Oekol. Tiere*, **27** : 76-198.

Schenk H.E.A., Bayer M.G., Maier T.L., Lutke A., Gebhart U.B., Stevanovic S., 1992. Ferredoxin-NADP + oxido reductase of *C. paradoxa* Nucleus Encoded, but cyanobacterial gene transfer from symbiont to host, an evolutionary mechanism originating new species. *Zeitschrift für Naturforschung*, **47(c)** : 387-393.

Werren J.H., Zhang W., Guo L.R., 1995. Evolution and phylogeny of *Wolbachia* : reproductive parasites of arthropodes. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, **261** : 55-71.

Wicker C., 1983. Differential vitamin and choline requirements of symbiotic and aposymbiotic *S. oryzae* (Coleoptera : Curculionidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, **76(A)** : 177-182.

/

