



UNIVERSITÉ FRANÇOIS RABELAIS

TOURS

Ecole Doctorale : Information Biologique

Environnement et Santé

Année Universitaire : 1998-1999



REGION
CENTRE

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE TOURS

Discipline : Sciences de la vie

Par

Fabrice BÉNÉDET

Soutenance le 23 juillet 1999

Modalités de reconnaissance d'un ravageur, *Acrolepiopsis assectella*,
par son parasitoïde, *Diadromus pulchellus* :
identification et perception d'un signal polypeptidique

FIGURES & TABLEAUX

JURY :

R. BROSSUT	Directeur de Recherche - C.N.R.S. - Dijon	Rapporteur
Y. CARTON	Directeur de Recherche - C.N.R.S. - Gif sur Yvette	Rapporteur
J. F. FERVEUR	Chargé de Recherche - C.N.R.S. - Dijon	Examineur
J. HUIGNARD	Professeur - Université de Tours	Examineur
S. RENAULT	Maître de Conférences - Université de Tours	Examineur
E. THIBOUT	Directeur de Recherche - C.N.R.S. - Tours	Directeur de thèse

Source	Parasitoïde	Action sur le	Références
kairomonale		parasitoïde	bibliographiques
Extrait de <i>frass</i>	<i>Microplitis croceipes</i> (Hym. : Braconidae)	Arrêt, examen antennaire Intense examen par	Lewis & Jones (1971)
Extrait de <i>frass</i>	<i>Orgilus lepidus</i> (Hym. : Braconidae)	tapotements antennaires et	Hendry <i>et al.</i> (1973)
<i>Frass</i>	<i>Phaeogenes cynarae</i> (Hym. : Ichneumonidae)	ovipositeur Intensification de l'examen de l'aire	Bragg (1974)
<i>Frass</i>	<i>Campoletis sonorensis</i> (Hym. : Ichneumonidae)	Arrêt, examen antennaire et ovipositeur	Wilson <i>et al.</i> (1974)

Tableau 1 : Synthèse des premiers travaux réalisés, combinant la source des kairomones et le comportement induit suite à leur perception. **D'après Waage (1978).**

ELEMENTS (durée de l'observation)	Nbre de femelles testées	DUREE de CONTACT	DUREE de CONTACT
		avec l'élément / s MOY ± SEM	avec le témoin / s MOY ± SEM
Cocon + chrysalide (20 min)	25	40,98 ± 3,06*	0,03 ± 0,01***
Chrysalide (20 min)	20	22,74 ± 3,30**	0,33 ± 0,19****
Cocon (20 min)	20	24,85 ± 2,70**	0,23 ± 0,10****
Cocon (10 min)	10	40,65 ± 3,55 a	0,07 ± 0,07 d
Cocon (5 min)	20	44,14 ± 3,84 a	0,11 ± 0,08 d
Leurre + Extrait de milieu <u>avant</u> infestation (10 min)	12	0,08 ± 0,05 d	3,33 ± 1,12 e

Tableau 2 : Durée moyenne de contact / (femelle × min) exprimée en s de *D. pulchellus* en situation de choix entre un témoin et un élément expérimental (hôte, leurre). En grisé, figurent les résultats obtenus par Fauria (1994). Les valeurs suivies d'une même lettre ou du même nombre d'étoiles ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (test de Kruskal-Wallis). Les erreurs standards à la moyenne sont indiquées pour chaque moyenne (SEM)

ELEMENTS (durée de l'observation)	Nbre de femelles testées	NOMBRE de	NOMBRE de
		CONTACTS avec l'élément / min	CONTACTS avec le témoin / min
		MOY ± SEM	MOY ± SEM
Cocon + chrysalide (20 min)	25	0,14 ± 0,03 *	0,02 ± 0,01 **
Chrysalide (20 min)	20	0,24 ± 0,05 *	0,05 ± 0,02 ***
Cocon (observation 20 min)	20	0,24 ± 0,05 *	0,06 ± 0,02 ***
Cocon (10 min)	10	0,28 ± 0,05 b	0,01 ± 0,01 a
Cocon (5 min)	20	0,47 ± 0,05 c	0,02 ± 0,02 a
Leurre + Extrait de milieu <u>avant</u> infestation (10 min)	12	0,08 ± 0,05 a	0,27 ± 0,08 b

Tableau 3 : Nombre moyen de contacts / (femelle × min) de *D. pulchellus* en situation de choix entre un témoin et un élément expérimental (hôte, leurre). En grisé, figurent les résultats obtenus par Fauria (1994). Les valeurs suivies d'une même lettre ou du même nombre d'étoiles ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (test de Kruskal-Wallis). Les erreurs standards à la moyenne sont indiquées pour chaque moyenne (SEM).

ELEMENTS (durée de l'observation)	Nbre de femelles testées	Femelles	Femelles
		avec contacts mandibulaires (%)	avec contacts abdominaux (%)
Cocon + chrysalide (20 min)	25	non relevés	+
Chrysalide (20 min)	20	non relevés	+
Cocon (20 min) (Fauria, 1994)	20	non relevés	+
Cocon (10 min)	10	100 a	100 a
Cocon (5 min)	20	95 a	95 a
Leurre + Extrait de milieu <u>avant</u> infestation (10 min)	12	0 b	0 b

Tableau 4 : Pourcentage moyen de femelles *D. pulchellus* ayant présenté des contacts mandibulaires ou abdominaux avec un élément lorsqu'elles sont en situation de choix entre un témoin et un élément expérimental (hôte, leurre). Les valeurs témoins ne sont pas figurées car aucun contact abdominal n'a lieu sur un leurre témoin en coton. En grisé, figurent les résultats obtenus par Fauria (1994). Le signe + indique la présence de contacts abdominaux (nombre non déterminé). Les données suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du Chi-carré).

ELEMENTS = LEURRE + (durée de l'observation)	Nbre de femelles testées	DUREE de CONTACT avec l'élément / s MOY ± SEM	DUREE de CONTACT avec le témoin / s MOY ± SEM
Extrait à l' Eau (10 min)	30	40,53 ± 3,10 a	0,78 ± 0,36 d
Extrait à l' Hexane non déshydraté (10 min)	30	40,87 ± 2,92 a	0,67 ± 0,26 d
Extrait au Dichlorométhane A. <i>assectella</i> sur poireau (20 min)	25	25,11 ± 4,40 *	1,53 ± 1,0 **
Extrait au Dichlorométhane A. <i>assectella</i> sur milieu (10 min)	33	32,08 ± 3,03 b	0,32 ± 0,12 d
Extrait à l' Eau dilué 1/5 (10 min)	15	11,83 ± 3,62 c	0,07 ± 0,07 d
Extrait à l' Eau dilué 1/10 (10 min)	15	5,25 ± 1,95 c	0,12 ± 0,12 d

Tableau 5 : Durée moyenne de contact / (femelle × min) exprimée en s de *D. pulchellus* en situation de choix entre un témoin (leurre + solvant) et un élément expérimental (leurre + extrait de cocons lavés par un solvant). En grisé, figure le résultat obtenu par Fauria (1994). Les valeurs suivies d'une même lettre ou du même nombre d'étoiles ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (test de Kruskal-Wallis). Les erreurs standards à la moyenne sont indiquées pour chaque moyenne (SEM).

ELEMENTS = LEURRE + (durée de l'observation)	Nbre de femelles testées	NOMBRE de CONTACTS avec l'élément / min MOY ± SEM	NOMBRE de CONTACTS avec le témoin / min MOY ± SEM
Extrait à l' Eau (10 min)	30	0,20 ± 0,02 b	0,03 ± 0,01 a
Extrait à l' Hexane <u>non</u> déshydraté (10 min)	30	0,26 ± 0,03 b	0,04 ± 0,02 a
Extrait au Dichlorométhane A. <i>assectella</i> sur poireau (20 min)	25	0,10 ± 0,02 *	0,09 ± 0,02 *
Extrait au Dichlorométhane A. <i>assectella</i> sur milieu (10 min)	33	0,28 ± 0,04 b	0,03 ± 0,01 a
Extrait à l' Eau dilué 1/5 (10 min)	15	0,17 ± 0,03 b	0,01 ± 0,01 a
Extrait à l' Eau dilué 1/10 (10 min)	15	0,35 ± 0,07 b	0,01 ± 0,01 a

Tableau 6 : Nombre moyen de contacts / (femelle × min) de *D. pulchellus* en situation de choix entre un témoin (leurre + solvant) et un élément expérimental (leurre + extrait de cocons lavés par un solvant). En grisé, figure le résultat obtenu par Fauria (1994). Les valeurs suivies d'une même lettre ou du même nombre d'étoiles (Fauria, 1994) ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (test de Kruskal-Wallis). Les erreurs standards à la moyenne sont indiquées pour chaque moyenne (SEM).

ELEMENTS = LEURRE + (durée de l'observation)	Nbre de femelles testées	Femelles avec contacts mandibulaires (%)	Femelles avec contacts adominaux (%)
Extrait à l' Eau (10 min)	30	86,7 a	86,7 a
Extrait à l' Hexane non déshydraté (10 min)	30	93,3 a	93,3 a
Extrait au Dichlorométhane A. <i>assectella</i> sur poireau (20 min)	25	non relevés	+
Extrait au Dichlorométhane A. <i>assectella</i> sur milieu (10 min)	33	81,8 a	81,8 a
Extrait à l' Eau dilué 1/5 (10 min)	15	33,3 b	33,3 b
Extrait à l' Eau dilué 1/10 (10 min)	15	6,6 c	6,6 c

Tableau 7 : Pourcentage moyen de femelles *D. pulchellus* ayant présenté des contacts mandibulaires et abdominaux avec un élément lorsqu'elles sont en situation de choix entre un témoin (leurre + solvant) et un élément expérimental (leurre + extrait de cocons lavés par un solvant). Les valeurs témoins ne sont pas figurées car aucun contact abdominal n'a lieu sur les leures témoins en coton. En grisé, figure le résultat obtenu par Fauria (1994). Le signe + indique la présence de contacts abdominaux (nombre non déterminé). Les données suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% (test du Chi-carré).

Petites molécules	Hôte / parasitoïde	Action sur le parasitoïde	Référence bibliographique
Mélange de monoalcools de sesterterpenoids et de diols de diterpenoids extrait des cires de l'hôte	<i>Ceroplastes rubens</i> (Hom. : Coccidae) / <i>Anicetus beneficus</i> (Hym. : Encyrtidae)	Déclenche le comportement d'oviposition	Takabayashi & Takahashi (1985)
Oxalate de calcium des glandes collatérales de l'hôte	<i>Periplaneta americana</i> (Dictyopt. : Blattidae) / <i>Tetrastichus hagenowii</i> (Hym. : Eulophidae)	Déclenche le comportement de piqûre	Vinson & Piper (1986)
O-caffeoyltyrosine du bouclier de l'hôte	<i>Aonidiella aurantii</i> (Hom.: Coccidae) / <i>Aphytis melinus</i> (Hym. Aphelinidae)	Déclenche le comportement d'oviposition	Millar & Hare (1993)
(E)-2-décénal des glandes méthathoraciques de l'hôte	<i>Nezara viridula</i> (Hétéropt : Pentatomidae) / <i>Trissolcus basalii</i> (Hym. : Scelionidae)	Déclenche le comportement d'oviposition (« drilling »)	Mattiacci <i>et al.</i> (1993)

Tableau 8 : Exemples de petites molécules kairomonales utilisées par les parasitoïdes.

Macromolécules	Hôte / parasitoïde	Action sur le parasitoïde	Référence bibliographique
Composé “ protein-like ” de l’hôte secondaire	<i>Coccus hesperidum</i> (Hom. : Coccidae) / <i>Cheiloneurus noxius</i> (Hym. : Encyrtidae) hyperparasitoïde	Induit les examens antennaires et ovipositeurs, et la piqûre	Weseloh & Bartlett (1971)
	<i>Lymantria dispar</i> (Lep. : Lymantriidae) / <i>Cotesia (=Apanteles) melanoscelus</i> (Hym. : Braconidae)	Induit des examens de l’hôte par l’ovipositeur	Weseloh (1977)
Protéines des glandes reproductives accessoires de l’hôte	<i>Heliothis virescens</i> (Lép. : Noctuidae) / <i>Telenomus heliothidis</i> (Hym. : Scelionidae)	Induit des examens des œufs de l’hôte par l’ovipositeur	Strand & Vinson, (1982, 1983a, b)
Muccopolysaccharides des glandes salivaires de l’hôte	<i>P. americana</i> (Dictyopt. : Blattidae) / <i>T. hagenowii</i> (Hym. : Eulophidae)	Déclenche la piqûre	Vinson & Pippert (1986)
Protéine des glandes reproductives accessoires de leurs hôtes	<i>Spodoptera frugiperda</i> et <i>Heliothis zea</i> (Lép. : Noctuidae) / <i>Telenomus remus</i> (Hym. : Scelionidae) et <i>Trichogramma pretiosum</i> (Hym. : Trichogrammatidae)	Induit des examens de l’hôte par l’ovipositeur	Nordlund <i>et al.</i> (1987)
	Sécrétion de protéines-muccopolysaccharides des œufs de l’hôte	<i>Nezara viridula</i> (Hétéro. : Pentatomidae) / <i>Trissolcus basalis</i> (Hym. : Scelionidae)	Stimule la ponte

Tableau 9 : Exemples de macromolécules kairomonales utilisées par les parasitoïdes.

Etapes	Solutions	Temps du traitement
1 - Fixation	2% acide phosphorique, 50% (v/v) d'éthanol	3 h minimum
2 - Lavages	eau désionisée	3 × 10 min
3 - Prétraitements	2% (v/v) acide phosphorique	3 × 10 min
4 - Traitement	17 % (v/v) de méthanol, 15% (w/v) de sulfate d'ammonium et 2% (v/v) acide phosphorique	30 min
5 - Coloration	0,1% (w/v) bleu de Coomassie® G250 et R250 dans le tampon de traitement	12 à 24 h

Tableau 10 : Procédure de traitement des gels de polyacrylamide pour une coloration au bleu de Coomassie® colloïdal (d'après Neuhoff *et al.*, 1988).

Etapes	Solutions	Temps du traitement
1 - Fixation	50% (v/v) de méthanol, 12% (v/v) d'acide acétique, 0.05% (v/v) de formaldéhyde,	2 h minimum
2 - Lavages	50% (v/v) d'éthanol	2 × 20 min
3 - Prétraitement	0,02% (w/v) de pentahydrate thiosulphate de sodium	1 min
4 - Rinçages	eau désionisée	2 × 20 s
5 - Imprégnation	0,2% (w/v) de nitrate d'argent, 0,3% (v/v) de formaldéhyde	20 min
6 - Rinçages	eau désionisée	2 × 20 s
7 - Révélation	6% (w/v) de carbonate de sodium, 0,2% (v/v) de formaldéhyde et 0,001% (w/v) de pentahydrate thiosulphate de sodium	10 min
8 - Rinçages	eau désionisée	2 × 2 min
9 - Arrêt de la coloration	50% (v/v) méthanol, 12% (v/v) d'acide acétique	10 min
10 - Incubation	50% (v/v) de méthanol	20 min minimum

Tableau 11 : Procédure de traitement des gels de polyacrylamide pour une coloration à l'argent (d'après Blum *et al.*, 1987).

N° d'injection	EXTRAITS OU FRACTIONS (temps de rétention correspondant)	Nbre de femelles testées	DUREE de	DUREE de
			CONTACT sur leurre expérimental / s MOY ± SEM	CONTACT Sur le témoin / s MOY ± SEM
1	Extrait à l'eau	10	33,50 ± 5,40 a	0,05 ± 0,05 c
	Echantillon total (5 à 50 min)	12	24,17 ± 7,38 a	0,26 ± 0,15 c
2	Fraction entre 5 à 20 min	10	3,11 ± 0,77 b	0,0 ± 0,0 c
	Fraction entre 20 à 35 min	10	12,11 ± 6,80 b	0,0 ± 0,0 c
	Fraction entre 35 à 50 min	10	11,46 ± 4,49 b	0,05 ± 0,05 c
3	Fraction entre 5 à 15 min	10	16,13 ± 5,31 a	0,13 ± 0,09 c
	Fraction entre 5 à 10 min	6	0,47 ± 0,16 c	0,21 ± 0,16 c
4	Fraction entre 10 à 15 min	6	3,62 ± 1,26 b	0,15 ± 0,10 c

Tableau 12 : Durée moyenne de contact / (femelle × min) exprimé en s de *D. pulchellus* en situation de choix entre un témoin (leurre + eau) et un leurre expérimental (leurre + extrait ou fraction récoltée après CLHP). Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (test de Kruskal-Wallis). Les erreurs standards à la moyenne (SEM) sont indiquées pour chaque moyenne.

N° d'injection	EXTRAITS OU FRACTIONS (temps de rétention correspondant)	Nbre de Femelle s testées	Femelles avec CONTACTS ABDOMINAUX
			avec le leurre expérimental (%)
1	Extrait à l'eau	10	80 a
	Echantillon total (5 à 50 min)	12	50 ab
2	Fraction entre 5 à 20 min	10	0 c
	Fraction entre 20 à 35 min	10	20 b
	Fraction entre 35 à 50 min	10	30 b
3	Fraction entre 5 à 15 min	10	40 ab
4	Fraction entre 5 à 10 min	6	0 c
	Fraction entre 10 à 15 min	6	0 c

Tableau 13 : Pourcentage moyen de femelles *D. pulchellus* ayant présenté des contacts abdominaux avec un témoin (leurre + eau) et/ou un leurre expérimental (leurre + extrait ou fraction récoltée après CLHP). Les valeurs témoins ne sont pas présentées puisqu'aucun contact abdominal n'a eut lieu sur un leurre témoin en coton. Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas statistiquement différentes au seuil de 5% (Test du Chi-carré, d.d.l. = 2).

Nom de l' oligonucléotide	Séquence 5' \longrightarrow 3'	Tm moyen en °C
SERIC1R	CT(AGCT)GA(AG)CT(AGCT)CC(AG)CT(AGCT)GA	
	(NH ₂ -S S G S S S-COOH)	54
SERIC2R	CT(AGCT)GA(AG)CT(AGCT)CC(AGCT) GA (AGCT)GA	
	(NH ₂ -S S G S S S-COOH)	54
SERIC3R	CT(AGCT)GA(AG)CT(AGCT)CC(AGCT) CC (AGCT)GA	
	(NH ₂ -S G G S S S-COOH)	56,4
SERIC4R	CT(AGCT)GA(AG)CT(AGCT)CC(AGCT) GT (AGCT)GA	
	(NH ₂ -S T G S S S-COOH)	54

Tableau 15 : Oligonucléotides réverses déduits des oligopeptides STGSSS, SGGSSS et SSGSSS.

Gradient sur une période de 45 min					
Eluant	Temps (min)				
	0 à 5	5 à 35	35 à 38	38 à 39	39 à 45
Pourcentage de A	100	100 à 0	0	0 à 100	100
Pourcentage de B	0	0 à 100	100	100 à 0	0

Gradient sur une période de 65 min					
Eluant	Temps (min)				
	0 à 5	5 à 55	55 à 58	58 à 59	59 à 65
Pourcentage de A	100	100 à 0	0	0 à 100	100
Pourcentage de B	0	0 à 100	100	100 à 0	0

Tableau 16 : Gradient d'élution pour les séparations CLHP des polypeptides.

Bande	Oligonucléotides	Séquences 5' → 3'	Tm
polypept			moyen
idique			en °C
B1	B1oligoa1	GA(CT)CC(AGCT)TG(GCT)AG(AG)AA(AG)GT	52
	B1oligoa2	GA(CT)CC(AGCT)TG(GCT)CG(AGCT)AA(AG)GT	54,4
	B1oligob1	AA(AG)GT(AGCT)TT(AG)CC(AGCT)CC(AGCT)AA	49,2
	B1oligob2	AA(AG)GT(AGCT)CT(AGCT)CC(AGCT)CC(AGCT)AA	51,6
	B1serb3	AG(AG)AA(AG)GT(AGCT)(CT)T(AGCT)CC(AGCT)CC	52,8
	B1serb4	CG(AGCT)AA(AG)GT(AGCT)(CT)T(AGCT)CC(AGCT)CC	55,2
	B1serI1R	(AGCT)CC(CT)AA(AGCT)CC(AG)AA(CT)AA(AGCT)AC	51,4
	B1serI2R	(AGCT)CC(AGCT)AG(AGCT)CC(AG)AA(AGCT)AG(AGCT)AC	56
B2	B2oligoc1	GC(AGCT)AT(ACT)CC(AGCT)CA(CT)CC(AGCT)GA	56
	B2oligod1	GA(AG)CA(AG)TT(CT)AA(AG)GA(CT)GT	46,7
	Reo	CCCCGGGATCCTGCAGAATTC	
	Oligo(dT)-Reo	CCCCGGGATCCTGCAGAATTC-(14T)	
	Lgt10F	AGCAAGTTCAGCCTGGTTAAG	57,9
	Lgt10R	CTTATGAGTATTTCTTCCAGGGTA	57,6

Tableau 17 : Bandes polypeptidiques ; Nom, séquence et Tm des oligonucléotides obtenus après microséquençage des polypeptides **B1** et **B2** et autres oligonucléotides nécessaire à certaines expériences.

(a)	(b)
Quantité ou concentration finale des composés	Conditions d'amplification Nombres de Durée, Température cycles
1 µg d'ADN 0,5 mM dNTP 0,3 mM d'oligo B1oligoa1, B1oligoa2, B1oligob1, B1oligob2, B2oligoc1, B2oligod1 0,3 mM d'oligo Reo 0,75 mM MgCl ₂ 1X Tampon fabricant 2,5 U Mélange d'enzymes Eau (Q.S.P.) 50 µl	1 2 min à 92°C
	10 10 s à 92°C 30 s à Tm-8°C oligo 10 min à 68°C
	15 10 s à 92°C 30 s à Tm-4°C oligo + 20 s à chaque cycle 10 min à 68°C
	1 7 min à 68°C

Tableau 18 : Quantité ou concentration des composés **(a)** et conditions d'amplification **(b)** utilisées pour des fragments > 1 kb (d'après ExpandTM Long Template PCR System, Boehringer Mannheim).

(a)
Concentration finale des réactifs
0,15 mM dNTP
2 mM d'oligo Lgt10F .
2 mM d'oligo Lgt10R
2,5 mM MgCl ₂
1X Tampon fabricant
0,5 U Taq polymérase
Eau (Q.S.P.) 50µl

(b)	
Conditions d'amplification	
Nombres de cycles	Durée, Température
1	2 min à 95°C
30	1 min à 95°C 30 s à Tm-4°C oligo 1 min 30 à 72°C + 1 s à chaque cycle
1	2 min à 72°C

Tableau 19 : Concentration des réactifs **(a)** et conditions **(b)** d'amplification utilisées.

(a)	(b)
Concentration finale des réactifs	Conditions d'amplification
Au minimum 500 ng d'ADN	Nombres de cycles Durée, Température
0,5 mM dNTP	1 2 min à 95°C
0,3 mM oligo B1oligo(b1 ou b2)	3 1 min à 95°C
0,3 mM d'oligo Lgt10(F ou R)	30 s à Tm-7°C oligo
0,75 mM MgCl ₂	1 min 30 à 72°C
1X Tampon fabricant	30 1 min à 95°C
2,5 U Taq polymérase	30 s à Tm-4°C oligo
Eau (Q.S.P.) 50µl	1 min 30 à 72°C
	+ 1 s à chaque cycle
	1 2 min à 72°C

Tableau 20 : Concentration des réactifs (a) et conditions (b) d'amplification utilisées.

(a)	(b)
Concentration finale des réactifs	Conditions d'amplification
	Nombres de cycles Durée, Température
1 µg d'ADN	1 2 min à 95°C
0,5 mM dNTP	3 1 min à 95°C
0,3 mM oligo B2oligo(c1 ou d1)	30 30 s à Tm-7°C oligo
0,3 mM d'oligo Lgt10(F ou R)	30 1 min 30 à 72°C
0,75 mM MgCl ₂	30 1 min à 95°C
1X Tampon fabricant	30 30 s à Tm-4°C oligo
2,5 U Taq polymérase	30 1 min 30 à 72°C
Eau (Q.S.P.) 50µl	30 + 1 s à chaque cycle
	1 2 min à 72°C

Tableau 21 : Concentration des réactifs (a) et conditions (b) d'amplification utilisées.