

Mise au point

Le système gène-enzyme de l' α -glycérophosphate déshydrogénase chez *Drosophila melanogaster*

Liliane CHARLES-PALABOST

Université de Paris VII, Laboratoire de Génétique des Populations
Tour 42-32, 2, place Jussieu, F 75005 Paris

Résumé

L' α -glycérophosphate déshydrogénase de *Drosophila melanogaster* existe sous trois formes isozymiques, séparables par électrophorèse sur gel d'amidon, et différentes entre elles par leur localisation tissulaire, leur fonction métabolique et certaines de leurs propriétés biochimiques. Ces isoenzymes sont codées par le même gène de structure noté *Gpdh*⁺ et localisé sur le second chromosome à 20,5 UCO.

Trois allèles de ce gène (deux communs et un rare) sont connus dans les populations naturelles où ils affectent simultanément la mobilité électrophorétique des trois isoenzymes. Les principales alloenzymes (*Fast*, *Slow* et hétérozygote) se distinguent chez l'adulte par leurs activités spécifiques et leurs constantes de Michaelis en fonction de la température.

Le taux de polymorphisme alloenzymatique est élevé, puisque toutes les populations analysées présentent deux allèles communs, certaines ayant en plus un allèle rare. Ce polymorphisme, stable au cours du temps, semble maintenu, soit par une sélection larvaire dépendant de la fréquence avec avantage du type rare, soit par un phénomène d'inversion des valeurs adaptatives des génotypes homozygotes selon la composition du milieu nutritif des larves.

Mots clés : *Drosophila melanogaster*, α -glycérophosphate déshydrogénase, isoenzymes, alloenzymes, polymorphisme.

Summary

The gene-enzyme system L-glycerol 3 phosphate dehydrogenase (α -Gpdh) in Drosophila melanogaster

Three isozymes of α -glycerophosphate dehydrogenase are identified in *Drosophila melanogaster*; separable by starch gel electrophoresis, they are both tissue and developmentally specific and are the products of a single structural gene designated *Gpdh*⁺ and mapped to II-20.5. Each isozyme has a distinct metabolic role and differs significantly in its kinetic parameters, thermal stability and optimal pH of activity.

Natural populations of *Drosophila melanogaster* are polymorphic at the *Gpdh*⁺ locus in that there are three allelic variants discernible by starch gel electrophoresis; these mutations change simultaneously the mobility of all three isozymes. The major allozymes (*Fast*, *Slow* and heterozygote) in adults are distinguishable by temperature dependence of specific activity and K_m .

The degree of allozyme polymorphism is high because all the populations analysed have two common alleles and sometimes a rare allele. This polymorphism, stable over time, seems to be maintained, either by frequency-dependent selection favouring the rare type, or by inversion of the selective advantage of the two homozygous genotypes according to different larval environments.

Keys words : *Drosophila melanogaster*, α -glycerophosphate dehydrogenase, isozymes, allozymes, polymorphism.

I. Les systèmes gène-enzyme

Les systèmes gène-enzyme de la drosophile, bien connus du point de vue génétique et biochimique, peuvent être très utiles pour l'analyse de nombreux problèmes, relatifs en particulier à l'organisation, au fonctionnement et à la régulation des gènes chez les Eucaryotes (MACINTYRE & O'BRIEN, 1976 ; KOTARSKI *et al.*, 1983). Tel est le cas, chez *Drosophila melanogaster*, du système gène-enzyme de l' α -glycérophosphate déshydrogénase (nom officiel : L-glycérol 3 phosphate : NAD oxydoréductase ; symbole : α -Gpdh ; numéro 1.1.1.8. dans la classification internationale) qui a fait l'objet d'études diverses, aussi bien en génétique biochimique qu'en génétique des populations. Il paraît donc intéressant de présenter une synthèse des connaissances actuelles sur ce système qui joue également un rôle fondamental dans le métabolisme de tous les insectes.

II. La place de l' α -Gpdh dans le métabolisme intermédiaire

L' α -Gpdh est l'une des deux enzymes du cycle de l' α -glycérophosphate ; elle est présente dans le cytoplasme, donc soluble. La seconde enzyme, mitochondriale, est une flavoprotéine appelée α -glycérophosphate oxydase (nom officiel : L-glycérol 3 phosphate cytochrome C oxydoréductase ; symbole : α -GPO).

La figure 1 résume le fonctionnement du cycle. L' α -Gpdh réduit la dihydroxyacétone phosphate (DHAP) produite par la glycolyse, en α -glycérophosphate (α -GP) qui diffuse dans les mitochondries où l' α -GPO l'oxyde en DHAP ; les électrons ainsi libérés sont donnés à la chaîne respiratoire pour les phosphorylations oxydatives. La DHAP est alors disponible pour de nouvelles réductions dans le cytoplasme. Le processus constitue un shunt qui produit de l'ATP (adénosine triphosphate) et régénère le NAD^+ cytoplasmique : fonctions I et II de la figure 1. Ces deux fonctions sont coordonnées et ne peuvent être séparées dans le métabolisme cellulaire. L' α -GP étant un précurseur de l'acide phosphatidique, lui-même intermédiaire dans la synthèse des phospholipides et des triglycérides, l' α -Gpdh est également liée à l'anabolisme des lipides (cf. fonction III de la figure 1). Par ces trois fonctions essentielles, l' α -glycérophosphate déshydrogénase occupe donc une place fondamentale dans le métabolisme intermédiaire (BEWLEY & MILLER, 1979 ; GILBERT, 1967 ; KENNEDY, 1957 ; O'BRIEN & MACINTYRE, 1972 a et b).

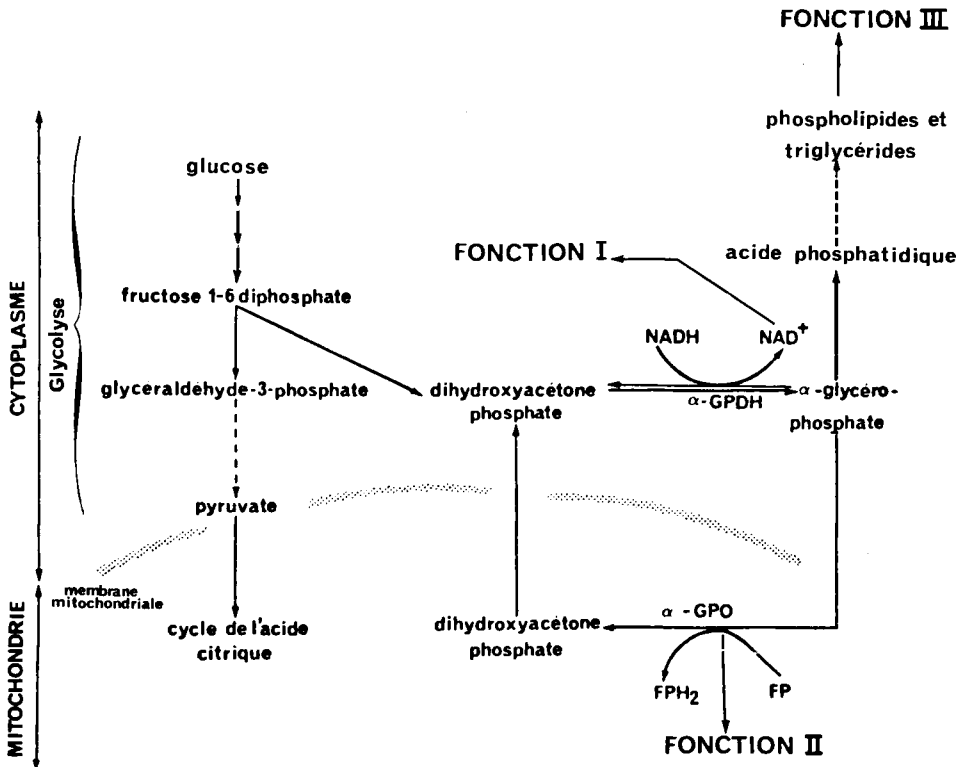


FIG. 1

Le cycle de l' α -glycérophosphate.
NAD : nicotinamide adénine dinucléotide - FP : flavoprotéine.
Autres abréviations : voir le texte.

The α -glycerophosphate cycle.
NAD : nicotinamide adenine dinucleotide - FP : flavoprotein.
Other abbreviations : see text.

III. Le polymorphisme de l' α -Gpdh

Il se traduit par l'existence d'isoenzymes et d'alloenzymes.

A. Les isoenzymes

Trois isoenzymes ont été décrites, initialement par WRIGHT & SHAW (1969). Elles sont séparables par électrophorèse en gel d'amidon et, selon leur mobilité électrophorétique décroissante vers l'anode, ont reçu le nom d' α -Gpdh 1, 2 ou 3. Les trois formes sont présentes chez l'adulte, mais tous les systèmes de tampon ne les mettent pas en évidence ; par exemple, le système Poulík (POULIK, 1957) ne révèle que l' α -Gpdh 1,

alors que les tampons TRIS-acide citrique pH 7,0 (WRIGHT & SHAW, 1969) ou acide citrique-histidine-soude pH 7,0 (BEWLEY *et al.*, 1974) assurent une bonne séparation des trois isoenzymes.

L'activité enzymatique mesurée en fonction du stade de développement et les isoenzymes correspondantes sont représentées sur la figure 2. L'activité de l' α -Gpdh

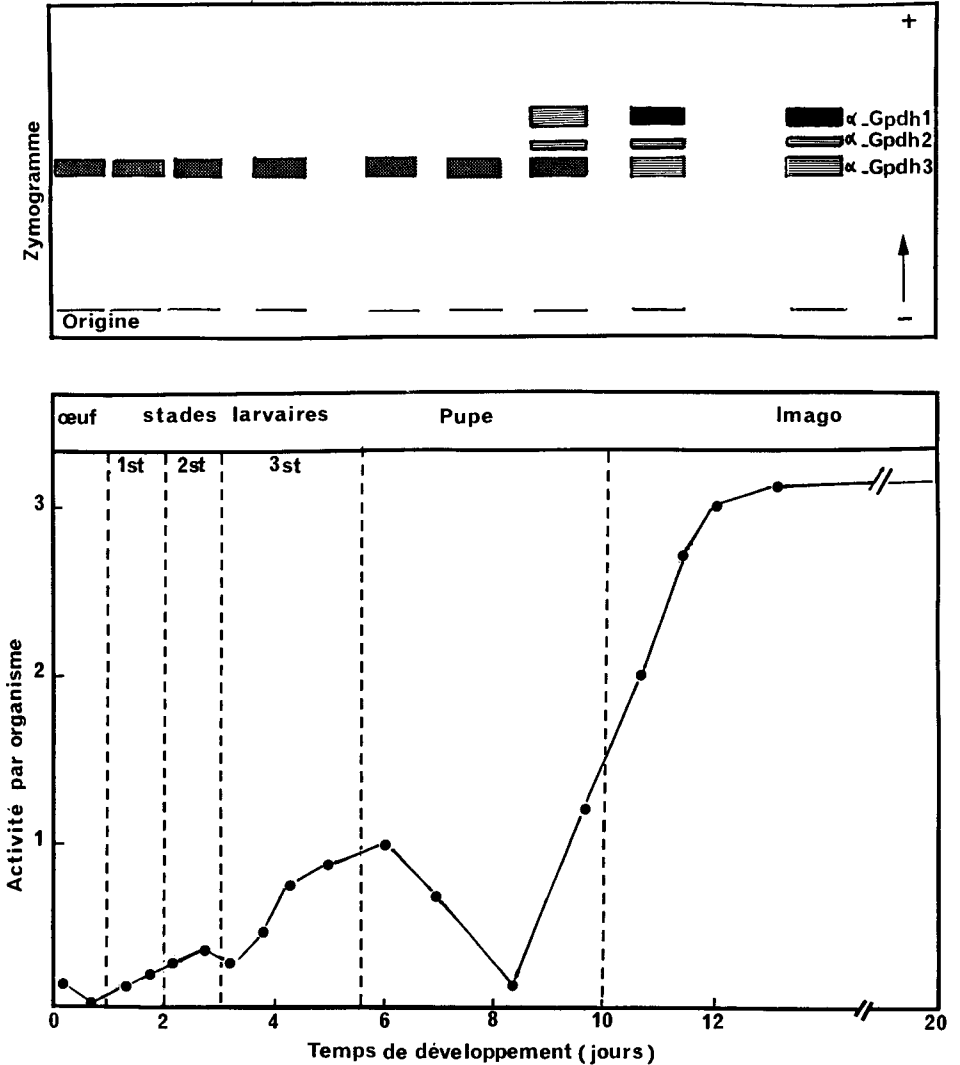


FIG. 2

Activité et formes d'expression de l' α -Gpdh au cours du développement de Drosophila melanogaster (d'après BEWLEY & MILLER, 1979). The complete developmental program of α -Gpdh expression in Drosophila melanogaster (from BEWLEY & MILLER, 1979).

augmente régulièrement au cours des trois stades larvaires, puis diminue lors de la pupaison pour atteindre un minimum au 8^e jour du développement à 25 °C. Durant cette période, seule l' α -Gpdh 3 est présente. A partir du 9^e jour, l'activité remonte jusqu'à un maximum observé au 12^e jour ; cette phase coïncide avec l'apparition des formes 1 et 2. L' α -Gpdh 2 n'existant qu'en très faible quantité, les deux principales isoenzymes correspondent à l' α -Gpdh 1 et 3. L' α -Gpdh 1 apparaît donc comme l'isoenzyme spécifique de l'adulte, alors que l' α -Gpdh 3 représente l'isoenzyme larvaire (BEWLEY & MILLER, 1979).

Les formes 1 et 3 diffèrent par leur localisation tissulaire (tableau 1, d'après RECHSTEINER, 1970) et par certaines de leurs propriétés biochimiques : stabilité à la chaleur (BEWLEY *et al.*, 1974), pH optimum d'activité (WRIGHT & SHAW, 1969). Les vitesses de réaction, mesurées en fonction de la concentration en substrat (α -GP, DHAP ou NAD⁺), montrent qu'elles ont également des cinétiques différentes (BEWLEY *et al.*, 1974). En effet, les vitesses de réactions de l' α -Gpdh 3 sont toujours supérieures à celles de l' α -Gpdh 1, ce qui se traduit par des constantes de Michaelis (K_m) plus faibles pour la forme 3 que pour la forme 1 (tableau 2, d'après BEWLEY & MILLER, 1979).

TABLEAU 1

Localisation tissulaire des isoenzymes 1 et 3 (d'après RECHSTEINER, 1970).

Tissue localization of the adult (α -Gpdh 1) and larval (α -Gpdh 3) isozymes of L-glycerol 3 phosphate dehydrogenase (from RECHSTEINER, 1970).

Tissus	Isoenzymes	α -Gpdh 3	α -Gpdh 1
Larve			
— Corps gras		+++	—
— Autres tissus		+	—
Adulte			
— Tête		—	+
— Thorax : muscles du vol		—	+++
— Abdomen : corps gras		+++	—

— : Absence totale.
+ : Faible concentration.
+++ : Forte concentration.

TABLEAU 2

Constantes de Michaelis (K_m exprimé en mM) des isoenzymes α -Gpdh 1 et 3 en fonction des différents substrats (d'après BEWLEY & MILLER, 1979).

Michaelis constants (K_m , mM) obtained for α -Gpdh 1 and α -Gpdh 3 (from BEWLEY & MILLER, 1979).

Isoenzymes	K_m	$K_{\alpha\text{-GP}}$	K_{NAD^+}	K_{DHAP}	K_{NADH}
α -Gpdh 3	0,29 ± 0,046	0,30 ± 0,022	0,027 ± 0,0035	0,012 ± 0,001	
α -Gpdh 1	0,59 ± 0,091	0,38 ± 0,016	0,522 ± 0,067	0,078 ± 0,0096	

Chaque isoenzyme a un rôle métabolique particulier (BEWLEY & LUCCHESI, 1977). L' α -*Gpdh 1*, principalement localisée dans les muscles du vol, est associée à de fortes concentrations d' α -GPO (O'BRIEN & MACINTYRE, 1972 b). Or le tissu musculaire des insectes est constamment oxygéné par un système de trachées très développé. Ces observations suggèrent que l' α -*Gpdh 1* assure la production d' α -GP (dont l'oxydation par l' α -GPO conduit à la formation d'ATP) et la régénération du NAD⁺ cytoplasmique pour la poursuite de la glycolyse (fonctions I et II de la figure 1). L'importance de ces fonctions dans les muscles du vol de la drosophile est confirmée par l'incapacité de voler des mutants nuls de l' α -*Gpdh* (O'BRIEN & SHIMADA, 1974). L' α -*Gpdh 3* est essentiellement localisée dans le corps gras où l'activité de l' α -GPO est faible, alors que celle de l' α -*Gpdh y* est très élevée. Par conséquent l' α -*Gpdh 3* ne peut avoir un rôle dans le cycle de l' α -glycérophosphate; elle assure très certainement une double

fonction, en maintenant le rapport $\frac{\text{NAD}^+}{\text{NADH}}$ du cytoplasme, et en fournissant l' α -GP

précurseur dans la biosynthèse des phospholipides. La moins bonne viabilité des mutants nuls de l' α -*Gpdh* est précisément due au manque d' α -GP nécessaire à la formation des lipides durant les périodes larvaire et pupale (O'BRIEN & MACINTYRE, 1972 b).

De nombreux auteurs se sont intéressés au déterminisme génétique de ces isoenzymes. Des mutations du gène de l' α -glycérophosphate déshydrogénase modifiant simultanément la mobilité électrophorétique des trois isoenzymes, l'intervention de plusieurs gènes de structure peut être exclue, car dans ces conditions, une mutation donnée ne devrait changer la mobilité électrophorétique que d'une seule forme. Les preuves définitives de l'existence d'un seul gène ont été apportées par la structure moléculaire des deux principales isoenzymes. Le poids moléculaire est de 66.000 ou 67.000 pour l' α -*Gpdh 1* (BEWLEY *et al.*, 1974; COLLIER *et al.*, 1976) et de 66.000 pour l' α -*Gpdh 3* (BEWLEY *et al.*, 1974). Des échantillons des deux formes présentent après dénaturation la même bande en électrophorèse sur gel d'acrylamide. Le poids moléculaire de cette sous-unité est de 32.000 (MILLER & BERGER, 1979). Chaque isoenzyme apparaît donc constituée de deux monomères de même taille. La composition globale en acides aminés révèle une grande similitude entre l' α -*Gpdh 1* et 3, puisque l'on trouve les mêmes aminoacides en nombres identiques pour les deux formes, à l'exception de l'acide glutamique, de l'alanine, de la leucine et de l'arginine: tableau 3, d'après NIESEL *et al.*, 1982. Ces auteurs ont également montré que les isoenzymes 1 et 3 diffèrent par la séquence terminale de trois acides aminés du polypeptide T₁, obtenu après digestion par la trypsine (tableau 4). Comme l'acide aspartique, l'acide glutamique et la leucine sont parmi les acides aminés les plus nombreux de la protéine, leur absence dans le polypeptide terminale T₁ de l' α -*Gpdh 3* ne se remarque pas au niveau de la composition globale de l'isoenzyme.

L'ensemble de ces résultats indiquent clairement que les trois isoenzymes sont codées par le même gène de structure (symbole: *Gpdh*⁺). Une modification spécifique posttranscriptionnelle du polypeptide *Gpdh*⁺ conduirait à la formation de chaque forme moléculaire. La nature de cette transformation est actuellement en cours d'étude; le produit primaire du gène *Gpdh*⁺ serait le polypeptide α -*Gpdh 1* qu'une endopeptidase spécifique cliverait au niveau du carboxyl de la méthionine pour aboutir à la formation des sous-unités α -*Gpdh 3* (NIESEL *et al.*, 1982; SULLIVAN *et al.*, 1983). Le gène *Gpdh*⁺ est localisé sur le bras gauche du second chromosome à 20,5 ± 2,5 UCO (O'BRIEN & MACINTYRE, 1972 b).

TABLEAU 3

Composition globale en acides aminés des deux principales isoenzymes : α -Gpdh 1 et 3
(d'après NIESEL *et al.*, 1982).

Amino acid composition of the adult (α -Gpdh 1) and larval (α -Gpdh 3) isozymes
of L-glycerol 3 phosphate dehydrogenase (from NIESEL *et al.*, 1982).

Acides aminés	α -Gpdh 1 (forme FF)	α -Gpdh 3 (forme FF)
Cystéine	7	7
Acide aspartique	33	33
Thréonine	14	14
Sérine	10	10
Acide glutamique	26	27
Proline	11	11
Glycine	26	26
Alanine	27	26
Valine	25	25
Méthionine	5	5
Isoleucine	22	22
Leucine	27	26
Tyrosine	5	5
Phénylalanine	13	13
Histidine	8	8
Lysine	23	23
Arginine	9	8
Tryptophane	2	2
TOTAL	293	291

TABLEAU 4

Séquences du polypeptide terminal T_1 (obtenu après digestion par la trypsine)
des isoenzymes α -Gpdh 1 et 3 (d'après NIESEL *et al.*, 1982).

Sequences of carboxyl-terminal region of α -Gpdh^F 1 and α -Gpdh^F 3
(from NIESEL *et al.*, 1982).

α -Gpdh 1 ^F	Asp — His — Pro — Glu — His — Met
	 Glu
	 Asp
	 Leu — COOH
α -Gpdh 3 ^F	Asp — His — Pro — Glu — His — Met — COOH

B. *Les alloenzymes*

Deux variants électrophorétiques de l' α -Gpdh ont été initialement mis en évidence par GRELL (1967) ; ils ont reçu le nom de *Fast* et *Slow* par rapport à leur mobilité vers l'anode en gel d'amidon. Actuellement trois allèles sont décrits dans les populations naturelles de *Drosophila melanogaster* : deux allèles communs *Fast* (*F*) et *Slow* (*S*) et un allèle rare, *Ultra-Fast* (*UF*). Des études de dénaturation thermique (BEWLEY, 1978 ; ALATOSSAVA & LAKOVAARA, 1981) n'ont pas révélé de variation supplémentaire, indiquant que chaque alloenzyme correspond à une seule espèce moléculaire. Des croisements entre individus homozygotes *FF* et *SS* donnent une descendance hétérozygote, où les adultes présentent, sur gel d'amidon, de quatre à cinq bandes, selon le pouvoir de résolution du gel ou le système de tampon utilisé (BEWLEY & MILLER, 1979). Pour chaque isoenzyme, on observe deux bandes parentales et une bande intermédiaire dont les intensités sont dans le rapport 1 : 2 : 1 (cf. structure dimérique de l'enzyme).

MILLER *et al.* (1975) ont étudié les propriétés biochimiques des alloenzymes de l'adulte. Les trois formes (*Fast*, *Slow* et hétérozygote) ne se distinguent, ni par leur pH optimum d'activité, ni par leur température de stabilité. Elles diffèrent par leurs activités spécifiques (quantité de NAD oxydé par mn et par mg de protéine) et leurs constantes de Michaelis en fonction de la température ; l'activité du variant *Fast* augmente régulièrement avec la température (de 5° à 28 °C), alors que celles des *FS* et *SS* n'augmentent que jusqu'aux températures intermédiaires et diminuent ensuite (températures optimales de 14 °C pour les *FS* et de 23 °C pour les *SS*). Parallèlement, la forme *Fast* a le plus faible K_m pour des températures comprises entre 23 et 28 °C, alors qu'aux températures inférieures à 15 °C, il s'agit de la forme hétérozygote (mesures effectuées avec une concentration de 120 μ M de NADH). Enfin, il faut noter que les fortes concentrations de NADH inhibent préférentiellement les formes *FS* et *SS* et ont un moindre effet sur la forme *FF*.

IV. Alloenzymes et génétique des populations

A. *Fréquences alléliques dans des populations naturelles de diverses origines géographiques*

Toutes les études concernent l'isoenzyme de l'adulte (α -Gpdh I). Les électrophorèses ont été effectuées, dans la majorité des cas, directement sur les individus capturés, plus rarement sur les descendants de lignées iso-femelles. Les résultats obtenus par les différents auteurs ont permis d'établir le tableau 5. Bien que nous n'ayons que très peu d'échantillons pour l'Europe du Sud, l'examen de ce tableau indique que les populations européennes analysées ne diffèrent pas fondamentalement entre elles. Par contre, les populations des continents américain, africain, asiatique ou australien présentent une fréquence de l'allèle *F* significativement plus élevée que celle trouvée en Europe.

TABLEAU 5

Fréquences moyennes des allèles F et S de l' α -Gpdh 1 dans des populations naturelles moyennes de Drosophila melanogaster de diverses origines géographiques.
Mean F and S allelic frequencies of α -Gpdh 1 in different natural populations of Drosophila melanogaster.

Populations	Nombre d'individus analysés par population (N)	Fréquences alléliques moyennes			Auteurs	
		F	S	rare		
<u>EUROPE</u>						
ANGLETERRE	. Pays de Galles (6)	N > 263	0,761	0,239	-	FRANKLIN, 1981
	.Vallées de la Saône et du Rhône (15)	117 < N < 317	0,529	0,468	0,003	GIRARD et PALABOST, 1976
FRANCE	.Région lyonnaise (4)	106 < N < 376	0,657	0,343	-	DAVID, 1982
	.Région méditerranéenne (13)	52 < N < 310	0,488	0,511	0,001	CHARLES-PALABOST, 1981
	.Corse (Propriano: 1)	116	0,534	0,466	-	DAVID, 1982
ITALIE	.Bologne (1)	214	0,486	0,514	-	DAVID, 1982
	.Sardaigne (2)	160	0,500	0,500	-	DAVID, 1982
GRECE	.Corfou (1)	89	0,621	0,379	-	TRIANAPHYLIDIS et al., 1980
	.Céphallénie (1)	217	0,537	0,463	-	ALAHOTIS, 1974
	.Cavros (1)	138	0,627	0,373	-	ALAHOTIS, 1974
<u>AMERIQUE DU NORD</u>						
ETATS-UNIS	.Etat de New York (4)	non précisé	0,850	0,150	-	BERGER, 1971
	.Est des USA (17)	81 < N < 513	0,849	0,150	0,001	JOHNSON et SCHAEFFER, 1973
	.Ouest des USA (4)	358 < N < 758	0,795	0,205	-	VOELKER et al., 1977
	.Amherst (Massachusetts : 1)	146	0,723	0,277	-	BAND, 1975
	.Amherst (Massachusetts : 1)	non précisé	0,834	0,166	-	SINGH et al., 1982
	.Brownsville (Texas:1)	non précisé	0,682	0,318	-	SINGH et al., 1982
CANADA	.Ottawa (1)	non précisé	0,800	0,200	-	SINGH et al., 1982
	.Hamilton (1)	non précisé	0,810	0,190	-	SINGH et al., 1982
<u>AMERIQUE DU SUD</u>						
BRESIL	.Porto-Alegre (1)	100	0,815	0,185	-	CHARLES-PALABOST et LEHMANN
<u>AFRIQUE DU NORD</u>						
TUNISIE	.Nasr' Allah (1)	150	0,490	0,510	-	MONTCHAMP-MOREAU, non publié
<u>ISRAEL</u>						
	.4 populations analysées	57 < N < 122	0,619	0,381	-	GROSSMAN, 1973
<u>AFRIQUE NOIRE</u>						
	.Bénin, Burundi, Cameroun, Congo-Brazzaville (6)	108 < N < 742	0,987	0,011	0,002	DAVID, 1982
<u>ASIE</u>						
	.Taiwan (1)	non précisé	0,875	0,125	-	SINGH et al., 1982
	.Vietnam (1)	non précisé	0,765	0,235	-	SINGH et al., 1982
	.Japon (3)	78 < N < 396	0,853	0,147	-	WATANABE et WATANABE, 1977
<u>AUSTRALIE</u>						
	.33 populations analysées	16 < N < 300	0,762	0,238	-	OAKESHOTT et al., 1982

Dans la première colonne, les chiffres entre parenthèses correspondent aux nombres de populations analysées.

L'existence d'un cline en fonction de la latitude, mis en évidence par JOHNSON & SCHAFFER (1973) pour des populations de l'Est des Etats-Unis, vient d'être confirmée par les travaux de OAKESHOTT *et al.* (1982) sur des populations d'Europe, d'Amérique du Nord, d'Asie et d'Australie. Contrairement à ce qui avait été avancé par ALAHOTIS *et al.* (1977), les résultats de OAKESHOTT et collaborateurs indiquent clairement que ce cline ne peut pas s'expliquer par une corrélation positive entre la fréquence de l'allèle *F* et les températures maximales enregistrées dans les différentes localités.

B. Evolution du polymorphisme au cours du temps

Cette évolution a été suivie pour sept populations naturelles françaises (tableau 6, d'après CHARLES-PALABOST, 1981) et trois originaires du Pays de Galles (figure 3, d'après FRANKLIN, 1981). L'analyse du tableau 6 et de la figure 3 montre que le polymorphisme de l' α -Gpdh 1 est remarquablement stable au cours du temps.

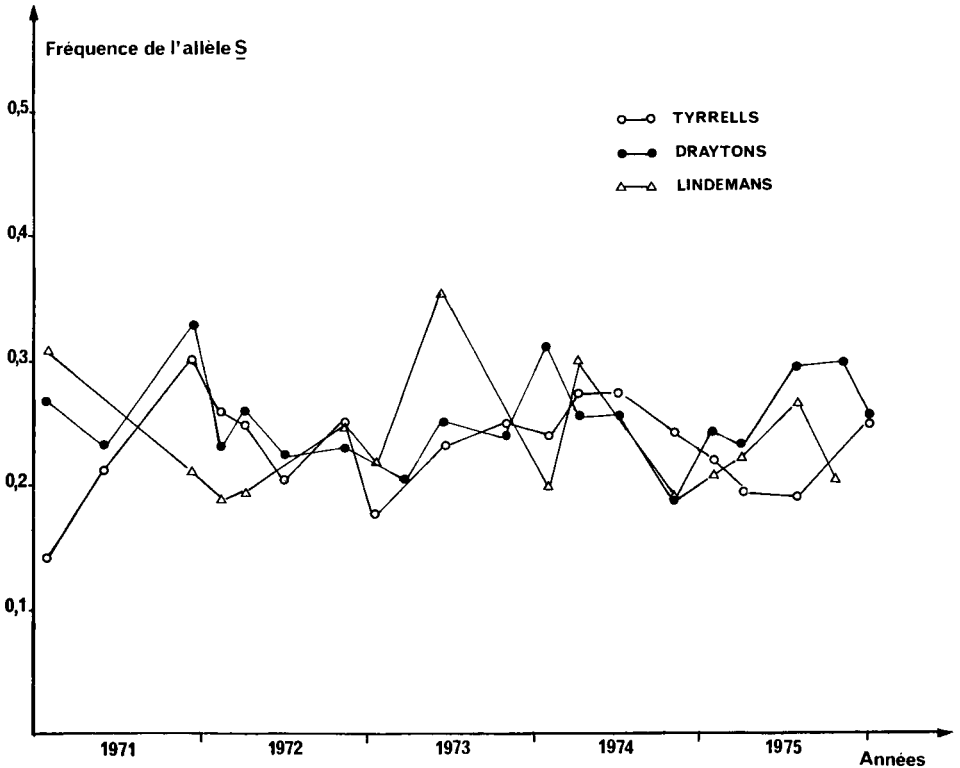


FIG. 3

Stabilité du polymorphisme de l' α -Gpdh 1 de Drosophila melanogaster pour trois populations naturelles originaires du Pays de Galles (d'après FRANKLIN, 1981).

Changes over five years in the α -Gpdh 1^S frequencies of three south Wales natural populations of Drosophila melanogaster (from FRANKLIN, 1981).

TABLEAU 6

Stabilité du polymorphisme au locus α -Gpdh de sept populations naturelles françaises de Drosophila melanogaster (d'après CHARLES-PALABOST, 1981).

Stability over time of the α -Gpdh polymorphism in seven french natural populations of Drosophila melanogaster (from CHARLES-PALABOST, 1981).

Localités	Génotypes	Années		
		1973	1976	
Marsannay-la-Côte (Côte-d'Or)	FF	16	27	
	FS	71	50	
	SS	30	20	
	Rare	—	5	
	χ^2_2	5,71		
Juliéna (Rhône)	FF	50	32	
	FS	62	67	
	SS	37	36	
	χ^2_2	3,48		
		1973	1976	
Brouilly (Rhône)	FF	38	19	
	FS	74	59	
	SS	46	31	
	χ^2_2	2,02		
		1973	1974	1976
Tain-l'Hermitage (Drôme)	FF	31	49	33
	FS	57	78	74
	SS	26	39	22
	Rare	—	4	2
	χ^2_4	2,27		
Bourg-Saint-Andéol (Ardèche)	FF	49	42	32
	FS	67	87	62
	SS	32	36	30
	Rare	2	2	—
	χ^2_4	3,02		
Remoulins (Gard)	FF	30	38	43
	FS	95	65	96
	SS	24	30	41
	Rare	—	2	—
	χ^2_4	7,66		
Mèze (Hérault)	FF	43	33	56
	FS	46	55	122
	SS	27	32	79
	χ^2_4	9,78*		
		1973	1974	1978

* $P < 0,05$; les six premières populations sont originaires des vallées de la Saône et du Rhône ; la population 7 est originaire du midi méditerranéen.

C. Facteurs responsables du maintien de ce polymorphisme

1. Evolutions en cages à populations : rôle de la sélection

Différentes populations expérimentales ont été constituées et leur évolution suivie à 25 °C pendant un certain nombre de générations. Le tableau 7 précise les conditions expérimentales et donne les résultats obtenus par les auteurs. L'examen de ce tableau

TABLEAU 7

Résultats des différentes évolutions en cages à populations.

Populations naturelles d'origine	Constitution des cages	Fréquences initiales de <i>F</i>	Nombre de générations d'évolution
FRANCE			
<i>Tostes 1973</i> (Normandie) $F = 0,91, S = 0,09$	A partir de souches homozygotes <i>FF</i> et <i>SS</i>		
	2 cages	0,10	34
	2 cages	0,90	
<i>Tostes 1976</i> (Normandie) $F = 0,80, S = 0,20$	Population naturelle placée en cages		
	2 cages	0,80	36
<i>Brouilly 1976</i> (Bourgogne) $F = 0,45, S = 0,55$	A partir de la descendance de couples		
	2 cages	0,10	18
	2 cages	0,75	
AMÉRIQUE			
<i>Lafayette 1968</i> $F = 0,90, S = 0,10$	A partir de souches homozygotes <i>FF</i> et <i>SS</i>		
	8 cages	0,50	14
<i>Providence 1974</i> $F = 0,42, S = 0,58$	A partir de la descendance de couples		
	2 cages	0,54	50

montre que le polymorphisme de l' α -Gpdh se maintient sous l'influence de la sélection, puisque toutes les populations ont été conservées avec des effectifs suffisants pour éliminer les phénomènes de dérive génétique. Les fréquences d'équilibre extrêmement proches, observées pour ces 20 populations aux contextes génétiques par ailleurs fort différents, indiquent que la sélection a agi, si ce n'est directement sur le gène de l' α -glycérophosphate déshydrogénase, tout au moins sur un très petit fragment de chromosome qui inclut le locus α -Gpdh.

Results of different evolutions in population cages.

Contextes génétiques	Fréquences de F à l'équilibre	Nombre de générations pour atteindre l'équilibre	Auteurs
FRANCE			
Génome remanié par rapport à celui de la population naturelle <i>Tostes</i>	0,60 \pm 0,02	4	CHARLES-PALABOST & MEDINA, 1982
Génome identique à celui de la population naturelle <i>Tostes</i>	0,60 \pm 0,02	14	CHARLES-PALABOST & MEDINA, 1982
Génome voisin de celui de la population naturelle <i>Brouilly</i>	0,58 \pm 0,02	6	CHARLES-PALABOST & MEDINA, 1982
AMÉRIQUE			
Génome remanié par rapport à celui de la population naturelle <i>Lafayette</i>	0,70	6	BERGER, 1971
Génome voisin de celui de la population naturelle <i>Providence</i>	0,60	30	CAVENER & CLEGG, 1981

Afin d'écarter l'influence de gènes très liés à celui de l' α -*Gpdh*, les viabilités de l'œuf à l'adulte ont été mesurées pour les trois génotypes sur des milieux directement reliés à l'une des fonctions de l'isoenzyme larvaire, à savoir la production d' α -glycérophosphate, précurseur des triglycérides et des phospholipides (BEWLEY & MILLER, 1979). Ces viabilités ont donc été déterminées sur des milieux d'élevage avec ou sans addition d'un acide gras, l'octanoate de sodium (PALABOST-CHARLES, 1982). En l'absence d'octanoate, les viabilités des trois génotypes, statistiquement différentes entre elles, peuvent être rangées selon la relation : $SS > FS > FF$; l'adjonction d'octanoate modifie la précédente relation qui devient : $FF > FS > SS$ ou $FS > FF > SS$, selon la concentration du produit. L'acide gras inverse donc l'avantage sélectif des deux génotypes homozygotes; son mode d'action sur l' α -*Gpdh* n'est pas connu, mais les changements de viabilité observés dans ces conditions permettent de conclure avec une bonne probabilité à l'action directe de la sélection sur le gène de l' α -*Gpdh*.

2. Influence des valeurs sélectives variables

Les viabilités de l'œuf à l'adulte des génotypes *FF*, *FS* et *SS* ont été estimées au cours de l'évolution de populations expérimentales (PALABOST-CHARLES, 1980; PALABOST-CHARLES *et al.*, 1980). Les résultats ont montré qu'une sélection larvaire dépendant de la fréquence, avec avantage du type rare, était responsable du maintien du polymorphisme de l' α -*Gpdh* dans ces populations.

3. Influence du milieu nutritif

Des mesures de viabilités larvo-nymphales ont été effectuées pour les génotypes *FF*, *FS* et *SS* sur trois milieux nutritifs et à deux températures (18° et 25 °C); la densité larvaire jouant un rôle important dans l'évolution des populations d'insectes, son influence a été également analysée (CHARLES-PALABOST, 1982). Les différentes conditions de milieu nutritif ont entraîné une inversion des valeurs adaptatives des génotypes *FF* et *SS*, indépendamment de la densité larvaire et de la température. Ce changement de l'avantage sélectif des deux génotypes homozygotes selon la nature du milieu nutritif constitue un autre mécanisme susceptible de maintenir la variabilité au locus α -*Gpdh*. Etant donnée la grande variété des milieux colonisés par *Drosophila melanogaster*, il est très probable que ce phénomène existe dans la nature.

4. Influence de la température

Nous avons indiqué précédemment que les alloenzymes de l'adulte différaient par leurs activités spécifiques et leurs K_m en fonction de la température (MILLER *et al.*, 1975). Ces résultats, comparés à ceux de ALAHIOTIS *et al.* (1977), BERGER (1971) et de JOHNSON & SCHAFFER (1973), suggèrent que la température peut être un facteur de maintien du polymorphisme de l' α -*Gpdh*. Or, en cultures pures, les viabilités larvo-nymphales des trois génotypes se sont révélées indépendantes des températures examinées — 18 et 25 °C — (CHARLES-PALABOST, 1982), résultat qui rejoint celui de SCHENFELD & MAC KECHNIE (1979) obtenu chez les adultes. Par contre, en cultures mixtes et sur milieu carencé en levure, MAC KECHNIE *et al.* (1981) ont décelé un net désavantage sélectif des hétérozygotes à hautes températures (25 et 28 °C). Les résultats des différents auteurs apparaissent donc contradictoires.

Par conséquent, il semble que, chez *Drosophila melanogaster*, le maintien du polymorphisme au locus α -*Gpdh* soit le résultat de deux mécanismes : 1) un phé-

TABLEAU 8

Estimations des viabilités des trois génotypes de l' α -Gpdh en fonction des génotypes au locus de l'Adh (d'après CAVENER & CLEGG, 1981).

Joint α -Gpdh-Adh mean viability estimates with their empirical standard errors for the ethanol and control populations (from CAVENER & CLEGG, 1981).

	Milieu sans éthanol <i>Adh</i>				Milieu avec éthanol <i>Adh</i>		
	<i>FF</i>	<i>FS</i>	<i>SS</i>		<i>FF</i>	<i>FS</i>	<i>SS</i>
<i>FF</i>	0,750 \pm 0,212	1,164 \pm 0,163	0,765 \pm 0,096	<i>FF</i>	0,864 \pm 0,146	0,968 \pm 0,136	0,909 \pm 0,167
<i>FS</i>	0,935 \pm 0,160	1,000	1,080 \pm 0,130	<i>FS</i>	0,836 \pm 0,130	1,000	0,964 \pm 0,214
<i>SS</i>	0,863 \pm 0,194	1,059 \pm 0,139	0,992 \pm 0,148	<i>SS</i>	0,932 \pm 0,203	1,288 \pm 0,338	0,596 \pm 0,158

nomène d'inversion des valeurs adaptatives des génotypes homozygotes selon la composition du milieu nutritif des larves et 2) une sélection larvaire dépendant de la fréquence. Une investigation plus approfondie paraît nécessaire pour établir clairement le rôle de la température dans ce maintien.

D. Interactions avec d'autres systèmes enzymatiques

L'éthanol, ajouté au milieu d'élevage de populations expérimentales, entraîne une augmentation significative de la fréquence de l'allèle *F* de l' α -*Gpdh* au cours des 18 premières générations, puis une diminution rapide jusqu'à la 50^e génération (fréquences égales à 0,40 ou 0,10 selon les cages); dans les populations témoins la fréquence de *F* se stabilise autour de 0,60 (CAVENER & CLEGG, 1981). Parallèlement, des estimations de viabilité des génotypes mettent en évidence des interactions entre les loci de l'alcool-déshydrogénase (également située sur le chromosome II, mais à 50,1 ÜCO; symbole *Adh*) et de l' α -*Gpdh* (CAVENER & CLEGG, 1981; tableau 8). D'après les calculs de ces auteurs, deux gènes étroitement liés à celui de l' α -*Gpdh* seraient responsables de l'adaptation à l'alcool du milieu. Mais il n'est pas possible d'écarter l'influence directe de l'alcool sur l' α -*Gpdh*, car l'activité de l'*Adh* conduit à une accumulation de NADH connu comme inhibiteur de l' α -glycérophosphate déshydrogénase et plus particulièrement des formes *FS* et *SS* (MILLER *et al.*, 1975; CAVENER, 1983).

V. Système gène-enzyme de l' α -*Gpdh* et gènes de régulation

La mise en évidence des gènes de régulation et de leurs mécanismes d'action chez les Eucaryotes constituent actuellement l'un des domaines essentiels de la recherche en génétique évolutive. Or les résultats présentés montrent que les deux principales isoenzymes (α -*Gpdh* 1 et 3) de l' α -glycérophosphate déshydrogénase chez *Drosophila melanogaster* se distinguent, en particulier, par leur localisation tissulaire et leur temps d'apparition au cours du développement. Elles sont codées par le même gène de structure qui s'exprime donc différemment selon le stade du développement ou le tissu considéré. Chaque isoenzyme peut ainsi servir de marqueur spécifique dans la recherche des variations de l'expression du gène *Gpdh*⁺ au cours du développement. Par conséquent, le système gène-enzyme de l' α -*Gpdh* apparaît comme un outil idéal dans l'étude des variants de régulation. LAURIE-AHLBERG & BEWLEY (1983) viennent de démontrer l'existence de tels variants, situés sur les chromosomes II et III, et qui modifient la quantité d'enzyme produite par les larves et les adultes.

Reçu le 26 juillet 1983.

Accepté le 9 décembre 1983.

Remerciements

L'auteur remercie vivement M^{me} Monique LEHMANN qui a réalisé l'illustration graphique. Cet article est présenté dans le cadre de l'E.R.A. 406 et du G.R.E.C.O. 44 du C.N.R.S.

Références bibliographiques

- ALAHOTIS S., 1974. Enzyme polymorphisms in two *Drosophila melanogaster* populations of southern Greece. *D.I.S.*, **51**, 88.
- ALAHOTIS S., MILLER S., BERGER E., 1977. Natural selection at the α -Gpdh locus in *Drosophila*. *Nature*, **269**, 144-145.
- ALATOSSAVA T., LAKOVAARA S., 1981. Thermal stability of α -glycerophosphate dehydrogenase in *Drosophila*. *Biochem. Genet.*, **19**, 311-320.
- BAND H.T., 1975. A survey of isozyme polymorphism in a *Drosophila melanogaster* natural population. *Genetics*, **80**, 761-771.
- BERGER E.M., 1971. A temporal survey of allelic variation in natural and laboratory populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **67**, 121-136.
- BEWLEY G.C., 1978. Heat stability studies of the α -glycerophosphate dehydrogenase locus in populations of *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Genet.*, **16**, 769-775.
- BEWLEY G.C., LUCCHESI J.C., 1977. Origin of α -glycerophosphate dehydrogenase isozymes in *Drosophila melanogaster* and their functional relationship in the α -glycerophosphate cycle. *Biochem. Genet.*, **15**, 235-251.
- BEWLEY G.C., MILLER S., 1979. Origin and differentiation of the soluble α -glycerophosphate dehydrogenase isozymes in *Drosophila melanogaster*. *Isozymes : Current Topics in Biological and Medical Research*, **3**, 23-52.
- BEWLEY G.C., RAWLS J.M., LUCCHESI J.C., 1974. α -Gpdh in *Drosophila melanogaster* : kinetic differences and developmental differentiation of the larval and adult isozymes. *J. Insect. Physiol.*, **20**, 153-165.
- CAVENER D.R., 1983. The response of enzyme polymorphisms to developmental rate selection in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, sous presse.
- CAVENER D.R., CLEGG M.T., 1981. Multigenic response to ethanol in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, **35**, 1-10.
- CHARLES-PALABOST L., 1981. *Mise en évidence du polymorphisme de l' α -glycérophosphate déshydrogénase de Drosophila melanogaster et analyse des facteurs responsables de son maintien*. Thèse de doctorat d'Etat, Université Paris VII.
- CHARLES-PALABOST L., 1982. Influence du milieu sur le maintien du polymorphisme de l' α -glycérophosphate déshydrogénase de *Drosophila melanogaster*. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **122**, 467-477.
- CHARLES-PALABOST L., MEDINA J., 1982. Rôles respectifs du gène et du génome dans le maintien du polymorphisme au locus α -Gpdh de *Drosophila melanogaster*. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **122**, 365-372.
- COLLIER G.E., SULLIVAN D.T., MACINTYRE R.J., 1976. Purification of α -Gpdh from *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Biophys. Acta*, **429**, 316-323.
- DAVID J., 1982. Latitudinal variability of *Drosophila melanogaster* : allozyme frequencies divergence between european and afrotropical populations. *Biochem. Genet.*, **20**, 747-761.
- FRANKLIN I.R. An analysis of temporal variation at isozyme loci in *Drosophila melanogaster*. In : Gibson J.B., Oakeshott J.G. (ed.), *Genetic studies of Drosophila populations*, 217-236. Australian National University.
- GILBERT L.I., 1967. Lipid metabolism and function in insects. *Adv. Insect Physiol.*, **4**, 69-211.
- GIRARD P., PALABOST L., 1976. Etude du polymorphisme enzymatique de 15 populations naturelles de *Drosophila melanogaster*. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **117**, 41-55.
- GRELL E.H., 1967. Electrophoretic variants of α -glycerophosphate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, **158**, 1319-1320.
- GROSSMAN A.I., 1973. Study of alcohol dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase in the Israel natural populations of *Drosophila melanogaster*. *D.I.S.*, **50**, 119.
- JOHNSON F.M., SCHAFFER H.E., 1973. Isozyme variability in species of the genus *Drosophila*. VII. - Genotype - environment relationships in populations of *Drosophila melanogaster* from the eastern United States. *Biochem. Genet.*, **10**, 149-163.
- KENNEDY A., 1957. Biosynthesis of phosphatides. *Fed. Proc.*, **16**, 847-853.
- KOTARSKI M.A., PICKERT S., LEONARD D.A., LA ROSA G.J., MACINTYRE R.J., 1983. The characterization of α -glycerophosphate dehydrogenase mutants in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **105**, 387-407.

- LAURIE-AHLBERG C.C., BEWLEY G.C., 1983. Naturally occurring genetic variation affecting the expression of *Gpdh* in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Genet.*, sous presse.
- MACINTYRE R.J., O'BRIEN S.J., 1976. Interacting gene-enzyme systems in *Drosophila*. *Ann. Rev. Genet.*, **10**, 281-318.
- MACKECHNIE S.W., KOHANE M., PHILLIPS S.C., 1981. A search for interacting polymorphic enzyme loci in *Drosophila melanogaster*. In : Gibson J.B., OAKESHOTT J.G. (ed.), *Genetic studies of Drosophila populations*, 121-138. Australian National University.
- MILLER S., BERGER E., 1979. Purification of α -glycerophosphate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster* larvae and a partial structural comparison with the form purified from adult. *Insect. Biochem.*, **9**, 355-364.
- MILLER S., PEARCY R.W., BERGER E., 1975. Polymorphism at the α -glycerophosphate dehydrogenase locus in *Drosophila melanogaster*. I. - Properties of adult allozymes. *Biochem. Genet.*, **13**, 175-188.
- NIESEL D.W., PAN Y.C., BEWLEY G.C., ARMSTRONG F.B., LI S.S., 1982. Structural analysis of adult and larval isozymes of sn-glycerol-3-phosphate dehydrogenase of *Drosophila melanogaster*. *J. Biol. Chem.*, **257**, 979-983.
- OAKESHOTT J.G., GIBSON J.B., ANDERSON P.R., KNIBB W.R., ANDERSON D.G., CHAMBERS G.K., 1982. Alcohol dehydrogenase and glycerol-3-phosphate dehydrogenase clines in *Drosophila melanogaster* on different continents. *Evolution*, **36**, 86-96.
- O'BRIEN S.J., MACINTYRE R.J., 1972 a. The α -glycerophosphate cycle in *Drosophila melanogaster*. I. - Biochemical and developmental aspects. *Biochem. Genet.*, **7**, 141-161.
- O'BRIEN S.J., MACINTYRE R.J., 1972 b. The α -glycerophosphate cycle in *Drosophila melanogaster*. II. - Genetic aspects. *Genetics*, **71**, 127-138.
- O'BRIEN S.J., SHIMADA Y., 1974. The α -glycerophosphate cycle in *Drosophila melanogaster*. IV. - Metabolic, ultrastructural and adaptive consequences of α -*Gpdh-1* « Null » mutations. *J. Cell. Biol.*, **63**, 864-882.
- PALABOST-CHARLES L., 1980. The maintenance mechanism of polymorphism at the α -*Gpdh* locus in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Genet.*, **18**, 905-913.
- PALABOST-CHARLES L., ANKOLABEHRE D., PERIQUET G., 1980. Influence of genetic background and frequency-dependent selection in the maintenance of polymorphism at the α -*Gpdh* locus in *Drosophila melanogaster*. *Genetika (Acta Biologica Iugoslavica)*, **12**, 147-156.
- PALABOST-CHARLES L., 1982. Selection at the α -*Gpdh* locus in experimental populations of *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Genet.*, **20**, 461-474.
- POULIK M.D., 1957. Starch-gel electrophoresis in a discontinuous system of buffer. *Nature*, **180**, 1477-1479.
- RECHSTEINER M.C., 1970. *Drosophila* lactate dehydrogenase and α -glycerophosphate dehydrogenase : distribution and change in activity during development. *J. Insect Physiol.*, **16**, 1179-1192.
- SCHENFELD E., MACKECHNIE S.W., 1979. The α -glycerophosphate dehydrogenase (α -*Gpdh*) polymorphism in *Drosophila melanogaster* : adult survival under temperature stress. *Theor. Appl. Genet.*, **54**, 235-237.
- SINGH R.S., HICKEY D.R., DAVID J., 1982. Genetic differentiation between geographically distant populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **101**, 235-256.
- SULLIVAN D.T., DONOVAN F.A., SKUSE G., 1983. Developmental regulation of glycerol-3-phosphate dehydrogenase synthesis in *Drosophila*. *Biochem. Genet.*, **21**, 49-62.
- TRIANAPHYLIDIS C.D., PANOURGIAS J.N., SCOURAS Z.G., IOANNIDIS G.C., 1980. A comparison of gene-enzyme variation between *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Genetica*, **51**, 227-231.
- VOELKER R.A., MUKAI T., JOHNSON F.M., 1977. Genetic variation in populations of *Drosophila melanogaster* from the western United States. *Genetica*, **47**, 143-148.
- WATANABE T.K., WATANABE T., 1977. Enzyme and chromosome polymorphisms in Japanese natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **85**, 319-329.
- WRIGHT D.A., SHAW C.R., 1969. Genetics and ontogeny of α -glycerophosphate dehydrogenase isozymes in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Genet.*, **3**, 343-353.