

PARASITOLOGIE ANIMALE. — *Interprétation génétique des zymogrammes de Flagellés des genres Trypanosoma et Leishmania*. Note (*) de Michel Tibayrenc, Marie-Louise Cariou et Michel Solignac, présentée par Pierre-Paul Grassé.

L'analyse de la variabilité enzymatique entre des souches de *Trypanosoma cruzi* conduit à penser que ces organismes sont diploïdes et qu'il existe ou a existé récemment une forme de sexualité au moins occasionnelle. Les distances génétiques ont été calculées sur douze loci entre trois de ces souches.

A survey of enzyme variability between several strains of Trypanosoma cruzi allows to think that these organisms are diploids. According to the data sexuality, may be only occasional, has been hypothesized, at least in the recent past. The genetic distances between three strains are calculated for twelve loci.

L'étude des isoenzymes a été d'un grand secours pour la caractérisation des différentes souches de Flagellés appartenant aux genres *Trypanosoma* et *Leishmania* ([1] à [5]). Jusqu'à présent, ce typage s'est limité à la description des zymogrammes qui permettent de caractériser les souches étudiées sans que l'interprétation génétique des phénotypes observés ait été prise en compte. Sur la base de l'analyse enzymatique de quelques souches boliviennes de *T. cruzi*, et des données de la littérature, une interprétation génétique des électromorphes est proposée. Sur ces données, des hypothèses sont formulées sur la structure génétique de ces organismes, sur l'existence d'une éventuelle sexualité, et sur les possibilités d'établissement de distances génétiques.

Les études portent sur onze souches boliviennes de *T. cruzi* provenant de trois régions éloignées les unes des autres [6]. Ces résultats ont été confrontés à ceux obtenus pour trois souches de référence : *T. cruzi*, Institut Pasteur de Lille, *T. rangeli*, Institut Pasteur de Lille, *Leishmania brasiliensis brasiliensis*, Institut Prince Léopold d'Anvers. Chaque souche bolivienne a été isolée à partir du tube digestif d'un individu du vecteur le plus fréquent en Bolivie, *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). Les cultures ont été réalisées en milieu GLSH. Dix enzymes (phosphoglucumutase, malate déshydrogénase, enzyme malique, isocitrate déshydrogénase, glutamate déshydrogénase NAD dépendante, glutamate déshydrogénase NADP dépendante, lactate déshydrogénase, glucose-6-phosphate déshydrogénase, 6-phosphogluconate déshydrogénase, phosphoglucose isomérase) ont été étudiées par électrophorèses conduites sur acétate de cellulose.

Les zymogrammes obtenus sont schématisés par les diagrammes. Pour *T. cruzi*, certaines enzymes sont identiques dans toutes les souches étudiées (MDH, GDH NADP dépendante, LDH et G6PD), alors que d'autres sont variables (PGM, ME, IDH, GDH NAD, 6PGD et PGI). L'existence de cette variabilité va nous permettre de proposer une interprétation génétique des zymogrammes. Cette interprétation est également fondée sur des résultats obtenus par d'autres auteurs pour des *Leishmania* [1] et pour des *Trypanosoma* [2].

La variabilité observée sur nos zymogrammes et sur ceux des auteurs précités montre des analogies évidentes avec celle que donnent les organismes sexués. La phosphoglucose isomérase (PGI) par exemple, présente une seule bande d'activité chez les souches C, 1 et 7, et trois bandes chez les souches 4 et 5. Ces trois bandes sont équidistantes, et la plus lente migre à la même distance que la bande des souches C, 1 et 7. De plus, pour des quantités équivalentes d'extraits, chacune des trois bandes a une intensité plus faible que celle de la bande unique, et la bande médiane est sensiblement plus intense que les deux extrêmes.

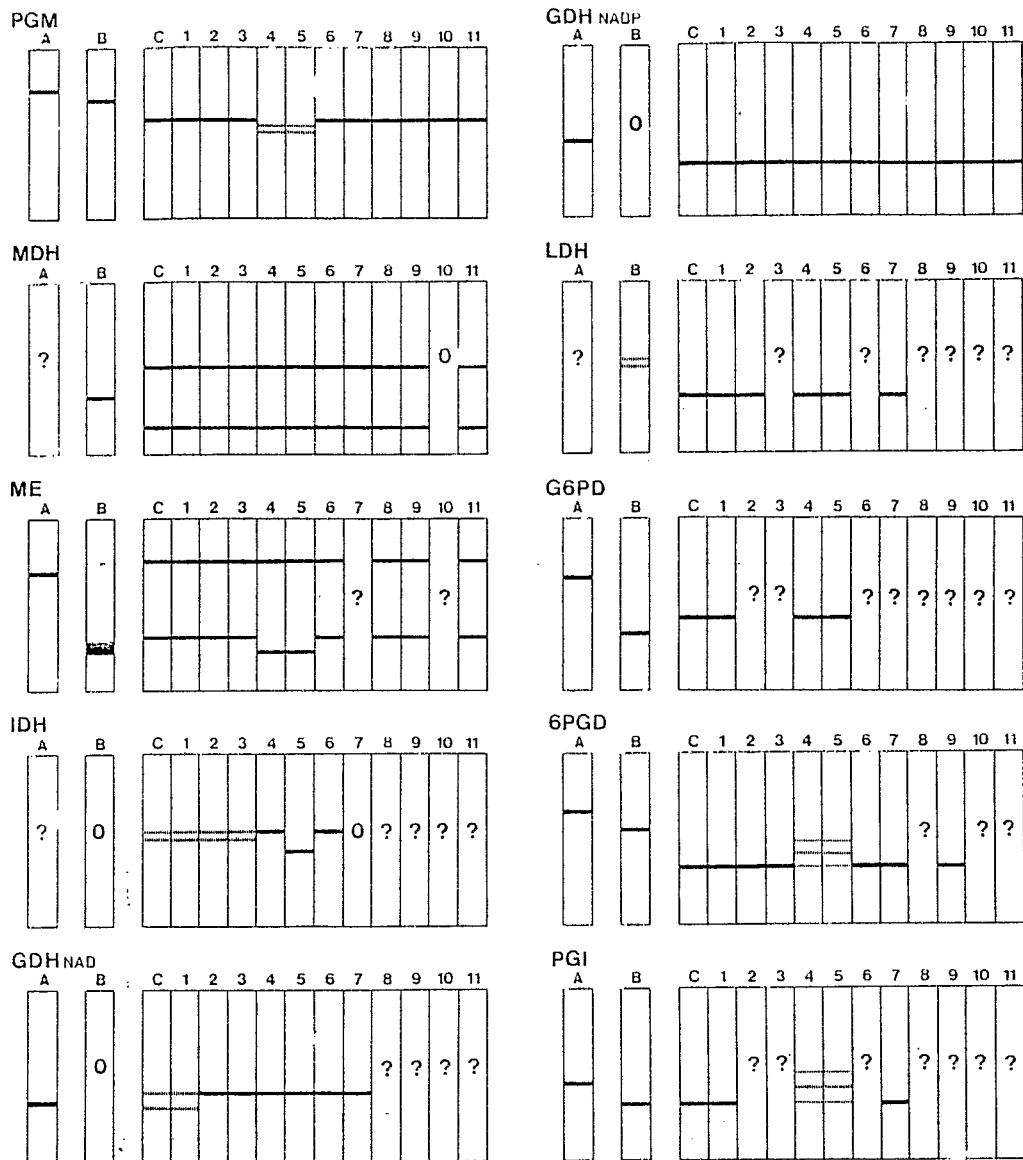
L'hypothèse la plus simple pour rendre compte de cette variation est de considérer que nous avons affaire à un locus diallélique, chez un organisme diploïde, pour une enzyme

30 JAN. 1986

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 43766

Date : B ex 1.



Zymogrammes de Flagellés obtenus pour dix enzymes, par électrophorèse sur acétate de cellulose. A, *Leishmania brasiliensis brasiliensis*; B, *Trypanosoma rangeli*; C, *T. cruzi*, souche de l'Institut Pasteur de Lille; 1 à 11 : *T. cruzi*, souches boliviennes. Les signes 0 et ? désignent respectivement les enzymes non révélées et les enzymes non éprouvées.

dimère (cette structure dimère de la PGI est du reste le cas général chez les animaux). Pour nos zymogrammes, le cas de la 6PGD est tout à fait analogue. En ce qui concerne IDH et GDH NAD, pour lesquelles les hétérozygotes présumés possèdent deux bandes, les enzymes seraient monomères. Il en irait de même pour PGM, mais les deux hétérozygotes (souches 4 et 5) portent des allèles différents de celui des homozygotes. Les phénotypes de la MDH et de la ME présentent deux bandes très distantes l'une de l'autre, correspondant sans doute à l'activité de deux loci différents (cas habituel chez les Métazoaires). Ces deux loci sont

monomorphes pour la MDH, tandis qu'il existe une variabilité de la bande lente de la ME, toutes les souches étant homozygotes.

Les trois derniers loci (GDH NADP, LDH, G6PD) sont monomorphes. Les autres hypothèses qui pourraient rendre compte des variations phénotypiques-enzyme par enzyme (duplications dans un génome haploïde, aneuploïdie, polyploïdie) sont difficilement compatibles avec une interprétation globale. Quant à la possibilité du mélange de deux souches, elle est peu compatible avec l'aspect symétrique des doubles et triples bandes, et supposerait pour ces dernières une réassociation *in vitro* des sous-unités, événement improbable, expliquant l'existence de la bande médiane. L'interprétation de l'ensemble des résultats conduit à assimiler les souches étudiées à des clones.

Le problème de l'existence d'une sexualité chez ces organismes est encore entier. La présence d'homozygotes pour des allèles différents (ME et IDH; voir aussi [1] pour la PGI) suggère fortement l'existence d'une forme quelconque de sexualité actuelle ou relativement récente, occasionnelle sinon régulière. En effet, si le génome est diploïde, pour expliquer le passage d'un état homozygote à un autre en l'absence de ségrégation, il faudrait imaginer que les deux exemplaires du même gène dans une lignée homozygote aient subi la même mutation conduisant à l'autre état homozygote. Il est possible enfin d'apprécier la différenciation génétique entre les souches par leur distance génétique [8] et [8]. Chacune des souches étant constituée d'individus génétiquement identiques, la fréquence d'un allèle ne peut être que 0, 0,5 ou 1. Le calcul de la distance standard de Nei, appliqué aux souches C, 4 et 5, donne les résultats suivants : $D_{C-4}=0,30$; $D_{C-5}=0,36$; $D_{4-5}=0,10$. Il ne faut pas accorder à ces distances le même sens qu'à celles qu'on peut établir entre des populations mendéliennes. Elles reflètent néanmoins le degré de différenciation génique (nombre moyen de codons différents par gène) entre les souches, même si pour l'instant, les lois qui régissent son évolution sont totalement inconnues.

Pour les deux souches de référence, *L. brasiliensis brasiliensis* et *T. rangeli*, on note que la première n'a aucun allèle commun avec les Trypanosomes, et que la seconde a, au plus, deux allèles communs avec *T. cruzi* (ME lente et PGI).

L'interprétation que nous avons proposée pour les zymogrammes de *Trypanosoma* et *Leishmania* permet de substituer une comparaison génétique entre les souches au simple typage effectué jusqu'à présent. Ces méthodes semblent propices au perfectionnement de la systématique de ces groupes, et à la recherche d'une éventuelle phase sexuée.

(*) Remise le 2 février 1981.

[1] M. L. CHANCE et coll., *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 72, 1978, p. 533.

[2] D. G. GODFREY, *Congreso internacional sobre doença de Chagas*, Rio de Janeiro, Brasil, 1979, p. 91.

[3] M. A. MILES et coll., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71, 1977, p. 217.

[4] M. AL-TAÏI et coll., *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 72, 1978, p. 56.

[5] R. D. KREUTZER et coll., *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 29, 1980, p. 199.

[6] M. TIBAYRENC et coll., *Cah. O.R.S.T.O.M. sér. Entomol. Méd. Parasitol.* (sous presse).

[7] M. NEI, *Amer. Nat.*, 106, 1972, p. 283.

[8] M. TIBAYRENC, *Cah. O.R.S.T.O.M. sér. Entomol. Méd. Parasitol.*, 18, 1980 (sous presse).

M. T. : I.B.B.A., Ambassade de France, Casilla 824, La Paz, Bolivie,

M. L. C. et M. S. : Laboratoire de Biologie et Génétique évolutives,
C.N.R.S., 91190 GiJ-sur-Yvette.