

PARASITOLOGIE ANIMALE. — *Arguments génétiques contre l'existence d'une sexualité actuelle chez Trypanosoma cruzi. Implications taxinomiques.* Note (\*) de **Michel Tibayrenc, Marie-Louise Cariou, Michel Solignac et Yves Carlier**, présentée par Pierre-Paul Grassé.

L'analyse de la variabilité enzymatique pour 3 locus chez 73 isolats boliviens de *Trypanosoma cruzi* montre l'absence de ségrégation et de recombinaison génétiques. Ces isolats se répartissent en deux groupes génétiquement homogènes. Au vu de ces résultats, confirmés par des données de la littérature, rien ne permet de postuler l'existence d'une reproduction sexuée biparentale obligatoire et régulière chez cet organisme.

*A survey of enzyme variability for 3 loci between 73 bolivian stocks of Trypanosoma cruzi shows the lack of genetic segregation and recombination. These stocks, can be separated into two genetically homogeneous groups. Nothing allows to postulate a sexuate, biparental, obligatory and regular reproduction according to these results, which are confirmed by bibliographic data.*

L'existence d'un état diploïde et d'une sexualité chez les Trypanosomes a été fortement accréditée par les résultats que Tait [1] a obtenus en étudiant la variabilité enzymatique de 17 isolats de Trypanosomes africains. L'interprétation génétique des zymogrammes obtenus sur 11 isolats boliviens de *T. cruzi*, agent de la maladie de Chagas, nous a conduit récemment [2] à penser que ces organismes sont diploïdes, et qu'il existe ou a pu exister une forme de sexualité au moins occasionnelle. Cependant, l'analyse de trois locus enzymatiques polymorphes sur un nombre plus important d'isolats de ce parasite a révélé que si la phase sexuée n'est pas totalement perdue, elle ne se produit certainement pas de façon obligatoire et régulière.

Les 73 isolats de *T. cruzi* étudiés ont été récoltés dans trois localités de Bolivie éloignées les unes des autres (tableau). Les Trypanosomes ont été isolés à partir du tube digestif du vecteur le plus fréquent de ce parasite, *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae), capturé en gîtes domiciliaires ou péri-domiciliaires. Cinq isolats provenant de Santa Cruz ont été constitués à partir de prélèvements sur des patients chagasiques. Les cultures ont été réalisées en milieu GLSH.

TABLEAU

*Origine géographique et structure génétique des 73 isolats de Trypanosoma cruzi étudiés*

Populations	Sapahaqui	Coripata	Santa Cruz
Nombre d'isolats . . . . .	44	2	27
Type I (Pgm 1/1, Me 1/1, Pgi 2/2) . .	42	1	10
Type II (Pgm 2/3, Me 2/2, Pgi 1/2) . .	2	1	17

Sapahaqui : 60 km au sud de La Paz, 2 700 m d'altitude; Coripata : 120 km au nord-est de La Paz, 1 700 m d'altitude; Santa Cruz : 400 km à l'est de La Paz, 400 m d'altitude.

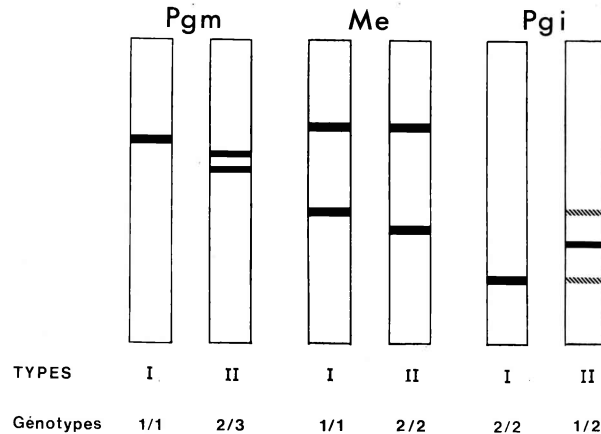
Trois des enzymes qui s'étaient révélées polymorphes dans notre travail préliminaire [2] ont été étudiées : phosphoglucomutase (EC 2.7.5.1, PGM), malate déshydrogénase NADP+ (EC 1.1.40, ME) et phosphoglucose isomérase (EC 5.3.1.9, PGI). Les électrophorèses ont été conduites sur acétate de cellulose.

Chez ces organismes présumés diploïdes, la variabilité observée sur les zymogrammes (*fig.*) s'interprète de la façon suivante :

Pgm : l'enzyme est un monomère, et le locus est triallélique. Le type I est homozygote pour l'allèle 1 et le type II est un hétérozygote 2/3.

Me : seul le système présentant la plus faible mobilité électrophorétique est variable. Le locus est diallélique et les types I et II sont homozygotes pour des allèles différents (1/1 et 2/2).

Pgi : le locus est diallélique et l'enzyme est un dimère. Le type I est un homozygote 2/2 et le type II, un hétérozygote 1/2.



Zymogrammes obtenus par électrophorèse sur acétate de cellulose pour 73 isolats de *Trypanosoma cruzi* de Bolivie. Pour chaque enzyme, deux types seulement ont été obtenus (I et II); les génotypes correspondants sont indiqués.

Pour les 73 isolats étudiés, provenant de trois localités différentes, chaque enzyme n'a donné que deux catégories de zymogrammes (tableau et *fig.*). Les autres génotypes théoriquement possibles (Pgm 1/2, 1/3, 2/2 et 3/3; Me 1/2; Pgi 1/1) n'ont pas été observés. La faiblesse de certains effectifs et les valeurs présentées par les fréquences alléliques se prêtent mal à un test statistique convenable permettant de vérifier si toutes les « populations » sont ou non à l'équilibre pour tous les locus. Cependant, compte tenu de l'absence d'hétérozygotes Pgm 1/2 et 1/3 et Me 1/2 (et d'homozygotes Pgi 1/1 dans la population de Santa Cruz), il est évident que ces populations ne présentent pas une distribution des génotypes conforme à la loi de Hardy-Weinberg.

D'autre part, il est intéressant de noter que, pour les trois locus étudiés, les mêmes génotypes sont toujours associés. En effet, les isolats se répartissent en deux catégories seulement : 53 isolats sont de type I (Pgm 1/1, Me 1/1 et Pgi 2/2) et 20 de type II (Pgm 2/3, Me 2/2 et Pgi 1/2) alors que 54 ( $3 \times 3 \times 6$ ) génotypes sont théoriquement possibles (bon nombre d'entre eux étant néanmoins hautement improbables).

Une autre enzyme variable, la 6-phosphogluconate déshydrogénase (EC 1.1.1.44) a été analysée sur certains isolats (tous ceux de type II, et dix de type I). Deux génotypes seulement ont été observés, chacun étant systématiquement associé au type I ou II défini par les trois locus précédents.

Miles et coll. [3] ont observé trois formes discrètes en étudiant six systèmes enzymatiques sur 60 isolats de *T. cruzi* du Brésil (la photographie des zymogrammes laisse cependant présumer de l'hétérogénéité de l'aspartate aminotransférase à migration rapide des trois souches de type I). L'analyse d'enzymes supplémentaires, sur un plus grand nombre d'isolats [4], a permis à ces auteurs d'introduire des subdivisions plus fines (souches ne différant entre elles que par un ou deux allèles), mais le nombre de lignées génétiquement homogènes qu'ils ont pu ainsi définir demeure néanmoins limité.

A la lumière de ces résultats, nous sommes amenés à préciser les conclusions énoncées lors de notre travail précédent. *T. cruzi* se confirme comme une espèce dont le génome est diploïde et il en va de même chez d'autres Trypanosomes : *T. rangeli* (2) et *T. brucei* [1].

Dans cette dernière espèce, Tait a présenté des résultats montrant l'existence d'un équilibre panmictique à chacun des huit locus polymorphes qu'il a étudiés.

En revanche, chez *T. cruzi*, notre étude portant sur trois locus enzymatiques variables, montre l'existence de deux types génétiquement homogènes, assimilables à des clones, entre lesquels ne se produisent certainement pas d'échanges génétiques. Ces deux clones vivent côte à côte dans les mêmes localités. Ils ne peuvent pour autant être considérés comme des entités taxinomiques distinctes sur la seule base de l'absence d'échanges génétiques : cet argument ne vaudrait en effet que si de tels échanges se produisaient au sein de chacune des deux lignées. Or, dans la seconde lignée (type II), deux locus Pgm et Pgi présentent toujours un état hétérozygote, situation peu compatible avec une reproduction sexuée biparentale obligatoire et régulière.

Les observations faites sur *T. cruzi*, si elles n'excluent pas une sexualité passée, ou actuelle mais très exceptionnelle, ne sont pas en faveur d'une sexualité obligatoire comparable à celle que Tait a mise en évidence chez *T. brucei*. Deux groupes biochimiques, et pour l'instant deux seulement, ont été détectés en Bolivie (y compris chez des patients chagasiques) et occupent tous deux, avec des fréquences notablement différentes suivant les localités, des territoires géographiques étendus. Il ne semble y avoir aucun échange génétique entre ces lignées et pas davantage au sein de chacune d'elles. Si les « populations » de *T. cruzi* sont bien assimilables à des clones, le problème de la définition de l'espèce chez les Protozoaires asexués se pose à nouveau pour l'agent de la maladie de Chagas. Ici, le principal critère spécifique (isolement reproductif) est inutilisable, chaque clone étant par définition génétiquement indépendant des autres. Le calcul des distances génétiques ([5] et [6]), permettant une estimation de la parenté génétique réelle (nombre moyen de codons différents par gène) entre les différents clones, pourra constituer un apport précieux pour l'approche de cette question.

Le docteur Carlos de la Fuente, du CENETROP, a fourni huit isolats de Santa Cruz.

(\*) Remise le 29 juin 1981.

[1] A. TAIT, *Nature*, 287, 1980, p. 536.

[2] M. TIBAYRENC et coll., *Comptes rendus*, 292, série III, 1981, p. 623.

[3] M. A. MILES et coll., *Nature*, 272, 1978, p. 819.

[4] M. A. MILES et coll., *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 74, 1980, p. 221.

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

[6] M. TIBAYRENC, *Cah. O.R.S.T.O.M. sér. Ent. méd. Parasitol.*, 18, 1980, p. 301.

M. T. et Y. C. : O.R.S.T.O.M. et 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 Gif-sur-Yvette.