

## Effet de l'éthanol sur le développement pré-imaginal de *Drosophila melanogaster* : relation avec les locus de l'*Adh* et de l' $\alpha$ -*Gpdh*

H. MERÇOT et Liliane CHARLES-PALABOST \*

Laboratoire de Génétique des Populations, Tour 42-32,  
Université Paris 7 - 2, place Jussieu, F 75251 Paris

\* I.B.E.A.S., Université F. Rabelais, avenue Monge, Parc de Grandmont, F 37200 Tours

### Résumé

Quatre répliques d'une population de *Drosophila melanogaster*, polymorphe pour les locus *Adh* et  $\alpha$ -*Gpdh*, ont été maintenues pendant 20 générations sur milieu témoin (répliques T1 et T2) ou sur un milieu additionné d'éthanol (répliques E1 et E2). Une faible augmentation de fréquence de l'allèle *Adh<sup>f</sup>* et une baisse de celle de l'allèle *Gpdh<sup>f</sup>* ont été observées pour les répliques avec alcool.

Après ces 20 générations, la survie de l'œuf à l'adulte a été déterminée, pour les 4 répliques, sur différentes concentrations d'éthanol ; parallèlement, la structure génotypique des adultes survivants a été analysée. Il apparaît que la dose létale 50 est plus élevée pour les répliques E1 et E2. La baisse du nombre des émergences — obtenue avec l'augmentation de la concentration en alcool du milieu larvaire — ne se traduit par aucune variation significative dans la structure génotypique des locus *Adh* et  $\alpha$ -*Gpdh*, et ceci quelle que soit la réplique.

*Mots clés* : *Drosophila melanogaster*, tolérance à l'éthanol, *Adh*,  $\alpha$ -*Gpdh*.

### Summary

*Ethanol effect on pre-imaginal development of Drosophila melanogaster : relationships with Adh and  $\alpha$ -Gpdh loci*

Four replicates of a *Drosophila melanogaster* population, polymorphic for the *Adh* and  $\alpha$ -*Gpdh* loci, were maintained during 20 generations on a standard medium (replicates T1 and T2) or on a medium supplemented with ethanol (replicates E1 and E2). A small increase in the *Adh<sup>f</sup>* allelic frequency and a decrease in that of *Gpdh<sup>f</sup>* were observed in the 2 ethanol treated replicates.

After these 20 generations, the egg-to-adult survival at different ethanol concentrations was determined in the 4 replicates and the genotypic structure at the 2 loci was analyzed in the emerged adults. From this experiment, it appears that the LD<sub>50</sub> of ethanol was greater in the two treated replicates (E1, E2). However, in all replicates, the decrease in the number of emerged adults observed with increasing ethanol concentration in the larval medium, was not accompanied by variation in the genotypic structure at the *Adh* and  $\alpha$ -*Gpdh* loci.

*Key words* : *Drosophila melanogaster*, ethanol tolerance, *Adh*,  $\alpha$ -*Gpdh*.

## I. Introduction

L'étude des effets de l'éthanol sur le développement pré-imaginal de *Drosophila melanogaster* est un sujet pour lequel on peut distinguer 2 approches usuelles. Dans la 1<sup>re</sup>, on étudie la survie de l'œuf à l'adulte sur des milieux à différentes concentrations d'éthanol, ce qui permet de déterminer la dose létale 50 de ce produit. Cette technique a été utilisée pour comparer la tolérance à l'alcool de différentes espèces de Drosophiles (PARSONS *et al.*, 1979) ; chez *Drosophila melanogaster*, elle a été également employée pour la comparaison de populations naturelles d'origines géographiques différentes (DAVID *et al.*, 1986), ou l'analyse de populations expérimentales (VAN DELDEN & KAMPING, 1983 ; HIGUET, 1984 ; KERVER & VAN DELDEN, 1985). L'alcool déshydrogénase (ADH) étant responsable de la détoxification alcoolique, la seconde approche détermine la viabilité des différents génotypes (*Adh<sup>FF</sup>*, *Adh<sup>FS</sup>*, *Adh<sup>SS</sup>*) pour une concentration d'éthanol donnée (MORGAN, 1975 ; VAN DELDEN *et al.*, 1978 ; BIJLSMA-MEELES, 1979 ; McKECHNIE & MORGAN, 1982 ; DORADO & BARBANCHO, 1984 ; McKECHNIE & GEER, 1986) et est plus généralement retenue lorsque l'intérêt se porte sur les effets sélectifs de l'alcool au niveau du polymorphisme du locus *Adh*.

La plupart des précédentes expériences ont nécessité la constitution de souches homozygotes pour les allèles *Adh<sup>F</sup>* et *Adh<sup>S</sup>*. Or, même si ces souches sont obtenues à partir d'une même population, elles proviennent toujours d'un très petit nombre de lignées, ce qui risque d'entraîner une dérive génétique importante, risque encore aggravé par le grand nombre de générations pouvant séparer l'isolement des lignées et le début de l'expérience. La différence entre les souches *Adh<sup>FF</sup>* et *Adh<sup>SS</sup>* peut alors porter non seulement sur le polymorphisme du locus *Adh* mais également sur celui de nombreux autres locus.

Dans le travail que nous présentons sur les effets sélectifs de l'éthanol au niveau du polymorphisme du locus *Adh*, nous avons voulu éviter de constituer des souches homozygotes. Pour cela, nous avons utilisé une population polymorphe pour l'*Adh* et nous n'avons déterminé qu'à l'émergence le génotype des individus ayant survécu à différentes concentrations d'éthanol. Ainsi, tous les génotypes partagent-ils le même environnement génétique, ce qui minimise les risques de déséquilibre de liaison. Par ailleurs, nous avons voulu tester si les résultats obtenus différaient suivant que la population avait été ou non maintenue au préalable durant plusieurs générations sur un milieu larvaire additionné d'alcool.

En raison des effets possibles de l'éthanol sur le polymorphisme du locus de l' $\alpha$ -glycérophosphate déshydrogénase (CAVENER & CLEGG, 1981) et sur l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -GPDH (GEER *et al.*, 1983), nous nous sommes également intéressés au locus  $\alpha$ -*Gpdh*.

## II. Matériel et méthodes

### A. Population expérimentale

La population expérimentale utilisée est la population SA-FIV dont les caractéristiques sont données dans MERÇOT (1985 a) ; originaire de South Amherst (Massachusetts, USA), cette population présente les 2 allèles communs aux locus de l'*Adh* (*Adh<sup>F</sup>*, *Adh<sup>S</sup>*) et de l' $\alpha$ -*Gpdh* (*Gpdh<sup>F</sup>*, *Gpdh<sup>S</sup>*) et est exempte d'inversions (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH, 1985).

### B. Evolution au cours des générations

Quatre répliques de la population précédente ont été constituées, 2 sur milieu témoin (T1, T2) et 2 sur milieu additionné d'éthanol (E1, E2). Les concentrations d'alcool utilisées sont de 10 p. 100 de la génération 0 à la génération 7 et 12 p. 100 au-delà.

Le milieu d'élevage des larves est dérivé du milieu axénique de DAVID (1959). L'éthanol y est ajouté à 50 °C et vigoureusement mélangé. Puis ce milieu est coulé, à raison de 70 ml par bouteille, et stocké à 6 °C pour être utilisé 6 heures plus tard. Les mouches sont alors mises à pondre durant 15 heures.

Chaque réplique est constituée de 4 bouteilles contenant chacune 120 couples. A chaque génération, 4 fois 30 couples sont prélevés dans chaque bouteille et répartis dans 4 nouvelles bouteilles de milieu, assurant ainsi un flux génique entre les bouteilles d'une même réplique.

L'évolution des fréquences alléliques aux locus *Adh* et  $\alpha$ -*Gpdh* a été suivie à 25 °C durant 20 générations, à l'aide des techniques classiques d'électrophorèse sur gel d'amidon (CHARLES-PALABOST, 1986) ; 90 p. 100 de ces fréquences ont été estimées sur des échantillons de 90 à 110 individus.

### C. Survie de l'œuf à l'adulte et détermination de la dose létale 50

Après 23 générations pour T1-T2 et 22 générations pour E1-E2, les mouches des 4 répliques sont mises à pondre en masse durant 2 générations sur un milieu sans alcool, avant que l'on ne procède à la détermination de la dose létale 50 (DL50) d'éthanol. Pour cela, 50 œufs âgés de 0 à 3 heures sont transférés sur des tubes contenant 9 ml de milieu larvaire avec les concentrations d'alcool suivantes (le nombre de tubes répliques est indiqué entre parenthèses) : 0(6), 10(6), 12(6), 14(8), 16(8), 18(10) p. 100. Le développement s'effectue à 25 °C et la survie de l'œuf à l'adulte est déterminée en dénombrant journallement les adultes émergés ; l'électrophorèse permet de connaître également le génotype de ces imagos aux locus *Adh* et  $\alpha$ -*Gpdh*.

### D. Temps de développement en fonction de la concentration d'éthanol

La mesure utilisée pour estimer le temps de développement à chaque concentration d'éthanol est le temps moyen (en jours) nécessaire à l'émergence de 50 p. 100 des adultes (PARSONS *et al.*, 1979).

### E. Analyse statistique

#### 1. Evolution au cours des générations

L'analyse des variations de fréquences alléliques au cours des générations, en fonction de la présence ou non d'éthanol dans le milieu larvaire, a été faite pour les 2 locus, par la méthode de décomposition du  $\chi^2$  ; le processus est exposé dans MERÇOT (1985 a).

## 2. Dose létale 50 d'éthanol

La DL50 est définie en fonction de la fréquence des émergences obtenues dans les tubes sans éthanol. Elle est calculée après transformation angulaire des fréquences d'émergence et transformation logarithmique des concentrations d'éthanol.

## 3. Temps de développement

Les droites de régression du temps de développement en fonction de la concentration d'éthanol ont été calculées après transformation logarithmique du temps de développement.

## 4. Relation entre concentrations d'éthanol et polymorphisme enzymatique

Les variations de fréquences génotypiques et alléliques en fonction de la concentration d'éthanol et de l'origine des répliques (témoins : T1 et T2 ; sur éthanol : E1 et E2) ont été analysées par la méthode de décomposition du  $\chi^2$ .

# III. Résultats

## A. Evolution au cours des générations

Dans le tableau 1 sont portées les fréquences alléliques au cours des 20 générations d'évolution sur milieu témoin (T1 - T2) ou sur milieu additionné d'éthanol (E1 - E2). Le tableau 2 présente l'analyse statistique de ces résultats. Sur milieu alcoolisé, on observe une légère augmentation de la fréquence de l'allèle *Adh<sup>F</sup>* et une baisse très sensible de celle de l'allèle *Gpdh<sup>F</sup>*. Au locus  $\alpha$ -*Gpdh*, on note également une réelle hétérogénéité entre les 2 répliques témoins pouvant résulter de l'effectif moyen de ces répliques (au mieux 480 couples).

## B. Survie de l'œuf à l'adulte

### 1. Dose létale 50

Les fréquences des survivants aux différentes concentrations d'éthanol dans les 4 répliques sont portées sur la figure 1a. Les valeurs de la DL50 ( $\pm 2$  écarts-types) sont respectivement pour T1, T2, E1 et E2 de :  $12,46 \pm 0,30$ ,  $12,77 \pm 0,31$ ,  $14,32 \pm 0,27$  et  $14,04 \pm 0,26$ . Il apparaît donc que le maintien sur milieu alcoolisé durant 22 générations a permis aux larves des répliques E1 et E2 d'acquérir une tolérance à l'éthanol supérieure à celle des témoins.

TABLEAU 1

Variations des fréquences des allèles *Adh<sup>F</sup>* et *Gpdh<sup>F</sup>* dans les 2 répliques témoins (T1, T2) et dans celles maintenues sur éthanol (E1 et E2).

*Adh<sup>F</sup>* and *Gpdh<sup>F</sup>* frequencies for the 2 control replicates (T1, T2) and the 2 treatment ones (E1, E2).

Génération	T1	T2	E1	E2
	<i>Adh<sup>F</sup></i>			
0	0,620 (0,034)	0,663 (0,033)	0,665 (0,033)	0,635 (0,034)
3	0,567 (0,037)	0,560 (0,037)	0,614 (0,039)	0,586 (0,048)
6	0,626 (0,034)	0,601 (0,038)	0,691 (0,034)	0,668 (0,035)
9	0,660 (0,033)	0,575 (0,035)	0,670 (0,034)	0,640 (0,034)
12	0,631 (0,034)	0,661 (0,042)	0,645 (0,033)	0,740 (0,032)
16	0,620 (0,034)	0,635 (0,034)	0,696 (0,033)	0,693 (0,032)
20	0,600 (0,034)	0,605 (0,035)	0,680 (0,033)	0,710 (0,032)
	<i>Gpdh<sup>F</sup></i>			
0	0,795 (0,028)	0,843 (0,025)	0,790 (0,029)	0,815 (0,027)
3	0,755 (0,030)	0,845 (0,026)	0,824 (0,026)	0,832 (0,026)
6	0,780 (0,029)	0,821 (0,027)	0,769 (0,029)	0,767 (0,030)
9	0,730 (0,031)	0,790 (0,029)	0,770 (0,030)	0,665 (0,033)
12	0,765 (0,030)	0,795 (0,028)	0,795 (0,028)	0,715 (0,032)
16	0,740 (0,031)	0,812 (0,027)	0,662 (0,033)	0,745 (0,030)
20	0,745 (0,031)	0,800 (0,028)	0,665 (0,033)	0,710 (0,032)

Erreurs-standard entre parenthèses.  
Standard errors in parentheses.

## 2. Temps de développement

La figure 1b donne la variation du temps de développement pour les 4 répliques. En l'absence d'éthanol, le temps de développement est le même pour les 4 populations. Le retard que l'on observe avec l'augmentation de la concentration d'éthanol rejoint les résultats obtenus par OAEKESHOTT (1976), PARSONS *et al.* (1979) et HIGUET (1984).

TABLEAU 2

Variations des fréquences alléliques aux locus *Adh* et  $\alpha$ -*Gpdh* au cours des 20 générations d'évolution sur milieu témoin ou sur milieu additionné d'éthanol : décomposition du  $\chi^2$  total d'homogénéité des fréquences.

Gene frequency variations at the *Adh* and  $\alpha$ -*Gpdh* loci during the 20 generations of evolution on control or ethanol medium : partition of total frequency homogeneity  $\chi^2$ .

Sources de variation	Valeurs des $\chi^2$ constitutifs		
	<i>Adh</i>	$\alpha$ - <i>Gpdh</i>	d.d.l.
Effet Génération : G	14,56 *	33,39 ***	6
Effet Milieu : M	16,98 ***	9,63 **	1
Interaction : G $\times$ M	1,87	9,67	6
Témoin Effet Réplique : R <sub>T</sub>	0,09	12,69 ***	1
Témoin Interaction : G $\times$ R <sub>T</sub>	4,55	1,32	6
Ethanol Effet Réplique : R <sub>E</sub>	0,13	0,07	1
Ethanol Interaction : G $\times$ R <sub>E</sub>	5,37	15,27 *	6
Total	43,55 *	82,04 ***	27

\* P < 0,05.  
 \*\* P < 0,01.  
 \*\*\* P < 0,001.

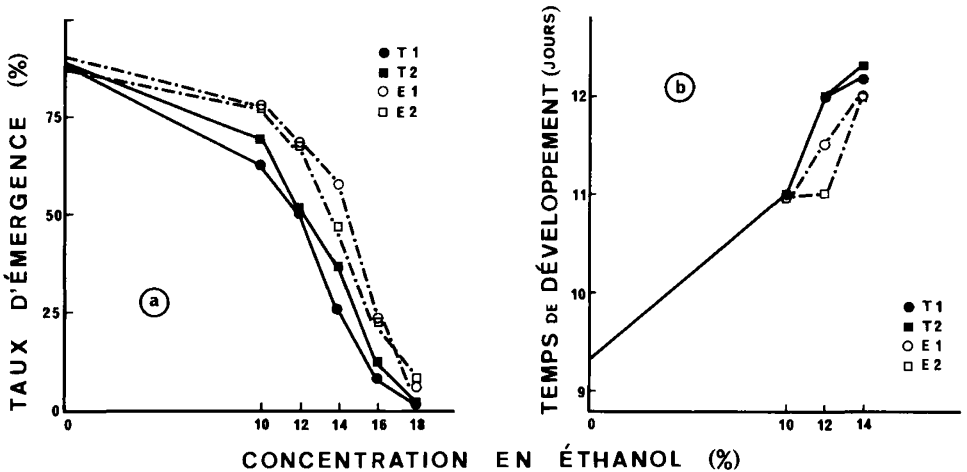


FIG. 1

Pourcentage d'émergences (a) et temps moyen de développement pré-imaginal (b) aux différentes concentrations d'éthanol, pour les 2 répliques témoins (T1, T2) et les 2 répliques maintenues sur éthanol (E1, E2).

Percentage of emergences (a) and mean pre-imaginal development time (b) at the different ethanol concentrations for the 2 control replicates (T1, T2) and the 2 treatment replicates (E1, E2).

Après transformation logarithmique, les pentes des droites de régression obtenues, d'une part pour T1 et T2 réunies et d'autre part pour E1 et E2 réunies, ont respectivement pour valeur  $8,55 \times 10^{-3} \pm 0,41 \times 10^{-3}$  et  $7,45 \times 10^{-3} \pm 0,39 \times 10^{-3}$ . Bien que l'on observe aux concentrations 12 et 14 p. 100 un retard plus important pour les répliques témoins, les valeurs de ces 2 pentes ne sont pas statistiquement différentes ( $t = 1,94$ ).

### 3. Relation entre concentrations d'éthanol et polymorphisme enzymatique

La composition génotypique des survivants aux différentes concentrations d'éthanol et les fréquences alléliques correspondantes sont respectivement données dans les tableaux 3 et 4 pour les locus *Adh* et  $\alpha$ -*Gpdh*. Le tableau 5 présente l'analyse statistique des variations de fréquences à ces 2 locus en fonction de la concentration d'éthanol (C) et de l'origine des répliques (0) : témoin ou éthanol. L'analyse de ces tableaux confirme les résultats obtenus au cours de l'évolution durant 20 générations sur milieu témoin (T1 et T2) ou additionné d'éthanol (E1 et E2) ; en effet, on note toujours que sur les répliques T1 et T2, les fréquences de l'allèle *Adh<sup>F</sup>* sont plus faibles que sur les répliques E1 et E2, alors que celles de l'allèle *Gpdh<sup>F</sup>* y sont plus élevées.

TABLEAU 3

*Composition génotypique et fréquences alléliques (Adh<sup>F</sup>) au locus Adh parmi les survivants aux différentes concentrations d'éthanol (Conc %).*

*Genotypic composition and allelic frequencies (Adh<sup>F</sup>) at the Adh locus for the survivors at the different ethanol concentrations (Conc %).*

Génotypes						
Répliques	Conc (%)	FF	FS	SS	<i>Adh<sup>F</sup></i>	$\sigma$
T1	00	44	74	23	0,574	0,029
	12	47	62	21	0,600	0,034
	14	31	45	11	0,615	0,037
	16	7	14	5	0,538	0,069
	18	2	2	3	0,429	0,132
T2	00	59	66	15	0,657	0,028
	12	51	65	14	0,642	0,030
	14	56	66	18	0,636	0,029
	16	24	21	4	0,704	0,046
	18	4	3	1	0,687	0,116
E1	00	73	56	11	0,721	0,027
	12	65	56	9	0,715	0,028
	14	66	61	13	0,689	0,028
	16	47	37	7	0,720	0,033
	18	19	8	4	0,742	0,056
E2	00	63	62	15	0,671	0,028
	12	75	43	12	0,742	0,027
	14	67	71	5	0,717	0,027
	16	39	37	6	0,701	0,036
	18	14	12	0	0,769	0,058

$\sigma$  : erreurs-standard sur les fréquences alléliques.

$\sigma$  : standard errors of the allelic frequencies.

TABLEAU 4

Composition génotypique et fréquences alléliques (Gpdh<sup>F</sup>) au locus  $\alpha$ -Gpdh parmi les survivants aux différentes concentrations d'éthanol (Conc %).

Genotypic composition and allelic frequencies (Gpdh<sup>F</sup>) at the  $\alpha$ -Gpdh locus for the survivors at the different ethanol concentrations (Conc %).

Génotypes						
Répliques	Conc (%)	FF	FS	SS	Gpdh <sup>F</sup>	$\sigma$
T1	00	86	51	4	0,791	0,024
	12	79	40	11	0,761	0,026
	14	45	36	6	0,724	0,034
	16	14	11	1	0,750	0,060
	18	6	1	1	0,812	0,098
T2	00	89	42	9	0,786	0,024
	12	76	48	6	0,769	0,026
	14	93	38	9	0,800	0,024
	16	37	10	2	0,857	0,035
	18	6	2	0	0,875	0,083
E1	00	68	55	17	0,682	0,028
	12	73	47	10	0,742	0,027
	14	66	65	10	0,699	0,027
	16	43	37	7	0,707	0,034
	18	14	11	6	0,629	0,061
E2	00	78	38	14	0,746	0,027
	12	65	50	11	0,714	0,028
	14	77	56	9	0,739	0,026
	16	43	33	6	0,726	0,035
	18	11	13	2	0,673	0,065

$\sigma$  : erreurs-standard sur les fréquences alléliques.

$\sigma$  : standard errors of the allelic frequencies.

TABLEAU 5

Variations dans les structures génotypique et allélique aux locus Adh et  $\alpha$ -Gpdh, en fonction des différentes concentrations d'éthanol : décomposition des  $\chi^2$  totaux d'homogénéité des fréquences génotypiques et alléliques.

Genotypic and allelic compositions in relation to the different ethanol concentrations at the Adh and  $\alpha$ -Gpdh loci : partition of total homogeneity frequency  $\chi^2$ .

Sources de variation	Valeurs des $\chi^2$ constitutifs				d.d.l. <sup>a</sup>	
	Génotypes		Allèles			
	Adh	$\alpha$ -Gpdh	Adh	$\alpha$ -Gpdh		
Effet Concentration : C . . . . .	7,58	5,76	3,45	2,50	4	
Effet Origine : O . . . . .	35,03 ***	20,19 ***	34,26 ***	20,94 ***	1	
Interaction : C $\times$ O . . . . .	2,94	9,26	0,00	3,59	4	
Témoin	Effet Réplique : R <sub>T</sub> . . . . .	8,64 *	3,06	8,17 **	2,07	1
	Interaction : C $\times$ R <sub>T</sub> . . . . .	6,46	10,78	3,94	3,45	4
Ethanol	Effet Réplique : R <sub>E</sub> . . . . .	0,62	1,97	0,00	1,98	1
	Interaction : C $\times$ R <sub>E</sub> . . . . .	10,66	7,40	2,72	3,14	4
Total . . . . .	71,92 ***	58,42 ***	52,53 ***	37,68 ***	19	

a) Le nombre de d.d.l. est double pour les génotypes.

\* P < 0,05.

\*\* P < 0,01.

\*\*\* P < 0,001.

The number of d.f. is double for the genotypes.



Par contre, aucune variation de fréquences n'est constatée en fonction de la concentration d'éthanol. La baisse du nombre des survivants, observée avec l'augmentation de la concentration du milieu en éthanol (fig. 1a), ne se traduit donc par aucune variation significative dans les fréquences alléliques aux locus *Adh* et  $\alpha$ -*Gpdh*.

#### IV. Discussion

De nombreux auteurs ont étudié les effets de l'éthanol sur le polymorphisme de l'*Adh*. Dans certains cas, l'addition d'alcool au milieu d'élevage de populations expérimentales a provoqué une augmentation de la fréquence de l'allèle *Adh<sup>F</sup>* au cours des générations (GIBSON, 1970 ; VAN DELDEN *et al.*, 1975, 1978 ; CAVENER & CLEGG, 1978, 1981 ; VIGUE *et al.*, 1982). D'autres auteurs n'ont, au contraire, obtenu aucune variation de fréquences alléliques (GIBSON *et al.*, 1979 ; OAKESHOTT, 1979 ; OAKESHOTT *et al.*, 1983, 1984). Dans les premiers travaux cités, les populations avaient été maintenues durant plusieurs années au laboratoire avant le début des expériences, alors que dans les seconds, elles avaient été capturées peu de temps auparavant. Cette observation a conduit OAKESHOTT *et al.* (1984) à proposer l'interprétation suivante. Les fruits en décomposition — sur lesquels se développe *Drosophila melanogaster* (ATKINSON & SHORROCKS, 1977) — peuvent contenir plus de 3 p. 100 d'éthanol, alors que les milieux d'élevage au laboratoire en sont quasiment dépourvus. Il en résulte qu'un long séjour en laboratoire des populations naturelles étudiées a dû modifier la structure génétique qui s'était établie pour une meilleure adaptation à l'alcool. Lorsque ces populations sont à nouveau au contact de l'éthanol (par addition dans le milieu d'élevage), elles sont soumises à une sélection sur milieu alcoolisé, ce qui entraîne un changement de leurs fréquences alléliques au locus *Adh*.

Nos résultats suggèrent une autre explication. Dans le travail présenté, nous n'observons qu'une légère augmentation de fréquence de l'*Adh<sup>F</sup>*. Or, la population d'origine (SA-FIV) a été maintenue au laboratoire depuis sa capture en 1975. Mais, contrairement aux expériences où des variations de fréquences ont été observées, les fréquences initiales ne sont pas fixées dans les 4 répliques analysées ; en effet, ces dernières sont directement issues de la population SA-FIV à l'équilibre et ne proviennent pas de souches homozygotes *Adh<sup>FF</sup>* et *Adh<sup>SS</sup>*. Il semble donc que l'expérimentation sur des populations polymorphes, formées à partir de lignées homozygotes, soit un facteur qui favorise la variation ultérieure des fréquences alléliques au locus *Adh* en présence d'éthanol (voir également VAN HERREWEGE & DAVID, 1984).

Le maintien de populations sur des milieux additionnés d'éthanol a également pour effet d'accroître leur tolérance à ce produit (DORADO & BARBANCHO, 1984 ; OAKESHOTT *et al.*, 1984 ; KERVER & VAN DELDEN, 1985). Le résultat obtenu pour la population SA-FIV rejoint celui des auteurs que nous venons de mentionner. L'analyse du polymorphisme de l'*Adh*, parmi les survivants aux différentes concentrations d'éthanol, semble indiquer que cette augmentation de tolérance n'est pas liée à la fréquence plus élevée de l'allèle *Adh<sup>F</sup>*, observée pour les 2 répliques avec alcool. En effet, aucune différence n'est constatée dans le pourcentage de survie des 3 génotypes, alors qu'il existe une forte diminution des pourcentages d'imagos éclos.

Les expériences de viabilité pré-imaginale sur milieux alcoolisés ont toujours révélé des différences entre les 3 génotypes de l'*Adh*. Ainsi MORGAN (1975) observe une

meilleure viabilité larvo-nymphale des individus de génotype *Adh<sup>FF</sup>*. Il en est de même pour VAN DELDEN *et al.* (1978) et DORADO & BARBANCHO (1984) pour la survie de l'œuf à l'adulte. Dans une expérience analogue à la nôtre, KERVER & VAN DELDEN (1985) ont comparé la survie de l'œuf à l'adulte (en déterminant la DL50) de 2 lignées (*Adh<sup>FF</sup>* et *Adh<sup>SS</sup>*) préalablement élevées sur milieu témoin ou sur milieu additionné d'éthanol. Les individus de génotype *Adh<sup>FF</sup>* survivent mieux que les individus *Adh<sup>SS</sup>* et les hétérozygotes présentent un effet maternel ; la différence est cependant moins importante dans le cas des lignées élevées au préalable sur éthanol. Comment dès lors expliquer une telle différence entre ces résultats et les nôtres ? Les expériences que nous venons d'évoquer (exceptée celle de VAN DELDEN *et al.*, 1978) ont été réalisées directement sur des souches homozygotes *Adh<sup>FF</sup>* et *Adh<sup>SS</sup>*, constituées à partir d'un trop petit nombre de lignées pour que les risques de dérive génétique puissent être négligés. Dans ces conditions, il est probable que ces souches diffèrent également pour les génomes qui leur sont associés. Au contraire, dans notre travail, les génotypes *Adh<sup>FF</sup>*, *Adh<sup>FS</sup>* et *Adh<sup>SS</sup>* partagent le même contexte génétique, mais peuvent présenter un effet maternel, notamment en ce qui concerne l'activité ADH de l'œuf. Il paraît donc vraisemblable que l'on puisse ainsi expliquer les différences entre nos résultats et ceux des auteurs cités. Cette hypothèse est renforcée par les résultats d'ANDERSON (1982) qui, chez les imagos, observe une meilleure tolérance à l'alcool des individus *Adh<sup>FF</sup>* issus de souches homozygotes, par rapport à ceux provenant de populations polymorphes.

En ce qui concerne le locus de l' $\alpha$ -glycérophosphate déshydrogénase, on observe au cours des générations une baisse de fréquence de l'allèle *Gpdh<sup>F</sup>*, sur milieu additionné d'éthanol. Ce résultat avait été préalablement obtenu par MERÇOT (1985 b) pour la population SA-FIV et par CAVENER & CLEGG (1981) pour une autre population. Or, l' $\alpha$ -*Gpdh* et l'*Adh* larvaires interagissent dans la synthèse des lipides (GEER *et al.*, 1983, 1985) ; la 1<sup>re</sup> en assurant la formation d' $\alpha$ -glycérophosphate qui donnera l'acide phosphatique, précurseur des triglycérides et des phospholipides ; la 2<sup>e</sup> en produisant l'acétaldéhyde, précurseur de l'acétyl-CoA qui intervient dans la synthèse des acides gras. Il paraît donc concevable que l'éthanol puisse avoir une action conjointe sur les 2 systèmes. Par contre, comme pour l'*Adh*, la structure génotypique du locus  $\alpha$ -*Gpdh* n'est pas modifiée chez les survivants aux différentes concentrations d'alcool. Ce résultat n'est pas nécessairement contradictoire avec les variations de fréquences obtenues au cours du temps, puisque les viabilités des génotypes n'ont été estimées que sur une seule génération.

## V. Conclusion

Parmi les espèces du genre *Drosophila* se multipliant sur les fruits en décomposition (ATKINSON & SHORROCKS, 1977), *Drosophila melanogaster* est l'une des rares espèces qui puissent vivre dans des habitats tels que brasseries, celliers et caves vinicoles (MONCLUS & PREVOSTI, 1978-1979 ; DAVID & VAN HERREWEGE, 1983), lieux offrant des sites de reproduction à concentrations élevées en alcool et notamment en éthanol (BRISCOE *et al.*, 1975 ; MCKENZIE & MCKECHNIE, 1979 ; GIBSON *et al.*, 1981). La bonne résistance des imagos et des larves sur des milieux à fortes concentrations d'éthanol (DAVID *et al.*, 1974, 1977 ; DAGGARD, 1981 ; DAVID & VAN HERREWEGE, 1983) est à l'origine des habitats variés de *D. melanogaster*.

Cette tolérance à l'alcool présente, tant au stade imaginal que larvaire, une variabilité géographique importante (DAVID *et al.*, 1986), en relation avec le polymorphisme de l'*Adh*, pour lequel existe également un cline latitudinal de fréquences alléliques (OAKESHOTT *et al.*, 1982 ; DAVID *et al.*, 1986). La situation précédente est bien illustrée, d'une part par les populations d'Afrique tropicale — les moins tolérantes et de fréquence *Adh<sup>F</sup>* généralement inférieure à 0,10 — et, d'autre part par les populations paléarctiques (telles les populations françaises) — les plus tolérantes et de fréquence *Adh<sup>F</sup>* supérieure à 0,90 (DAVID *et al.*, 1986). Si la différence de tolérance entre ces 2 types de populations réside uniquement dans leur structure génotypique au locus *Adh*, on devrait s'attendre à ce que — dans la population polymorphe analysée ici — l'augmentation de la mortalité, liée à l'augmentation de la concentration en éthanol, touche plus particulièrement les individus *Adh<sup>SS</sup>*. Or tel n'est pas le cas. Ce résultat ne signifie pas que le polymorphisme de l'*Adh* n'a aucun rôle dans la tolérance à l'éthanol, mais indique que d'autres facteurs sont largement impliqués, parmi lesquels on peut suggérer les gènes de régulation de l'activité ADH (AYALA & McDONALD, 1980) ou ceux liés à la synthèse des acides gras (GEER *et al.*, 1986).

Reçu le 6 janvier 1987.

Accepté le 9 mars 1987.

### Remerciements

Les auteurs remercient Madame M. LEHMANN pour son assistance technique. Ce travail a été réalisé dans le cadre des UA 340-693 et du GRECO 44 du C.N.R.S.

### Références bibliographiques

- ANDERSON D., 1982. Alcohol dehydrogenase activity and ethanol tolerance along the *Adh* cline in Australia. In : LAKOVAARA S. (ed.), *Advance in genetics, development and evolution of Drosophila*, 263-272. Plenum, New York.
- ATKINSON W., SHORROCKS B., 1977. Breeding site specificity in the domestic species of *Drosophila*. *Oecologia*, **29**, 223-232.
- AYALA F.J., McDONALD J.F., 1980. Continuous variation : possible role of regulatory genes. *Genetica*, **52/53**, 1-15.
- BIJLSMA-MEELES E., 1979. Viability in *Drosophila melanogaster* in relation to age and ADH activity of eggs transferred to ethanol food. *Heredity*, **42**, 79-89.
- BRISCOE D.A., ROBERTSON A., MALPICA J.M., 1975. Dominance at *Adh* locus in response of adult *Drosophila melanogaster* to environmental alcohol. *Nature*, **255**, 148-149.
- CAVENER D.R., CLEGG M.T., 1978. Dynamics of correlated genetic systems. IV. Multilocus effects of ethanol stress environments. *Genetics*, **90**, 629-644.
- CAVENER D.R., CLEGG M.T., 1981. Multigenic response to ethanol in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, **35**, 1-10.
- CHARLES-PALABOST L., 1986. Alleles found at six gene-enzyme systems in the French natural populations of *D. melanogaster*. *Drosophila Inf. Serv.*, **63**, 43-44.
- CHARLESWORTH B., CHARLESWORTH D., 1985. Genetic variation in recombination in *Drosophila*. I. Responses to selection and preliminary genetic analysis. *Heredity*, **54**, 71-83.

- DAGGARD G.E., 1981. Alcohol dehydrogenase, aldehyde oxidase and alcohol utilization in *Drosophila melanogaster*, *D. simulans*, *D. immigrans* and *D. busckii*. In : GIBSON J.B., OAKESHOTT J.G. (ed.), *Genetic Studies of Drosophila Populations*, 59-75. Australian National University, Canberra.
- DAVID J., 1959. Etude quantitative du développement de la *Drosophila* élevée en milieu axénique. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **93**, 472-505.
- DAVID J., FOUILLET P., ARENS M.F., 1974. Comparaison de la sensibilité à l'alcool éthylique de six espèces de *Drosophila* du sous-groupe *melanogaster*. *Arch. Zool. Exp. Gén.*, **115**, 401-410.
- DAVID J.R., BOCQUET C., FOUILLET P., ARENS M.F., 1977. Tolérance génétique à l'alcool chez *Drosophila* : comparaison des effets de la sélection chez *D. melanogaster* et *D. simulans*. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **285**, 405-408.
- DAVID J.R., VAN HERREWEGE J., 1983. Adaptation to alcoholic fermentation in *Drosophila* species : relationship between alcohol tolerance and larval habitat. *Comp. Biochem. Physiol.*, **74 A**, 283-288.
- DAVID J.R., MERÇOT H., CAPY P., McEVEY S.F., VAN HERREWEGE J., 1986. Alcohol tolerance and *Adh* allelic frequencies in European and African *Drosophila melanogaster* populations. *Génét. Sév. Evol.*, **18**, 405-416.
- DORADO G., BARBANCHO M., 1984. Differential responses in *Drosophila melanogaster* to environmental ethanol : modification of fitness components at the *Adh* locus. *Heredity*, **53**, 309-320.
- GEER B.W., McKECHNIE S.W., LANGEVIN M.L., 1983. Regulation of sn-glycerol-3-phosphate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster* larvae by dietary ethanol and sucrose. *J. Nutr.*, **113**, 1632-1642.
- GEER B.W., LANGEVIN M.L., McKECHNIE S.W., 1985. Dietary ethanol and lipid synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. Genet.*, **23**, 607-622.
- GEER B.W., McKECHNIE S.W., LANGEVIN M.L., 1986. The effect of dietary ethanol on the composition of lipids of *Drosophila melanogaster* larvae. *Biochem. Genet.*, **24**, 51-69.
- GIBSON J.B., 1970. Enzyme flexibility in *Drosophila melanogaster*. *Nature*, **227**, 959-960.
- GIBSON J.B., LEWIS N., ADENA M.A., WILSON S.R., 1979. Selection for ethanol tolerance in two populations of *Drosophila melanogaster* segregating alcohol dehydrogenase allozymes. *Aust. J. Biol. Sci.*, **32**, 387-398.
- GIBSON J.B., MAY T.W., WILKS A.V., 1981. Genetic variation at the alcohol dehydrogenase locus in *Drosophila melanogaster* in relation to environmental variation : ethanol levels in breeding sites and allozyme frequencies. *Oecologia*, **51**, 191-198.
- HIGUET D., 1984. Réponse d'une population naturelle de *Drosophila melanogaster* à une sélection disruptive sur le poids, selon le mode de croisement, 118 p. Thèse de 3<sup>e</sup> Cycle, Université de Paris 7.
- KERVER J.W.M., VAN DELDEN W., 1985. Development of tolerance to ethanol in relation to the alcohol dehydrogenase locus in *Drosophila melanogaster*. I. Adult and egg-to-adult survival in relation to *ADH* activity. *Heredity*, **55**, 355-367.
- McKECHNIE S.W., MORGAN P., 1982. Alcohol dehydrogenase polymorphism of *Drosophila melanogaster* : aspects of alcohol and temperature variations in the larval environment. *Aust. J. Biol. Sci.*, **35**, 85-93.
- McKECHNIE S.W., GEER B.W., 1986. Sn-glycerol-3-phosphate oxidase and alcohol tolerance in *Drosophila melanogaster* larvae. *Biochem. Genet.*, **24**, 859-872.
- McKENZIE J.A., McKECHNIE S.W., 1979. A comparative study of resource utilization in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Oecologia*, **40**, 299-309.
- MERÇOT H., 1985a. Allozyme frequency changes in two inverse sequences of environments in *Drosophila melanogaster*. *Génét. Sév. Evol.*, **17**, 59-72.
- MERÇOT H., 1985b. A molecular approach to the role of historicity in evolution. I. Experimental design with enzyme polymorphism in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, **39**, 819-830.
- MONCLUS M., PREVOSTI A., 1978-1979. Cellars habitat and *Drosophila* populations. *Génét. Ibér.*, **30-31**, 189-201.
- MORGAN P., 1975. Selection acting directly on an enzyme polymorphism. *Heredity*, **34**, 124-127.
- OAKESHOTT J.G., 1976. Selection at the alcohol dehydrogenase locus in *Drosophila melanogaster* imposed by environmental ethanol. *Genet. Res.*, **26**, 264-275.

- OAKESHOTT J.G., 1979. Selection affecting enzyme polymorphisms in laboratory populations of *Drosophila melanogaster*. *Oecologia*, **43**, 341-354.
- 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.
- OAKESHOTT J.G., WILSON S.R., GIBSON J.B., 1983. An attempt to measure selection coefficients affecting the alcohol dehydrogenase polymorphism in *Drosophila melanogaster* population maintained on ethanol media. *Genetica*, **61**, 151-159.
- OAKESHOTT J.G., GIBSON J.B., WILSON S.R., 1984. Selective effects of the genetic background and ethanol on the alcohol dehydrogenase polymorphism in *Drosophila melanogaster*. *Heredity*, **53**, 51-67.
- PARSONS P.A., STANLEY S.M., SPENCE G.E., 1979. Environmental ethanol at low concentrations : longevity and development in sibling species *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Aust. J. Zool.*, **27**, 747-754.
- VAN DELDEN W., KAMPING A., VAN DIJK H., 1975. Selection at the alcohol dehydrogenase locus in *Drosophila melanogaster*. *Experientia*, **31**, 418-419.
- VAN DELDEN W., BOEREMA A.C., KAMPING A., 1978. The alcohol dehydrogenase polymorphism in populations of *Drosophila melanogaster*. I. Selection in different environments. *Genetics*, **90**, 161-191.
- VAN DELDEN W., KAMPING A., 1983. Adaptation to alcohol in relation to the alcohol dehydrogenase locus in *Drosophila melanogaster*. *Ent. Exp. Appl.*, **33**, 97-102.
- VAN HERREWEGE J., DAVID J.R., 1984. Extension of life duration by dietary ethanol in *Drosophila melanogaster* : response to selection in two strains of different origins. *Genetica*, **63**, 61-70.
- VIGUE C.L., WEISGRAM P.A., ROSENTHAL E., 1982. Selection at the alcohol dehydrogenase locus of *Drosophila melanogaster* : effects of ethanol and temperature. *Biochem. Genet.*, **20**, 681-687.