

Stérilité mâle aux températures extrêmes chez les Drosophiles

Jean R. David

CNRS, laboratoire Évolution, Génomes, Spéciation, 91198 Gif sur Yvette, France & Université Paris-Sud 11, 91405 Orsay Cedex, France

Auteur correspondant : Jean R. David, david@legs.cnrs-gif.fr

Reçu le 6 septembre 2007

Résumé – Le fait que la spermatogenèse des Mammifères n'est possible qu'à une température inférieure à celle du corps est un phénomène bien connu mais qui ne suscite guère d'intérêt. Chez les Ectothermes, par exemple les Insectes, la stérilité/fertilité des mâles en fonction des conditions de l'environnement reste aussi une thématique négligée. Chez *Drosophila melanogaster*, la stérilité complète des mâles élevés à 30 °C fut décrite en 1971, et un phénomène analogue, c'est à dire une stérilité à basse température, fut décrit deux ans plus tard. Des travaux comparatifs récents ont montré que ce qui était valable pour *D. melanogaster* existait aussi pour toutes les autres espèces étudiées. Pour chaque espèce, on peut définir une gamme de températures compatibles avec un développement complet. Ces limites sont cependant très variables selon les cas, et peuvent être compris entre 6-26 °C ou bien 16-32 °C. Dans chaque cas on observe, avant que le seuil de létalité ne soit atteint, la production de mâles stériles. Il est probable que ce phénomène joue un rôle important pour expliquer la distribution géographique des espèces. L'espèce cosmopolite *D. melanogaster* vit sous des climats très divers et présente des adaptations correspondantes. En particulier, dans des régions très chaudes en été (Inde, Sahel), la stérilité à haute température n'apparaît qu'à 31°C. Des croisements entre une population de région tempérée (France) et une population indienne ont montré que la différence génétique concernant la stérilité des mâles était déterminée, en grande partie, par le chromosome Y. Ce résultat est surprenant compte tenu du fait que ce chromosome ne comporte qu'un très petit nombre de gènes. En conclusion, les drosophiles, au cours de leur évolution, se sont adaptées à de climats variés, et les seuils de stérilité thermique des mâles ont changé en fonction de ces adaptations. Mais nous n'avons toujours pas d'hypothèse pour expliquer pourquoi des mâles stériles sont toujours produits aux températures extrêmes, basses ou hautes.

Mots clés : Drosophile / stress / spermatogenèse

Abstract – Male sterility at high and low temperatures in *Drosophila*.

It is well known that in Mammals, spermatogenesis requires a temperature lower than that of the body. In Ectotherms, for example in Insects, male sterility/ fertility according to environmental conditions also remains a neglected field. In *Drosophila melanogaster*, a complete male sterility after development at 30 °C was described in 1971. A similar phenomenon, observed at low temperature, was described two years later. Recent comparative investigations have shown that what was found in *D. melanogaster* was also valid in other species. In each case, it is possible to define a range of temperatures compatible with a complete development. According to the investigated species, however, this range is very variable, for example 6-26 °C or 16-32 °C. In each case, the occurrence of sterile males is observed before the lethality threshold is reached. Such a phenomenon is probably important for understanding the geographic distributions of species. The cosmopolitan *D. melanogaster* lives under very different climates and exhibits corresponding adaptations. In countries with a

very hot summer, such as India or the African Sahel, male sterility appears only at 31 °C. Crosses between a temperate population from France and a heat-resistant Indian population revealed that a large part of the genetic difference was carried by the Y chromosome. Such a result is surprising since the Y chromosome harbors only a very small number of genes. In conclusion, drosophilid species, during their evolution, were able to adapt to very different climates and the thermal sterility thresholds have changed, following these adaptations. But we still lack an evolutionary hypothesis for explaining why sterile males are, in all cases, produced at extreme, low or high temperatures.

Key words: *Drosophila* / stress / spermatogenesis / male sterility / extreme temperatures

Introduction : Phénotypes sexuels et morphologie des gamètes

Il existe, chez la plupart des animaux, un mode de reproduction très uniforme : des femelles qui produisent en petit nombre des ovocytes (les macrogamètes) et des mâles qui produisent de nombreux spermatozoïdes (les microgamètes). On pourrait penser que cette similitude sous-tend une base génétique commune et que les mêmes gènes sont utilisés, de façon répétitive, dans les divers groupes, selon une perspective Evo-Devo. En pratique, cette hypothèse est totalement fautive : les gènes responsables du déterminisme génétique du sexe dans différents groupes sont extrêmement variés et souvent sans relations entre eux. Les phénotypes sexuels sont donc des caractères convergents ou, pour reprendre un mot à la mode, des homoplasies.

Il y a quelques décennies, les progrès de la microscopie électronique ont révélé, au niveau des spermatozoïdes, une extrême diversité dans la forme générale, les modalités de la différenciation et les ultrastructures. Là encore, l'approche Evo-Devo n'a pas de raison d'être et la méthode comparative, lorsque des taxons éloignés sont étudiés, n'apporte guère d'information.

Une analogie entre mammifères et drosophile

Si l'on compare cependant certains aspects physiologiques de la gamétogenèse mâle, on observe une analogie troublante entre les Mammifères et la Drosophile.

Il est bien connu que, chez les Mammifères, les testicules migrent dans une poche cutanée, le scrotum, à l'extérieur de la cavité abdominale. Cette situation est absolument nécessaire, chez la plupart des espèces, au bon déroulement de la spermatogenèse. La température corporelle habituelle, environ 37 °C, est trop élevée pour permettre une gamétogenèse normale. La migration des testicules dans le scrotum permet à la spermatogenèse de se dérouler à

une température nettement plus basse. Cette observation a conduit à une espèce de dogme : pour des raisons inconnues, il n'est pas possible de produire des spermatozoïdes à 37 °C. Remarquons cependant que ce dogme mammalien ne s'applique pas aux oiseaux, chez qui la spermatogenèse a lieu dans la cavité abdominale, à une température d'environ 40 °C. Remarquons aussi que la localisation des testicules dans le scrotum n'est pas une solution optimale du point de vue de l'évolution. Chez beaucoup d'espèces où les mâles se battent, les testicules de l'adversaire sont une cible privilégiée. Ceci est un exemple, parmi beaucoup d'autres, du fait que l'évolution biologique tient plus du bricolage que de la recherche d'un optimum. En d'autres termes, le « *design* » n'est pas vraiment « intelligent », comme le croient les créationnistes américains. Il aurait été beaucoup plus simple et plus efficace d'adapter la spermatogenèse à une température de 37 °C.

Chez les organismes à température variable (les ectothermes), et en particulier les Insectes, il existe une extrême diversité dans les adaptations thermiques (Precht *et al.*, 1955; Cossins & Bowler, 1987; Leather *et al.*, 1993; Hoffmann *et al.*, 2003). Certaines espèces ne se sentent bien qu'au-dessus de 30 °C, tandis que d'autres ne peuvent se développer qu'en dessous de 12 °C. Une telle diversité n'a été possible qu'après une longue évolution et des pressions sélectives qui ont duré des dizaines de millions d'années. Par ailleurs, ces études ont généralement considéré la mortalité au cours du développement ou bien la capacité à produire des descendants, sans que la fonction mâle, la spermatogenèse, soit considérée de façon directe.

Dans le cas de la drosophile (*Drosophila melanogaster*), il a été montré, il y a plusieurs décennies (David *et al.*, 1971), que les mâles élevés à 30 °C étaient complètement stériles, mais que cette stérilité était réversible, avec un certain délai, après un retour à une température plus basse. Il y avait là une analogie claire avec le cas des Mammifères, et toujours aucune interprétation adaptative. La seule idée générale était que les spermatozoïdes étaient peut-être spécialement fragiles vis-à-vis de la chaleur.

Deux ans plus tard (Cohet, 1973) un phénomène similaire fut décrit du côté des basses températures : les mâles de *D. melanogaster*, élevés à 13 °C, étaient totalement stériles. Là encore, l'hypothèse d'une fragilité spéciale de la spermatogenèse pouvait être envisagée.

Les choses devinrent plus intéressantes lorsque, en 1974, une souche récoltée par L. Tsacas en République du Tchad s'avéra fertile à 30 °C. Cette souche fut distribuée à divers laboratoires dans différents pays, en particulier en URSS, mais le résultat, qui suggérait une adaptation particulière au climat très chaud du Sahel, ne fut jamais publié.

Comparaisons entre différentes espèces de drosophiles

Il existe près de 4000 espèces de drosophiles connues, dont plus de 500 peuvent être élevées en laboratoire et donc servir de matériel expérimental. Proche de *D. melanogaster*, il existe une autre espèce de drosophile (*D. simulans*) qui est aussi cosmopolite et qui fait l'objet d'études comparatives approfondies. (David *et al.*, 2004). Nous savions, par de simples essais d'élevage en laboratoire, que *D. simulans* n'avait pas la même thermotolérance que *D. melanogaster*. Une analyse comparée très précise fut entreprise et publiée (Chakir *et al.*, 2002). Dans ce travail, diverses méthodes furent mises au point pour analyser la fertilité des mâles. La méthode classique, qui consiste à croiser les mâles expérimentaux avec des femelles normales, fut bien entendu utilisée, ainsi que le dénombrement des descendants. Une autre méthode, plus rapide, fut aussi employée, qui consistait à disséquer les mâles et à apprécier leur fertilité par la présence de spermatozoïdes mobiles dans les vésicules séminales. Ces deux méthodes produisirent des résultats cohérents et des conclusions très claires : les mâles de *D. simulans* étaient totalement stériles à 28 °C (contre 30 °C pour *D. melanogaster*). À basse température, en revanche, la stérilité mâle s'observait à 12 °C chez *D. simulans* contre 13 °C chez *D. melanogaster*. Dans tous les cas, un retour des mâles à une température permissive de 21 °C permettait une récupération de la fertilité, mais plus ou moins rapide selon la température utilisée pour induire la stérilité (ex 30 *vs.* 31 °C) et l'espèce étudiée. Là encore le critère de récupération montrait que *D. simulans* était plus tolérante au froid et plus sensible à la chaleur que son espèce sœur.

Ces études comparées ont été étendues à d'autres espèces de drosophilides. En particulier l'espèce tropicale, cosmopolite et invasive, *Zaprionus indianus* a été analysée de façon approfondie (Araripe *et al.*, 2004). Un développement complet est possible entre 13 et 31 °C, ce qui n'est pas très différent de *D. melanogaster*. Mais les mâles sont totalement stériles à 15 °C et

il n'est pas possible de conserver une souche au laboratoire en dessous de 17 °C. Il semble que cette sensibilité particulière au froid explique le statut d'espèce tropicale de ce *Zaprionus* qui, cependant, a conquis récemment le nord de l'Égypte, l'état d'Israël, le Brésil et le sud des États-Unis.

D'autres espèces ont été étudiées de façon moins approfondie, mais ces études ont montré que les gammes de températures compatibles avec un développement complet varient beaucoup. Ainsi l'espèce tempérée européenne *D. subobscura* peut être élevée entre 6 et 26 °C (Moréteau *et al.*, 1997) et la stérilité mâle s'observe à 7 et à 25 °C. Pour l'espèce cosmopolite tropicale *D. ananassae*, les limites de développement sont 16 et 32 °C (Morin *et al.*, 1997). Là encore des mâles stériles sont obtenus aux températures extrêmes. Parmi toutes les espèces étudiées jusqu'à présent, celle qui est la plus sensible à la chaleur est une espèce nouvelle, non encore décrite de *Zaprionus*, qui ne peut pas être élevée au-dessus de 23 °C (David *et al.*, 2005) et qui produit des mâles stériles à cette température. Curieusement, il s'agit aussi d'une espèce purement tropicale, mais sa sensibilité à la chaleur s'explique par le fait qu'elle vit dans les montagnes, à des températures moyennes inférieures à 20 °C.

En conclusion, le phénomène de stérilité mâle semble exister chez toutes les espèces, mais les températures de stérilisation sont elles-mêmes très variables et elles accompagnent les variations des températures compatibles avec le développement.

Variabilité génétique chez *Drosophila melanogaster*

Il y a une dizaine d'années, nous avons développé une coopération avec un laboratoire indien de la région de New Delhi. Cette région a un climat très contrasté, avec des hivers doux et un été extrêmement chaud : la température moyenne des deux mois qui précèdent la mousson est supérieure à 32 °C. Les drosophiles ne devraient donc pas pouvoir survivre. En pratique, il existe des populations permanentes, mais le mécanisme précis de cette permanence reste conjectural. Il est probable que les adultes se protègent grâce au microclimat qui existe à proximité immédiate des étendues d'eau. Même si la température de l'air est supérieure à 35 °C, elle tombe à 25 °C à quelques centimètres d'une surface aquatique. Malgré ce phénomène protecteur, on pouvait penser qu'il y avait aussi une forte sélection pour accroître la thermotolérance. Les recherches ont confirmé cette attente : toutes les souches de *D. melanogaster* étaient

fertiles à 30 °C et le seuil de stérilité male était proche de 31 °C.

Une analyse génétique de la différence importante qui existait avec les populations tempérées a été entreprise. Les premiers résultats des croisements entre souches indiennes et françaises ont mis en évidence un phénomène inattendu. Il existait une différence très significative entre les mâles des deux F1 réciproques : les mâles ressemblaient à la souche de leur père. Rappelons que, d'une façon habituelle, lorsqu'il existe une différence entre les F1 réciproques, les mâles ressemblent davantage à leur mère, en raison d'une hérédité liée au chromosome X. Pour la stérilité, un phénomène inverse permettait de soupçonner l'intervention du chromosome Y. Cette hypothèse a été testée dans une série de rétrocroisements successifs qui ont introduit le chromosome Y de chaque souche parentale dans le background génétique (autosomes et chromosome X) de l'autre souche. Les résultats ont confirmé l'hypothèse de départ (Rohmer *et al.*, 2004) : à lui tout seul, le chromosome Y était responsable d'environ 50 % de la différence initiale. Ce résultat est très surprenant car, chez la drosophile, on ne connaît qu'un très petit nombre de gènes, environ 12, sur le chromosome Y. Aucun des gènes connus, en particulier plusieurs dynéines, ne semble être capable d'expliquer les observations sur la stérilité. Par ailleurs le phénotype stérilité mâle est complexe et le délai de récupération des mâles stériles, après un retour à une température permissive de 21 °C, est variable et proportionnel à la température utilisée pour provoquer la stérilité. Les anomalies cytologiques de la spermatogenèse chez les mâles stériles ont enfin été analysées, mais sans aboutir à des conclusions claires. Les spermatozoïdes non viables ont des flagelles plus courts que les spermatozoïdes normaux, mais les variations entre individus sont considérables. Par ailleurs, la cytologie des spermatides a montré des anomalies diverses chez les mâles stériles. Une telle diversité des phénotypes semble correspondre à des phénomènes génétiques complexes, en contradiction avec l'hypothèse d'un gène majeur porté par l'Y.

Nous nous sommes enfin demandé si les populations du nord de l'Inde, et aussi celles de l'Afrique sahélienne, étaient des populations homozygotes, en limite d'une sélection directionnelle imposée par la chaleur, ou bien si elles étaient encore capables d'évoluer en réponse à des conditions environnementales plus extrêmes. Une réponse positive très claire a été apportée à la seconde hypothèse. Ainsi l'élevage permanent des populations indiennes à une température constante de 30 puis 30,5 °C a permis d'élever le seuil de stérilité de 31 à 31,5 °C. Les populations déjà très tolérantes à la chaleur sont encore capables d'accroître cette tolérance si nécessaire. En revanche, des

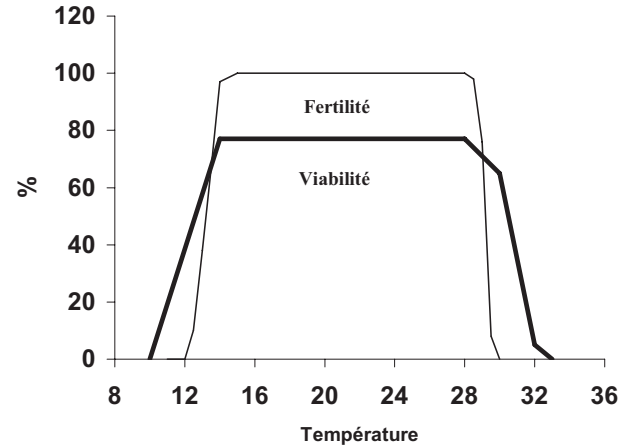


Fig. 1. Représentation schématique des courbes de réponse de la viabilité (pourcentage d'adultes obtenus à partir de 100 œufs) et de la fertilité (pourcentage de mâles fertiles) en fonction de la température de développement chez *D. melanogaster*.

expériences analogues pratiquées sur des populations françaises ont échoué jusqu'à présent.

Conclusions et perspectives

Il est très probable que la stérilité mâle, observée à haute température chez la drosophile, n'est qu'une pure analogie avec ce qui se passe chez les Mammifères. Cependant, grâce aux drosophiles, nous commençons à comprendre que les seuils thermiques de stérilité à basse et à haute température ont une signification évolutive et peuvent changer assez vite en fonction de l'adaptation thermique de chaque espèce. Il y a là un champ d'investigation presque inexploré qui devrait permettre, dans le futur, de comprendre les mécanismes génétiques mis en jeu. Les courbes de réponse de la fertilité mâle en fonction de la température de développement ont une forme presque rectangulaire, avec des seuils très abrupts. Par exemple, chez *D. melanogaster*, la fertilité passe de 100 % à 0 % lorsque la température augmente de 28,5 à 30 °C (Figure 1). La courbe de viabilité a une forme analogue (Figure 1) mais elle est un peu moins abrupte aux températures extrêmes et elle s'étend sur un intervalle un peu plus large. Cette analogie entre les deux courbes ne reflète probablement pas le même mécanisme. En effet, la létalité aux températures extrêmes frappe les deux sexes de façon identique, et il est probable que c'est le même réseau génique qui est affecté (Mirth & Riddiford, 2007). En revanche, la stérilité est spécifique du sexe mâle et il semble très peu probable que les gènes affectés aient une relation avec le développement. Nous n'avons pas

d'interprétation évolutionniste correcte pour expliquer pourquoi on observe, apparemment dans tous les cas, une stérilité des mâles un peu avant que les seuils de létalité (non-viabilité) soient atteints.

D'un point de vue écologique, nos résultats suggèrent enfin que la stérilité mâle pourrait être plus importante que la létalité pour expliquer la distribution géographique des espèces de drosophiles. Curieusement, la stérilité mâle induite par des températures extrêmes est restée jusqu'à présent très peu étudiée dans les autres groupes d'insectes. Quelques observations préliminaires suggèrent cependant qu'il s'agit peut-être d'un phénomène général (voir David *et al.*, 2005).

Références

- Araripe L.O., Klaczko L.B., Moréteau B. & David J.R. Male sterility thresholds at extreme temperatures in a tropical drosophilid *Zaprionus indianus*. *Journal of Thermal Biology*, 2004, 29, 73-80
- Chakir M., Chafik A., Moréteau B., Gibert P. & David J.R. Male sterility thermal thresholds in *Drosophila* : *D simulans* appears more cold-adapted than its sibling *D. melanogaster*. *Genetica*, 2002, 114, 195-205.
- Cohet Y., Stérilité mâle provoquée par une basse température de développement chez *Drosophila melanogaster*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1973, 276, 3343-3345.
- Cossins A. & Bowler K. Temperature Biology of animals, Chapman and Hall, London.
- David J., Arens M.F. & Cohet Y. Stérilité mâle à haute température chez *Drosophila melanogaster* : nature, progressivité, réversibilité des effets de la chaleur. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 1971, 272, 1007-1010
- David J.R., Allemand R., Capy P., Chakir M., Gibert P., Pétavy G. & Moréteau B. Comparative life histories and ecophysiology of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Genetica*, 2004, 120, 151-163.
- David J.R., Araripe L.O., Chakir M., Legout H., Lemos B., Pétavy G., Rohmer C., Joly D. & Moréteau B., Male sterility at extreme temperatures : a significant but neglected phenomenon for understanding *Drosophila* climatic adaptations. *J. Evol. Biol.* 2005, 18, 838-843
- Hoffmann A.A., Sorensen J.G. & Loeschcke V. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes : bringing together quantitative and molecular approaches. *J. Therm. Biol.*, 2003, 28, 175-216.
- Leather S., Walters K. & Bale J. The Ecology of Insect Overwintering., 1993, University press, Cambridge.
- Mirth C.K. & Riddiford L.M. Size Assessment and growth control : how adult size is determined in insects. *BioEssays*, 2007, 344-365.
- Moréteau B., Morin J.P., Gibert P., Pétavy G., Pla E. & David J.R. Evolutionary changes of nonlinear reaction norms according to thermal adaptation : a comparison of two *Drosophila* species. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 1997, 320, 833-841.
- Morin J.P., Moréteau B., Pétavy G., Parkash R. & David J.R. Reaction norms of morphological traits in *Drosophila* : adaptive changes in a stenotherm circum-tropical species. *Evolution*, 1997, 51, 1140-1148
- Rohmer C., David J.R., Moréteau B. & Joly D. Heat induced male sterility in *Drosophila melanogaster* : adaptive genetic variations among geographic populations and role of the Y chromosome. *J. Exp. Biol.*, 2004, 207, 2735-2743.