

Génétique et évolution des Nématodes libres. Perspectives tirées de l'étude de *Caenorhabditis elegans*

Par V. NIGON et J. BRUN

Section de Biologie générale et appliquée, Faculté des Sciences de Lyon

Les Nématodes libres comptent, vraisemblablement, parmi les Métazoaires les plus nombreux de la Biosphère. Pour une majorité d'espèces, habitant les vases marines ou limniques, l'élevage régulier en laboratoire n'a pas été réalisé jusqu'à présent ce qui réduit considérablement les possibilités d'étude expérimentale. En revanche, les Nématodes du sol, le plus souvent saprobiontes, s'élèvent aisément sur des milieux gélosés garnis de colonies bactériennes. Quelques espèces, parmi lesquelles *C. elegans* qui nous servira d'exemple, ont pu être élevées dans des conditions axéniques, sur des milieux liquides de composition partiellement définie (NICHOLAS et al.¹, HANSEN et al.²).

Le rythme rapide du cycle de développement chez *C. elegans* (3–7 jours selon la température), sa reproduction prolifique (environ 150 descendants par génération à 18°C), offrent des conditions particulièrement favorables pour son emploi dans l'expérimentation génétique. Cependant, le caractère relativement rudimentaire de l'organisation des Nématodes libres présente peu de prise au développement d'anomalies morphologiques: le plus souvent, ces anomalies sont léthales ou conduisent à la stérilité. Aussi, en dehors de la détermination du sexe et d'un petit nombre de caractères morphologiques et physiologiques (NIGON et DOUGHERTY³, HIRSCHMANN⁴, WESSING⁵, BRUN⁶, FATT et DOUGHERTY⁷), le champ le plus vaste qu'ils offrent à l'analyse génétique pourrait concerner la transmission des caractéristiques nutritionnelles. Ainsi, aux yeux du généticien, cet animal présente des caractères qui, à certains égards, le placent entre les organismes inférieurs, Bactéries ou Cryptogames, dont l'étude génétique est également orientée vers les caractéristiques du métabolisme, et les Métazoaires supérieurs dont les structures complexes viennent interposer des régulations supplémentaires entre les potentialités cellulaires et leur expression phénotypique.

Il n'est pas inutile de rappeler, enfin, que les Rhabditides – famille de Nématodes libres à laquelle appartient *C. elegans* – sont souvent considérés comme

une des lignées phylogénétiquement les plus archaïques parmi les Nématodes. Et que des formes rhabditoïdes caractérisent les générations libres dans plusieurs groupes de Nématodes plus évolués, dont les générations parasites présentent des structures fort différentes. Et l'on peut envisager ainsi que les structures génétiques des formes rhabditoïdes constituent sans doute la représentation la plus valable d'un patrimoine commun à l'ensemble des Nématodes.

La détermination du sexe

Reproduction et types sexuels. Chez *C. elegans*, la quasi totalité des individus observés dans un élevage correspond à des hermaphrodites autoféconds (Figure 1). Comme celles de vraies femelles, les glandes génitales de ces hermaphrodites sont paires, formées de deux tubes fermés à l'extrémité distale, confluant à leur extrémité proximale au niveau de la vulve qui s'ouvre au milieu du corps. Sur des individus parvenant à maturité sexuelle, on constate que les premières cellules reproductrices qui se forment évoluent pour donner des spermatozoïdes destinés à rester dans les voies génitales. Par la suite ne se constitueront plus que des ovules, fécondés – à mesure de leur achèvement – par les spermatozoïdes initialement formés (Figure 2). A partir de ce moment, il devient impossible de trouver une différence entre les hermaphrodites de cette espèce et les femelles vraies que l'on trouve dans des espèces voisines. Comme il n'existe aucune possibilité anatomique de fécondation croisée entre individus hermaphrodites, l'autofécondation permanente institue

¹ W. L. NICHOLAS, E. C. DOUGHERTY et E. L. HANSEN, Ann. N.Y. Acad. Sci. 77, 218 (1959).

² E. L. HANSEN, E. A. YARWOOD, W. L. NICHOLAS et F. W. SAYRE, Nematologica 5, 27 (1960).

³ V. NIGON et E. C. DOUGHERTY, J. Hered. 41, 103 (1950).

⁴ H. HIRSCHMANN, Zool. Jb. (Systemat.) 40, 132 (1951).

⁵ A. WESSING, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 44, 101 (1956).

⁶ J. BRUN, Annls Biol. anim. Biochim. Biophys. 6, 127, 267 et 439 (1966).

⁷ H. V. FATT et E. C. DOUGHERTY, Science, N.Y. 140, 266 (1963).

les conditions d'une lignée rigoureusement pure. L'homozygotie stricte ne semble donc limitée dans cette espèce que par la production éventuelle de mutations.

Cependant, une observation attentive montre qu'il existe aussi des mâles, en général bien conformés, pourvus d'organes copulateurs et d'une glande génitale unique dans laquelle se forment exclusivement des spermatozoïdes (Figure 1). Ces mâles représentent 1-2 individus sur 1000. Ils sont le plus souvent dotés d'un instinct génésique évident et tentent de copuler avec les hermaphrodites. Leur rareté fait qu'il est très facile, dans des cultures convenablement contrôlées, d'éviter leur intervention dans la reproduction et donc de maintenir le caractère strict de l'autofécondation.

L'emploi systématique de ces mâles nous a permis d'analyser le mécanisme de la détermination du sexe

dans cette espèce (NIGON⁸). Si l'on croise, en effet, un mâle et un hermaphrodite, en isolant le couple sur une faible quantité de milieu gélosé, l'individu hermaphrodite se trouve approvisionné en deux catégories de spermatozoïdes: les uns sont ses propres spermatozoïdes, les autres résultent de la copulation et proviennent du mâle. Souvent cette opération ne se traduit par aucun changement visible dans la descendance: tout se passe alors comme si les spermatozoïdes fournis par le mâle étaient soit inopérants, soit génétiquement identiques à ceux de l'hermaphrodite. Dans certains cas pourtant, le croisement aboutit à la production d'une proportion notable de mâles, pouvant atteindre 40% du nombre total des descendants. Ce résultat, déjà observé occasionnellement par MAUPAS⁹, a été obtenu de façon systématique par NIGON¹⁰. Les mâles, issus de ces croisements, se montrent très fré-

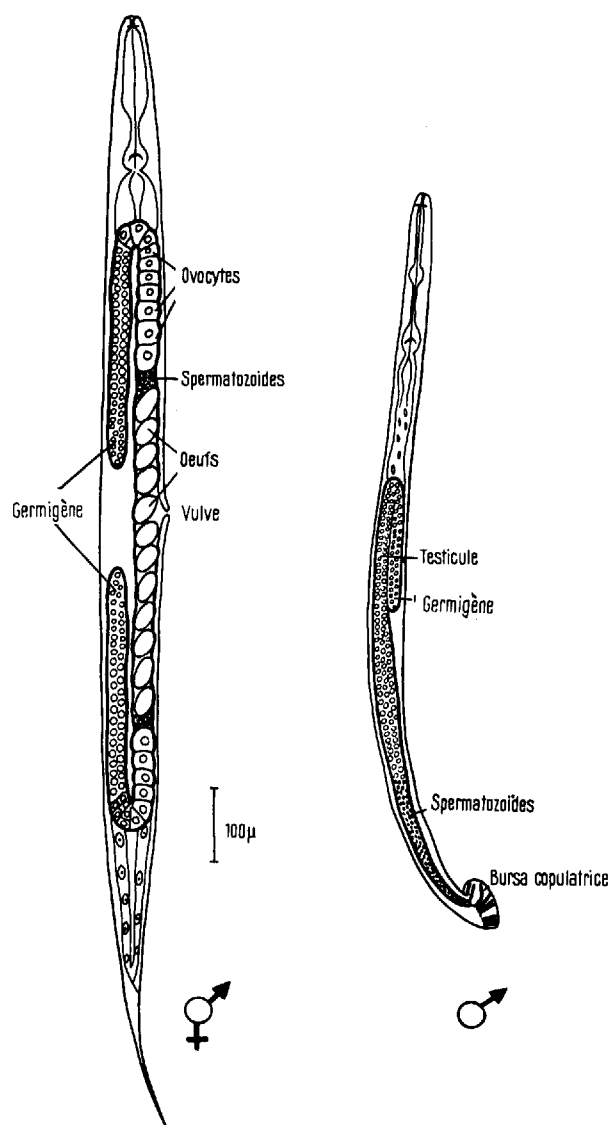


Fig. 1. *C. elegans*, hermaphrodite et mâle, à maturité sexuelle (semi-schématique).

- ⁸ V. NIGON, *Annls Sci. nat. (Zool.)* 11, 1 (1949).
⁹ E. MAUPAS, *Archs Zool. exp. gén.* 8, 463 (1900).
¹⁰ V. NIGON, *C. r. Séanc. Soc. Biol.* 137, 40 (1943).

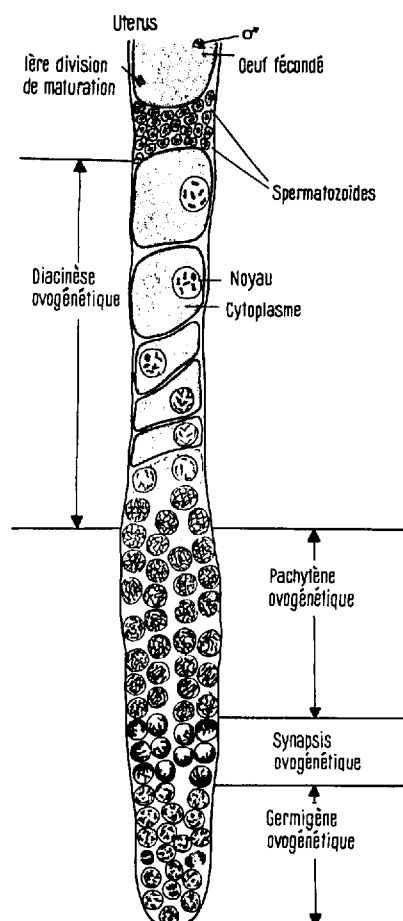


Fig. 2. Représentation schématique de l'ovogenèse normale dans une moitié d'ovotestis de *C. elegans* (d'après BRUN⁶).

quemment fertiles et fournissent alors régulièrement, par croisement avec les hermaphrodites, une descendance riche en mâles. Ainsi, lorsque l'expérience a été réussie une première fois, il est facile de maintenir, par des croisements contrôlés, une proportion importante de mâles.

Les individus non mâles, issus de ces croisements, se sont toujours montrés des hermaphrodites normaux, sans signe de séparation des sexes. On aimerait, sans doute, réaliser, dans cette expérience, le croisement des spermatozoïdes mâles isolés avec les ovules des hermaphrodites. Malheureusement, ce type d'expérience exige l'emploi d'hermaphrodites vieillissants, ayant épuisé leur propre stock de spermatozoïdes. Or, il s'avère que ces individus âgés présentent une ovogenèse irrégulière, génératrice d'anomalies chromosomiques et cause d'incertitudes sur le plan génétique (BRUN⁶).

La gamétogenèse et la détermination chromosomique du sexe

L'étude cytologique de l'ovogenèse est rendue aisée par sa disposition au sein du tube gonadique. Les cellules situées à l'apex se multiplient et forment la souche à partir de laquelle se différencient les ovocytes. Les stades successifs de l'évolution sont groupés en zones relativement homogènes (Figure 2), ce qui permet une sériation précise des stades nucléaires caractéristiques. Elle a conduit NIGON et BRUN¹¹ à distinguer un mode particulier de formation des tétrades en croix qui s'effectue ici par un mouvement de concentration des chromatides, inverse du mouvement de terminalisation des chiasmes classiquement décrit. La diacinèse montre la présence de 6 bivalents. La pénétration du spermatozoïde déclenche des divisions reductrices banales suivies par une amphimixie très normale (NIGON⁸, NIGON, GUERRIER et MONIN¹²).

L'étude de la spermatogenèse des mâles est plus difficile du fait de la petite taille des cellules. Cependant, le processus s'avère régulier et montre la présence de 5 bivalents et d'un univalent. Il en résulte la formation de gamètes à 5 et à 6 chromosomes. On comprend ainsi que l'entrée en jeu des spermatozoïdes provenant d'un mâle puisse donner lieu à la formation de descendants pourvus respectivement de 12 chromosomes (= hermaphrodites) et de 11 chromosomes (= mâles). Et l'on peut admettre que, sur les 12 chromosomes de l'hermaphrodite, deux sont des chromosomes sexuels dont un seul existe chez le mâle. La production de rares mâles fertiles apparaissant dans la descendance d'hermaphrodites autofécondés résulte, sans doute, de la perte accidentelle d'un de ces chromosomes sexuels. L'existence, parmi ces mâles produits par les hermaphrodites, d'individus apparemment inféconds, permet de soupçonner l'existence d'autres possibilités pour déterminer le sexe mâle: leur infécondité pourrait résulter, par exemple, d'une balance chromosomique

imparfaite, telle qu'elle peut exister chez des individus nécessairement issus d'un processus irrégulier. Malheureusement, le caractère sporadique de la production de ces mâles n'a jamais permis de vérifier cette hypothèse de façon directe. On notera seulement que les chocs thermiques – dont nous verrons plus loin qu'ils déterminent des irrégularités dans le nombre de chromosomes des gamètes – peuvent conduire à la production de formes apparemment intersexuées: on observe ainsi des appendices copulateurs de taille réduite et même un testicule morphologiquement bien constitué mais produisant apparemment des ovocytes (MAUPAS⁹, NIGON⁸). On peut supposer que de telles irrégularités résulteraient d'une balance génique anormale, conséquence du choc thermique.

L'étude de la spermatogenèse des hermaphrodites est extrêmement délicate: elle se déroule très vite, chez des individus de taille relativement faible et dans des cellules très petites. Les observations effectuées montrent cependant une réduction chromatique normale produisant des spermatozoïdes tous semblables, pourvus de 6 chromosomes. Une analyse quantitative, portant sur la croissance des cellules en cours de gamétogenèse, a conduit DELAVAU¹³ à conclure que l'orientation en direction spermatogénétique ou ovogénétique s'effectue au milieu de la phase larvaire et, sans doute, de façon irréversible.

Les anomalies de la gamétogenèse et la production de formes tétraploïdes

L'action de températures extrêmes permet d'introduire des irrégularités systématiques dans le processus de la reproduction. Ainsi les températures voisines de 0°C conduisent à des irrégularités de segmentation généralement léthales. Des températures relativement élevées, de l'ordre de 25°C, induisent, dans l'ovogenèse, de nombreuses anomalies chromosomiques, fusions de noyaux ou multiplications irrégulières, qui conduisent à la formation d'ovocytes polyploïdes: là encore, on aboutit très vite à la stérilité. Cependant, si les hermaphrodites n'ont subi à 25°C qu'un choc de quelques heures et sont ensuite ramenés à des températures qui s'avèrent normales pour ces animaux (entre 13 et 18°C), la fertilité reparaît. Cette fertilité permet parfois le développement d'œufs à stock chromosomique anormal. Parmi les formes obtenues de cette façon, on note la production d'individus tétraploïdes pourvus de 24 chromosomes (NIGON¹⁴). Ce sont des hermaphrodites qui se distinguent des individus diploïdes normaux par une taille presque double et par une fécon-

¹¹ V. NIGON et J. BRUN, *Chromosoma* 7, 129 (1955).

¹² V. NIGON, P. GUERRIER et H. MONIN, *Bull. biol. Fr. Belg.* 93, 131 (1960).

¹³ R. DELAVAU¹³, *Archs Zool. exp. gén.* 97, 109 (1959).

¹⁴ V. NIGON, *Bull. biol. Fr. Belg.* 85, 187 (1951).

dité nettement amoindrie. Leur gamétogenèse présente un certain nombre d'irrégularités qui rendent la forme assez peu stable. Cependant, au moyen d'une sélection rigoureuse, les élevages peuvent être poursuivis durant plus de 100 générations (NIGON¹⁴, BRUN⁶). Parmi les anomalies chromosomiques observées dans ces formes tétraploïdes, il faut signaler l'existence d'hermaphrodites alléloènes, produisant 42% de mâles et pourvus de 23 chromosomes, tandis que les hermaphrodites tétraploïdes à 24 chromosomes produisent seulement 0,6% de mâles et sont dits thélygènes. Les mâles, quant à eux, sont pourvus de 22 chromosomes. C'est-à-dire que le croisement d'un mâle tétraploïde et d'un hermaphrodite thélygène donne naissance à des hermaphrodites alléloènes qui, au premier examen, ne se distinguent pas des autres hermaphrodites tétraploïdes.

Autres observations concernant le mode de reproduction des Nématodes libres

Parmi les particularités de la reproduction des Rhabditides, il faut citer encore celles qui découlent, chez certaines espèces, du développement parthénogénétique de l'œuf. En dehors de la gynogenèse classique, qui donne naissance à des femelles seulement, on trouve ici la pseudogamie: cette modalité de développement comporte l'activation de l'ovocyte par un spermatozoïde qui dégénère aussitôt après, sans participer à la formation du noyau de fécondation. Cependant, chez *Mesorhabditis belari*, ce genre de développement se produit selon un mode facultatif: chez un même individu, certains spermatozoïdes donnent lieu, en effet, à une amphimixie normale. Tandis que le développement pseudogame conduit à la formation de femelles, les œufs à développement amphimixique fournissent les deux sexes. L'observation est d'autant plus intéressante que le mâle contient ici le même nombre de chromosomes que la femelle; on obtient ainsi une confirmation de l'hétérogamétie mâle, bien qu'elle ait été, dans cette espèce, inaccessible à l'observation cytologique. Le mode de développement de l'œuf paraît dépendre ici d'un certain nombre de facteurs externes (NIGON^{8,15}).

Enfin, il y a lieu de signaler que le mode pseudogame se rencontre aussi bien chez des espèces gonochoriques, comme *Mesorhabditis belari*, que chez des hermaphrodites, comme *Rhabditis aberrans*. Une observation d'HERTWIG¹⁶ a montré la transformation, attribuée à une mutation, d'une forme amphimixique en une forme pseudogame, chez *Rhabditis pellio*.

La sensibilité aux températures élevées et son déterminisme (BRUN^{17,6})

Les anomalies chromosomiques constatées à la suite des chocs thermiques à 25°C devaient conduire à examiner les effets de températures intermédiaires.

Notons d'abord que cette sensibilité à la chaleur paraît être un caractère spécifique de l'ovogenèse. A la même température, la spermatogenèse ne montre aucun signe apparent de perturbation. D'autre part, on peut prélever des œufs produits à 18°C par exemple et les porter à 25°C: ils donneront naissance à des individus de morphologie normale, mais totalement stériles.

Si l'on prélève des animaux élevés à 18°C depuis de nombreuses générations, pour les transporter à une température plus élevée et les y laisser, quatre cas peuvent se présenter:

(a) S'ils sont portés à 20°C, ils se reproduisent parfaitement avec une fécondité inchangée (environ 140 descendants par hermaphrodite). Seule la vitesse de développement est accélérée.

(b) S'ils sont portés à 25°C, les anomalies chromosomiques qui se produisent dans l'ovogenèse déclenchent une stérilité immédiate.

(c) S'ils sont portés à 23,5°C, leur fécondité chute brutalement aux environs de 10 descendants par hermaphrodite. Dans les générations ultérieures maintenues à cette même température, la fécondité décroît encore de façon progressive. Finalement, la lignée s'éteint après 4-8 générations à cette température.

(d) S'ils sont portés à 22°C (Figure 3), on observe dès la première génération une baisse de fécondité; dans les générations suivantes, la fécondité diminue

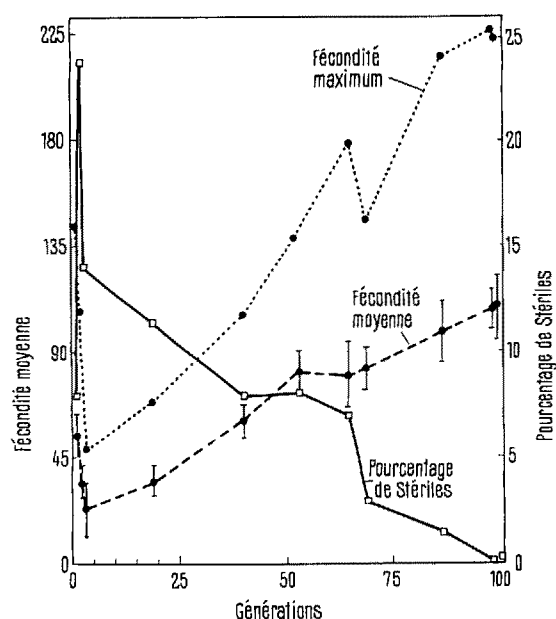


Fig. 3. *C. elegans*. Evolution de certains paramètres de la reproduction au cours des générations successives, dans le passage d'une souche de 18 à 22°C (d'après BRUN⁶).

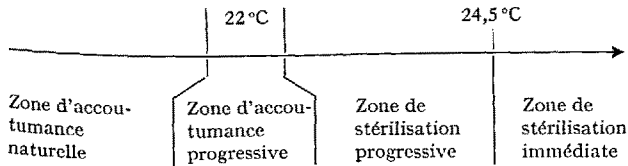
¹⁵ V. NIGON, C. r. heb. Séanc. Acad. Sci., Paris 234, 2568 (1952).

¹⁶ P. HERTWIG, Arch. mikrosk. Anat. EntwMech. 94, 303 (1920).

¹⁷ J. BRUN, Science, N.Y. 150, 1467 (1965).

encore jusqu'à un chiffre moyen de 20 descendants par hermaphrodite, généralement observé entre la 5ème et 7ème génération à 22°C. Après quoi, la fécondité s'élève graduellement. Elle atteint 95 après 100 générations. Après 200 générations, on obtient une fécondité moyenne presque identique à celle de la souche d'origine. La lignée semble alors parfaitement acclimatée à cette température.

En définitive, cette expérience permet de distinguer quatre zones dans l'échelle des températures, pour des animaux issus de cultures à 18°C :



Extension de l'adaptation

L'observation d'une accoutumance progressive à 22°C posait la question de savoir si celle-ci peut être poussée plus loin. Si l'on porte à 23°C des animaux, provenant d'un élevage poursuivi à 22°C durant un petit nombre de générations seulement, on observe une chute de fécondité qui conduit, en quelques générations, à l'extinction de cette lignée. Si la même expérience est pratiquée après un élevage suffisamment long à 22°C, les résultats sont différents : les premières générations de la lignée transférée à 23°C montrent alors une fertilité décroissante, puis celle-ci passe par un minimum pour finir par s'élever de façon régulière. Le minimum de fertilité se présente à nouveau vers la 6ème ou 7ème génération élevée à 23°C ; après le franchissement de ce seuil, la fertilité croissante dénote l'acheminement vers un nouvel état d'acclimation. Le succès de cette étape n'est devenu possible qu'après 95 générations à 22°C.

Les capacités d'acclimation de la souche adaptée à 22°C sont limitées ; en effet, il a été impossible d'obtenir directement, à partir de cette souche, une acclimation à température plus élevée que 23°C. En revanche, la souche adaptée à 23°C montre de nouvelles aptitudes qui apparaissent seulement après une assez longue durée d'élevage à cette température. On peut ainsi obtenir une accoutumance à 23,5°C, puis 24°C et enfin 24,5°C (Figure 4). A chaque étape d'acclimation, on observe le même processus. Ainsi, la Figure 5 montre le déroulement d'une expérience d'adaptation de 24°C à 24,5°C répétée à cinq reprises différentes ; on constate le comportement parallèle des diverses lignées étudiées qui atteste le caractère reproductible de l'expérience.

L'obtention d'une souche acclimatée à 24,5°C nécessite une expérimentation poursuivie sur plus de 1000 générations. Elle représente un seuil dans l'analyse partie d'une souche élevée d'abord à 18°C. En

effet, pour cette souche, la température de 24,5°C provoquait, au départ, une stérilisation totale dès la première génération.

La physiologie de l'adaptation

Deux sortes d'observations nous informent sur la nature des transformations physiologiques responsables des propriétés d'une souche adaptée

La première catégorie de ces observations est fournie par des expériences dans lesquelles des animaux issus d'une souche cultivée à température élevée sont reportés à 18°C où leur fertilité est comparée à celle de la souche d'origine (Figure 6). On constate alors que

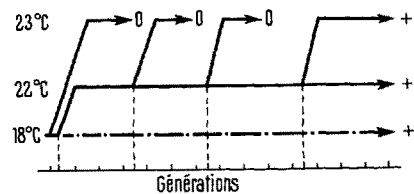


Fig. 4. Schéma de la démarche suivie au cours des expériences d'acclimation (le signe $\rightarrow 0$ représente l'extinction d'une lignée ; le signe $\rightarrow +$ représente une lignée définitivement fertile).

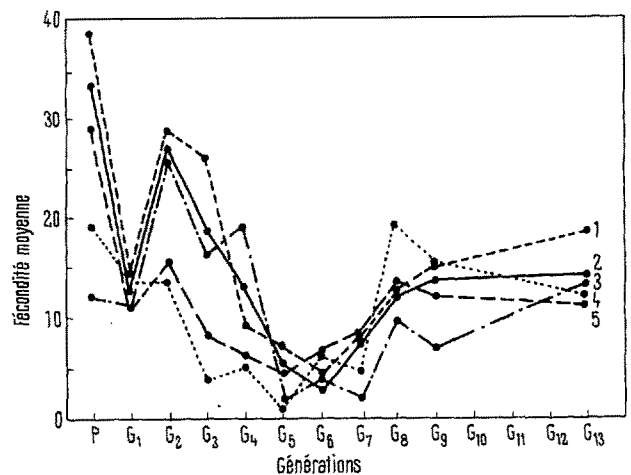


Fig. 5. *C. elegans*. Evolution de la fécondité moyenne au cours des générations successives dans le passage d'une souche de 24 à 24,5°C. Le comportement de 5 lignées différentes a été considéré séparément (d'après BRUN⁶).

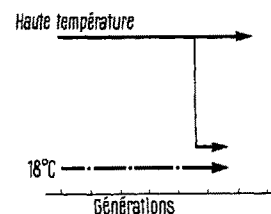


Fig. 6. Schéma des expériences visant à comparer la fécondité de 2 souches à 2 températures différentes.

la souche expérimentale fournit, par hermaphrodite, de 200 à 240 descendants, alors que la fécondité moyenne de la souche d'origine est de 140 à 18°C. Si l'on compare non plus la fertilité totale de chaque hermaphrodite mais les fertilités quotidiennes des 2 souches, à cette même température de 18°C, on constate qu'elles sont peu différentes. La principale différence s'avère porter sur la durée de la période féconde de chaque individu, qui s'étend sur 6 jours environ dans la souche témoin, tandis qu'elle peut atteindre 8-9 jours dans la souche ramenée à 18°C à partir d'une température plus élevée.

Une seconde catégorie d'observations relève d'études cytologiques. Si on examine les structures nucléaires de la gonade chez un animal de la souche d'origine élevé à 18°C, âgé et devenu stérile, on y trouve de nombreuses anomalies: désynapsis, noyaux polyploïdes, cellules polynucléées etc. Ces figures tératologiques apparaissent ici comme une partie des manifestations de la sénescence au niveau de l'ovaire. Lorsqu'on examine l'ovaire chez des individus jeunes qui, élevés à 18°C, ont été portés ensuite à température élevée, on constate que ces mêmes anomalies apparaissent en quelques heures sous l'influence de la chaleur. Si à ce moment, on ramène ces animaux à 18°C, les structures anormales sont éliminées et la fertilité reprend normalement. Quelques ovocytes cependant pourront se développer avec des structures nucléaires irrégulières et certains pourront donner naissance à des individus polyploïdes. Si, au contraire, les animaux provenant de 18°C poursuivent leur séjour à température élevée, la stérilité surviendra bientôt, liée, semble-t-il, aux mêmes figures nucléaires qui caractérisaient la sénescence de la souche à 18°C.

Lorsqu'on examine l'évolution des structures nucléaires dans une souche adaptée à température élevée, on voit apparaître les mêmes anomalies mais après un jour environ de fonctionnement normal. Cette brève période de fonctionnement régulier de l'ovaire, jointe à la forte fécondité quotidienne caractéristique des températures élevées, suffit pour assurer à la souche une fertilité notable. En définitive, l'apparition à température élevée des figures de stérilité est *retardée* dans la souche acclimatée par rapport à leur production dans la souche non acclimatée.

L'ensemble de ces observations conduit à établir un lien entre la stérilité, la sénescence et la température. Les individus appartenant aux lignées adaptées à la température élevée ont une période de fertilité plus longue que celle des individus de la souche d'origine: cette prolongation est directement visible lorsque les élevages sont pratiqués à 18°C; à température élevée, on l'observe en déterminant le moment où apparaissent les signes cytologiques de la stérilité. Si l'on admet que ces figures sont une manifestation de la sénescence, tout se passe comme si une température élevée accélérerait un processus de vieillissement; l'ac-

coutumance apparaît alors comme un mécanisme antagoniste qui ralentit le vieillissement. L'effet de l'accoutumance, observé par rapport aux témoins non accoutumés, reste visible même lorsque la comparaison entre les deux formes est effectuée à basse température. Ce qui conduit à penser que les effets primaires, exercés respectivement par la chaleur et par le processus de l'accoutumance, se situent à des niveaux différents: leur effet de compensation résulte d'une situation secondaire.

La stabilité génétique de l'adaptation

Nous avons vu que les lignées adaptées à une température élevée se distinguent de la souche d'origine:

- (1) par leur fertilité à une température où la souche d'origine ne peut plus se maintenir;
- (2) par une fécondité supérieure à celle de la souche d'origine lorsqu'elles sont placées l'une et l'autre à 18°C.

Ces modifications ayant été obtenues en relation étroite avec l'application d'un stimulus thermique, on peut se demander dans quelle mesure leur maintien est conditionné par ce stimulus. En vue de répondre à cette question, les expériences suivantes ont été réalisées:

Dans une lignée acclimatée à température élevée, certains animaux sont ramenés à 18°C et comparés à la souche d'origine à travers une succession de générations. A partir de ce rameau ramené à 18°C, des individus sont reportés à température élevée et comparés à la lignée qui n'a pas quitté sa température d'acclimation (Figure 7).

La fécondité élevée, caractéristique d'une lignée H.T. (= haute température) ramenée à 18°C, subsiste pendant de nombreuses générations; cependant cette fécondité va généralement en décroissant. Cette décroissance est d'autant plus lente que l'adaptation à température élevée avait été plus prolongée. Ainsi une lignée adaptée à température élevée durant plus de 250 générations manifeste, à 18°C, une baisse de fécondité qui est significative dès la 15^{ème} génération à cette température. Une lignée adaptée à température élevée durant 450 générations reste encore significativement plus fertile que la souche témoin après 300

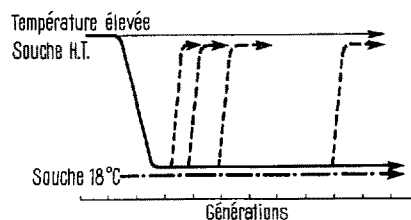


Fig. 7. Schéma d'expériences visant à comparer l'action d'un séjour plus ou moins long à 18°C sur la fécondité d'une souche acclimatée à température élevée (souche H.T.).

générations de retour à 18°C. En aucun cas, les lignées H.T. reportées à 18°C ne deviennent moins fertiles que la souche témoin: la fertilité de celle-ci semble représenter une sorte de position d'équilibre vers laquelle les lignées H.T. s'acheminent plus ou moins lentement selon leur degré d'adaptation à la température élevée.

Si l'on examine maintenant la fécondité obtenue après report à température élevée d'une lignée H.T. qui a subi un passage à 18°C, on constate, ici aussi, une influence de la durée de passage à 18°C. Si celui-ci n'a duré qu'une génération, la lignée H.T. conserve sa pleine fécondité et les animaux ainsi traités ne diffèrent pas de ceux restés sans interruption à température élevée. Si, au contraire, le passage à 18°C s'est étendu sur plusieurs générations, le retour à température élevée montre une fertilité amoindrie par rapport à celle de la lignée de contrôle (Figure 8). L'aptitude à subir, sans changement de fertilité, un passage plus ou moins long à 18°C varie aussi selon le degré d'accoutumance. Dans certains cas, une différence par rapport à la lignée de contrôle n'est devenue visible qu'après 20 générations à 18°C.

Il s'avère donc que, dans les conditions de ces expériences, aucune des propriétés caractéristiques de l'accoutumance ne se conserve indéfiniment en l'absence du stimulus que constitue l'élevage à température élevée. L'acclimatation à la température élevée, proprement dite, diminue la première; la fécondité élevée à basse température décroît moins vite. Dans tous les cas, la perte des caractéristiques de l'adaptation est d'autant plus lente que l'action de la stimulation thermique se sera exercée sur une durée plus longue.

Le rôle de la sélection dans la production de l'adaptation

La lente croissance des caractéristiques de l'accoutumance évoque un processus de sélection. Le caractère relativement stable des effets obtenus, leur réversibilité progressive suggéreraient l'existence d'équilibres faisant intervenir des systèmes polygéniques. Cependant, ces hypothèses, à première vue séduisantes, viennent buter sur un certain nombre de faits qui les rendent hautement improbables. Le principal de ces obstacles réside dans le caractère strictement autogame de la reproduction dans l'espèce étudiée. Cette autogamie continue, jointe à la régularité des processus chromosomiques que vérifie l'étude cytologique, conduit à la conclusion que les souches employées doivent être rigoureusement homozygotes, à l'exception, bien entendu, de l'hétérogénéité qui découle des mutations spontanées.

Le caractère homozygote des élevages de *C. elegans* ressort également d'autres considérations. Si l'on examine l'évolution de la fécondité dans des lignées consanguines d'espèces voisines, à sexes séparés, on constate qu'elle baisse rapidement ce qui révèle sans

doute la manifestation de gènes défavorables présents à l'état hétérozygote. Au contraire, dans les espèces monoïques, comme *C. elegans*, la fécondité se maintient constante malgré le caractère strict de l'autofécondation (NIGON⁶).

Dans ces conditions, l'intervention d'un mécanisme de sélection polygénique ne pourrait plus reposer que sur l'existence d'un certain taux de mutations spontanées. Or, pour autant que les études morphologiques permettent d'en juger, ce taux ne présente pas un caractère exceptionnel. En outre, il semble difficile de faire reposer sur des mutations aléatoires un processus qui s'avère aussi reproductible dans des lignées examinées parallèlement, et qui se retrouve, semblable à lui-même, à chacune des étapes de l'acclimatation.

Cependant, un examen détaillé des corrélations de fécondité entre géniteurs et descendants montre, dans certains cas, l'existence d'un processus de sélection. En particulier, les géniteurs dont la fécondité est inférieure à la fécondité moyenne dans la génération à laquelle ils appartiennent, fournissent des descendants dont la fécondité est elle-même réduite. Si bien qu'une sélection sur la fécondité faible peut aboutir rapidement à l'extinction des lignées. En revanche, la sélection de géniteurs particulièrement fertiles ne fournit pas de descendants significativement plus féconds que la descendance d'animaux dont la fertilité est comprise dans la moyenne de leur génération. C'est-à-dire que la fraction positive de la sélection est insuffisante pour manifester son effet à court terme, de façon significative, à travers les facteurs aléatoires de variation de la fécondité.

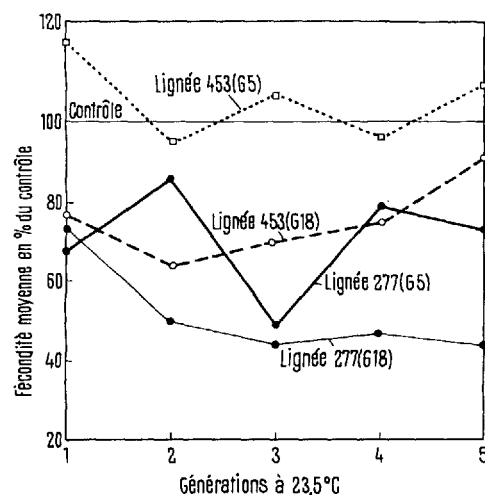


Fig. 8. *C. elegans*. Des souches acclimatées à 23,5°C depuis 277 générations (lignée 277) ou 453 générations (lignée 453) sont reportées à 18°C. Elles restent à cette dernière température durant 4 générations (G 5) ou 17 générations (G 18), puis sont ramenées à 23,5°C. Le graphique indique l'évolution des fécondités, dans les 4 lignées de cette expérience, durant les premières générations à 23,5°C (d'après BRUN⁶).

Hypothèses sur le mécanisme génétique de l'accoutumance

La localisation des facteurs génétiques de l'accoutumance relève d'expériences de croisements entre lignées adaptées et non adaptées dont la réalisation se poursuit. Notons seulement qu'elles se heurtent à des difficultés considérables, à cause du mode particulier de reproduction de l'espèce; par suite également de la nécessité de réaliser les croisements à l'une ou à l'autre des extrémités du spectre de températures accessibles, ce qui pose nécessairement un problème pour l'une au moins des formes à croiser. Jusqu'à l'achèvement des expériences de ce type, toute construction logique doit être considérée avec la prudence qui s'attache à une hypothèse de travail.

L'un des schémas qui vient à l'esprit, le plus volontiers, considère la possibilité d'altérations spécifiques dont le siège serait à chercher en dehors des sites géniques: sélection d'organites cellulaires, voire de parasites; changements d'états cytoplasmiques dotés d'une certaine transmissibilité etc. De nombreux phénomènes décrits chez des êtres unicellulaires, les Paramécies par exemple, pourraient sans doute servir de modèle à l'élaboration de théories de cette nature. On évoquera également les observations de LANSING¹⁸ sur un Rotifère parthénogénétique, *Philodina citrina*. Dans cette espèce, la fécondité des descendants dépend étroitement de l'âge atteint par les parents au moment où ces descendants sont produits. Ces effets de l'âge sont cumulatifs et peuvent conduire soit à l'extinction d'une lignée après un petit nombre de générations, soit, au contraire, à la stabilisation de la fertilité à sa valeur maximale. Quelle que soit la base cytologique qui sera admise, il faudra considérer que l'évolution vers l'accoutumance repose sur une série continue de processus réversibles dont l'évolution s'effectuerait sur un rythme beaucoup plus lent que celui de la reproduction et s'étendrait, de ce fait, à travers un grand nombre de générations consécutives.

Cette hypothèse ne conduit nullement à exclure l'intervention de facteurs géniques dans la production de l'accoutumance chez *C. elegans*. En effet, FATT et DOUGHERTY⁷ ont décrit, chez la même espèce, une souche provenant de Bristol (Grande-Bretagne), et dans laquelle l'adaptation à la température élevée paraît établie d'emblée et de façon entièrement stable, contrairement aux observations fournies par notre souche provenant de Bergerac (France). Les résultats du croisement entre les souches Bristol et Bergerac semblent démontrer que la différence entre les deux souches pourrait reposer sur un petit nombre de gènes.

La considération simultanée de facteurs géniques et non géniques constitue un modèle dont on connaît de nombreux exemples. Dans la plupart des cas, on est amené à supposer que l'existence d'une structure, non génique bien que dotée d'une certaine transmissibilité, repose, d'une manière plus ou moins lointaine, sur

l'activité d'un gène. Dans le cas qui nous intéresse, et sans formuler d'autre hypothèse sur la nature de la transformation responsable de l'adaptation, le caractère continu de cette évolution est susceptible d'introduire un élément nouveau. Supposons, par exemple, qu'à la continuité des structures responsables de l'adaptation à des températures croissantes corresponde l'activation successive de gènes distincts. L'ensemble des propriétés du système peut être schématisé dans le tableau suivant:

Définition de la lignée	Adaptée à basse température	Adaptée à température moyenne	Adaptée à température élevée
Etats des structures non géniques correspondants	$a_1 \rightleftharpoons a_2 \rightleftharpoons a_3 \rightleftharpoons b_1 \rightleftharpoons b_2 \rightleftharpoons b_3 \rightleftharpoons c_1 \rightleftharpoons c_2 \rightleftharpoons c_3$		
Nature des gènes de contrôle activés	a^+	b^+	c^+
Propriétés de la lignée	Fertile à basse température. Stérile à température élevée. Susceptible de s'adapter à température moyenne	Fertile à moyenne température. Plus fertile à basse température. Susceptible de s'adapter à température élevée.	Fertile à haute température. Très fertile à basse température.

Dans ce schéma, l'avènement d'une mutation au niveau de l'un des gènes de contrôle pourra avoir pour effet d'interdire la réalisation des états non géniques correspondants. Si l'on suppose, par exemple, que la mutation survient au niveau du gène b^+ , si l'animal qui subit cette mutation se trouvait en phase a , on pourra supposer que la souche correspondante y restera indéfiniment, désormais incapable de subir une adaptation à une température plus élevée. Réciproquement, si la mutation survient alors que la lignée se trouvait en phase c , il est possible d'envisager que l'adaptation à température élevée se trouverait définitivement conservée. Dans ce schéma, l'intervention d'une mutation pourrait donc conférer une stabilité définitive à une structure qui, par sa formation, présenterait les apparences d'une accommodation. Quant à l'effet produit par un croisement, il pourrait dépendre du phénotype de l'hybride b^+b , soumis lui-même simultanément à une détermination interne et externe.

Bien entendu, une telle construction ne peut être considérée jusqu'à présent qu'à la façon d'une image, car d'autres hypothèses pourraient être envisagées.

¹⁸ A. I. LANSING, Ann. N.Y. Acad. Sci. 57, 455 (1954).

Conclusions

Les observations faites chez *C. elegans* sont largement tributaires du mode de reproduction de cette espèce. Il paraît très vraisemblable, en effet, que, dans une espèce à sexes séparés, le jeu de nombreux facteurs (résidu d'hétérozygotie, dégénérescence consanguine etc.) serait intervenu pour compliquer considérablement l'évolution d'un phénomène aussi lent que l'adaptation à la température. Il serait sans doute devenu impossible d'apercevoir dans cet ensemble, la part non génique qui s'est révélée. Ainsi, même si des processus analogues s'avéraient assez répandus, il serait généralement difficile de les mettre en évidence. Cette difficulté de principe suffit à justifier les études poursuivies sur les espèces qui rendent accessible ce genre de phénomènes, dont une connaissance plus précise permettrait sans doute de poursuivre la recherche de façon plus étendue. Les caractères très particuliers de la biologie de certains Nématodes libres permettent donc une ingression dans un domaine qui eut été inaccessible sans ces particularités.

Il est à noter, par ailleurs, que l'on rencontre, chez beaucoup de Nématodes, un polymorphisme dont on connaît peu d'exemples chez d'autres Métazoaires accessibles aux investigations expérimentales. Ce polymorphisme se traduit de plusieurs manières :

(1) Des modes de reproduction différents (hermaphrodisme, gonochorisme, amphimixie, gynogenèse) se rencontrent dans des espèces voisines, peu différentes sur le plan morphologique. Cette sorte de considérations a conduit OSCHÉ¹⁹ à introduire la notion d'espèces jumelles ou complémentaires.

(2) Dans certains cas, ces modes de reproduction différents se rencontrent dans la même espèce, parfois liés aux conditions d'existence des individus sous la forme de ce qu'on appelle les alternances de générations (voir GRASSÉ²⁰).

(3) L'alternance entre générations libres et parasites s'accompagne, lorsqu'elle existe, de différences morphologiques importantes. La forme présentée par les générations libres est alors généralement proche de la structure rhabditoïde fondamentale, tandis que les générations parasites montrent les caractères d'une spécialisation plus avancée. Il est évident, pourtant, que le patrimoine génétique de ces diverses formes ne saurait être très différent.

Dans le cas des espèces alternantes, l'existence d'un lien entre la forme prise par l'animal et les conditions du milieu est évidente, mais la nature de ce lien reste entourée d'obscurités (NIGON in GRASSÉ²⁰, NIGON et ROMAN²¹). L'une des explications possibles réside dans le jeu conjoint de facteurs géniques et non géniques, reliés entre eux par un mode de contrôle réciproque qui, de quelque façon, dépendrait des conditions externes. Une telle conception suppose que, dans la naissance d'une espèce parasite, la majorité des détermi-

nants géniques issus de la forme libre ancestrale peuvent être conservés. La possibilité de maintenir la forme libre serait alors suspendue à la permanence de certains déterminants non géniques; si ceux-ci deviennent déficients dans les conditions de la vie libre, la reproduction indéfinie d'une forme libre devient impossible et la répression que subiraient ainsi les gènes de la forme libre pourrait conduire une seconde série de gènes, caractéristique de la forme parasite, à s'exprimer. En admettant que l'état de parasite permette la reconstitution des déterminants non géniques déficients de la génération antécédente, on comprendrait que sa descendance évolue, de nouveau, sous la forme d'un adulte libre. Au contraire, si la déficience de ces déterminants est définitive, en particulier incapable de réversion sous l'influence des conditions de vie parasitaire, il se constituera une forme essentiellement parasite, à développement direct, comme il en existe au sein des espèces alternantes, à côté des formes à développement indirect.

Cette hypothèse, calquée sur celle que nous avons été amenés à proposer, pour expliquer l'adaptation à la température élevée, diffère de cette dernière principalement par le caractère discontinu des phénotypes sur lesquels elle se fonde. Mais il faut noter que cette discontinuité entre phénotype libre et phénotype parasite, évidente chez les Rhabdiasidés et Strongyloïdés, peut être beaucoup moins nette chez une espèce comme *Alloionema appendiculata*, parasite des limaces. De sorte qu'elle devrait être considérée comme une forme avancée d'une évolution qui a été rendue possible par l'existence préalable d'un système caractérisé par un ensemble continu de phénotypes. A cet égard, le modèle proposé pour l'adaptation à la température élevée de *C. elegans* pourrait se révéler d'importance fondamentale pour expliquer l'évolution des Nématodes vers le parasitisme.

Une deuxième question peut être posée au sujet du nombre des unités géniques dont l'activité distingue respectivement les formes libres et les formes parasites au sein d'une espèce alternante. Le développement des Nématodes est caractérisé par une tachygenèse remarquable, liée à une fixation très précoce des potentialités. Ce développement rigide aboutit, dans de nombreux cas, à une détermination stricte du nombre et de la position des cellules dans certains organes (=eutélie). Dans une morphogenèse aussi peu régulative, on peut concevoir que des changements minimes au niveau des processus de détermination conduiront, dans la mesure où ils resteront viables, à des phénotypes relativement éloignés. De sorte que, là encore, on imaginera qu'un contrôle exercé sur un nombre

¹⁹ G. OSCHÉ, Zool. Jb. (Systemat.) 82, 618 (1954).

²⁰ P. P. GRASSÉ, *Traité de Zoologie IV*, 2 et 3: *Némathelminthes* (Masson, Paris 1965).

²¹ V. NIGON et E. ROMAN, Bull. biol. Fr. Belg. 86, 404 (1952).

relativement faible de déterminants génétiques pourra se traduire par des formes très différentes.

Ainsi, le mode de développement des Nématodes associé au jeu de leurs déterminations génétiques, peut les constituer en un système doué d'aptitudes évolutives remarquables, fondées sur une interaction complexe entre déterminants géniques, non géniques et facteurs du milieu. Il reste évidemment à savoir si une telle conception conserverait une signification en dehors de ce groupe zoologique particulier.

Summary. Free-living nematodes are endowed with a set of properties that make them specially attractive for experimental work. Geneticists and evolutionists may be especially interested in their easy cultivation, great fecundity and polymorphism. As an example, some results are brought concerning *Caenorhabditis elegans* and related species: (1) Sex determination

occurs as the expression of a genic balance involving differences in the number of chromosomes. The alternatives gynogenesis, amphimixis, or auto-heterofecundation take a prominent place in the reproductive processes of these species. (2) Polyploidy may be obtained by heat-shock, giving rise to individuals showing characteristic chromosomal unbalance and variability. (3) *C. elegans*, which cannot normally be raised at a higher temperature than 22°C, has been gradually adapted to temperatures up to 24.5°C. This acclimatization implies an adaptive transformation of the ovarian physiology; this effect is obtained after long training, taking more than 1000 generations. Study of the process of acclimatization shows that its genetical basis may be partly of a non-genic nature, partly of a genic type. Hypotheses are developed for explaining this phenomenon and for the understanding of the evolution from free-living to parasitic nematodes.

SPECIALIA

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces brèves communications. – Für die Kurzmitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed in the authors' brief reports. – Ответственность за короткие сообщения несёт исключительно автор. – El responsable de los informes reducidos, está el autor.

Über Struktur und Aktivität der den H_2O_2 -Zerfall katalysierenden Cu^{2+} -Komplexe. – VI. Differenzierung von nativer RNS und nativer DNS bzw. denaturierter DNS auf Grund der katalytischen Eigenschaften^{1,2}

Für die Sekundär- bzw. Tertiär-Struktur von Desoxyribonukleinsäure (DNS) wurde von WATSON und CRICK auf Grund von Röntgendaten ein Modell entwickelt, das sich in der Folge durch weitere experimentelle Befunde stützen liess und das heute allgemein anerkannt ist^{3,4}. Diesem Strukturmodell liegt die Annahme zugrunde, dass je zwei Basen durch Wasserstoffbindungen miteinander in Beziehung stehen. Durch diese «Basenpaarung» werden zwei Polynukleotid-Stränge zusammengehalten und schraubenförmig miteinander verdreht. Ein solcher Aufbau der DNS bedingt, dass die Basenpaare im Innern der «Schraube» liegen, während die Desoxyribose- und Phosphatreste nach aussen zu liegen kommen.

In Analogie zur DNS ist auch bei der Ribonukleinsäure (RNS) eine räumlich geordnete Struktur zu erwarten. Bestimmte Anhaltspunkte sprechen dafür, dass auch hier schraubenartig aufgebaute Bezirke⁵, sowie in gewissen Bereichen Basenpaarungen auftreten. Letztere wurden von SEIDEL, CRAMER et al.^{5,6} mit Hilfe der N-Oxydation der Adenosin-Einheiten untersucht. Der Umfang der N-Oxydation wird durch die Basenpaarung herabgesetzt, wodurch sich Kenntnisse über den Basenpaarungsgrad von RNS gewinnen lassen. Diese «N-Oxydation von Adenosin» stellt somit eine Art molekulare «Sonde» zur Abtastung der RNS-Struktur dar.

Der von uns untersuchte «Metallionen-katalysierte H_2O_2 -Zerfall»⁷ lässt sich nun in ähnlicher Weise als molekulare «Sonde» bei der Aufklärung von Strukturen verwenden:

Früher haben wir gezeigt, dass die katalytische Aktivität von Cu^{2+} -Komplexen von der Zahl der «freien»⁸ Koordinationsstellen am Metallion abhängt. Cu^{2+} -Komplexe mit 2 bzw. 1 «freien» Koordinationsstelle sind katalytisch aktiv, solche ohne «freie» Koordinationsstellen dagegen inaktiv⁷. Auf Grund dieser Befunde lassen sich durch Messen der katalytischen Aktivität von Cu^{2+} -Komplexen unbekannter Struktur Rückschlüsse auf die Zahl der «freien» Koordinationsstellen in diesen Komplexen ziehen⁹.

¹ V. Mitteilung: S. PETRI, H. SIGEL und H. ERLÉNMEYER, *Helv. chim. Acta* **49**, 1778 (1966).

² 12. Mitteilung über *Metallionen und H_2O_2* ; 11. Mitteilung: H. CH. CURTIUS, P. ANDERS, R. ZELL, H. SIGEL und H. ERLÉNMEYER, *Helv. chim. Acta* **49**, 2256 (1966).

³ P. KARLSON, *Biochemie* (G. Thieme-Verlag, Stuttgart 1962).

⁴ P. A. EDWARDS und K. V. SHOOTER, *Q. Rev. chem. Soc.* **19**, 369 (1965).

⁵ H. SEIDEL und F. CRAMER, *Biochim. biophys. Acta* **108**, 367 (1965).

⁶ H. DOEPNER, H. SEIDEL und F. CRAMER, *Angew. Chem.* **78**, 601, 682 (1966).

⁷ H. SIGEL und U. MÜLLER, *Helv. chim. Acta* **49**, 671 (1966).

⁸ Unter «freien» Koordinationsstellen verstehen wir im folgenden solche, die entweder durch H_2O besetzt sind oder durch einen Liganden, der durch HOO^- verdrängt wird.

⁹ H. ERLÉNMEYER, U. MÜLLER und H. SIGEL, *Helv. chim. Acta* **49**, 681 (1966).