

Analyse de la transmission des chromosomes surnuméraires chez *Locusta migratoria migratorioides* R. et F. (Orthoptera, Acrididae)

Robert Lespinasse

Laboratoire de Zoologie, U.E.R. de Biologie, Equipe de Recherche associée au C.N.R.S. n° 227,
Université de Paris-Sud, 91 405 Orsay France

Transmission Analysis of the B Chromosomes in *Locusta migratoria migratorioides* R. et F. (Orthoptera, Acrididae)

Abstract. In a African grasshopper population of *Locusta migratoria migratorioides* reared in the laboratory, B chromosome transmission is analysed in progeny of pairs taken at random from the population. An accumulation mechanism of Bs exists in the females which presumably results from preferential segregation of the Bs in the female pronucleus. The analysis also shows B chromosome elimination during embryonic and larval development by means of mitotic non-disjunction: these non-disjunctions induce interfollicular variations in the number of Bs but all the cells of a follicle have the same number of Bs. The frequency of animals with B chromosome rises from 34% to 75% as the diurnal temperature rises from 27°C to 35°C. Thus frequency is controlled by genetic and environmental factors.

Introduction

Depuis quelques années, les chromosomes B font l'objet de travaux importants et sont décrits dans des espèces toujours plus nombreuses. L'ensemble de ces recherches montre leur présence dans l'ensemble du monde vivant, animal ou végétal (John, 1973; Jones, 1975). Les chromosomes B de chaque population possèdent une série de caractères spécifiques: leur type chromosomique, leur stabilité, leur nombre, leur mode de transmission. Ces caractères sont très variables selon les populations; malgré cette grande variabilité, il est remarquable de constater que leur fréquence est constante, de génération en génération, dans la majorité des souches étudiées. C'est pourquoi il est particulièrement intéressant d'analyser en détail chaque population.

Les acridiens constituent un groupe où les chromosomes B sont souvent décrits: ils ont été signalés dans de nombreux genres: *Myrmeleotettix maculatus*

(John et Hewitt, 1965), *Calliptamus palaestinensis* (Nur, 1963), *Phaulacridium vittatum* (Jackson et Cheung, 1967), *Tettigidea lateralis* (Fontana et Vickery, 1973) et *Locusta migratoria* (Itoh, 1934; Rees et Jamieson, 1954) sont parmi les espèces les plus étudiées. Lors d'un premier travail (Lespinasse, 1973) nous avons commencé l'étude des chromosomes surnuméraires d'une population africaine de *Locusta migratoria migratorioides*, élevée au laboratoire. Nous avons pu étudier les individus porteurs de 1 ou 2 surnuméraires; en théorie, il devait exister des animaux porteurs de 3 ou 4 chromosomes B mais la probabilité de les trouver était très faible étant donné que 10% seulement des animaux avaient deux chromosomes B: leur étude était donc très problématique.

Pour augmenter la fréquence des animaux possédant des chromosomes B, nous avons d'abord réuni les descendance de 15 couples mettant en jeu 2 surnuméraires, descendance dans lesquelles le pourcentage d'animaux porteurs de surnuméraires est beaucoup plus élevé (environ 75%). De plus, nous avons changé les conditions d'élevage pour nous rapprocher des conditions d'obtention d'une fécondité optimale. Dans nos premiers travaux, nous avions une population où 34% des animaux possédaient des chromosomes B, pour une température diurne de 27° C; dans nos dernières expériences, nous avons utilisé une température diurne de 35° C et la fréquence des animaux porteurs de surnuméraires, de 75% à l'origine (avec 20% d'animaux à 2 surnuméraires), est restée constante, statistiquement, dans les générations suivantes, ce qui constitue une observation d'une très grande importance. La mortalité sélective des individus à 2 chromosomes B de l'élevage à 27° C n'existe plus dans celui à 35° C. Cette observation nouvelle, fondamentale, montrant que l'on peut faire varier la fréquence des surnuméraires dans une population, va nous permettre d'expérimenter sans trop de difficultés avec des animaux possédant 3 ou 4 chromosomes B.

Matériel et techniques

Nous travaillons toujours sur la souche malienne de *Locusta migratoria migratorioides*, élevée en groupement dans des cages de 40 × 40 × 40 cm, où l'on trouve entre 150 et 200 individus adultes. Les conditions de nourriture (blé germé et son) et de photopériode (12 h) sont inchangées par rapport à nos premiers travaux. Par contre, nous venons de voir que la thermopériode était modifiée: la température diurne ambiante dans les cages est de 35° ± 1° C avec un maximum de 42–43° C au voisinage de la lampe, et la température nocturne demeure aux alentours de 24° C ± 1° C. Les oeufs recueillis sont mis à éclore à une température de 32° C, ce qui conduit à une durée de développement embryonnaire de 12 jours.

Les techniques employées pour la réalisation des caryotypes sont identiques à celles utilisées lors de nos premiers travaux (Lespinasse, 1973), à savoir:

- écrasement dans le carmin acétique (1 mn) après fixation dans l'éthanol acétique (1 mn) pour les mâles adultes;
- même technique pour les femelles, avec au préalable passage dans le citrate de sodium à 1% (5 mn) et dans l'acide lactique à 45% (5 mn);
- une technique dérivée de celle de Crozier sur les embryons âgés de 5 jours (à 32° C).

L'expérimentation génétique de la transmission des chromosomes surnuméraires a été, de nouveau, conduite par l'analyse caryotypique des embryons de la descendance de couples prélevés au hasard dans la population et par comparaison de la fréquence et de la répartition des chromosomes B des parents, de la F1 embryonnaire et adulte.

Etant donné qu'en microscopie photonique les chromosomes B apparaissent identiques aux 3 paires de chromosomes punctiformes de la garniture chromosomique normale de l'espèce, nous ne pouvons déceler leur existence que par comptage de tous les chromosomes punctiformes présents dans les mitoses.

Résultats expérimentaux

Le prélèvement des animaux se faisant au hasard dans la population, les couples constitués renferment un nombre variable de chromosomes B. Les couples mettant en jeu 0 ou 1 surnuméraire ayant confirmé nos premières observations, sans rien apporter de nouveau, nous n'analyserons ici en détail que les couples où 2, 3 et 4 chromosomes B sont concernés. Les résultats expérimentaux sont réunis dans les tableaux 1, 2 et 3. La plupart des observations étant semblables dans ces 3 types de couples, nous avons été amenés à rassembler les différents résultats.

Tableau 1. Résultats expérimentaux des couples mettant en jeu 2 chromosomes surnuméraires, exprimés en nombre d'individus

Couple	Nombre de B		% éclosion	F ₁ embryon						F ₁ adulte					
	père	mère		♂			♀			♂			♀		
				0S	1S	2S	0S	1S	2S	0S	1S	2S	0S	1S	2S
50	0	2	85,4	3	9	4	3	6	5	1	4	3	2	5	3
51	1	1	84,1	1	11	1	3	8	1						
53	1	1	78,6	4	4	3	2	5	2						
54	0	2	85,3	3	5	3	2	4	3	4	7	4	3	6	6
59	1	1	79,8	2	6	3	2	5	2						
62	2	0	81,8	2	5	1	2	7	3	3	5	3	3	4	2
66	1	1	85,4	5	8	4	3	8	2	2	7	5	4	7	3
69	2	0	84,4	2	5	3	4	4	2						
70	2	0	82,3	1	7	2	1	8	1						
71	0	2	78,1	2	4	3	3	5	3						
75	1	1	83,6	2	6	2	3	5	2						
77	0	2	80,9	3	6	4	2	7	3						
81	1	1	81,4	3	5	2	3	4	3						
88	1	1	79,1	2	5	4	2	5	2	3	6	2	2	5	2

Tableau 2. Résultats expérimentaux des couples mettant en jeu 3 chromosomes surnuméraires, exprimés en nombre d'individus

Couple	Nombre de B		% éclosion	F ₁ embryon								F ₁ adulte							
	père	mère		♂				♀				♂				♀			
				0S	1S	2S	3S	0S	1S	2S	3S	0S	1S	2S	3S	0S	1S	2S	3S
52	1	2	80,1	1	5	6	2	2	6	5	2	1	7	8	1	2	7	9	1
55	1	2	75,7	2	6	6	3	2	4	5	2								
56	2	1	82,0	1	7	4	2	1	4	5	1	0	4	4	2	1	3	6	0
57	1	2	72,4	3	3	3	1	2	4	2	2								
58	1	2	80,3	2	10	8	4	2	6	7	3								
64	1	2	83,1	1	5	3	1	2	6	4	3	2	3	5	0	1	5	4	
67	2	1	78,5	2	5	6	1	3	5	4	2	1	4	4	0	1	4	5	1
80	2	1	76,3	1	6	4	0	1	5	6	1								
86	2	1	78,1	1	4	3	1	3	4	4	1								
90	2	1	81,6	1	3	4	1	1	5	4	1	2	5	5	1	0	3	4	0

Tableau 3. Résultats expérimentaux des couples mettant en jeu 4 chromosomes surnuméraires, exprimés en nombre d'individus (tous les individus parentaux possèdent 2 chromosomes B)

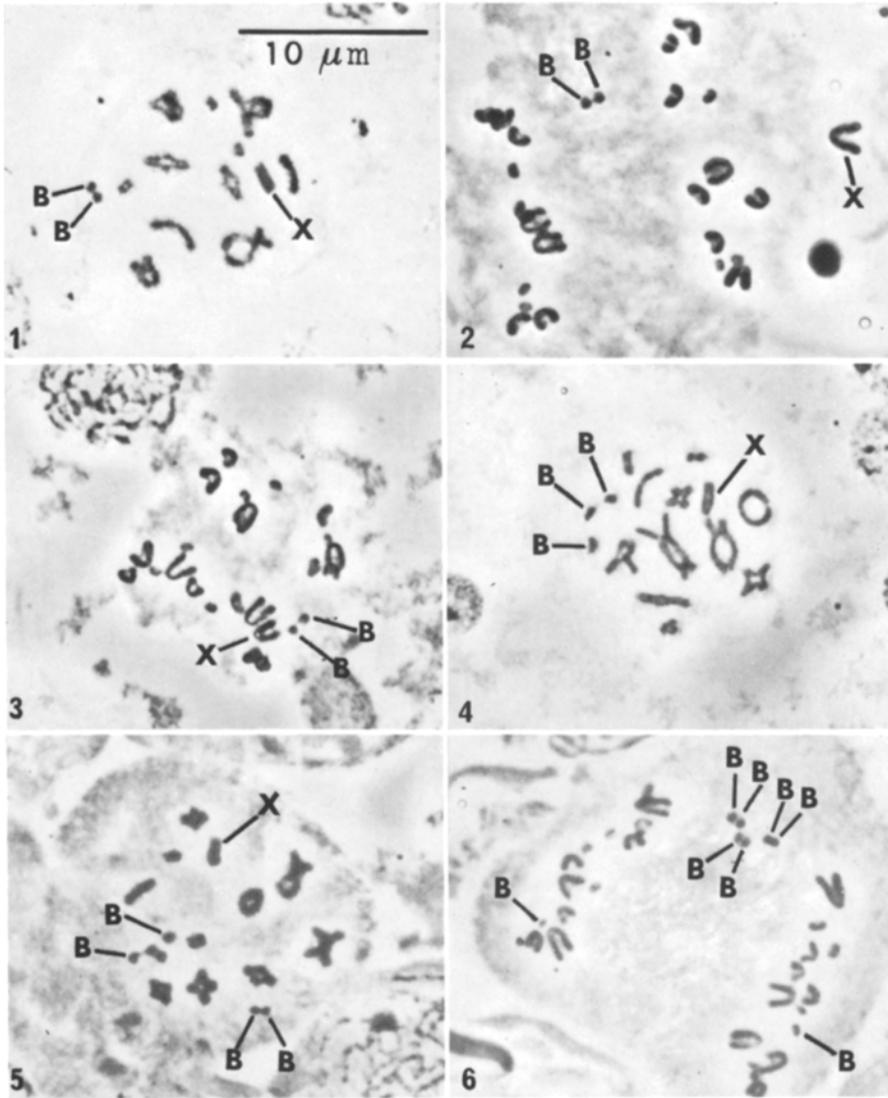
Couple	% éclosion	F ₁ embryon										F ₁ adulte									
		♂					♀					♂					♀				
		0S	1S	2S	3S	4S	0S	1S	2S	3S	4S	0S	1S	2S	3S	4S	0S	1S	2S	3S	4S
60	80,6	2	3	6	5	1	1	4	6	4	1	0	3	6	1	1	1	2	7	1	0
61	75,1	0	4	8	4	2	1	3	7	7	3	0	2	18	1	0	0	4	13	0	0
63	81,2	1	2	4	3	2	0	3	3	2	0										
65	78,0	1	4	4	5	1	1	3	6	2	1	0	1	5	0	1	0	1	7	0	1
67	80,3	0	1	14	4	1	1	2	10	6	1										
72	83,1	1	0	7	2	0	0	1	7	2	0										
73	75,9	1	3	7	4	1	1	3	10	3	3	1	2	5	0	0	1	4	6	1	0
74	78,5	0	1	14	6	0	0	1	12	4	2										
76	75,8	2	5	8	3	2	1	4	6	3	2	1	3	2	0	0	0	1	3	0	0
78	74,8	1	0	5	2	1	1	1	7	1	1										
79	81,8	0	1	4	1	3	0	1	5	1	1										
82	80,4	0	2	9	6	0	0	1	7	5	0										
83	80,7	2	5	8	5	1	1	5	8	3	2	2	5	8	0	0	1	4	7	1	2
84	78,5	0	4	6	3	0	1	5	5	5	1	1	2	5	1	1	1	3	6	0	0
86	77,9	1	1	7	3	1	0	3	5	3	1										
87	82,1	0	2	5	1	1	0	1	6	2	1										
89	75,2	0	2	5	1	2	1	1	5	2	1										
91	81,4	1	1	8	4	1	0	0	9	4	2										

I. Appariement et non-disjonction des chromosomes B

Les phénomènes d'appariement meiotique des chromosomes B décrits dans nos premiers travaux, se retrouvent dans ces dernières expériences (fig. 1 et 5). Chez les femelles de certains couples, nous observons des appariements de surnuméraires sur les métaphases I: mais cet appariement n'est pas systématique (fig. 4) et n'existe que pour certains individus seulement. Ce mécanisme se traduit au niveau de la fréquence des différents types embryonnaires: c'est le cas des couples à 2 surnuméraires (n° 51 et 70), où le nombre des embryons à 1 surnuméraire est très élevé (respectivement 76 et 75%, au lieu des 50% théorique) alors que celui des individus à 0 ou 2 surnuméraires est faible (tableau 1). Cet appariement existe aussi pour les couples à 4 chromosomes B n° 72, 74, 78 et surtout 82 où ce mécanisme entraîne l'absence d'embryons à 0 et 4 surnuméraires (tableau 3).

On l'observe également sur les écrasements de testicules des animaux mâles adultes: ainsi, les figures 5 et 6 sont relatives à un même mâle du couple 78: en prophase de première division de meiose, on compte 3 figures meiotiques supplémentaires, alors qu'en anaphase II, il y a nettement 4 chromosomes B: on observe d'ailleurs relativement facilement, ce qui est rare, les 2 surnuméraires appariés en prophase.

Pour l'analyse de nos travaux, il est important de tenir compte de ce phénomène car nous ne pouvons pas déterminer des pourcentages théoriques pour chaque



Figs. 1—6. Adultes ♂♂ Figs. 1—5. Première division de méiose

Fig. 1. Prophase avec 2 chromosomes B appariés, non disjoints, en position métaphasique. **Fig. 2.** Anaphase avec 2 chromosomes B appariés, non disjoints, ayant migré d'un même côté. **Fig. 3.** Anaphase avec 2 chromosomes B appariés, non disjoints, ayant migré d'un même côté. **Fig. 4.** Prophase avec 3 chromosomes B non appariés. **Fig. 5.** Prophase avec 4 chromosomes B dont 2 appariés. **Fig. 6.** Anaphase de 2ème division de méiose avec 4 chromosomes B dont 3 non-disjoints demeurés en position de métaphase

type embryonnaire, mais seulement des limites théoriques de variation, selon qu'il y a appariement total (ce qui n'a jamais été observé mais que nous sommes néanmoins obligés de supposer possible) ou non-appariement avec migration au hasard des chromosomes B en méiose.

Parallèlement à ce mécanisme d'appariement, on observe régulièrement des phénomènes de non-disjonction méiotique: en effet, on voit souvent aux anaphases de première ou de deuxième division de méiose, les chromosomes surnuméraires non disjoints occupant encore une position métaphasique (fig. 2 et 6). Ce phénomène est à l'origine de la migration à un même pôle des chromosomes B non disjoints, comme nous avons pu l'observer (fig. 3). Ces non-disjonctions peuvent n'intéresser que certains chromosomes B dans une division de méiose, les autres se séparant normalement: c'est ce que l'on observe sur la figure 6 où dans cette anaphase II, il y a non-disjonction et retard de migration pour 3 surnuméraires alors que le quatrième s'est divisé et a migré avec les chromosomes A. Il paraît évident que ces phénomènes de non-disjonction sont responsables des retards de migration polaire car nous ne l'observons jamais quand un seul chromosome B est présent dans une méiose. Ils sont vraisemblablement à l'origine aussi de l'instabilité dans la répartition des chromosomes B au sein des différentes mitoses des embryons à 3 ou 4 chromosomes B, comme nous allons le voir.

II. Variabilité dans la répartition des chromosomes B au sein des individus

1. Chez les embryons

Dans les couples mettant en jeu 2 surnuméraires, les embryons montrent une répartition parfaitement homogène des chromosomes B dans toutes les mitoses, qu'elles en aient 1 ou 2. Dans les couples mettant en jeu 3 ou 4 surnuméraires, il apparaît une variabilité plus ou moins importante dans la répartition des chromosomes B: les embryons à 1 surnuméraire montrent une stabilité totale de leur chromosome B, de même que la majorité des embryons à 2 surnuméraires: cependant, certains d'entre eux (inférieur à 5% pour les couples à 3 surnuméraires, entre 5 et 10% pour ceux en ayant 4) possèdent des cellules avec 3 et même 4 chromosomes B (ces cellules ont une fréquence comprise entre 20 et 30%). La variabilité apparaît pour les autres types embryonnaires: certains ont entre 0 et 6 chromosomes B, avec une symétrie nette entre la fréquence des cellules à 0 et 6 chromosomes B, 1 et 5 ou 2 et 4 et les cellules avec 3 surnuméraires sont toujours les plus nombreuses. D'autres embryons ont entre 0 et 8 chromosomes B selon les cellules, avec une symétrie entre le nombre des cellules à 0 et 8 surnuméraires, 1 et 7, 2 et 6 ou 3 et 5 et ce sont les cellules à 4 surnuméraires qui sont les plus fréquentes (tableau 4). Ces observations nous permettent d'affirmer que les embryons du premier type avaient à l'origine 3 surnuméraires et ceux du deuxième type 4 surnuméraires originels: étant donné le nombre de chromosomes B des parents, il est logique de trouver ces types embryonnaires dans leurs descendance.

Tableau 4. Exemple de la variabilité dans la répartition des chromosomes B dans des embryons à 4 surnuméraires

Embryons à 4B des couples	Nombre de mitoses possédant									Nombre moyen des chromosomes B
	0B	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	
N° 61	0	0	2	0	27	0	0	0	1	4,00
N° 67	0	3	3	1	14	2	2	4	1	4,20
N° 78	2	2	4	3	12	3	2	1	1	3,63
N° 86	3	3	4	2	9	1	3	3	2	3,76

Nous avons là un phénomène très important: le nombre maximum de chromosomes B présents dans certaines cellules des embryons est égal au double du nombre original de chromosomes B pour cet embryon. A l'intérieur de ces embryons à 3 ou 4 surnuméraires, la fréquence des cellules à caryotype aberrant vis-à-vis du nombre des chromosomes B, est très variable: entre 10 et 70% (embryon des couples 61 et 86 du tableau 4), avec une moyenne autour de 45% pour l'ensemble de nos résultats; toutefois, même quand il y a 70% de cellules aberrantes au niveau du nombre des surnuméraires dans un embryon, les cellules possédant le nombre original de chromosomes B sont toujours les plus nombreuses (tableau 4).

Cette variabilité n'est pas typique de couples particuliers mais se retrouve à l'intérieur de la descendance de tous les couples à 3 et 4 chromosomes B; de plus, dans une même ponte (incubée pendant 5 jours à 32° C) on trouve à la fois des embryons à 3 ou 4 surnuméraires avec seulement 10% de cellules présentant un nombre anormal de chromosomes B et des embryons où ce pourcentage est beaucoup plus élevé. A côté de cette instabilité dans la répartition des chromosomes B, il existe dans ces embryons à 3 ou 4 surnuméraires de nombreuses cellules présentant un caryotype anormal, en raison de phénomènes d'aneuploïdie ou de polyploïdie: la fréquence des embryons présentant de telles aberrations est de 18,60% pour ceux à 4 chromosomes B (8 sur 43), de 6,41% pour ceux en ayant 3 (10 sur 156) alors qu'elle est de 0,48% seulement, pour les embryons à 2 surnuméraires. Il apparaît donc nettement que le taux de cellules à caryotype aberrant est directement lié à la fréquence des surnuméraires, avec une discontinuité importante au-delà de 2 chromosomes B.

2. Chez les adultes

a) *Lignée germinale.* L'étude de la répartition des chromosomes B entre les différents tubules séminifères des mâles à 3 ou 4 chromosomes B, nous permet de mettre en évidence la même instabilité que celle décrite chez les embryons. Le nombre des surnuméraires varie entre les différents tubules d'un même individu: chez tous les mâles à 3 surnuméraires on observe des divisions à 2 surnuméraires dans 30 à 50% des tubules: pour le mâle adulte à 3 surnuméraires du couple 67, nous avons même trouvé des tubules (environ 10%) ne possédant

qu'un seul chromosome B. De même, tous les mâles avec 4 chromosomes B possèdent des tubules à 3 et 2 surnuméraires, selon une fréquence variant entre 30 et 40%. Par contre, à l'intérieur d'un tubule séminifère, on observe régulièrement le même nombre de surnuméraires: ces résultats sont semblables à ceux de Nur sur *Calliptamus palaestinensis* (1963) et sur *Locusta migratoria* (1969) qui a montré une répartition uniforme des chromosomes B à l'intérieur des tubules séminifères de ces criquets.

Par rapport à nos observations sur les embryons, il faut noter que nous n'avons jamais observé chez les adultes, de méiose ayant plus de 4 chromosomes B: ceci est un caractère important et, sans doute, une conséquence de l'instabilité des surnuméraires chez les embryons.

Pour les adultes à 2 surnuméraires de la F1 des couples à 3 et 4 surnuméraires, nous retrouvons une instabilité dans la fréquence des chromosomes B plus importante que celle décrite chez les embryons. En effet, sur les 49 mâles adultes à 2 surnuméraires issus des couples mettant en jeu 4 chromosomes B, nous en avons trouvés 6 avec des tubules renfermant 3 surnuméraires (avec une fréquence comprise entre 5 et 25%) et même 2 avec des tubules à 4 surnuméraires (dont la fréquence est inférieure à 5%). Sur les 26 mâles à 2 surnuméraires des couples où 3 surnuméraires sont concernés, 2 possèdent des testicules dont certains tubules renferment 3 chromosomes B (leur fréquence est inférieure à 5%). La présence de ces tubules à 3 ou 4 surnuméraires chez des mâles possédant 2 chromosomes B est un fait important, d'autant plus que nous n'avons jamais observé dans les couples mettant en jeu 2 surnuméraires, de variabilité semblable: au contraire, sur l'ensemble de la F1 de ces couples, on note une remarquable stabilité.

Il apparaît donc que la variabilité dans la répartition des surnuméraires chez les adultes à 2 surnuméraires n'existe que dans les couples mettant en jeu 3 et 4 chromosomes B, où, par rapport aux pourcentages embryonnaires, il y a une diminution de la fréquence des individus à 3 et 4 chromosomes B, corrélée à une augmentation de celle des animaux en ayant 2. De plus, il est facile de constater que l'instabilité des chromosomes surnuméraires n'existe que dans les individus où plus de 2 chromosomes B sont impliqués dans les méioses.

b) Lignée somatique. Dans la lignée somatique, que nous étudions par l'intermédiaire des cellules folliculaires des ovarioles des femelles adultes, nous retrouvons cette instabilité: toutes les femelles à 4 chromosomes B possèdent des cellules folliculaires à 1, 2 ou 3 surnuméraires, avec une fréquence variant entre 10 et 40% selon les individus. De même, les 3 femelles adultes à 3 surnuméraires, montrent des cellules à 1 ou 2 chromosomes B, mais leur fréquence ne dépasse pas 25%.

Cette variabilité se retrouve dans les femelles à 2 surnuméraires des couples où 3 et 4 chromosomes B sont impliqués: sur les 28 femelles à 2 surnuméraires de la F1 des couples à 3 surnuméraires, 2 ont présenté quelques cellules à 3 chromosomes B (moins de 5%): l'une d'elle avait même quelques mitoses à 4 surnuméraires. Dans les couples à 4 surnuméraires, 6 femelles à 2 surnuméraires sur les 49 possédaient aussi des cellules à 3 et 4 chromosomes B, selon une fréquence variant entre 10 et 40%.

Par contre, les femelles à 2 surnuméraires des couples ne mettant en jeu que 2 chromosomes B, ne montrent jamais une telle instabilité. Ainsi, dans la lignée somatique, on retrouve la même variabilité que dans la lignée germinale, variabilité moins importante que pour les embryons étant donné l'absence totale de mitoses ayant plus de 4 chromosomes B.

III. Transmission simultanée de 2 chromosomes B par les femelles des couples

Pour de tels couples, l'analyse de nos résultats nous permet de constater que certains effectifs embryonnaires obtenus sont supérieurs à la limite théorique maximale de l'intervalle de variation. En effet, chez les couples à 2 chromosomes B, les embryons à 2 surnuméraires ont une fréquence moyenne de 29,47% quand la femelle transmet 2 surnuméraires, alors que ce pourcentage est de 20% quand c'est le mâle (la limite théorique supérieure est de 25%): la comparaison de ces deux fréquences montre une différence hautement significative ($P < 0,01$). De même, quand la femelle transmet 2 surnuméraires dans les couples mettant en jeu 3 chromosomes B, la fréquence des embryons à 3 surnuméraires est de 15,75% contre 9,40% si c'est le mâle qui apporte ces deux chromosomes B: ces deux pourcentages sont significativement différents ($P < 0,01$).

Pour les couples à 4 chromosomes surnuméraires, où tous les parents possèdent 2 surnuméraires, la comparaison de la fréquence moyenne des embryons à 4 chromosomes B (8,20%) à celle des embryons sans surnuméraire (4,38%), et la même comparaison pour les embryons à 3 et 1 surnuméraires (respectivement 23,28% et 15,82%) font apparaître des différences hautement significatives ($P < 0,01$), alors que selon les calculs théoriques nous devrions avoir une similitude de fréquence. Nous observons le même phénomène pour les couples à 2 surnuméraires où la femelle transmet ces 2 surnuméraires (29,47% d'embryons à 2 chromosomes B pour 22,10% pour ceux sans chromosome B), ou pour les couples à 3 surnuméraires (15,75% d'embryons à 3 surnuméraires contre 13,01% sans surnuméraire).

Quand la femelle transmet 2 chromosomes B simultanément, il y a donc systématiquement une fréquence plus élevée que prévue des types embryonnaires possédant le plus grand nombre de chromosomes B. Cette observation se retrouve régulièrement dans tous les cas et les différences jouant toujours dans le même sens, sont significativement différentes.

IV. Diminution de la fréquence des individus à 3 et 4 chromosomes B chez les adultes

Dans tous les cas, l'éclosion, le développement embryonnaire et larvaire se déroulent normalement. Le pourcentage d'éclosion est de 82,15% pour les couples à 2 surnuméraires, de 78,81% pour ceux en ayant 3 et de 78,94% pour ceux en ayant 4. Il est du même ordre de grandeur que celui des couples sans chromosome B (83,72%, ou à un chromosome B (80,73%). Tous ces pourcentages d'éclosion ne sont pas significativement différents.

On observe tout d'abord, une diminution très importante de la fréquence des individus à 3 et 4 surnuméraires chez les adultes: pour les couples à 3 surnuméraires, il n'y a que 5,17% (6 sur 116) d'animaux adultes à 3 chromosomes B alors que cette fréquence est de 12,93% (34 sur 263) chez les embryons: cette différence est hautement significative ($P < 0,01$). Pour les couples mettant en jeu 4 chromosomes B, les 6 adultes à 3 chromosomes B représentent 3,61% (23,28% chez les embryons) et ceux à 4 chromosomes B, 3,61% également (8,21% chez les embryons): ces différences sont toujours hautement significatives.

Corrélativement, la fréquence des adultes à 2 surnuméraires passe de 34,64% chez les embryons à 46,55% chez les adultes pour les couples mettant en jeu 3 surnuméraires, et de 48,28% à 65,07% pour ces couples à 4 chromosomes B (différences hautement significatives). Parallèlement à ces observations, la fréquence des animaux sans surnuméraire ou en possédant un seul est identique chez les embryons et chez les adultes.

Pour les couples à 2 surnuméraires nous ne notons rien de semblable: les effectifs observés pour les différents types d'animaux adultes sont identiques aux effectifs embryonnaires. Il faut noter que ces résultats sont différents de ceux précédemment obtenus où nous notions une mortalité sélective pour les individus porteurs de 2 surnuméraires et plus (Lespinasse, 1973); nous verrons plus loin que ces résultats expérimentaux différents sont vraisemblablement en liaison avec des conditions d'élevage différentes également.

Interprétation et discussion

I. Mécanisme d'accumulation des chromosomes B

Dans notre précédent travail, nous avons vu que la transmission des chromosomes B obéissait dans la majorité des cas à une distribution binomiale: mais nous n'avions étudié que des cas où 2 surnuméraires, au maximum, étaient impliqués. Ici, nous avons des couples mettant en jeu 2, 3 et 4 chromosomes surnuméraires, pour lesquels la transmission de type mendélien classique n'est plus respectée. En effet, quand une femelle transmet simultanément 2 chromosomes B, il y a toujours un excédent d'embryons porteurs de 2, 3 ou 4 surnuméraires, selon que les couples mettent respectivement en jeu 2, 3 ou 4 chromosomes B, par rapport à une transmission classique.

Il paraît donc exister dans le déroulement de la méiose femelle, un mécanisme permettant de modifier la transmission des chromosomes B, mécanisme qui augmente leur nombre en F1. Nous pourrions supposer les mécanismes de non-disjonction à l'origine de ce phénomène: mais cela impliquerait automatiquement que, dans les couples à 4 chromosomes B, le nombre des embryons à 0 et 4 surnuméraires soit identique de même que le nombre de ceux à 1 et 3 surnuméraires. Or nos résultats expérimentaux nous montrent qu'il n'en est rien. De plus, selon une telle hypothèse, la transmission de 2 chromosomes B par les mâles devrait aboutir à un résultat semblable, puisqu'il existe aussi des phénomènes de non-disjonction méiotique chez les mâles. En fait, ce n'est

pas ce que nous observons, puisque la fréquence des embryons à 2, 3 ou 4 surnuméraires, dans les couples où le père amène 2 chromosomes B, est conforme aux effectifs théoriques.

Nous sommes donc amenés à supposer l'existence d'une ségrégation préférentielle des surnuméraires dans le pronucleus femelle de l'ovocyte. En effet, un tel mécanisme d'accumulation permet d'augmenter le nombre des embryons à 2 surnuméraires (couples à 2 chromosomes B), à 3 surnuméraires (couples à 3 chromosomes B) et à 4 surnuméraires (couples à 4 chromosomes B), sans pour autant augmenter parallèlement le nombre des embryons sans surnuméraire.

Quand les femelles transmettent un seul surnuméraire, il ne semble pas exister de ségrégation préférentielle: par conséquent, lorsque ce mécanisme intervient, il doit être consécutif aux phénomènes de non-disjonction qui peuvent orienter d'une façon particulière les 2 chromosomes B non disjoints. Ce même mécanisme a d'ailleurs été décrit chez *Myrmeleotettix maculatus* (Hewitt, 1973). Dans une population japonaise de *Locusta migratoria* (Kayano, 1971), il a été également supposé l'existence d'un mécanisme d'accumulation, dans la lignée germinale mâle: il est difficile de comparer ces deux populations, car le nombre moyen de chromosomes B présents dans les spermatocytes I est supérieur au nombre de chromosomes B présents dans la lignée somatique pour la population japonaise, alors qu'il est inférieur pour notre population d'élevage (tableau 4): de plus, Kayano note une stabilité dans le nombre des surnuméraires présents dans la lignée somatique mâle, alors que nous notons une variabilité dans le nombre des chromosomes B présents dans les cellules folliculaires des ovarioles chez les femelles; il est vraisemblable que ces 2 populations ont subi des évolutions différentes quant au comportement de leur surnuméraires.

Par ailleurs, il est remarquable de constater que la lignée germinale femelle est très sensible à la présence des chromosomes B: dans ces expériences, nous mettons en évidence un mécanisme d'accumulation des chromosomes B par migration préférentielle dans le pronucleus femelle, alors que dans nos premières expériences, nous notons une mortalité sélective des ovocytes porteurs de 2 surnuméraires. Au contraire, la lignée germinale mâle semble peu sensible à la présence des surnuméraires, la méiose paraît se dérouler normalement, avec néanmoins des phénomènes de non-disjonction aboutissant au passage dans le même gamète des surnuméraires non disjoints (Fig. 3) et des retards à la migration polaire pendant les anaphases (Fig. 6). Cependant, ces phénomènes ne constituent pas en eux-même un mécanisme d'accumulation: ils sont seulement à l'origine d'une autre répartition des chromosomes B. On pourrait supposer une élimination de ces surnuméraires migrant en retard (élimination par perte de ces surnuméraires dans le cytoplasme) mais les effectifs expérimentaux obtenus n'indiquent rien de semblable et, d'autre part, nous observons parfois la migration à un même pôle des surnuméraires non disjoints (Fig. 3).

Cette population montre un nouvel exemple d'un mécanisme d'accumulation des chromosomes B: en effet, les publications les plus récentes décrivent régulièrement l'existence de ce mécanisme en liaison avec la présence de chromosomes surnuméraires, que ce soit chez les plantes (Jones, 1975; Muntzing, 1974) ou chez les animaux (Hewitt, 1973, 1974; John, 1973). Ceux-ci ne paraissent donc

pas totalement intégrés au caryotype, d'autant plus que nous allons voir qu'il existe, pour notre population de criquets, un mécanisme d'élimination des surnuméraires.

II. Mécanisme d'élimination des chromosomes B

Etant donné l'existence de ce mécanisme d'accumulation dans notre souche, nous devrions avoir une augmentation de la fréquence des surnuméraires de génération en génération. Or cette fréquence est constante: comme nous ne notons aucune mortalité particulière, nous sommes amenés à rechercher un mécanisme limitant le nombre des chromosomes B.

Nous avons observé que le nombre des individus adultes F1 à 3 et 4 surnuméraires est nettement inférieur au nombre des embryons F1 correspondant, pour les couples mettant en jeu 3 ou 4 chromosomes B. Parallèlement, la fréquence des individus à 2 surnuméraires est beaucoup plus grande chez les adultes que chez les embryons. Entre la fin du développement embryonnaire et le stade adulte, nous avons ainsi disparition de chromosomes B. Cette disparition ne s'observe que dans les couples mettant en jeu 3 ou 4 surnuméraires, alors que dans les couples n'ayant que 2 chromosomes B, nous n'observons rien de semblable et le pourcentage des animaux à 2 surnuméraires est identique chez les adultes et chez les embryons.

Nous trouvons à nouveau un mécanisme qui modifie la distribution binomiale et n'intéresse que des individus porteurs de plus de 2 surnuméraires. Par ailleurs, il est important de noter que cette élimination des chromosomes B ne s'observe que dans les cas où il existe une très grande instabilité dans leur répartition. En effet, les embryons à 2 surnuméraires des couples à 2 chromosomes B montrent une répartition uniforme des surnuméraires dans tous les individus (ce type de couples ne présente aucune élimination chromosomique). Par contre, les couples à 3 et 4 surnuméraires, où il y a instabilité et élimination des chromosomes B, montre une F1 embryonnaire où la répartition des surnuméraires est très variable: les embryons à 4 surnuméraires possèdent des mitoses avec un nombre de chromosomes B variant entre 0 et 8 et les embryons à 3 surnuméraires ont un nombre de chromosomes B variant de 0 et 6. Cette instabilité peut être très grande puisque dans certains embryons, il y a jusqu'à 70% de mitoses avec un nombre aberrant de surnuméraires. De plus, il est particulièrement intéressant de noter que dans ces couples à 3 et 4 surnuméraires, il existe également une certaine instabilité jusque dans les embryons ayant seulement 2 chromosomes B, mais cette instabilité est très réduite. L'élimination des chromosomes B est donc en rapport avec leur instabilité.

A l'origine de cette instabilité, il y a vraisemblablement les mécanismes de non-disjonction que nous avons régulièrement observés dans les anaphases de première et de deuxième division de méiose. Ce mécanisme permet d'expliquer que le nombre maximum de chromosomes B présent dans un embryon soit le double du nombre originel: ceci est réalisé quand les non-disjonctions portent sur tous les surnuméraires. Si, par contre, ce phénomène ne porte que sur

quelques chromosomes B de l'embryon, nous obtenons des fréquences parallèles pour les mitoses à 1 et 7 surnuméraires, 2 et 6 ou 3 et 5 dans le cas des embryons à 4 chromosomes B: pour les embryons à 3 surnuméraires, ce parallèle est entre les mitoses à 1 et 5 surnuméraires ou 2 et 4. C'est effectivement ce que nous avons décrit. De tels mécanismes de non-disjonction ont déjà été décrits chez d'autres espèces: *Calliptamus palaestinensis* (Nur, 1963) et *Camnula pellucida* (Nur, 1969).

Ce mécanisme d'élimination fonctionne donc en deux temps: tout d'abord, les non-disjonctions mitotiques, existant au début du développement embryonnaire, créent une très grande instabilité des chromosomes B au sein des embryons qui possèdent alors des cellules ayant jusqu'à 8 chromosomes B; ensuite, il y a élimination proprement dite des surnuméraires pour les cellules renfermant plus de 2 chromosomes B, puisqu'il n'existe que peu d'adultes avec 3 et 4 surnuméraires et aucun avec plus de 4 chromosomes B. Les non-disjonctions, dont nous observons le résultat sur nos écrasements, se déroulent donc avant le 5ème jour de développement à 32°, c'est-à-dire avant la fermeture dorsale de l'embryon: cette période correspond justement à une période d'intense activité mitotique. Ensuite, le développement embryonnaire et larvaire consiste essentiellement à la mise en place des organes et à leur développement, période pendant laquelle se déroule probablement l'élimination proprement dite des surnuméraires. En effet, la variabilité intertubulaire dans les testicules des mâles adultes, traduit bien l'existence d'une élimination des surnuméraires, avant la différenciation des tubules séminifères. Cette variation intertubulaire est d'ailleurs un phénomène qui est observé régulièrement dans une autre population de *Locusta migratoria* (Nur, 1969) et chez un autre acridien *Atractomorpha bedeli* (Sannomiya, 1973).

Nous avons donc une élimination au niveau de l'ensemble des cellules embryonnaires et non pas une élimination au niveau de la lignée germinale, comme c'est le cas pour *Myrmeleotettix maculatus* (Hewitt, 1973). Cette élimination peut se faire de deux manières: soit par l'élimination des cellules dont le noyau possède plus de 2 chromosomes B, soit par l'élimination des surnuméraires eux-mêmes dans les mitoses embryonnaires tardives, comme c'est souvent le cas chez les végétaux (Carlson, 1973; Jones, 1975) et pour deux orthoptères *Gonista bicolor* et *Atractomorpha bedeli* (Sannomiya, 1973, 1974); en l'état actuel de nos travaux, les résultats obtenus ne nous permettent pas de trancher entre ces deux hypothèses.

Ce mécanisme d'élimination des chromosomes B est particulièrement intéressant car il permet de limiter le nombre des chromosomes B chez les animaux les renfermant en grand nombre: la présence des cellules à 2 et 3 surnuméraires dans des individus adultes à 4 chromosomes B, ou celle des cellules à 2 surnuméraires dans des animaux adultes à 3 chromosomes B, est la conséquence logique d'un tel mécanisme: l'élimination a joué d'une manière imparfaite pour ces animaux. Cette élimination limite à 2 le nombre des chromosomes B présents dans les individus, puisque la comparaison des effectifs F1 chez les embryons et chez les adultes, montre une diminution de la fréquence des animaux adultes à 3 et 4 surnuméraires, corrélée avec une augmentation de ceux à 2 surnuméraires; ceci est réalisé par une élimination presque totale des surnuméraires présents

au-delà de 2, de telle sorte que dans un embryon ayant originellement 3 ou 4 chromosomes B, ce sont les cellules à 2 surnuméraires qui deviennent les plus nombreuses. Un tel embryon est évidemment rangé dans la catégorie des animaux à 2 surnuméraires: nous avons ainsi transformation d'un embryon originellement porteur de 3 ou 4 chromosomes B en un adulte à 2 surnuméraires, ce qui explique tout à fait nos observations expérimentales: il faut préciser également que 2 est le nombre maximum de surnuméraires que tolèrent les mitoses sans en être perturbées

III. Stabilité du taux des chromosomes B et influence de la température d'élevage sur la valeur de ce taux

Etant donné la complexité des mécanismes en présence, leur hétérogénéité et leur instabilité, il ne nous est pas possible de calculer un taux d'accumulation et un taux d'élimination. Cependant, il est vraisemblable que ces deux phénomènes, intervenant en sens opposé, permettent aux chromosomes B de se maintenir dans la population avec une fréquence stable de génération en génération, comme nous l'avons établi à de nombreuses reprises.

A ce sujet, il est intéressant de comparer ces résultats à nos premiers travaux (Lespinasse, 1973). Dans nos premières expériences où les animaux étaient élevés à une température diurne de 27° C (également température du développement embryonnaire), nous avons une population où 34% des individus possédaient des surnuméraires et pour laquelle il existait une mortalité sélective, à l'éclosion et au niveau des ovules chez les femelles, pour les animaux avec chromosomes B: cette mortalité nous masquait ces mécanismes d'accumulation et d'élimination des surnuméraires. Dans de telles conditions d'élevage, ce taux de 34% restait stable de génération en génération.

Dans les expériences exposées ici, nous avons modifié la thermopériode en portant la température ambiante diurne dans les cages à 35° C et la température du développement embryonnaire à 32° C: dans ces conditions, il n'y a plus de mortalité sélective pour les individus à 2 surnuméraires et la population possède environ 75% d'animaux porteurs de chromosomes B. Ce taux de 75% reste également stable de génération en génération.

Cette modification du taux des animaux porteurs de chromosomes B en fonction des conditions d'élevage s'explique aisément: en effet, à 27° C la fréquence des animaux avec surnuméraires est de 34% en raison de mortalité sélective portant notamment sur les ovocytes à 2 chromosomes B. Ceci a pour conséquence de diminuer la portée du mécanisme d'accumulation que nous venons de mettre en évidence et, en même temps, de réduire le nombre des chromosomes B transmis par les femelles. Ainsi, la fréquence des surnuméraires étant plus faible dans les embryons, les non-disjonctions mitotiques deviennent moins fréquentes, ce qui entraîne une élimination réduite des chromosomes B. Ceci explique que la fréquence des chromosomes B se stabilise également mais à une fréquence beaucoup plus réduite que dans la population élevée à 35° C. Nous mettons ainsi en évidence, expérimentalement, des relations étroites entre la fréquence des chromosomes surnuméraires dans une population et les conditions d'élevage de celle-ci. L'étude des populations, dans leur milieu naturel,

a permis de mettre en évidence ce même type de relation: chez *Myrmeleotettix maculatus* (Hewitt et Ruscoe, 1971), sur une même aire de répartition, l'étude des différents microclimats très localisés, montre qu'il existe parallèlement des différences dans la fréquence des chromosomes B des animaux.

Il est remarquable de constater que la modification de la fréquence des animaux porteurs de chromosomes B, n'affecte pas la stabilité de ces différentes fréquences de génération en génération. Cette observation est valable pour la majorité des populations où l'analyse du comportement des chromosomes B a été réalisée. Cette stabilité est d'autant plus remarquable que les mécanismes d'accumulation et d'élimination, quand ils existent, sont variables selon les populations.

Nous avons donc toute une série de mécanismes, très différents les uns des autres, s'opposant parfois comme pour cette population de *Locusta migratoria migratorioides* ou pour *Myrmeleotettix maculatus* (Hewitt, 1973) et qui aboutissent à un même résultat, la stabilité du taux des chromosomes surnuméraires dans une population naturelle donnée.

La fréquence des surnuméraires dans une population est donc déterminée par l'ensemble des mécanismes génétiques que nous venons d'analyser, lesquels sont modulés par les conditions extérieures de vie de la population. Il ne faut donc pas envisager la fréquence des surnuméraires dans une population comme caractéristique de celle-ci, mais plutôt comme le reflet du milieu dans lequel elle vit.

Conclusion

Dans la population de *Locusta migratoria migratorioides* élevée au laboratoire, l'expérimentation sur des couples prélevés au hasard, nous a permis d'analyser la transmission des chromosomes B.

Ils se maintiennent dans la population par la conjugaison de 2 phénomènes:

— une élimination des chromosomes B dans les mitoses ayant plus de 2 chromosomes B: de telles mitoses sont consécutives à des mécanismes de non-disjonctions mitotiques existant au début du développement embryonnaire, pendant la phase d'intense activité mitotique: ces non-disjonctions sont responsables de l'instabilité des chromosomes B chez les embryons et chez les adultes et de leur élimination, pour ceux présents au-delà de 2, pendant la fin du développement embryonnaire et pendant le développement larvaire. Ce mécanisme a donc pour conséquence de limiter théoriquement à 2 le nombre des chromosomes B présents dans les individus;

— une accumulation des chromosomes B par migration préférentielle de ceux-ci dans le pronucleus femelle de l'ovocyte, chez les femelles transmettant simultanément 2 surnuméraires. Ces 2 mécanismes permettent conjointement le maintien et la stabilisation de la fréquence des chromosomes B.

Par ailleurs, cette fréquence est modulée par les conditions d'élevage de la population: expérimentalement, nous pouvons augmenter la fréquence des animaux porteurs de surnuméraires, en augmentant la température d'élevage, ce qui est en accord avec le fait que les populations ayant des chromosomes B peuplent essentiellement des régions sèches à température élevée.

Bibliographie

- Bergerard, J.: Les chromosomes surnuméraires dans le règne animal. *Mém. Soc. Zool. Fr.* **37**, 315–333 (1974)
- Bergerard, J., Seuge, J.: La parthénogenèse accidentelle chez *Locusta migratoria* (Linné). *Bull. Biol. Fr. Belg.* **93**, 16–37 (1959)
- Crozier, R.H.: An acetic-acid dissociation, air drying technique for insect chromosomes with an aceto-lactic orcein staining. *Stain Technol.* **43**, 171–173 (1968)
- Fontana, P.G., Vickery, V.R.: Segregation-distortion in the B chromosome system of *Tettigidea lateralis* (Say) (Orthoptera, Tettigidea). *Chromosoma (Berl.)* **40**, 75–100 (1973)
- Hewitt, G.M.: The structure and role of B chromosomes in the mottled grasshopper. *Chromosomes Today* **3**, 208–222 (1972)
- Hewitt, G.M.: Variable transmission rates of a B chromosome in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.) (Acrididae, Orthoptera). *Chromosoma (Berl.)* **40**, 83–106 (1973)
- Hewitt, G.M.: The integration of supernumerary chromosomes into the Orthopteran genome. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **38**, 183–194 (1974)
- Hewitt, G.M., Ruscoe, C.N.E.: Changes in microclimate correlated with a cline for B chromosomes in the grasshopper *Myrmeleotettix maculatus* (thunb.) (Orthoptera, acrididae). *J. anim. Ecol.* **40**, 753–765 (1971)
- Itoh, H.: Chromosomal variation in the spermatogenesis of a grasshopper *Locusta danica*. *Jap. J. Genet.* **10**, 115–134 (1934)
- Jackson, W.D., Cheung, D.S.M.: Distortional meiotic segregation of a supernumerary chromosome producing differential frequencies in the sexes in the short-horned grasshopper *Phaulacridium vittatum*. *Chromosoma (Berl.)* **23**, 24–37 (1967)
- John, B.: The cytogenetic systems of grasshoppers and locusts. II. The origin and evolution of supernumerary segments. *Chromosoma (Berl.)* **44**, 123–146 (1973)
- John, B., Hewitt, G.M.: The B chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.). I. the mechanics. *Chromosoma (Berl.)* **16**, 548–578 (1965)
- Jones, R.N.: B chromosome systems in flowering plants and animal species. *Int. Rev. Cytol.* **40**, 1–100 (1975)
- Kayano, H.: Accumulation of B chromosomes in the germ line of *Locusta migratoria*. *Heredity* **27**, 119–123 (1971)
- Lespinasse, R.: Comportement des chromosomes surnuméraires et relation avec le taux de mortalité dans une population africaine de *Locusta migratoria migratorioides*. *Chromosoma (Berl.)* **44**, 107–122 (1973)
- Müntzing, A.: Accessory chromosomes. *Ann. Rev. Genet.* **8**, 243–266 (1974)
- Nur, U.: A mitotically instable supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma (Berl.)* **14**, 407–422 (1963)
- Nur, U.: Mitotic instability leading to an accumulation of B chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma (Berl.)* **27**, 1–19 (1969)
- Rees, H., Jamieson, A.: A supernumerary chromosome in *Locusta*. *Nature (Lond.)* **173**, 43–44 (1954)
- Sannomiya, M.: Cytogenetic studies on natural populations of grasshoppers with special reference to B chromosome. I. *Gonista bicolor*. *Heredity* **32**, 251–265 (1974)
- Sannomiya, M.: Cytogenetic studies on natural populations of grasshoppers with special reference to B chromosome. II. *Actractomorpha bedeli*. *Chromosoma (Berl.)* **44**, 99–106 (1973)
- White, M.J.D.: *Animal cytology and evolution*. 3rd edit. Cambridge—London: Cambridge University Press 1973

*Reçu le 12 et 25 juillet, 1976/Accepté le 8 novembre 1976 par W. Beermann
Prêt à imprimer le 14 novembre 1976*