

L'ADAPTATION AUX TEMPÉRATURES ÉLEVÉES CHEZ UN NÉMATODE : *CÆNORHABDITIS ELEGANS* MAUPAS 1900 (1)

L'ADAPTATION ET SON ÉVOLUTION

J.-L. BRUN

*Section de Biologie générale et appliquée,
Faculté des Sciences de Lyon, 69 - Villeurbanne*

SOMMAIRE

C. elegans est une espèce hermaphrodite se reproduisant par autofécondation. Cultivée à la température de 18°C, la souche montre une fécondité moyenne de 141 descendants par hermaphrodite.

Lorsqu'un embryon, obtenu d'un élevage à 18°, est transporté à 24,5°C, il se développe en un adulte de structure apparemment normale mais totalement infécond. Si, à partir du même élevage à 18°C, un embryon est transporté à 23°C, il évolue en un adulte de fécondité très amoindrie. Les générations suivantes, maintenues à 23°C, montreront une fécondité moyenne décroissante jusqu'à la stérilité complète qui survient en 5 à 6 générations. On peut donc distinguer, dans l'échelle des températures comprises entre 20 et 25°C, entre des températures normalement supportées (voisines de 20°C) et des températures directement stérilisantes (supérieures à 24°C), des températures qui déterminent, en l'espace de quelques générations, une chute de fécondité qui conduit à la disparition de la lignée étudiée.

Si l'on transporte directement les animaux de 18 à 22°, on constate d'abord la chute progressive de la fécondité au cours des générations successives. Cependant, cette baisse atteint alors un minimum pour se relever ensuite de façon graduelle. On obtient ainsi une lignée qui paraît parfaitement adaptée à la température de 22°.

Si à partir de cette lignée, on essaie d'obtenir une acclimatation à 23°, les résultats sont négatifs lorsque la tentative est effectuée sur des animaux accoutumés à 22° depuis moins de 90 générations. Mais lorsqu'ils sont prélevés après la 95^e génération à 22°, les Nématodes portés à 23° surmontent la phase de fécondité décroissante manifestée dans les premières générations qui suivent le transfert. En effet, après avoir atteint un minimum, la fécondité se relève progressivement pour produire finalement une souche stable à 23°.

A partir de cette souche acclimatée à 23°, les mêmes résultats sont observés lors d'un transfert à 23,5°C : celui-ci a donné lieu à une accoutumance seulement si la tentative est effectuée à partir de la 252^e génération élevée à 23°.

Par le même procédé — et grâce à des paliers de 0,5° — on a pu obtenir finalement une lignée indéfiniment fertile à 24,5°. Cette lignée diffère radicalement de la lignée d'origine qui, à cette même température, s'avérait, immédiatement et irrémédiablement, stérile.

(1) Ces recherches correspondent à une thèse soutenue devant la Faculté des Sciences de Lyon (1966).

INTRODUCTION

Une des caractéristiques les plus fondamentales des êtres vivants réside dans leur aptitude à supporter les variations du milieu extérieur en évoluant. Ces transformations adaptatives peuvent se produire au cours de l'existence d'un individu : il s'agit alors d'*adaptation physiologique*. Mais elles peuvent aussi se manifester à l'échelle de l'espèce, dans une série de générations consécutives. On parlera dans ce cas d'une *adaptation génétique*, sans préjuger, par l'emploi de ce terme, de la nature des mécanismes en cause. C'est cette dernière modalité qui fait l'objet de ce travail consacré à l'étude d'une accoutumance à des températures élevées.

Après beaucoup d'autres auteurs, HINSHELWOOD (1947) a noté, de façon très pertinente, l'intérêt particulier que peut présenter l'étude des adaptations thermiques : « D'un point de vue théorique, on peut dire que l'adaptation à la température doit être un processus qui nécessite des changements dans le matériel cellulaire beaucoup plus profonds que ceux qui accompagnent l'entraînement aux drogues ou aux nouveaux substrats. » D'autre part, de nombreux problèmes biologiques peuvent être rattachés à l'étude des adaptations thermiques : depuis l'existence d'espèces ou de variétés thermophiles dans le monde vivant, qui comprennent en particulier les parasites des Homéothermes (MEYL, 1953 ; PRECHT, CHRISTOPHERSEN et HENSEL, 1955 ; PROSSER, 1958 ; OSCHÉ, 1962) jusqu'aux questions pratiques que pose la création d'un cheptel productif dans les pays tropicaux (COLLOQUE ZOO-TECHNIQUE DE GEMBOUX, 1960 ; DUCLOS, 1961).

Dans ces conditions, il est tout à fait étonnant de constater le petit nombre des recherches se rapportant au déterminisme de l'adaptation aux températures élevées.

C'est seulement chez les Micro-organismes que les résultats sont assez nombreux et divers pour permettre de considérer comme prouvée la possibilité de réaliser, au laboratoire, leur adaptation aux températures élevées (DALLINGER, 1887 ; DIEUDONNÉ, 1894 ; JOLOS, 1921 ; KLUYVER et BAARS, 1932 ; POLJANSKI, 1957 ; etc.).

Chez les Pluricellulaires, un seul cas d'adaptation génétique aux températures élevées est mentionné dans la littérature ! Il s'agit du Copépode *Daphnia longispina* (BANTA, 1939) : dans un clone sexué — issu d'une souche parthénogénétique conservée depuis 14 ans à la température du laboratoire — les auteurs remarquèrent l'apparition, après une période estivale caniculaire, d'individus thermorésistants qu'ils considèrent comme des mutants au vu de leur stabilité.

Dans ce contexte, on conçoit qu'un doute persiste chez beaucoup d'auteurs quant à la possibilité d'obtenir expérimentalement, chez les Métazoaires, une adaptation aux températures élevées.

Cependant l'indigence des succès expérimentaux dans ce domaine semble découler surtout des difficultés que présente une expérimentation nécessairement étalée sur un nombre élevé de générations. Or, dans cette perspective, *Caenorhabditis elegans* offre des possibilités exceptionnelles :

1° Les études de longue durée sont facilitées par la brièveté du cycle de reproduction de ce Nématode (4 jours à 23°, 5C).

2° Le comportement des Nématodes peut être examiné tant au niveau de l'individu qu'à celui de la population grâce à leur forte fécondité.

3° L'hermaphrodisme autofécond de *C. elegans* permet d'éviter un écueil sur lequel ont buté de nombreux chercheurs : la sensibilité thermique différente des mâles et des femelles chez les organismes à sexes séparés.

Les techniques de l'adaptation

Chez les Micro-organismes, le procédé le plus efficace pour obtenir une adaptation thermique consiste à exposer les cultures, pendant des durées convenables, à des températures progressivement augmentées : l'adaptation semble alors résulter d'un effet cumulatif exercé par les facteurs du milieu.

Un mécanisme analogue est fréquemment invoqué à propos du développement de la résistance aux toxiques chez les Micro-organismes (SCHNITZER et GRUNBERG, 1957 ; DEAN et HINSHELWOOD, 1963). Chez les Pluricellulaires également, les exemples ne manquent pas où l'action soit répétée soit continue de facteurs tant physiques que chimiques, s'exerçant sur plusieurs générations successives, conduit à une amélioration progressive du comportement ou à l'amplification graduelle d'une modification initiale

A propos des facteurs physiques, citons en particulier :

— l'augmentation progressive de la résistance au froid chez des souris inbred maintenues pendant 16 générations successives à — 3°C (BARNETT, 1965) ;

— les phénomènes d'assimilation génétique issus de chocs thermiques répétés sur *Drosophila melanogaster* (BATEMAN, 1959 ; WADDINGTON, 1961 ; BORZEDOWSKA, 1963).

En ce qui concerne les facteurs chimiques, je me bornerai à mentionner :

— le développement de la résistance des Arthropodes aux Insecticides (BROWN, 1949 ; UNTERSTENHOFER, 1960 ; PESSON, 1960 ; STERN, 1962) ;

— le mélanisme industriel des Lépidoptères obtenu grâce à l'intoxication des chenilles par des sels de plomb ou de manganèse (HARRISON, 1929 ; WALTHER, 1932) ;

— les expériences d'allotropie grâce auxquelles divers insectes phytophages ont pu être accoutumés progressivement à une nouvelle plante : Pucerons parthénogénétiques (SAMOKHVALOVA, 1954 ; SHAPOSHNIKOV, 1961 ; SMIRNOV, 1957) ; *Carausius morosus* (SLADDEN et HEWER, 1938) ; Lépidoptères et Diptères (PICTET, 1906 ; AVERKIEV, 1952 ; SIMONOV, 1952 ; LE BERRE, 1960) ;

— les modifications de la durée du développement chez *Drosophila melanogaster* suralimenté (DAVID, 1962), la diminution de la taille chez la Limnée sous-alimentée (BOETTGER, 1956).

Dans les exemples que je viens de citer et qui ne constituent pas une liste exhaustive, une question fondamentale reste sans réponse : le facteur externe est-il la cause première de l'accoutumance ou joue-t-il seulement le rôle d'agent sélecteur mettant en évidence des possibilités adaptatives préexistantes ? Dans le cas de *C. elegans*, il semblait que ce problème pouvait être défini au mieux grâce aux caractéristiques mêmes de la reproduction de ce Nématode. En effet, cet animal peut être maintenu continuellement en culture sous la forme d'hermaphrodites auto-

féconds. Avant mon expérimentation, la souche employée avait été élevée au laboratoire, pendant plus de 12 ans (c'est-à-dire environ 700 générations). Il devait donc en résulter une complète homogénéité génétique des animaux. Dans ces conditions, il y a tout lieu d'assimiler ce Nématode à une lignée pure.

Or l'inefficacité de la sélection sur une lignée pure n'est plus à démontrer depuis les travaux célèbres de JOHANNSEN (1913) et FRUWIRTH (1917) sur les végétaux autoféconds, de AGAR (1914) et EWING (1916) sur les animaux parthénogénétiques, de LASHLEY (1915) sur les Métazoaires à reproduction asexuée, enfin de TOWER (1906) sur le Doryphore. Ainsi l'adaptation de ce Nématode ne semble pas pouvoir résulter d'une éventuelle sélection par la température. Le traitement thermique doit être considéré comme responsable de l'établissement des mécanismes adaptatifs. Encore faut-il être sûr que, dans ce traitement thermique, la température soit le seul facteur actif. Ceci nécessite, en particulier, le contrôle d'éventuelles transformations du milieu nutritif.

Une solution satisfaisante a pu être apportée à ce problème au cours de recherches préliminaires (BRUN, sous presse dans *Nematologica*).

J'ai donc entrepris de suivre le comportement des Nématodes — en me basant sur l'évolution de leur fécondité — de façon à obtenir des formes dont les caractéristiques soient nettement différentes de la souche originelle.

L'étude du processus évolutif, l'examen des propriétés des formes adaptées devraient nous informer, jusqu'à un certain point, sur la nature des mécanismes en cause. Bien que l'ensemble du programme fixé soit encore loin d'être achevé, la nature des résultats obtenus d'une part, la lenteur des processus observés déjà pendant une durée de dix années, me paraissent justifier dès à présent la publication des des résultats obtenus.

PLAN GÉNÉRAL DU TRAVAIL

Dans une première partie — qui correspond au présent article — je tenterai de caractériser l'adaptation obtenue tant par l'examen des formes adaptées qu'en étudiant la naissance des différences adaptatives

Une seconde partie sera consacrée à l'analyse de la stabilité de l'adaptation.

La troisième partie considérera le rôle de certains facteurs dans la production de l'adaptation et conduira à une certaine conception sur la nature des mécanismes en cause.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

A. — LE MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Les caractéristiques morphologiques, biologiques et cytologiques de ce Nématode ont déjà été décrites (MAUPAS, 1900 ; NIGON, 1949 ; NIGON et BRUN, 1955 ; BRUN, 1955 ; DELAVault, 1959). Elles peuvent se résumer très brièvement ainsi : Nématode libre, terricole ; long de 1 mm environ à maturité sexuelle ; hermaphrodite autogame protandre à l'exception de très rares mâles (environ 1 p. 1 000).

Tous les animaux employés font partie de la souche *Bergerac* mise en culture par NIGON en 1944.

B. — LE MILIEU NUTRITIF

Je ne mentionnerai ici que certaines données indispensables (BRUN, sous presse dans *Nematologica*).

1. Constitution du milieu

Le milieu nutritif employé comporte une fraction inerte et une fraction vivante :

— La fraction vivante est constituée essentiellement de trois formes bactériennes : *Bacillus megaterium*, *Flavobacter* et *Pseudomonas maltophilia*.

— La fraction inerte est de composition chimique relativement bien définie puisque, à l'eau et à l'agar-agar, on adjoint quelques sels minéraux, de la lécithine et de la peptone pepsique. Le milieu standard (= milieu S) est celui employé par NIGON (1949). Un ensemble d'expériences a permis de montrer que l'on réalise de meilleures conditions, pour l'élevage des Nématodes aux températures élevées, en employant un milieu 2,3 fois plus concentré que le milieu S (= milieu 2,3 S).

Quelques expériences ont été réalisées sur milieu S auquel on ajoute une trace de suspension de levure de boulangerie vivante (= milieu S + L).

2. Fabrication et conservation de la fraction inerte du milieu nutritif

Tout a été mis en œuvre pour assurer une composition et une conservation constantes.

Pour cela, un stock de fraction inerte est constitué, en une seule fabrication, pour deux années environ d'expériences. Pour éviter la formation d'un stock par trop volumineux, la concentration de cette fraction inerte est portée à 23 fois celle du milieu S. Ce qui oblige à écarter l'agar-agar de sa composition. Ce stock, réparti dans des petits flacons hermétiquement clos, est conservé à — 20°C.

Au moment de l'emploi on ajoute, à la dose connue de fraction inerte contenue dans chaque flacon, la quantité de gélose et d'eau distillée nécessaires pour obtenir la concentration désirée. Cette adjonction s'effectue à l'autoclave dans des conditions constantes (pour toutes les expériences sur milieu 2,3 S, le même stock d'agar-agar Kobe n° 1 a été employé (cf. SANG et BURNET, 1963).

C. — LES MÉTHODES D'ÉLEVAGE

L'élevage est fait, selon la technique de NIGON (1949), sur une lame porte-objet à la surface de laquelle on dépose une goutte épaisse de gélose nutritive. Ces lames sont disposées dans des boîtes à rainures en verre, d'utilisation courante en histologie.

a) La mise en culture des Nématodes se réalise sous la loupe. On introduit dans la goutte de gélose un unique géniteur hermaphrodite. Les œufs qu'il produira seront déposés sur et dans la goutte de milieu jusqu'à la mort du géniteur ou jusqu'au moment de son transfert dans une autre goutte identique. Dans ce dernier cas, les œufs pondus dans la première goutte de milieu y demeurent et y poursuivent leur développement.

La fréquence des repiquages dépend de la fécondité des reproducteurs, de leur durée de ponte et de la vitesse de développement de leurs descendants. De toutes façons, l'intervalle entre deux repiquages successifs doit être calculé de telle sorte que :

— une culture ne contienne jamais plus d'une centaine de descendants issus d'un même géniteur et appartenant à la même génération,

— les descendants, se trouvant dans une même goutte, soient d'âges voisins et dans un état physiologique aussi homogène que possible.

En fait l'intervalle entre deux repiquages a toujours été compris, dans mes cultures, entre 1 et 2 jours, même pour le simple entretien des souches.

b) Les boîtes à rainures sont placées dans des étuves munies d'un système de ventilation permanente. Ces étuves ont permis de résoudre au mieux les problèmes de constance de température ($\pm 0,1^\circ\text{C}$) et d'équilibration thermique du milieu à la suite des repiquages. Cette équilibration exige seulement 30 ± 5 minutes si, pendant l'heure qui précède le repiquage, on prend soin de faire séjourner les gouttes de milieu dans l'étuve dont la température correspond à celle de la culture désirée.

c) Les cultures sont effectuées à l'obscurité. A partir de la souche maintenue à 18° sur milieu

S + L, d'abord puis sur milieu 2,3 S, diverses lignées ont pu être élevées à des températures plus élevées : dans tous les cas, l'entretien des cultures est réalisé en respectant les règles suivantes :

— Pour chacune des lignées et à chaque génération, on prélève 10 géniteurs qui fourniront la génération suivante. Chacun d'entre eux est isolé dans une goutte de gélose nutritive. Après quelques jours, on y trouvera l'ensemble de sa progéniture ou seulement une partie de celle-ci dans le cas où le géniteur aura été retiré avant la fin de sa période de reproduction.

Parmi les 10 cultures ainsi obtenues, on choisit celle qui semble renfermer la population la plus nombreuse et on y prélève les 10 reproducteurs qui seront à l'origine de la génération suivante. Leur sélection s'effectue sur les bases ci-après :

α) Les hermaphrodites transplantés doivent avoir atteint l'état adulte *mais ils ne doivent pas encore renfermer d'œufs dans l'utérus*.

β) Les reproducteurs doivent être choisis parmi les individus issus des premiers œufs pondus. De ce fait, on élimine les possibilités d'intervention des très rares mâles (1 p. 1 000) qui apparaissent essentiellement en fin de ponte (NIGON, 1949).

D. — LA CARACTÉRISTIQUE EXAMINÉE : LA FÉCONDITÉ

Les températures élevées sont susceptibles de provoquer de nombreuses perturbations chez les Nématodes.

Seule la fécondité a été constamment mesurée dans des conditions permettant une analyse statistique : *la fécondité est définie par le nombre total de descendants ayant atteint l'état adulte, issus d'un individu hermaphrodite*. Cette façon d'apprécier la fécondité a été adoptée devant l'impossibilité pratique de déterminer le nombre d'œufs pondus par chaque géniteur, à cause leur petite taille (55 μ) et de leur transparence.

La fécondité se prête bien à une analyse quantitative. Outre la fécondité moyenne de chaque génération, on peut considérer la fécondité maximum ainsi que le pourcentage de stériles et la durée de la période fertile. La fécondité fournit donc un critère plus explicite qu'une réaction de tout ou rien comme la létalité si couramment utilisée cependant dans les études de résistance aux toxiques.

1. Les conditions d'une appréciation exacte de la fécondité

Grâce à la transparence de la gélose nutritive, il a été possible — par la mise au point d'un appareil de type lecteur de profil — de projeter l'image de la goutte de culture préalablement aplatie entre deux lames de verre, avec les animaux qu'elle contient. Si dans ces conditions les vers peuvent être facilement et rapidement dénombrés, *on doit veiller à ce que la totalité de la descendance d'un reproducteur soit dénombrée*. Pour cela, il faut éliminer les cultures dans lesquelles le géniteur n'est pas demeuré jusqu'à la fin de la ponte mais surtout, il faut éviter que les descendants ne s'évadent de la goutte de gélose nutritive.

La réalisation de ces conditions implique un choix convenable des durées séparant deux repiquages successifs de l'individu parental ainsi que du moment auquel la culture sera dénombrée. Dans les conditions utilisées, ces choix dépendent essentiellement de la température à laquelle est pratiqué l'élevage. Le tableau 1₁ résume l'ensemble des conditions que j'ai employées.

2. Réalisation des expériences

Deux facteurs sont susceptibles de rendre difficile l'appréciation des résultats :

— le variabilité individuelle,
— les irrégularités éventuelles dans la pression de sélection que l'on exerce fatalement par le choix des reproducteurs.

Dans les expériences de courte durée, l'influence de la variabilité individuelles est atténuée si l'on considère, à chaque génération, le comportement d'un nombre de géniteurs supérieur à 30. Pour obtenir ce nombre, quels que soient les aléas de l'expérience, 50 reproducteurs doivent être mis en culture.

Lorsque les expériences s'étalent sur plusieurs centaines de générations, les manipulations nécessaires pour maintenir les conditions précédentes dépassent la possibilités d'un expérimentateur. La culture de plusieurs lignées ne permet de travailler à chaque génération, que sur des nombres d'animaux plus faibles compris entre 10 et 30.

Le choix des reproducteurs a été fait de diverses manières, selon les catégories d'expériences. Dans les expériences ne portant que sur un petit nombre de générations deux modalités ont été employées.

Modalité expérimentale I (fig. 1₁ a).

On étudie, à chaque génération, le comportement de 8 groupes de 6 reproducteurs. Dans chaque groupe, les 6 géniteurs proviennent d'un seul parent. Le choix des 8 cultures parentales est basé sur les critères suivants :

- chacune doit renfermer la plus forte population possible de descendants (appréciation approximative puisque sa détermination exacte oblige à tuer les animaux) ;
- Elle ne doit pas montrer une liquéfaction de la culture bactérienne ;
- elle ne doit pas présenter d'individus aberrants par leur aspect.

TABLEAU 1₁

Quelques caractéristiques biologiques de Caenorhabditis elegans ; leur influence sur les modalités de l'élevage et du dénombrement des descendance

Température d'élevage (°C)	Durée de développement (en jours) (1)	Longévité (2) (en jours)	Durée de ponte (en jours)	Age des Nématodes au moment des repiquages successifs (en jours)	Age de la culture lors du dénombrement des descendance (jours)
14	7	20	8	a) 7	15
				b) 7	17
				c) 11	19
				d) 13	24
18	4 1/2	11	4 1/2	4 1/2	10
				6	11
				7 1/2	13
22	3 1/2	9	3	3	7
				4 1/2	9
Nématodes adaptés	{ 23 23,5 24 24,5	{ 8 7 7 7	{ 4 1/2 4 20 heures 18 heures	3	8
				3	7
				3	7
				3	7

(1) La durée du développement correspond au temps écoulé entre la mise en culture du géniteur adulte, mais encore dépourvu d'œufs dans l'utérus, et l'apparition des premiers adultes dans la descendance.

(2) La longévité est estimée par la durée moyenne de vie d'un groupe d'individus.

Ce choix est effectué généralement parmi les 48 cultures de la génération précédente (sauf au moment du lancement de l'expérience à partir de la souche d'entretien). Ces conditions ont été le plus fréquemment utilisées au cours de ce travail.

Modalité expérimentale II (fig. 1₁ b).

Dans ce cas, on maintient pendant toute la durée de l'expérience 5 lignées issues de 5 Nématodes différents de la souche d'entretien. Chacune de ces 5 lignées est composée, à chaque génération, de 10 Nématodes prélevés dans la descendance d'un seul animal de la génération précédente. Le choix de cette culture parentale est effectué en se basant sur les mêmes critères que ceux définis pour la modalité expérimentale I.

Dans cette forme d'expérience, la population obtenue à chaque génération n'est pas homogène. En effet, bien que la pression de sélection soit analogue pour chacune des lignées (choix des géniteurs parmi la descendance de l'animal le plus fécond de chacun des groupes A, B, C, D, E), l'animal le plus fécond du groupe A, par exemple, peut être considérablement moins fécond que celui du groupe E.

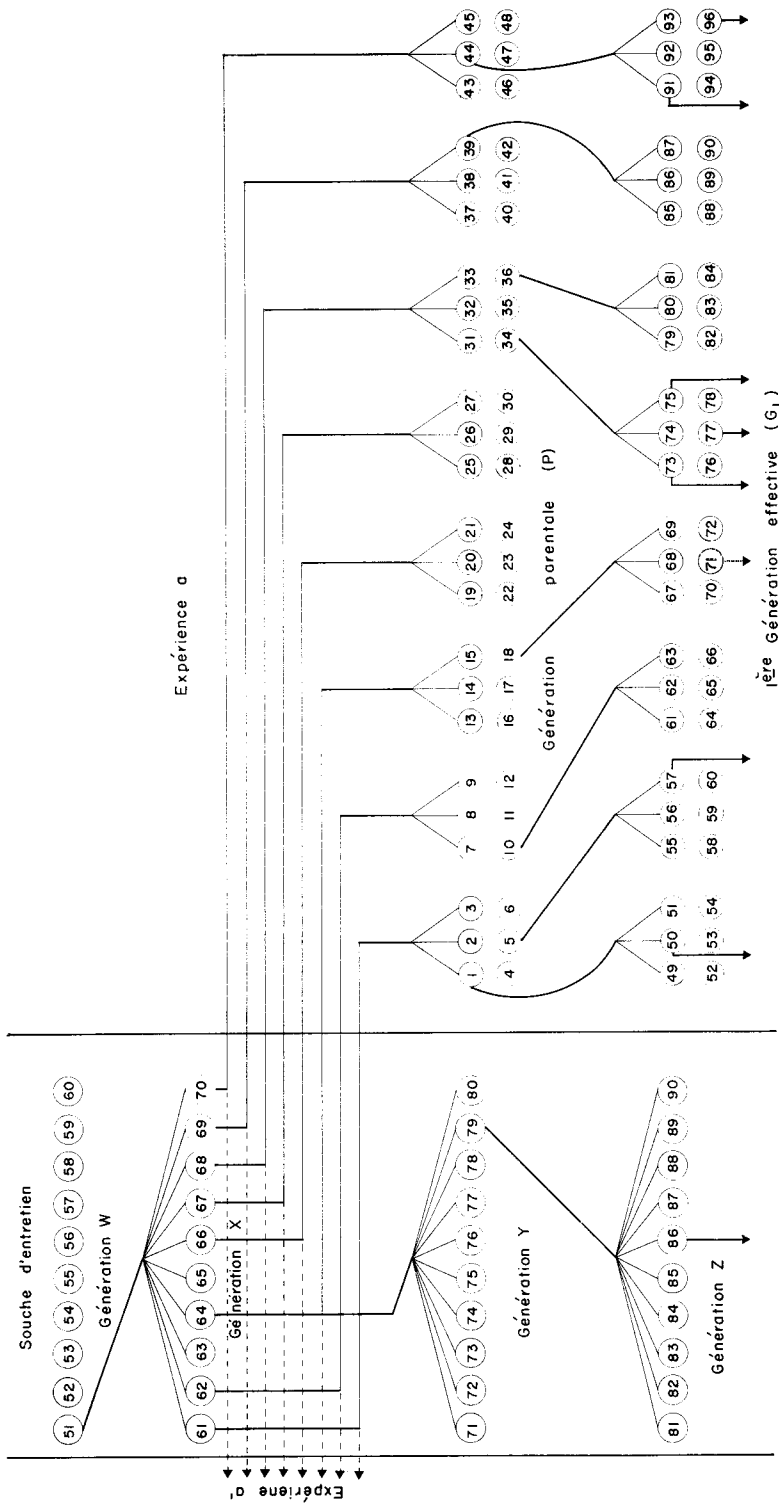


FIG. 1, a. — Choix des reproducteurs dans les expériences destinées à l'étude de la fécondité de *C. elegans*.
Modalité expérimentale I.

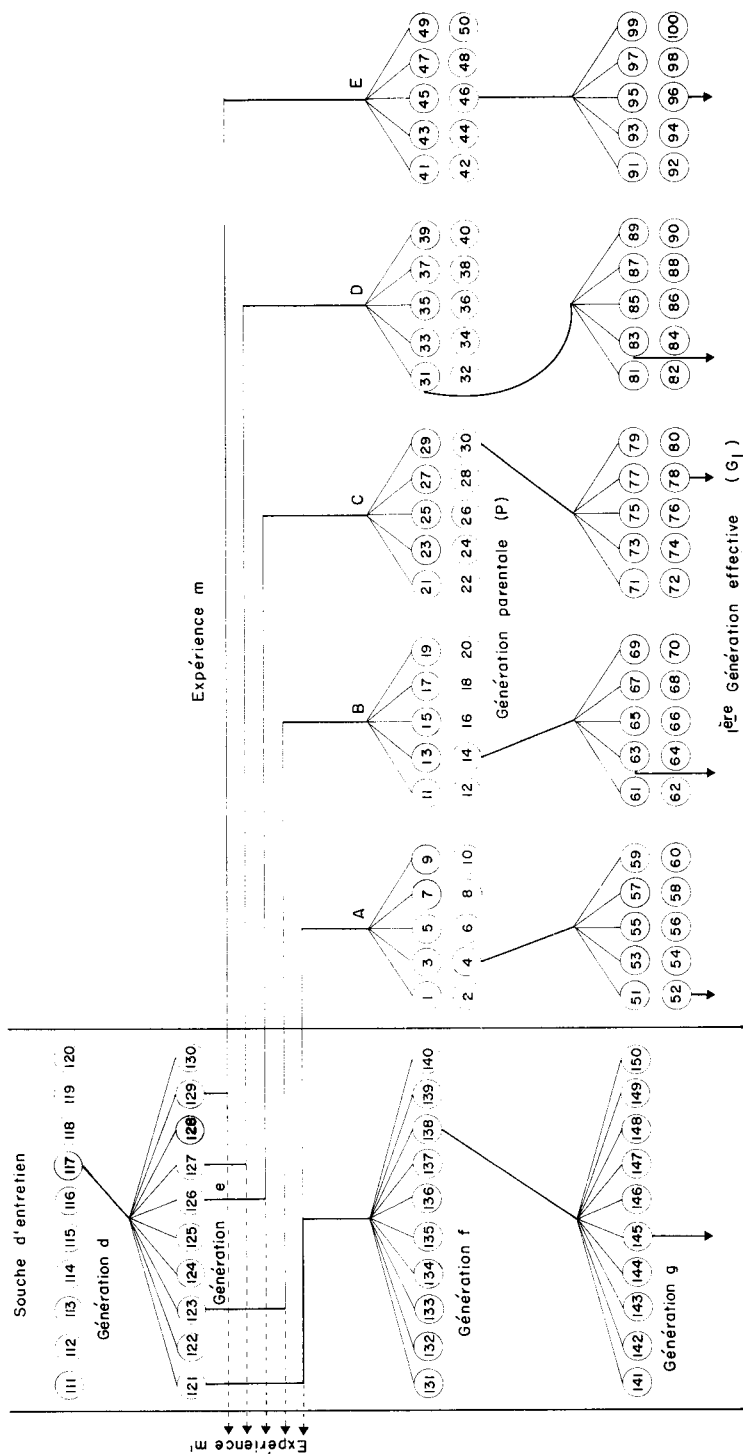


FIG. 1. b. — Choix des reproducteurs dans les expériences destinées à l'étude de la fécondité de *C. elegans*.
Modalité expérimentale II

111 = Numéro du géniteur contenu dans une goutte de milieu nutritif.

Lorsque l'expérience est poursuivie pendant plus de 100 générations, seule la modalité expérimentale II peut être utilisée. On maintient ainsi 2 ou 3 lignées seulement qui sont perpétuées grâce à un effectif de géniteurs compris entre 5 et 15, par génération.

RÉSULTATS

CHAPITRE I. — DIFFÉRENCES DE FÉCONDITÉ ENTRE LES LIGNÉES ADAPTÉES ET LA SOUCHE D'ORIGINE

La souche d'origine a été maintenue de façon constante à 18°. A partir de cette souche, j'ai créé des lignées « adaptées » à diverses températures plus élevées : 22° — 23° — 23,5° — 24° — 24,5°.

Une comparaison de fécondité entre deux souches (souche d'origine maintenue à 18° et souche adaptée à 23,5° par exemple) permet de définir ce qui les distingue. Cette comparaison est effectuée, le plus souvent, en plaçant les formes comparées dans des conditions identiques.

Dans un premier stade, nous examinerons ainsi le comportement de la souche d'origine et d'une souche adaptée (à 23,5° par exemple), portées toutes deux à la température d'adaptation (23,5°). Nous verrons ensuite comment se comportent ces deux souches quand elles sont placées toutes deux à la température d'origine (18°). Enfin je décrirai leur évolution lorsqu'elles sont transférées à une température supérieure à la température d'adaptation (c'est-à-dire, dans l'exemple présent, à plus de 23,5°)

1. *La fécondité aux températures élevées*

Le tableau 1₂ donne un exemple du mode de comparaison utilisé. On a placé à 23,5°, dans des conditions identiques (milieu 2,3 S ; modalité expérimentale I) d'une part des individus issus de la 1258^e génération de la souche maintenue à 18° (processus indiqué par le signe 18° → 23,5°), d'autre part des individus provenant de la 453^e génération adaptée à 23,5°. L'expérience est poursuivie parallèlement durant 7 générations.

On voit que la fécondité de la souche adaptée se maintient, avec des fluctuations, proche d'une valeur de 40. La souche non adaptée au contraire voit, avec les générations, décroître sa fécondité et augmenter la proportion de stériles ; à la 7^e génération au plus tard intervient son infécondité totale ce qui met fin à l'expérience.

Des expériences de ce genre ont été pratiquées à diverses dates (de 1956 à 1965), à des températures et sur des milieux différents. Grâce à la stabilité relative de la souche conservée à 18° (pendant toute la période mentionnée ci-dessus la fécondité s'est maintenue aux environs de 140 descendants par hermaphrodite), ces expériences permettent de tirer un certain nombre de conclusions :

1° Le tableau 1₃ révèle que le nombre de générations pendant lesquelles peuvent se reproduire des animaux provenant de 18° diminue à mesure que la température s'élève : transférés à 24,5° sous forme d'œufs ou de larves âgés de 24 heures, les animaux provenant de 18° donnent des adultes immédiatement stériles. D'autre part, pour des conditions de température identiques, la fertilité persiste plus longtemps sur milieu 2,3 S que sur milieu S + L (BRUN, sous presse dans *Nematologica*).

TABLEAU I₂*Comparaison à 23,5° de la fécondité*

a) de la souche non adaptée à cette température et transférée de 18 à 23,5° où elle demeure jusqu'à 7 générations (= souche 18° → 23,5°)
 b) de la lignée adaptée (= lignée 23,5°)

Génération successives étudiées à 23,5°	Nombre d'expé- riences effectuées	Nbre d'exp. 18° → 23,5° avec stéri- lité totale des générateurs		Nombre de générateurs		Nombre de descendants		Fécondité moyenne ± intervalle de confiance de la moyenne		Fécondités maxima	
		18 → 23,5°		23,5°		18° → 23,5°		23,5°		18° → 23,5°	
		Total	Stériles (%)	Total	Stériles (%)	18° → 23,5°	23,5°	18° → 23,5°	23,5°	18° → 23,5°	23,5°
G ₁	11	421	46	422	1	2 879	17 441	6,8 ± 2,2	40,6 ± 6,1	67	99
G ₂	11	450	49	445	3	2 574	18 129	3,7 ± 1,2	40,7 ± 6,2	59	97
G ₃	11	451	48	411	2	2 710	16 493	6,0 ± 1,7	40,1 ± 5,6	39	99
G ₄	6	247	54	176	2	1 067	6 765	4,3 ± 2,3	38,4 ± 7,4	62	93
G ₅	5	470	71	485	3	476	7 487	2,8 ± 1,9	39,4 ± 5,9	26	91
G ₆	5	456	75	410	3	273	3 934	1,8 ± 2,4	35,8 ± 6,1	19	86
G ₇	5	456	100	460	2	0	6 051	0	37,8 ± 4,2	0	97
Totaux	2 051	1 908	2	9 979	75 700

TABLEAU I₃

Durée de survie à température élevée de cultures établies à partir de la souche maintenue continuellement à 18°

	Milieux et températures auxquels sont transférés les Nématodes prélevés à 18°						
	Milieu S + L				Milieu 2,3 S		
	22°	23°	23,5°	24°	23,5°	24°	24,5°
Nombre maxima des générations susceptibles d'être obtenues après transfert direct	∞	5	3	1	7	2	1
Nombre total des géniteurs étudiés	1 246	4 494	865	157	2 453	233	741
Nombre d'expériences effectuées (à des dates différentes).....	5	5	10	1	13	2	8

2° Lorsqu'on transfère à température plus élevée des Nématodes issus de la souche perpétuée à 18° (fig. 1₂), la fécondité de la première génération (G_1) décroît à mesure que la température s'élève. Il en va de même pour les animaux de 2^e génération (G_2). Et ceci aussi bien sur milieu S + L que sur milieu 2,3 S.

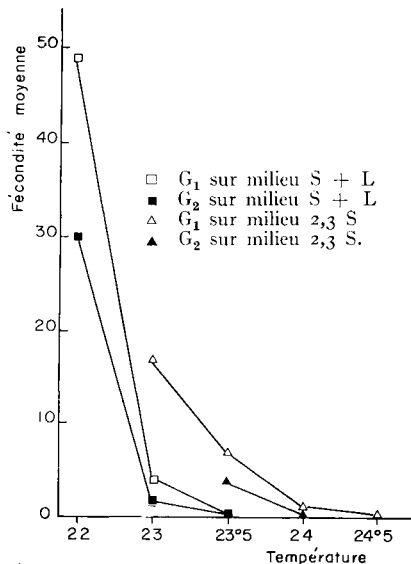


FIG. 1₂. — Influence de la température sur la fécondité moyenne d'animaux provenant directement de la souche à 18°

G_1 = fécondité de la 1^e génération à la température d'expérience.

G_2 = fécondité de la seconde génération.

3° La figure 1₃ reprend les chiffres du tableau 1₂ (expérience effectuée après 453 générations d'adaptation à 23,5°) en y ajoutant ceux d'une expérience parallèle, effectuée après seulement 340 générations d'adaptation. On constate que, dans les deux cas, l'évolution vers la stérilité de la souche non adaptée est analogue. Les lignées adaptées conservent, au contraire, leur fécondité au long de l'expérience. On notera la fécondité plus faible de la lignée adaptée seulement depuis 340 générations à 23,5°. On constate ainsi que le degré d'adaptation d'une lignée, exprimé par sa fécondité, augmente avec le temps. C'est un point sur lequel nous reviendrons.

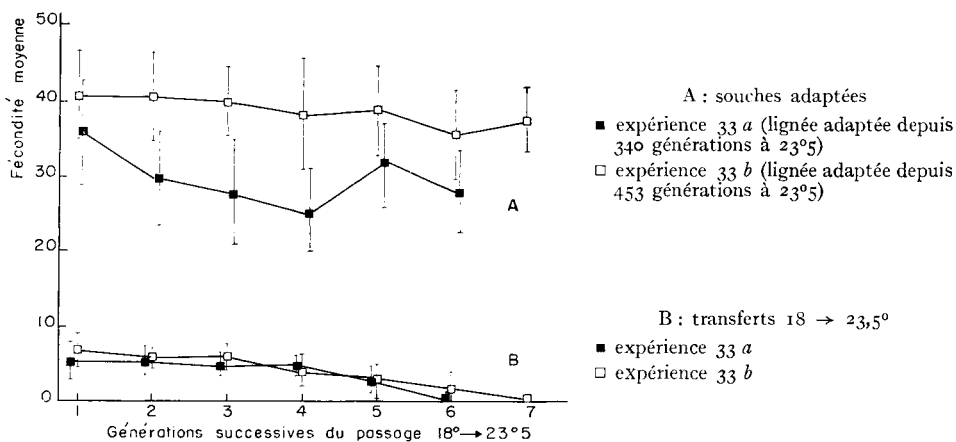


FIG. 1₃. — Comparaison à 23°5, de la fécondité moyenne des Nématodes adaptés et non adaptés à cette température.

(Intervalle de confiance pour un risque de 5%. Modalité expérimentale I. Milieu nutritif 2,3 S)

4° Les résultats précédents ont été observés à de nombreuses reprises. Toutefois il arrive qu'ils soient perturbés par la variabilité inhérente à des expériences de ce genre que représentent bien les intervalles de confiance portés sur la figure 1₃. Ainsi, dans le passage 18° → 23,5°, il arrive que certaines lignées ne puissent subsister plus de 4 générations à la température élevée. Cette variabilité importante semble de règle lorsque des organismes sont soumis à des conditions défavorables (L'HÉRITIER, 1957 ; BROWN, 1959 ; DAVID, 1962).

2. La fécondité à la température d'origine (18°)

Au cours d'un certain nombre d'expériences, on a comparé à 18° la fécondité de la souche maintenue à cette température d'une part, à celle d'animaux provenant de souches adaptées à des températures plus élevées d'autre part. Le tableau 1₄ donne quelques résultats intéressant les deux premières générations de retour. Le tableau 1₅ fournit le détail de deux expériences intéressant les quatre premières générations du retour de 23,5° à 18°.

On constate que les géniteurs adaptés à des températures élevées sont doués, lorsqu'ils sont ramenés à basse température, d'une fécondité nettement supérieure à celle de la souche d'origine. Cette fécondité plus élevée paraît se maintenir au moins durant les premières générations de retour à la température inférieure.

TABLEAU I₄

Comparaison, à 18°, entre les fécondités moyennes de la souche élevée continuellement à cette température (= Témoins à 18°) d'une part, des deux premières générations à 18° des lignées adaptées à 22° (= 22 → 18), à 23° (= 23 → 18) et à 23,5° (= 23,5 → 18) d'autre part (A chaque génération et sur le même milieu, on a effectué parallèlement une série de cultures de la souche témoin et une série de cultures de la souche en expérience)

Milieu S + L			Milieu 2,3 S			Milieu 2,3 S		
Témoins 18°	22° → 18°		Témoins 18°	23° → 18°		Témoins 18°	23,5 → 18°	
Fécondité moyenne	Durée élevage à 22°	Fécondité moyenne	Fécondité moyenne	Durée élevage à 23°	Fécondité moyenne	Fécondité moyenne	Durée d'élevage à 23,5°	Fécondité moyenne
126,0 ± 17,6	297° G	G ₁ 165,4 ± 19,7 ↓ G ₂	153,2 ± 19,5	398° G	G ₁ 215,4 ± 31,4 ↓ G ₂	130,4 ± 23,3	357° G	G ₁ 240,8 ± 23,4 ↓ G ₂
127,9 ± 22,4		161,8 ± 8,6	163,9 ± 23,6	529° G	G ₁ 270,4 ± 25,7 ↓ G ₂	160,0 ± 25,4	364° G	202,1 ± 17,6
			157,7 ± 22,2		269,4 ± 25,9	141,5 ± 15,8		G ₁ 229,9 ± 13,3 ↓ G ₂
			144,5 ± 27,7	550° G	G ₁ 222,4 ± 30,4	143,8 ± 12,1	393° G	242,2 ± 18,5
						142,9 ± 15,4		G ₁ 213,6 ± 19,0 ↓ G ₂
						125,2 ± 17,3		233,5 ± 22,3

D'autre part, on n'observe pas de différence évidente à cet égard entre les lignées adaptées à diverses températures élevées, pas plus qu'entre les souches maintenues depuis des durées plus ou moins longues, à température élevée.

TABLEAU I₅

Comparaison, à 18°, entre les fécondités de la souche élevée continuellement à cette température (= souche 18°) d'une part, de la lignée adaptée à 23,5° (= lignée 23,5° → 18°) d'autre part

Durée d'élevage à 23,5°	Généra-tions étudiées à 18°	Nombre de géniteurs				Fécondités moyennes		Fécondité maximale	
		Témoins à 18°		23,5° → 18°		Témoins à 18°	23,5° → 18°	18°	23,5° → 18°
		Total	% de stériles	Total	% de stériles				
279° G	G ₁	37	3	35	0	164,0 ± 23,6	256,1 ± 13,0	275	320
	G ₂	40	3	37	0	157,7 ± 22,2	248,7 ± 18,2	279	335
	G ₃	31	0	37	0	120,8 ± 21,2	239,6 ± 13,0	202	311
	G ₄	40	0	37	0	154,1 ± 19,5	247,8 ± 17,5	252	346
444° G	G ₁	33	3	39	0	130,5 ± 26,6	233,5 ± 16,9	256	339
	G ₂	29	3	35	0	124,2 ± 16,7	237,7 ± 20,1	209	308
	G ₃	39	0	36	0	152,7 ± 18,6	242,9 ± 15,9	259	333
	G ₄	27	6	29	0	133,9 ± 28,0	243,0 ± 24,5	234	328

3. La fécondité aux températures dépassant la température d'adaptation

Je me limiterai volontairement ici — car le problème sera repris plus loin — à comparer le comportement des Nématodes provenant de la souche maintenue à 18° d'une part, de la lignée adaptée à 23,5° d'autre part, lorsqu'ils sont portés aux températures de 24 à 24,5° (tabl. I₆).

— Les Nématodes adaptés à la température de 23,5° sont nettement plus féconds que ceux provenant de 18° : à 24°, ces derniers sont totalement stériles dès la 2^e génération tandis que la stérilité intervient seulement à la 5^e génération pour la souche adaptée à 23,5°. A 24,5°, cette dernière se maintient pendant deux générations alors que les animaux provenant de 18° sont incapables de se reproduire.

4. Conclusions

Il apparaît, en définitive, que le degré d'adaptation ou d'inadaptation d'une souche à une température élevée se traduit par un certain nombre de caractères :

1° La souche adaptée à une température élevée peut-être indéfiniment cultivée à cette température tandis que, dans les mêmes conditions, les souches non adaptées sont condamnées à s'éteindre

2° Une souche adaptée à une température élevée possède une fécondité intrinsèque plus importante que celle d'une souche non adaptée. Cette fécondité plus importante se manifeste quelle que soit la température à laquelle est effectuée la comparaison

TABLEAU I₆

Comparaison à 24° et 24,5° de la fécondité, d'une part de la souche transférée à partir de 18° (18° → 24° et 18° → 24,5°), d'autre part de la lignée adaptée à 23,5° (23,5° → 24° et 23,5° → 24,5°) — Milieu 2,3 S — modalité expérimentale I

Durée d'élevage	Génération étudiées à 24°	Nombre de géniteurs				Nombre de descendants		Fécondité moyenne		Fécondité maximum	
		18° → 24°		23,5° → 24°		18° → 24°		23,5° → 24°		18° → 24°	
		Total	% de stériles	Total	% de stériles	18°	24°	23,5°	24°	18°	24°
93e	G ₁	29	97	47	44	1	70	0,03 ± 0,00	4,1 ± 2,0	1	12
	G ₂	1	100	43	58	0	65	0	1,5 ± 0,8	0	8
	G ₃			57	78		27		0,5 ± 0,4		4
	G ₄			43	77		5		0,4 ± 0,5		3
	G ₅			5	100		0		0		0
Durée d'élevage à 23,5°	Génération étudiées à 24,5°	Nombre de géniteurs				Nombre de descendants		Fécondité moyenne		Fécondité maximum	
		18° → 24,5°		23,5° → 24,5°		18° → 24,5°		23,5° → 24,5°		18° → 24,5°	
		Total	% de stériles	Total	% de stériles	18°	24,5°	23,5°	24,5°	18°	24,5°
97e	G ₁ G ₂	35	100	44	68	0	114	0	2,5 ± 1,0	0	14
				36	100		0		0		

3° Lorsqu'on porte une souche à une température supérieure à sa température d'adaptation, la stérilité peut intervenir — mais ce n'est pas toujours le cas comme nous le verrons dans le chapitre suivant — après un certain nombre de générations. Ce nombre est, généralement, d'autant plus faible que la différence est plus grande entre la température d'adaptation de la souche et la température d'expérience.

CHAPITRE II. — LE DÉVELOPPEMENT DE L'ADAPTATION

I — *Obtention des formes adaptées*

Les formes adaptées aux températures élevées ont été obtenues grâce à la méthode d'accoutumance « pas à pas ». L'ensemble des opérations est schématisé dans la figure 1₄

Dans une première étape, les Nématodes prélevés à 18° ont été transportés à 22° — qui n'est pas une température stérilisante même sur milieu S + L. Ils y sont demeurés de nombreuses générations, tandis que divers essais de transfert à 23° ont été entrepris. D'abord infructueuses, ces tentatives ont fourni, à la 95^e génération de culture à 22°, une souche qui s'est perpétuée avec succès à 23°. Des opérations similaires — bien que réalisées sur milieu différent : 2,3 S — ont permis de porter les Nématodes à 23,5° d'abord, puis à 24°, enfin à 24,5°.

II — *Les conditions de l'adaptation*

A. — *Influence de la durée d'élevage à une température nouvellement supportée sur le degré d'adaptation des nématodes.*

Le comportement des Nématodes a été suivi pendant de nombreuses générations à chacune des étapes de l'adaptation. C'est à 23° et 23,5° que les observations ont été les plus prolongées — respectivement pendant 560 et 511 générations.

1° *Caractéristiques générales.*

Dans un premier temps, il est commode de suivre, dans leur allure générale, l'évolution des paramètres de fécondité en calculant des valeurs moyennes *sur cinq générations successives*. La figure 1₅ donne des résultats de ce calcul pour les adaptations à 23° et 23,5°, dans l'ensemble des lignées étudiées. Dans tous les cas, trois phases se succèdent :

— Phase I : Elle s'étend approximativement sur les 100 premières générations d'élevage à la nouvelle température. Elle est marquée par une augmentation relativement rapide de la fécondité tandis que, corrélativement, les cas de stérilité diminuent.

— Phase II : Comprise entre les générations 100 à 250-350, elle correspond à une stabilisation de la fécondité et du pourcentage de stériles.

— Phase III : Au-delà de la 300^e génération, l'accroissement de fécondité reprend alors que la stérilité tend à disparaître.

2° *L'évolution de la fécondité lors de la phase I.*

Le groupement des données effectué au paragraphe précédent fait évidemment disparaître certaines informations. Celles-ci réapparaissent si l'on examine les résul-

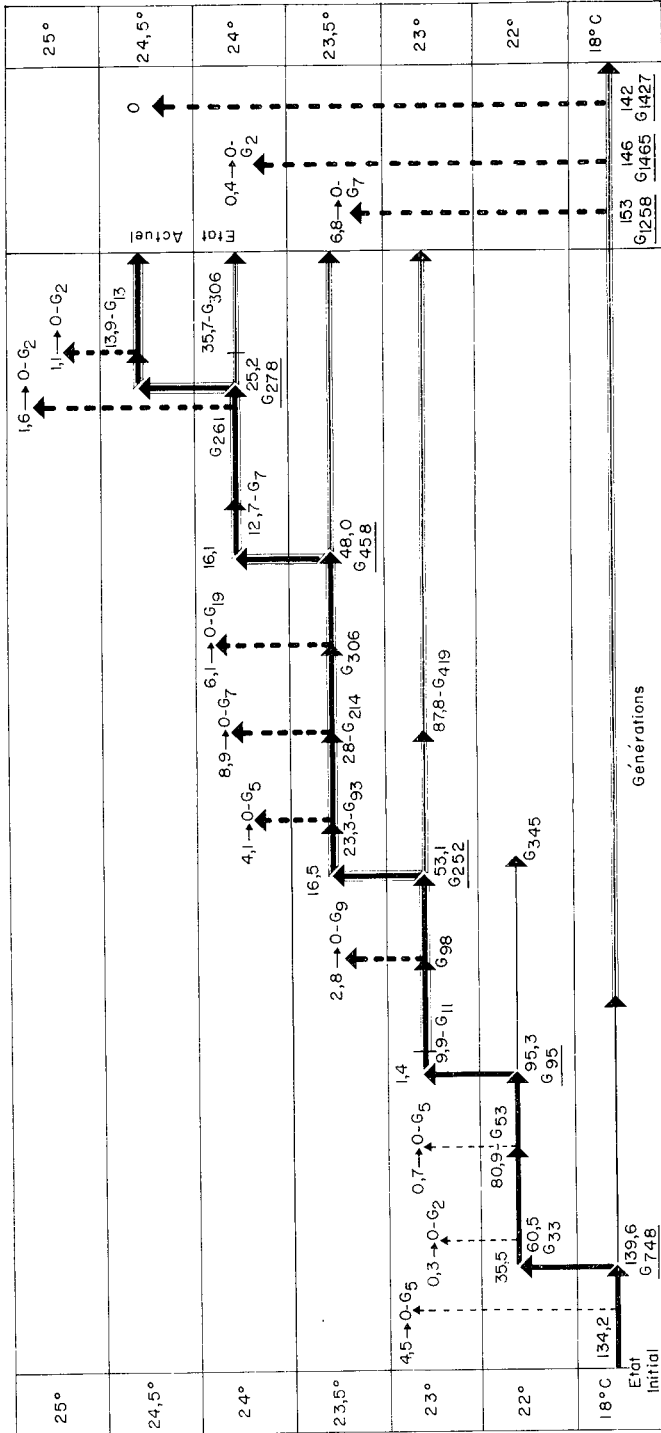


FIG. 14. — Représentation schématique des étapes successives dans l'adaptation aux températures élevées des *Nématodes originaires de 18°*

Ce schéma distingue

- a) Les transferts suivis d'adaptation : ———> (Sur milieu S + L) <———— (Sur milieu 2,3S)
- b) Les transferts non suivis d'adaptation : - - - -> (Sur milieu S + L) <———— (Sur milieu 2,3S)

Certains transferts en milieu 2,3S, non suivis d'adaptation, ont été groupés sur le côté droit de la figure. Les indications (G_x) indiquent le nombre de générations (x) à la température considérée. Les autres chiffres indiquent des fécondités moyennes.

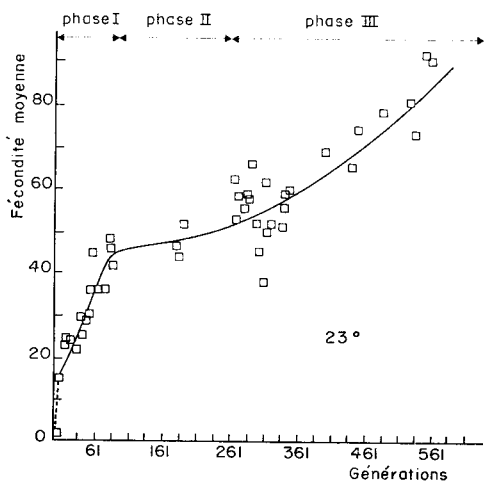


FIG. 1₅ a.

— milieu 2,3 S
 - - - milieu S + L.

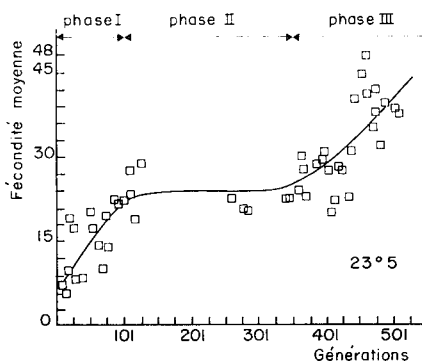


FIG. 1₅ b.

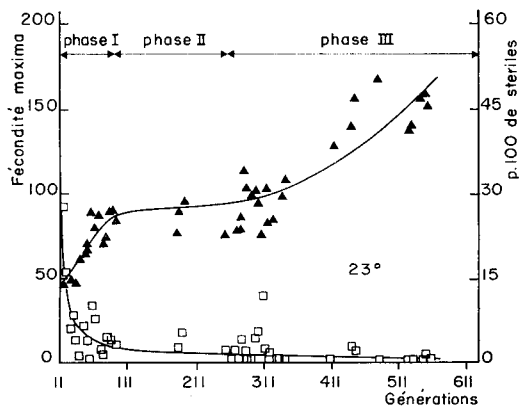


FIG. 1₅ c.

▲ — fécondité maxima
 □ — p. 100 de stériles.

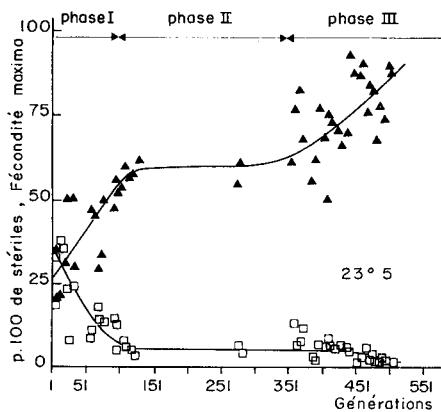


FIG. 1₅ d.

▲ — fécondité maxima
 □ — p. 100 de stériles.

FIG. 1₅. — Évolution, à 23 et 23,5°, des paramètres de fécondité

Chaque point représente un chiffre moyen calculé sur 5 générations successives.

— A 23°, les parents de la génération 1 étaient adaptés à la température de 22° depuis 95 générations. Prélevée sur milieu S + L, leur descendance a été maintenue pendant les 10 premières générations à 23° sur ce même milieu. Puis l'élevage s'est poursuivi sur milieu 2,3S.

— A 23,5°, les parents de la génération 1 étaient adaptés à la température de 23° depuis 252 générations (milieu 2,3S).

tats génération par génération. Cette analyse plus précise s'avère particulièrement nécessaire au cours de la phase I dans laquelle elle révèle la présence d'un instant critique. La figure 1₆ apporte les résultats, encore groupés par trois générations successives, du passage 18° → 22°. Les figures 1₇ et 1₈ donnent les résultats génération par génération des passages respectifs à 23°, 23,5° et 24,5°. Sur la figure 1₇ on a tenté en outre de réduire la variabilité sans trop perdre d'information, en employant le calcul des moyennes mobiles.

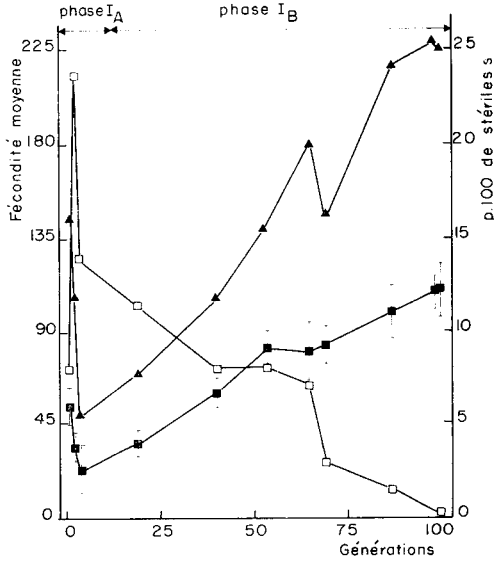


FIG. 1₆. — Passage 18 → 22° sur milieu S + L.

- ▲ — fécondité maximum
- — fécondité moyenne
- — p. 100 de stériles.

— Chaque point représente la moyenne de 3 expériences (modalité expérimentale II). Les parents de la génération 1 étaient élevés à 18° depuis 798, 808 et 826 générations sur milieu S + L.
 — Intervalle de confiance pour un risque de 5%.

Une constatation s'impose : si, jusqu'à la 100^e génération, l'augmentation de fécondité est indéniable, celle-ci ne se réalise pas de façon régulièrement progressive :

a) Tout d'abord, on constate — sauf en ce qui concerne 23° car l'analyse n'y débute qu'à la 11^e génération — que l'adaptation des Nématodes s'amorce toujours par une période relativement brève de sensibilisation (= Phase I_A). Celle-ci s'étale sur les 10 à 15 premières générations. Elle correspond à une diminution de la fécondité qui tombe à un niveau inférieur à celui de la première génération. Ceci est particulièrement net à 24,5° (fig. 1₈). Cette phase de sensibilisation I_A se présente donc, en fait, comme l'étalement, sur un nombre de générations plus important, de la phase critique — dont nous avons vu l'extension variable au chapitre précédent — au cours de laquelle les Nématodes, incapables de se maintenir aux températures élevées, y subsistent cependant quelque temps. En définitive, les Nématodes s'adaptent lorsqu'ils sont en mesure de dépasser la phase critique inhérente à tout transfert depuis les conditions habituelles d'élevage jusqu'à une température plus élevée.

b) Au-delà de cette phase I_A, on constate une augmentation saccadée des valeurs correspondant, d'une part aux plus fortes fécondités, d'autre part aux fécondités les plus faibles. Ceci conduit à penser à l'existence d'une certaine périodicité dans le comportement des Nématodes. C'est la conclusion à laquelle on arrive d'ailleurs si l'on essaie de représenter l'évolution de la fécondité à 23 et 23,5° en utilisant le procédé des moyennes mobiles (cf. fig. 17). En effet, que l'on emploie des cycles de 3, 5, 7 ou même 9 générations on retrouve toujours les mêmes pointes de progression de la fécondité :

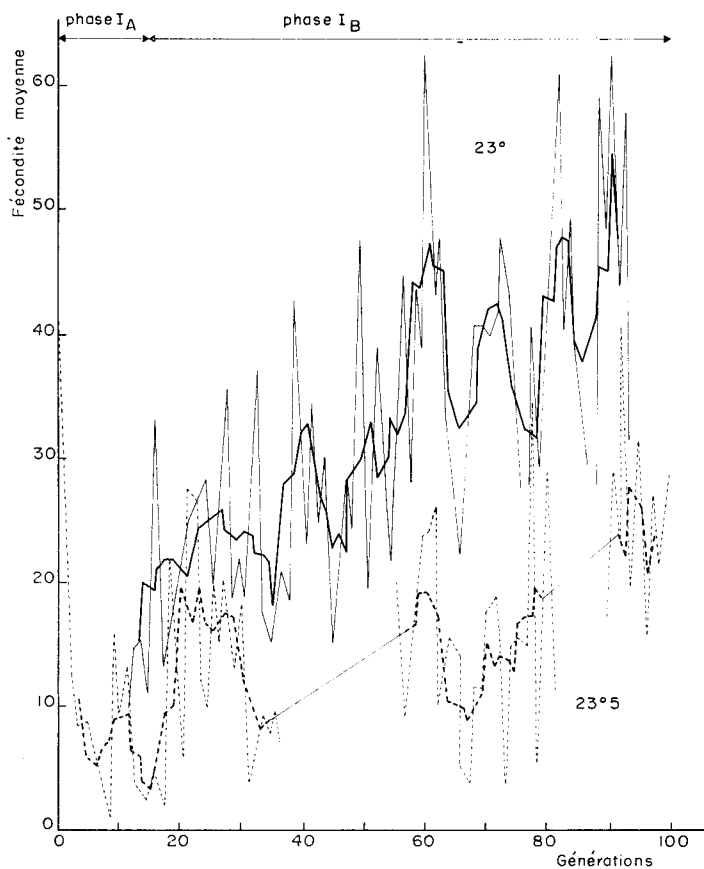


FIG. 17. — Évolution de la fécondité moyenne générale en fonction des générations successives, au cours de la phase I (cf. Fig. 15)

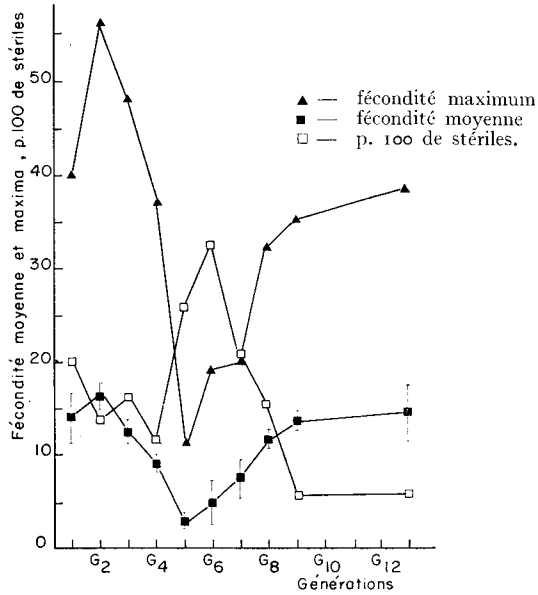
22 → 23° { — Résultats bruts sur milieu nutritif 2,3S
 — Procédé des moyennes mobiles (cycle de 5)
 23 → 23,5° { - - - Résultats bruts sur milieu 2,3S
 - - - Procédé de moyennes mobiles (cycle de 5)

— à 23°C, elles correspondent, *grosso modo*, aux générations 25, 40, 50, 60, 70, 80, 90 (périodicité de 10 générations?) ;

— à 23,5°C, les données moins nombreuses ne permettent qu'une approximation : générations 10, 25 ... 60, 75, 90 (périodicité de 15 générations?).

3° Conclusion.

Lorsque l'élevage de *C. elegans* à une température élevée nouvellement supportée se prolonge pendant de très nombreuses générations, le comportement des Nématodes, d'abord perturbé, va en s'améliorant avec le temps. L'augmentation progressive des fécondités moyenne et maxima, la régression nette des cas de stérilité, font que les Nématodes tendent incontestablement à retrouver le comportement qui les caractérisait aux températures de prélèvement. Le tableau I₇, le démontre à propos de la fécondité moyenne

FIG. 1₆. — Passage 24 → 24,5 sur milieu 2,3S

- Les parents de la génération 1 étaient adaptés à la température de 24° depuis 278 générations.
- Intervalle de confiance pour un risque de 5%.

TABLEAU I₇

Comparaison de la fécondité moyenne des Nématodes lors de leur prélèvement et après adaptation poussée à 23 et 23,5°

Fécondité moyenne à la température de prélèvement	Fécondité moyenne obtenue après la durée maximum d'élevage étudiée à la température d'adaptation
22° sur S + L : 97,8 (87 ^e génération)	23° sur 2,3 S : 93,1 (546 à 550 ^e générations)
23° sur 2,3 S : 50,5 (251 à 256 ^e générations)	23,5° sur 2,3 S : 37,4 (506 à 510 ^e générations)

B. *Influence de la température de culture et de la durée d'élevage à cette température sur les possibilités d'adaptation à une température supérieure.*

Nous avons vu dans le chapitre I que lorsqu'on porte une souche à une température supérieure à sa température d'adaptation, cette souche voit sa fertilité décroître et finit par s'éteindre. Dans le paragraphe précédent, nous avons constaté que l'adaptation elle-même comporte une première phase de fécondité décroissante (phase I_A) relayée ensuite par une phase de fécondité croissante qui permet à la souche d'échapper à l'extinction et signe véritablement le début de l'adaptation. Il nous faut considérer maintenant dans quelles conditions on peut observer l'un ou l'autre des effets précédents, extinction ou adaptation. Il s'avèrera que, pour des conditions identiques de milieu et de température, les possibilités d'adaptation dépendent étroitement des conditions rencontrées par les animaux pendant les générations qui ont précédé l'expérience.

Le tableau I₈ montre la fécondité à 24° d'animaux prélevés à 23,5°. On voit que, dans ces expériences, la 93^e génération à 23,5° s'éteint après 5 générations à 24°. La 214^e génération s'éteint à la 7^e génération ; tandis que la 306^e génération persiste jusqu'à la 19^e génération. La 458^e génération a permis une fertilité constante et s'est acclimatée à 24°.

TABLEAU I₈

Fécondité moyenne, à 24°, des Nématodes prélevés à 23,5° après un élevage prolongé à cette température pendant, respectivement 93, 214, 306 et 458 générations

Durée d'élevage à 23°5	Fécondité moyenne des générations successives à 24°								
	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄	G ₅	G ₆	G ₇	G ₈	
G ₉₃	4,1	1,5	0,5	0,4	0				Jusqu'à 19 ^e génération →
G ₂₁₄	8,9	4,5	1,6	4,3	0,9	2,8	0		
G ₃₀₆	6,1	21,4	20,5	18,8		11,3	12,6	6,4	→ Actuellement 450 générations
G ₄₅₈	16,1			17,6			12,7		

Les figures I₁₀ et I₁₁ rapportent les résultats d'expériences dans lesquelles on a tenu compte, à la fois, de la température de départ, de la durée d'élevage à cette température et de la température élevée à laquelle on essaie de maintenir les Nématodes. On constate que la fécondité moyenne des générations qui suivent l'élévation de température est d'autant plus forte que la température de prélèvement est plus proche de la température d'expérience et que les animaux ont été maintenus plus longtemps à cette température de prélèvement.

On voit également — et une constatation du même ordre peut être faite à 23° et à 24,5° (fig. I₄) — que l'acclimatation des Nématodes à 23,5° et 24° réussit si l'on prélève les animaux à 23° dans le premier cas, à 23,5° dans le second, alors qu'elle

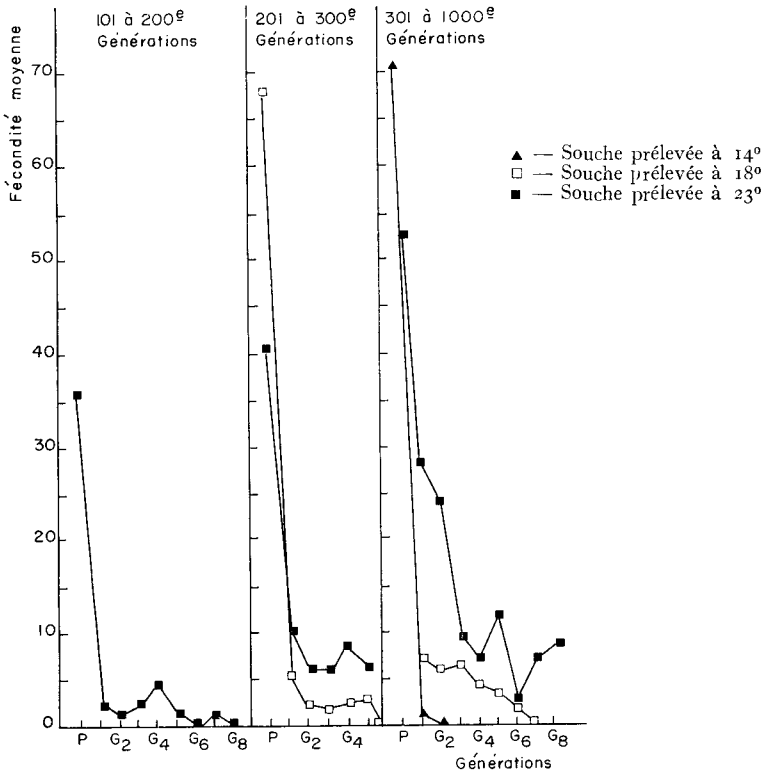


FIG. 110. — A 23°C, fécondité de générations correspondantes de Nématodes prélevés à différentes périodes de leur culture à 14, 18 et 23°

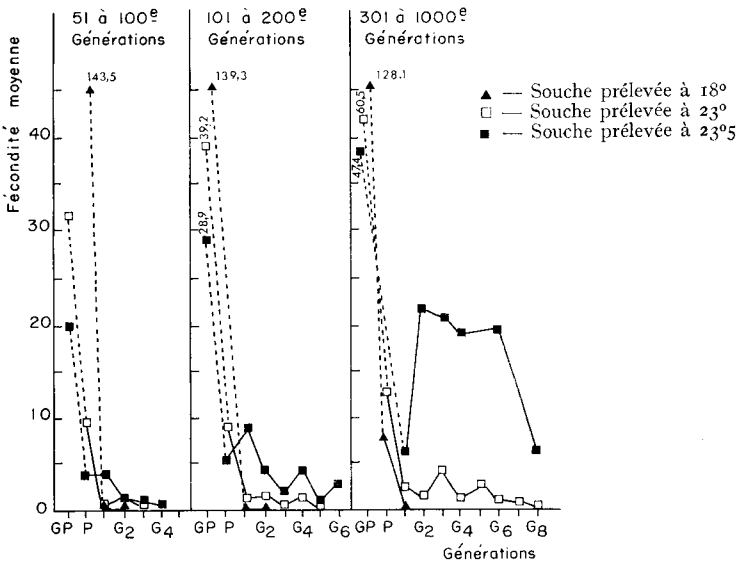


FIG. 111. — A 24°C, fécondité de générations correspondantes de Nématodes prélevés à différentes périodes de leur culture à 18, 23 et 23.5°

demeure impossible à partir de 14 à 18°. Cependant, il est nécessaire que les animaux soient prélevés après une très longue durée d'élevage aux températures adéquates pour qu'il se produise une accoutumance : 95 générations à 22° d'une part, 252 générations à 23° d'autre part, 458 générations en ce qui concerne 23,5°, enfin 278 générations à 24° (fig. 14)

Il apparaît donc que le nombre de générations pendant lesquelles C. elegans peut se maintenir aux températures élevées est d'autant plus grand que :

a) *la température à laquelle sont prélevés les Nématodes est plus élevée et plus proche de la température à supporter ;*

b) *le nombre de générations passées à cette température de prélèvement est plus grand.*

La phase d'acclimatation commence lorsque le nombre de générations supportées s'accroît. Il en résulte que, en dessous d'un certain seuil de température et de durée, l'acclimatation à une température plus élevée est totalement impossible.

CHAPITRE III. — LA REPRODUCTIBILITÉ DES EXPÉRIENCES

Malgré leur longueur, la plupart des expériences ont été répétées sur un nombre plus ou moins grand de générations. J'examinerai ici les résultats analogues obtenus dans les diverses situations auxquelles ont été soumis les Nématodes.

1. *Transfert à une température plus élevée*

A 24°, par exemple, cinq lignées différentes ont été élevées séparément de la 222^e à la 287^e générations. A ce niveau, au même moment et dans les mêmes conditions, elles ont été placées à 24,5° où elles ont été suivies pendant les 13 premières générations. Comme l'indique la figure 12, le comportement des diverses lignées est fort similaire et montre bien la signification de la phase critique qui survient au cours du processus d'accoutumance.

2. *Élevages de longue durée à température élevée*

Dans ce cas, le poids de l'expérimentation ne permet de considérer qu'un petit nombre de reproducteurs pour chacune des lignées élevées parallèlement. Malgré l'accroissement de variabilité qui en découle, on retrouve cependant une incontestable analogie dans la reproduction.

A 23° et à 23,5°, des lignées parallèles ont été maintenues pendant un certain nombre de générations. La figure 13 représente seulement les arbres généalogiques des lignées le plus longuement suivies. L'évolution de la fécondité dans ces lignées est exprimée par les graphiques des figures 14 et 15. Chaque point correspond à la moyenne des observations effectuées sur 10 générations successives.

On constate l'absence de divergences caractérisées dans le comportement des différentes lignées. Des écarts importants se manifestent parfois mais ils ne se perpétuent jamais : ils doivent être considérés comme accidentels, amplifiés d'ailleurs par suite du petit nombre de géniteurs

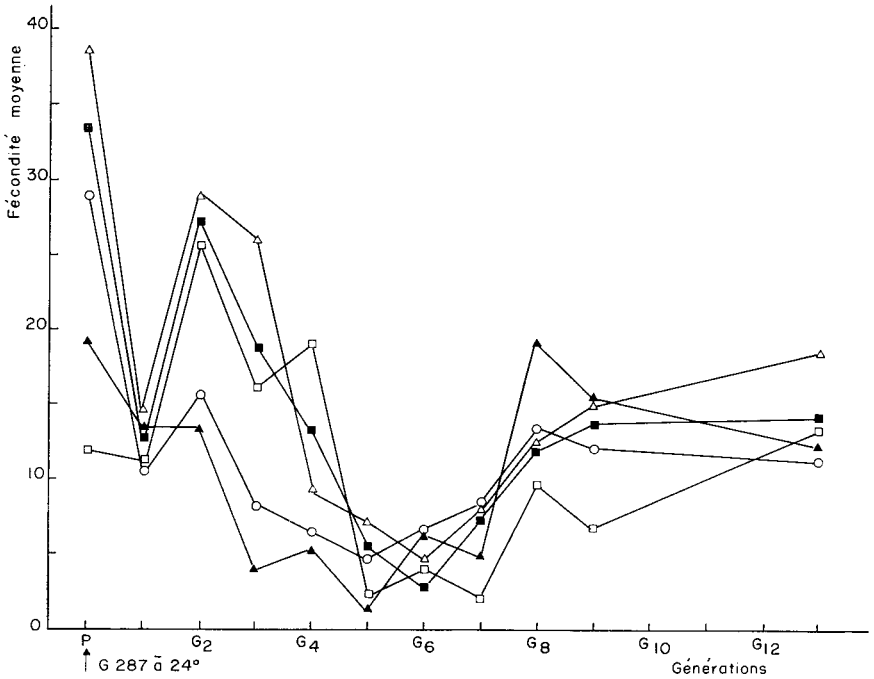


FIG. 132. — Évolution de la fécondité moyenne des générations successives issues de transferts 24 → 24°5. Le comportement de cinq lignées différentes a été considéré. Nombre moyen de reproducteurs par lignée et par génération : 17,8, (Milieu 2,3S ; modalité expérimentale II)

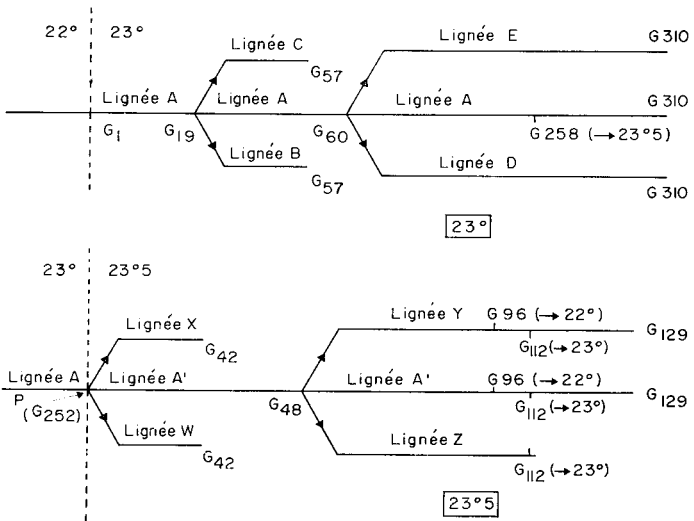


FIG. 133. — Arbres généalogiques définissant l'origine et le maintien de lignées de Nématodes élevées parallèlement pendant un grand nombre de générations à 23 et 23°5

G 96 (→ 22°) = Au niveau de la 96^e génération, une partie des animaux de la lignée considérée a été transférée à 22°.
 Les propriétés de ces diverses lignées sont explicitées sur les fig. 134 à 137.

3. Descentes à des températures inférieures

Certaines des lignées étudiées ci-dessus à $23,5^{\circ}$ ont été ramenées à 22° et 23° où leurs cultures ont été poursuivies parallèlement. L'évolution des fécondités est donnée dans les figures I₁₆ et I₁₇

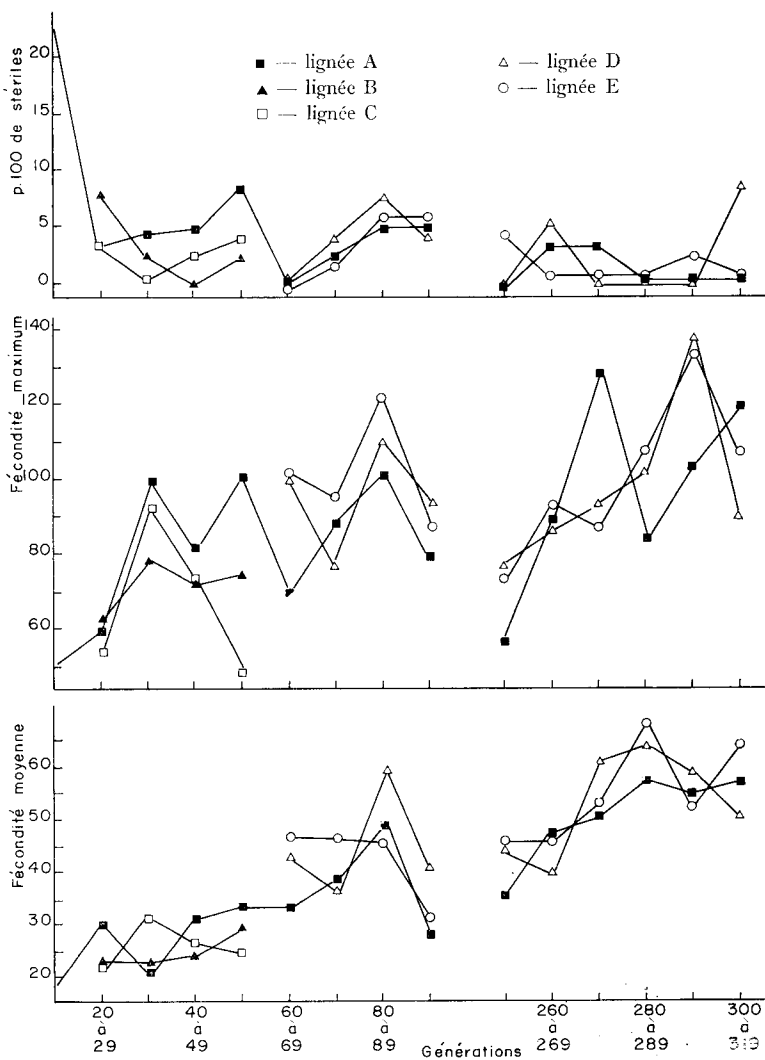


FIG. I₁₄. — 23° : Évolution des paramètres de fécondité dans des groupes successifs de 10 générations appartenant aux lignées A, B, C, D, E (cf. arbre généalogique fig. I₁₃: 23°)

Milieu 2₃S — Modalité expérimentale II.

Nombre moyen de géniteurs pour chaque lignée et à chaque génération : 3,6.

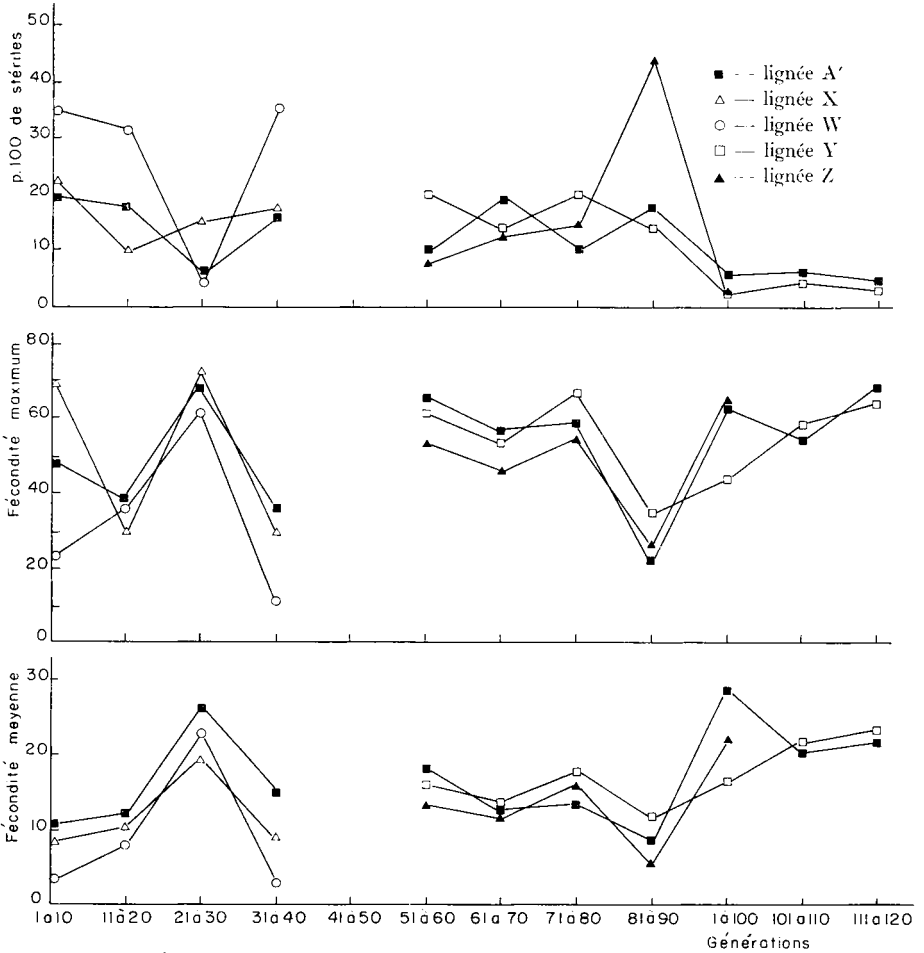


FIG. 115. — 23,5 : Évolution des paramètres de fécondité dans des groupes successifs de 10 générations appartenant aux lignées A', X, W, Y, Z (cf. arbre généalogique fig. 113 : 23°5)

Milieu 2,3S. Modalité expérimentale II. Nombre moyen de gémiteurs pour chaque lignée et à chaque génération : 3,6.

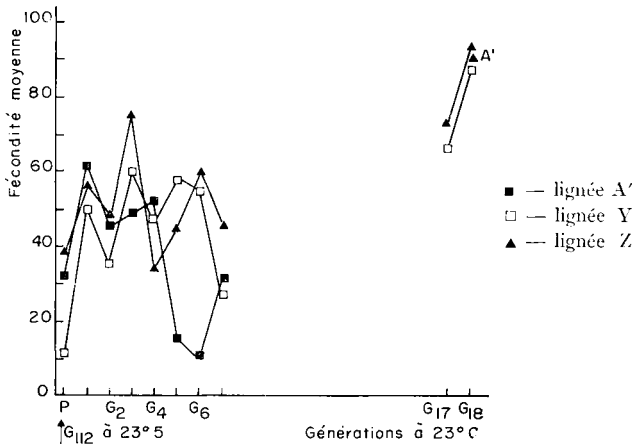


FIG. 116. — Descente 23,5 → 23°. Variations de la fécondité moyenne des générations successives dans trois lignées parallèles descendues à 23° : A', Y et Z (cf. arbre généalogique fig. 113 : 23°5)

Milieu 2,3S. Modalité expérimentale II. Nombre moyen de gémiteurs pour chaque lignée et à chaque génération : 6,5.

Ici encore, le comportement des lignées est manifestement analogue, surtout à 22°. A 23°, si on compare les fécondités moyennes des différentes générations par le test de *t*, des différences significatives apparaissent dans trois cas seulement sur neuf. Ces irrégularités peuvent donc être considérées comme accidentelles et exagérées par suite du faible nombre d'animaux repiqués

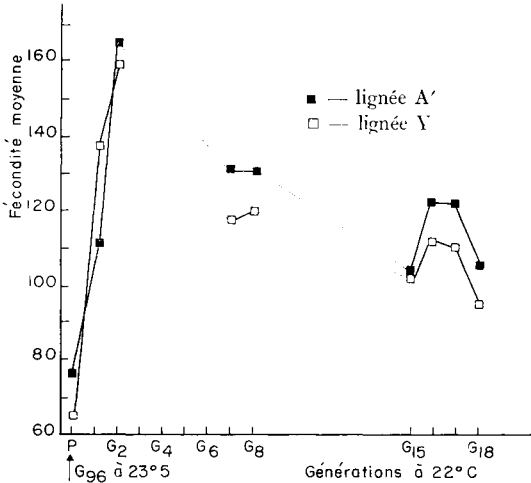


FIG. 117. — Descente 23,5 → 22°. Variations de la fécondité moyenne des générations successives dans deux lignées parallèles descendues à 22° : A' et Y (cf. arbre généalogique fig. 113 : 23°5)
Milieu 2,3S. Modalité expérimentale II.
Nombre moyen de géniteurs à chaque génération, pour chaque lignée : 11,2.

CONCLUSIONS

Les résultats exposés dans cette première partie montrent que :

1° Lorsqu'une lignée de *C. elegans* a été adaptée à une température élevée, elle se caractérise par une fécondité toujours plus forte que celle de la souche maintenue constamment dans les conditions habituelles d'élevage, c'est-à-dire à 18°, quelle que soit la température à laquelle les deux lignées sont comparées. L'avantage manifesté par les formes adaptées est d'autant plus grand que la température d'expérience est plus élevée.

2° Le nombre de générations pendant lequel l'élevage d'une lignée est pratiqué à température élevée conditionne :

- a) le degré d'adaptation de cette lignée à cette température ;
- b) les possibilités d'accoutumance à des températures plus élevées encore.

Il apparaît donc que l'adaptation résulte d'un effet cumulatif qui s'exerce dans l'action du facteur température. Cet effet cumulatif comporte le passage par une phase initiale de sensibilisation.

La répétition des expériences, dans des conditions de températures identiques et dans des conditions différentes, montrant que leur reproductibilité est très grande, la relation de cause à effet se trouve établie avec une très forte vraisemblance.

Nous verrons, dans la deuxième partie de ce travail, que ces conclusions sont confirmées par les résultats des expériences entreprises en vue d'examiner la stabilité de l'adaptation ainsi réalisée.

Reçu pour publication en mars 1966.

SUMMARY

ACCLIMATIZATION OF NEMATODE « CAENORHABDITIS ELEGANS » MAUPAS 1900 TO HIGH TEMPERATURES

I. — ACCLIMATIZATION AND ITS EVOLUTION

Caenorhabditis elegans is a Nematode strain of almost exclusively hermaphroditic self-fertilizing animals. Since they are kept individually on an agar medium, it is easy to determine their fertilities. The *Bergerac* strain experimented upon had been kept for 700 generations at 18°C when this investigation was started. Average fertility was 141 progeny per hermaphrodite.

Under our experimental conditions, the animals could never be kept on after the 1st generation if they were raised from 18 to 24,5°C straight off. But, they could lastingly withstand this temperature if a certain number of generations were previously kept at intervening temperatures, viz. 22, 23, 23,5 and 24°C.

Shortly after the transfers to any one of these intermediate temperatures — or to 24,5°C as well —, we noticed a gradual slowing down of fertility; a minimum was reached at the 5th or 6th generation. After this initial stage of sensitiveness, fertility gradually increased in relation with the duration of breeding.

The adaptive modification is very slow. At 23,5°C for instance, it is after 100 generations only that a fertility four times greater than that of the first generation transferred is reached. It is only after 1 000 generations that the Nematodes can withstand exposure to 24,5°C.

When a strain has become acclimatized to a high temperature, it shows an intrinsic fertility greater than that of a strain acclimatized to a lower temperature. This can be observed when 23,5°C adapted animals are taken down to 18°C: their average fertility (= 230) can then be compared with that of the animals kept at 18°C throughout (= 140).

So, both the possible acclimatization to a higher temperature and the fertility at normal or lower temperatures are conditioned by the duration of breeding at a high temperature. Therefore, it appears that acclimatization results from a cumulative effect in the action of temperature. In the second part of this report, we shall see that these conclusions are enforced by the results of our investigations upon the durability of the acclimatization.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AGAR W. E., 1914. Experiments on inheritance in parthenogenesis. *Phil. Trans. R. Soc.*, **205**, 421-489.
- AVERKIEV I. S., 1952. Sur le problème de la sélection d'une nouvelle race de Bombyx du chêne (*Antheraea pernyi*) par modification du régime alimentaire (en russe). *Dokl. vses. Akad. sel's-khoz. Nauk.*, **8**, 37-38.
- BANTA A. M., 1939. Studies on the physiology, genetics and evolution of some Cladocera. *Carneg. Inst. Public.*, n° 513, 285 p.
- BARNETT S. A., 1965. Adaptation of mice to cold. *Biol. Rev.*, **40**, 5-51.
- BATEMAN K. C., 1959. The genetic assimilation of the dumpy phenocopy. *J. Genet.*, **56**, 341-351.
- BOETTGER C. R., 1956. Beobachtungen an Nachzuchten von Schlammuschneckenarten (Limnaeidae) in Stämmen verschiedener phänotypischer Herfunkt. *Proc. XIV Int. Cong. Zool. Copenhagen 1953*, 162-172.
- BORZEDOWSKA B., 1963. Transition into a hereditary form of a thermal phenocopy in *Drosophila melanogaster*. *Folia Biol. Krakow*, **11**, 231-250.
- BROWN A. W. A., 1959. Résistance des Arthropodes aux insecticides. *Org. Mond. Santé*, Genève, **38**, 260 p.
- BRUN J., 1955. Évolution de la prophase méiotique chez *Caenorhabditis elegans* MAUPAS 1900 sous l'influence des températures élevées. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, **89**, 326-346.

- COLLOQUE SUR LA ZOOTECHEINIE DANS LES PAYS TROPICAUX, Gembloux 1960. *Bull. Inst. agron. Stns Rech. Gembloux*, hors-série, n° 3, 1295-1332.
- DALLINGER W. H., 1887. The President's address. *Jl Roy. microsc. Soc.*, **1**, 185-199.
- DAVID J., 1962. Influence de l'état physiologique des parents sur les caractères des descendants. Étude chez *Drosophila melanogaster* MEIG. *Ann. Génét.*, **3**, 41-118.
- DEAN A. C. R., HINSHELWOOD C., 1963. Integration of cell reactions. *Nature, Lond.*, **199**, 7-11.
- DELAVALT R., 1959. Développement, croissance et fonctionnement des glandes génitales chez les Nématodes libres. *Arch. Zool. expér. gén.*, **97**, 109-208.
- DIUDONNÉ A., 1984. Beiträge zur Kenntnis der Anpassungsfähigkeit der Bakterien an ursprünglich ungünstige Temperaturverhältnisse. *Arb. K. Gesundh. Amt.*, **9**, 492-508.
- DUCLOS P., 1961. L'élevage en Guinée et la structure génétique de la race *N'Dama*. *Bull. Inst. fr. Afr. noire*, série A, **23**, 896-903.
- EWING H. E., 1916. Eighty-seven generations in a parthenogenetic pure-line of *Aphis avenae*. *Biol. Bull.*, **31**, 53-112.
- FRUWIRTH C., 1917. Selection in pure lines. *J. Hered.*, **8**, 90-94.
- HARRISON J. W. H., 1935. The experimental induction of melanism and other effects, in the geometrid moth *Selenia bilunaria*. *Proc. R. Soc. B*, **117**, 78-92.
- HINSHELWOOD C. N., 1947. The chemical kinetics of the bacterial cell. Clarendon Press, Oxford, 1 vol., 284 p.
- JOHANSEN W., 1913. Elemente der exakten Erblichkeitslehre. Fischer, Iena, 1 vol., 723 p.
- JOLLOS V., 1912. Experimentelle Protistenstudien. I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. *Arch. Protistenk.*, **43**, 1-122.
- KLUYVER A. J., BAARS J. K., 1932. On some physiological artefacts. *Proc. K. ned. Akad. Wet., série C*, **35**, 370-378.
- LASHLEY K. S., 1915. Inheritance in the asexual reproduction of Hydra. *J. exp. Zool.*, **19**, 157-207.
- LE BERRE J. R., 1960. Le rôle de la sélection et de l'adaptation animales dans l'étude des immunités végétales à l'égard des Insectes. *Conf. Scient. Protect. Plantes*, Budapest, 271-280.
- L'HÉRITIER P., 1957. Hérité contagieuse et hérité cytoplasmique. In A. Thomas. Exposés actuels de Biologie cellulaire, Mécanismes d'autoreproduction, 57-80.
- MAUPAS E., 1900. Modes et formes de reproduction des Nématodes. *Arch. Zool. expér. gén.*, **8**, 463-624.
- MEYL A. H., 1953 a. Beiträge zur Kenntnis der Nematodenfauna vulkanisch erhitzter Biotop. I. Die Terrikolen Nematoden an Bereich von Fumarolen auf der Insel Ischia. *Z. Morph. Okol. Tiere*, **42**, 67-116.
- MEYL A. H., 1953 b. Beiträge zur Kenntnis der Nematodenfauna vulkanisch erhitzter Biotop. II. Die in Thermalgewässern der Insel Ischia vorkommenden Nematoden. *Z. Morph. Okol. Tiere*, **42**, 159-208.
- NIGON V., 1949. Les modalités de la reproduction et le déterminisme du sexe chez quelques Nématodes libres. *Ann. Sci. nat. Zool.*, **11**, 1-132.
- NIGON V., BRUN J., 1955. L'évolution des structures nucléaires dans l'ovogenèse de *Caenorhabditis elegans*. MAUPAS 1900. *Chromosoma*, **7**, 129-169.
- OSCHE G., 1962. Das Präadaptationsphänomen und seine Bedeutung für die Evolution. *Zool. Anz.*, **169**, 50-67.
- PESSON P., 1960. Quelques problèmes posés au biologiste par les Insectes résistant aux insecticides. *Meded. LandbHoogesch. OpzoekSins Gent.*, **25**, 993-1008.
- PICTET A., 1905. Influence de l'alimentation et de l'humidité sur la variation des papillons. *Mem. Soc. Phys. Hist. nat. Genève*, **35**, 45-127.
- POLJANSKI J. I., 1957. Adaptation thermique chez les Ciliés. I. Dépendance de la résistance à la chaleur de *Paramecium caudatum* vis-à-vis des conditions ambiantes de température (en russe). *Zool. Zh.*, **36**, 1630-1646.
- PRECHT H., CHRISTOPHERSEN J., HENSEL N., 1955. *Temperatur und Leben*, Springer, Berlin, 1 vol., 514 p.
- PROSSER C. L., 1958. Physiological adaptation. *Symp. Amer. Physiol. Soc. Wash., Baltimore Press*, 1 vol., 185 p.
- SAMOKHVALOVA G. V., 1954. Production de modifications héréditaires dirigées chez les Aphides, par changement de plantes dont ils se nourrissent (en russe). *Zool. Zh.*, **33**, 1032-1040.
- SANG J. H., BURNET B., 1963. The importance of agar. *Drosoph. Inf. Serv.*, **38**, 102.
- SCHNITZER R. J., GRUNBERG E., 1957. Drug resistance of microorganisms. *Academic Press, N. Y.*, 1 vol., 395 p.
- SHAPOSHNIKOV G. K. H., 1961. Spécificité et genèse d'adaptation à de nouveaux hôtes chez les Pucerons (Homoptera, Aphididae) dans le processus de sélection naturelle (étude expérimentale) (en russe). *Ent. obozr.*, **40**, 739-762.
- SIMONOV N. S., 1952. Expérience d'adaptation du Bombyx du chêne *A. pernyi* (en russe). *Dokl. Akad. sel's-khoz. Nauk*, **9**, 33-39.
- SLADDEN D. E., HEWER H. R., 1938. Transference of induced food habit from parent to offspring. *Proc. R. Soc. B*, **126**, 30-44.

- SMIRNOV J. S., 1957. L'hérédité des propriétés acquises au cours du processus d'adaptation (en russe). *Zh. obshch. Biol.*, **18**, 464-475.
- STERN V. M., 1962. Increased resistance to organophosphorous Insecticides in the parthenogenetic spotted alfalfa Aphid, *Therioaphis maculata*, in California. *J. econ. Ent.*, **55**, 900-904.
- TOWER W. L., 1906. An investigation of evolution in Chrysomelid beetles of the genus *Leptinotarsa*. *Carneg. Inst. Public.*, n° 48, 320 p.
- UNTERSTENHOEFER G., 1960. État actuel de la résistance aux insecticides et acaricides. *Höfchenbr. Bayer Pfl. Schutz-Nachr.* (édition française), **13**, 141-150.
- WADDINGTON C. H., 1961. Genetic assimilation. *Adv. Genet.*, **10**, 257-293.
- WALTHER H., 1932. Der Melanismus der Schmetterlinge. *Int. ent. Z.*, **25**, 409-415.
-