



**HAL**  
open science

**L'ADAPTATION AUX TEMPÉRATURES ÉLEVÉES CHEZ UN  
NÉMATODE : CAENORHABDITIS ELEGANS MAUPAS 1900.  
III. – RÔLE DES FACTEURS AUTRES QUE LA  
TEMPÉRATURE DANS LE PROCESSUS D'ADAPTATION**

J.-L. Brun

► **To cite this version:**

J.-L. Brun. L'ADAPTATION AUX TEMPÉRATURES ÉLEVÉES CHEZ UN NÉMATODE : CAENORHABDITIS ELEGANS MAUPAS 1900. III. – RÔLE DES FACTEURS AUTRES QUE LA TEMPÉRATURE DANS LE PROCESSUS D'ADAPTATION. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 1966, 6 (4), pp.439-466. <hal-00896343>

**HAL Id: hal-00896343**

**<https://hal.science/hal-00896343v1>**

Submitted on 11 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

# L'ADAPTATION AUX TEMPÉRATURES ÉLEVÉES CHEZ UN NÉMATODE : *CAENORHABDITIS ELEGANS* MAUPAS 1900

## III. — RÔLE DES FACTEURS AUTRES QUE LA TEMPÉRATURE DANS LE PROCESSUS D'ADAPTATION

J.-L. BRUN

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

---

### SOMMAIRE

A partir d'une souche « psychrophile » de *C. elegans*, il est possible d'obtenir des lignées génétiquement adaptées à des températures élevées comprises entre 22 et 24,5°. L'accoutumance — qui se présente comme la résultante d'un effet cumulatif très lent dans l'action du facteur température — peut devenir relativement stable.

La reproduction strictement autogame de ce Nématode hermaphrodite interdit de rechercher, dans un état hautement hétérozygote, le fond de variabilité génétique qui peut être exploité en vue de la production progressive de l'adaptation.

L'analyse entreprise ne permet d'attribuer au milieu nutritif et à la sélection effectuée qu'un rôle mineur. Par contre, le caractère graduel des modifications de fécondité, le fait que le déroulement de cette évolution s'effectue selon un processus qui paraît se reproduire de façon analogue au cours de chacune des étapes de l'acclimatation, conduisent à supposer que les altérations génétiques correspondantes sont constituées d'une succession de stades de faible importance, étalés au long des générations en expérience.

L'ensemble des observations effectuées oblige à envisager la production progressive d'états cytoplasmiques adaptés et transmissibles, responsables de la réalisation de lignées fécondes à température élevée.

---

### INTRODUCTION

Dans les deux premières parties de l'exposé de ce travail (BRUN, 1966 *b* et *c*), je me suis efforcé de définir les modalités de la réalisation de l'adaptation thermique de *C. elegans* et de caractériser les formes accoutumées. Les observations présentées peuvent se résumer ainsi :

Élevé habituellement à 18°C, *C. elegans* ne supporte pas 24,5° C, lorsqu'on le transporte directement à cette température élevée. Toutefois, on peut le maintenir continuellement à 24,5° si, auparavant, on le cultive pendant de nombreuses générations d'abord à 22°, puis à 23, 23,5°, enfin 24°. A ces températures intermédiaires, la fécondité du Nématode croît avec la durée d'élevage en même temps qu'augmentent ses capacités de résister à l'influence nocive de la température immédiatement supérieure. Par ailleurs, l'accoutumance ainsi acquise se perd d'autant plus lentement — par exemple lorsque les élevages sont ramenés à 18° — que les Nématodes sont adaptés depuis plus longtemps à la chaleur.

Tout cela démontre incontestablement que la température elle-même remplit une fonction importante dans la réalisation des processus d'adaptation. Cependant, ces résultats ne permettent pas d'assurer que ce soit le seul facteur en cause : l'action de la température s'exerce peut-être de façon indirecte, en relation avec d'autres circonstances qui accompagnent l'adaptation. C'est pourquoi j'examinerai spécialement, dans cette 3<sup>e</sup> partie, deux hypothèses :

1. On peut suspecter que la lenteur de l'adaptation s'accompagne de certaines modifications dans les composantes du milieu autres que la température. L'accoutumance observée pourrait être alors, pour une part au moins, la conséquence de ces transformations, en particulier au niveau du milieu nutritif.

2. L'élevage des Nématodes en générations consécutives implique, à chaque génération, un choix parmi l'ensemble des géniteurs possibles. La sélection qui en résulte peut avoir été l'un des éléments-moteurs dans la réalisation de l'adaptation.

Les réponses que l'analyse expérimentale apportera à ces deux problèmes nous mettront en mesure de statuer sur les rôles respectifs dévolus aux différents facteurs susceptibles de présider à la naissance et au développement des formes adaptées. A ce niveau donc, il deviendra possible d'envisager la manière dont on peut concevoir le déterminisme de l'adaptation des Nématodes aux températures élevées.

## RÉSULTATS

### I. — RÔLE D'ÉVENTUELLES TRANSFORMATIONS DU MILIEU NUTRITIF

Certains auteurs s'appuient volontiers sur des insuffisances avouées dans la connaissance du milieu nutritif pour mettre en doute l'existence des adaptations génétiques. Par exemple, dans le cas de l'adaptation progressive de *C. elegans* à une température élevée T, on pourrait concevoir un mécanisme schématisé figure 3<sub>1</sub>.

Ces éventuelles modifications du milieu pourraient être dues :

- soit à une évolution du complexe bactérien inféodé aux Nématodes ;
- soit à des changements de la fraction inerte résultant de variations intervenues dans sa fabrication ou sa conservation.

Les données expérimentales (1) ne confirment pas ces hypothèses.

(1) Les techniques de culture des Nématodes ont été décrites (BRUN 1966 b).

## A. — Influence du complexe bactérien inféodé aux Nématodes

Il n'a pas été possible de constater une différence significative entre les complexes bactériens provenant de deux lignées distinctes : l'une cultivée à 23° depuis 705 générations, l'autre maintenue à 23,5° sur le même milieu, depuis 458 générations (1). On se trouve donc en présence des mêmes espèces bactériennes. Toutefois, il reste l'éventualité que certaines propriétés de ces espèces bactériennes soient modifiées.

Des tentatives de passage direct des Nématodes, de 18 à 23,5° ont été effectuées en utilisant le milieu 2,3 S additionné du complexe bactérien provenant des cultures effectuées à 23,5° : tous ces essais se sont soldés par des échecs. D'autre part, la lignée adaptée à 24,5° ne perd pas son accoutumance malgré un séjour d'une génération à 18° dans un milieu additionné du complexe bactérien provenant des cultures maintenues continuellement à cette dernière température.

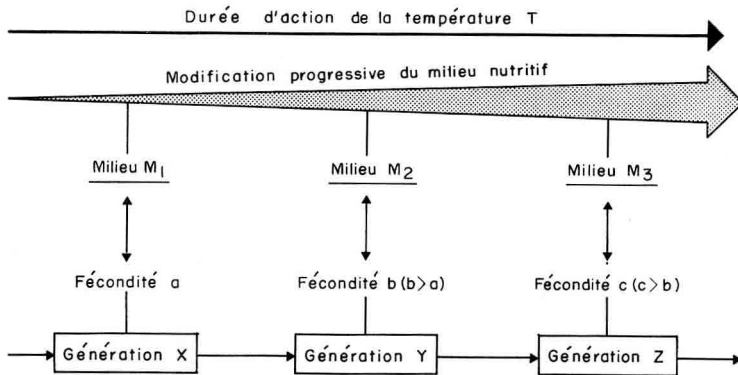


FIG. 31. — Représentation schématique d'un mécanisme expliquant l'augmentation de fécondité des Nématodes à une température élevée T par une modification progressive du milieu nutritif

Ainsi, même si le complexe bactérien caractéristique des élevages à 23,5° et 24,5° diffère de celui des cultures à 18°, cette différence ne permet pas aux Nématodes de supporter une température élevée. On ne peut envisager une influence déterminante de l'hypothétique transformation du milieu bactérien.

## B. — Influence d'éventuelles modifications de la fraction inerte

On peut supposer que la constitution du mélange nutritif évolue au cours de l'expérimentation (cf. HANSEN *et al.*, 1960) : soit d'une fabrication A à la suivante B par suite de variations incontrôlables dans la conservation des produits utilisés dans cette fabrication ou dans les conditions de préparation ; soit au cours de l'emploi d'un stock de même fabrication par suite de sa conservation au froid. Pour expliquer l'augmentation progressive de fécondité constatée, il faut alors envisager que ces

(1) Analyse effectuée par le Dr GUILLERMET, Chef du service de Microbiologie à l'Institut Pasteur de Lyon, que je remercie bien vivement pour cette coopération.

transformations éventuelles exerceraient un effet favorable. La figure 3<sub>2</sub> présente, de façon schématique, deux de ces possibilités.

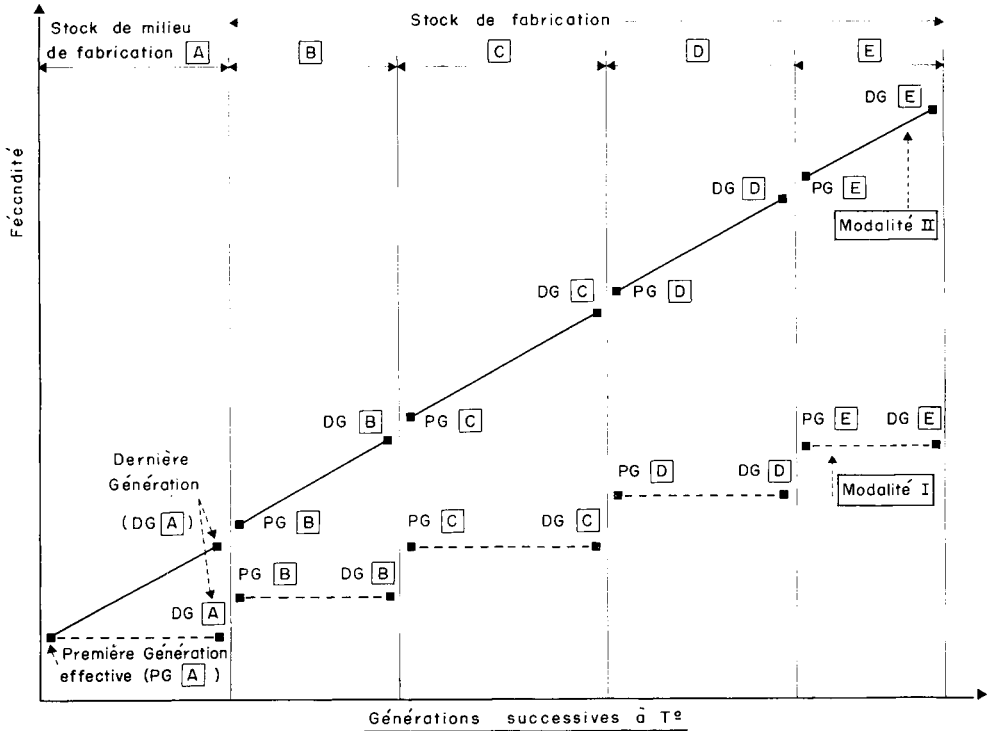


FIG. 3<sub>2</sub>. — Possibilités d'explication de l'augmentation progressive de fécondité de *C. elegans* — à chaque température élevée  $T$  supportée — par des transformations du milieu nutritif  
 Modalité I : Modification du milieu due à des variations dans sa fabrication  
 Modalité II : Modification du milieu due à la fois à sa fabrication et à sa conservation

Pour avoir une idée du caractère plus ou moins valable de ces hypothèses, j'ai comparé les fécondités des premières et dernières générations obtenues sur un milieu de même fabrication (par exemple  $PG_A$  et  $DG_A$ ) et obtenues sur des milieux consécutifs (par exemple  $DG_A$  et  $PG_n$ ).

Le tableau 3<sub>1</sub> rassemble les observations effectuées, dans ces conditions, à 23 et 23,5°. Elles imposent la conclusion suivante :

Que l'on considère l'action de la conservation du milieu (différence  $DG_A - PG_A$ ) ou l'action de la fabrication de ce milieu (différence  $PG_n - DG_A$ ) on constate sensiblement une égale proportion d'influences favorables et d'influences défavorables. Il n'est donc pas possible d'admettre que le comportement de *C. elegans* soit lié, dans les conditions employées, aux caractéristiques de fabrication et de conservation du milieu nutritif.

### C. — Conclusions

Comme je l'ai montré par ailleurs (BRUN, 1966 a), le milieu nutritif conditionne la fécondité d'une génération donnée de *C. elegans* (influence sur le phénotype). Cepen-

TABEAU 31

Observations effectuées à 23° et 23,5° à propos des relations entre :

1. La fécondité de la 1<sup>re</sup> génération P<sub>G</sub> (prise comme base de comparaison) et la dernière D<sub>G</sub> pour chacun des milieux fabriqués successivement
2. La fécondité de la dernière génération D<sub>G</sub> sur un milieu donné (A par exemple) et la première génération P<sub>G</sub> sur le milieu fabriqué immédiatement après (B par exemple). (cf. fig. 32, modalité II)

Différences D <sub>G</sub> A — P <sub>G</sub> A				Différences P <sub>G</sub> B — D <sub>G</sub> A			
23°		23,5°		23°		23,5°	
Générations observées	Cas positifs	Cas négatifs	Générations observées	Cas positifs	Cas négatifs	Générations observées	Cas positifs
G <sub>11</sub> à G <sub>94</sub>	5	3	G <sub>11</sub> à G <sub>94</sub>	4	3	G <sub>1</sub> à G <sub>36</sub>	3
G <sub>184</sub> à G <sub>186</sub>	1	4	G <sub>54</sub> à G <sub>96</sub>	2	2	G <sub>54</sub> à G <sub>96</sub>	1
G <sub>246</sub> à G <sub>287</sub>	2	1	G <sub>99</sub> à G <sub>136</sub>	1	1	G <sub>99</sub> à G <sub>136</sub>	1
G <sub>305</sub> à G <sub>332</sub>	1	1	G <sub>246</sub> à G <sub>287</sub>	3	1	G <sub>348</sub> à G <sub>375</sub>	1
G <sub>526</sub> à G <sub>541</sub>	1	1	G <sub>305</sub> à G <sub>332</sub>	1	2	G <sub>392</sub> à G <sub>424</sub>	2
			G <sub>526</sub> à G <sub>541</sub>	1	3	G <sub>432</sub> à G <sub>506</sub>	5
				10	5		10
Totaux	8	10		8	6		17

Ensemble des comparaisons à 23° et 23°5

Différences étudiées	Nombre d'observations	Nombre de cas positifs	Nombre de cas négatifs
D <sub>G</sub> A — P <sub>G</sub> A .....	50	25	25
P <sub>G</sub> B — D <sub>G</sub> A .....	41	18	23

dant cette action du milieu ne semble pas se prolonger sur des générations successives. Aucune expérience, en effet, n'a permis de relever un lien entre l'augmentation de fécondité des Nématodes et une éventuelle modification du milieu de culture.

En définitive, il ne peut être question de concevoir la naissance et le développement des formes adaptées comme la résultante d'une addition de facteurs nutritionnels, de plus en plus favorables.

## II. — RÔLE DE LA SÉLECTION

Certains caractères que présente l'acclimatation des Nématodes rappellent des résultats obtenus classiquement par les sélectionneurs. Citons en particulier :

— le palier séparant les phases I et III d'augmentation rapide de la fécondité au cours de l'élevage prolongé aux diverses températures élevées (BRUN, 1966 *b*, fig. 1<sub>6</sub>) ;

— l'allure en dents de scie des courbes traduisant les modifications de la fécondité des générations successives aux différentes températures d'adaptation (BRUN, 1966 *b*, fig. 1<sub>7</sub>).

Toutefois un examen un peu plus approfondi révèle assez vite les limites qu'on doit accorder à ces analogies. Alors que le résultat d'une sélection classique est obtenu en 20 ou 30 générations au maximum, l'accoutumance à une température élevée exige plusieurs centaines de générations. Le palier signalé ci-dessus ne se réalise qu'au-delà de la 100<sup>e</sup> génération d'adaptation des Nématodes alors que les sélectionneurs l'obtiennent classiquement au bout d'une dizaine de générations.

Ce qui suffit à montrer que si la sélection intervient dans la réalisation de l'adaptation, cela se passe ici de façon assez particulière. On peut en trouver une explication dans le fait que la sélection effectuée n'a jamais pu être extrême — quelle que soit la modalité expérimentale choisie (cf. BRUN *b*, p. 133 et fig. 1<sub>1</sub>). Ceci à cause de la nature même du critère utilisé pour définir l'adaptation. La fécondité ne permet, en effet, de caractériser le reproducteur qu'*a posteriori*, lors de l'examen de sa progéniture. La succession très rapide des générations m'a obligé, de façon constante, à choisir les géniteurs d'une génération *avant* que je sois complètement informé sur la fécondité des divers individus appartenant à la génération antécédente. Dans ces conditions, la sélection s'est pratiquement limitée, par la force même des choses, à éliminer de la lignée les individus stériles ou quasiment tels. Les observations postérieures montrèrent alors que les individus qui avaient été effectivement choisis comme géniteurs pouvaient appartenir aussi bien à une famille de fécondité supérieure à la moyenne de cette génération, qu'à une famille de fécondité inférieure.

Une analyse plus poussée, tenant compte de ces observations faites *a posteriori*, va me permettre d'examiner de plus près la place de la sélection dans mes résultats.

### A. — Non-sélection de mutants thermophiles

L'utilisation d'une technique de cultures individuelles permet d'apprécier le comportement de tous les géniteurs employés et de relier entre eux les comportements des reproducteurs des générations successives. A tous les niveaux de l'adaptation, le pedigree complet d'un géniteur peut être connu. Près de 200 000 géniteurs ont

ainsi été répertoriés. Aucun n'a manifesté brusquement et n'a conservé dans sa descendance une fécondité exceptionnelle pour les conditions thermiques supportées. Les quelques mutants décelés se sont tous révélés très peu féconds. Ils peuvent se répartir selon trois grands types dont les deux premiers cités se trouvent déjà décrits dans la littérature :

1° *Le type tétraploïde* (NIGON, 1951). Il a été obtenu quelquefois lors des retours des animaux adaptés aux températures élevées à la température habituelle : 18°. Très peu féconds à cette température, ils ne résistent jamais à un transfert aux températures élevées.

2° *Le type « nain »*. Il se réalise pratiquement dans toutes les conditions expérimentales. Il s'agit d'animaux dont la croissance est soit retardée (analogie avec la forme « Pygmée » décrite par NIGON et DOUGHERTY, 1954), soit bloquée. Ces animaux se révèlent soit stériles, soit substériles.

3° *Le type « clair »*. Comme le précédent, il est « ubiquiste ». Ces Nématodes ont un tube digestif et un appareil reproducteur très atrophiés et une cuticule beaucoup plus opaque que normalement. De ce fait, certains détails de leur organisation habituellement très contrastée, en particulier les grosses cellules de l'intestin, sont indistincts, Ils se sont toujours montrés stériles.

#### B. — *La phase de sensibilisation en début d'adaptation*

Ainsi que je l'ai décrit dans la première partie de cet exposé, à chacune des températures nouvellement supportées, l'adaptation des Nématodes s'amorce toujours par une période relativement brève de sensibilisation. Au cours de cette phase, qui ne dépasse guère les 10 premières générations (BRUN, 1966 *b*, fig. 1<sub>6,7</sub> et 1<sub>8</sub>), la fécondité moyenne décroît jusqu'à un minimum puis augmente progressivement. La considération de ce niveau critique est particulièrement intéressante car, ainsi que je l'ai déjà mentionné, c'est essentiellement par l'amélioration des possibilités reproductrices au-delà de ce seuil de survie que les Nématodes, acclimatés aux températures élevées, diffèrent des animaux de la souche maintenue continuellement à 18°. Or, on constate que ce ne sont pas seulement quelques individus qui sont en mesure de dépasser cette phase critique, mais au moins 50 p. 100 de la population. La figure 3<sub>3</sub> en rend compte, par exemple, à propos d'une expérience de transfert de 24° à 24,5°. Elle indique la distribution de fréquence de la fécondité individuelle lors des premières générations faisant suite au passage à 24,5°. On constate que la variabilité décroît pour devenir minimum au moment de la phase maximale de sensibilisation et qu'à ce niveau, le maintien de la lignée n'est pas assuré par des animaux très féconds mais seulement par des individus dont la fertilité est faible. Les classes de fécondité élevée disparaissent du fait de cette sensibilisation pour réapparaître par la suite, lors de l'accoutumance, et semble-t-il, progressivement puisque seules les classes 21 à 30 et 31 à 40 sont de nouveau représentées après 13 générations de culture à 24,5°.

Tout paraît donc indiquer une variation continue et orientée de l'ensemble des animaux qui dépasse, en quelque sorte, les fluctuations du comportement individuel. L'adaptation ne semble pas devoir résulter d'une sélection d'animaux préadaptés puisque :

a) la population de Nématodes n'est jamais dissociable en échantillons de fécondité nettement différente : l'un très fécond, l'autre peu fécond, par exemple ;

b) les classes de haute fécondité ne sont pas représentées au niveau de la phase cruciale de l'adaptation : la phase de sensibilisation maximum.

Si l'on admettait l'hypothèse que le passage de la classe de fécondité (I-10) à la classe (II-20) résulte d'une seule étape de mutation, il faudrait concevoir, au niveau de la 5<sup>e</sup> génération, un taux de mutation de l'ordre de 0,15. Ce taux, très supérieur aux chiffres habituellement considérés pour un gène, suffirait déjà à nous faire placer ce processus dans une catégorie très différente de la mutation génique au sens habituel de ce terme. Si l'on supposait que ce même passage résulte de plusieurs étapes de mutation, il faudrait leur accorder une fréquence d'apparition plus élevée encore.

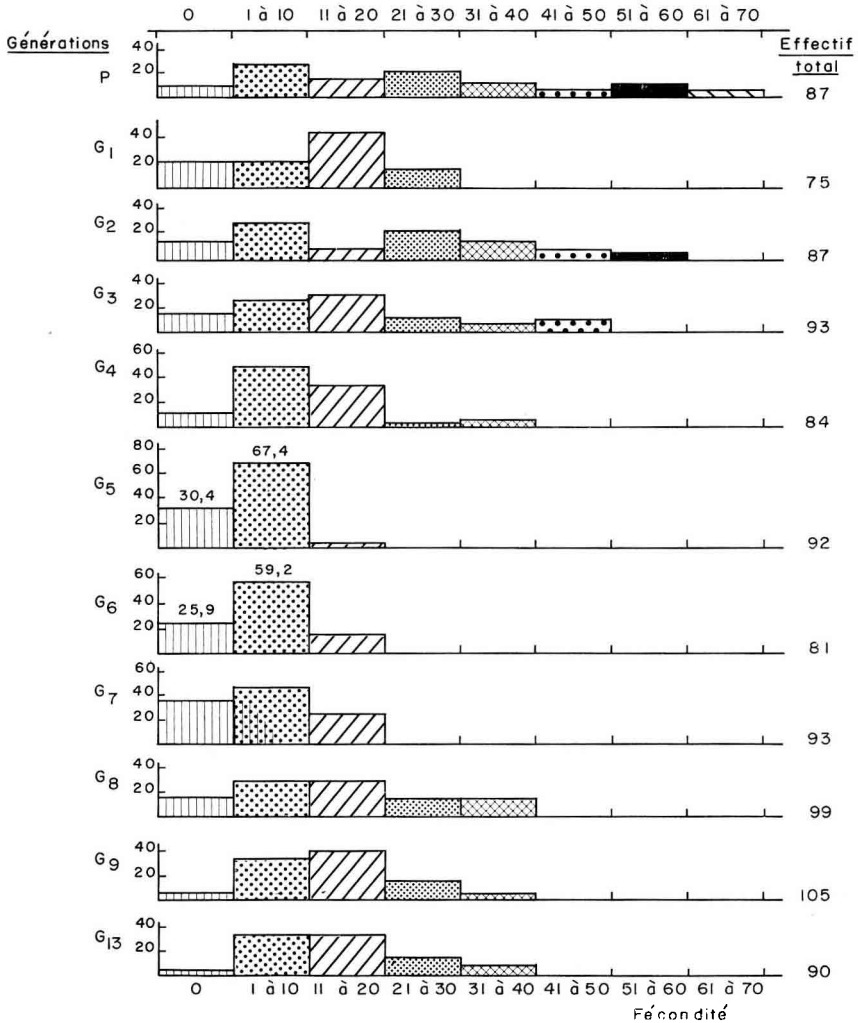


FIG. 33. — Distributions de fréquences de fécondité individuelle à chacune des générations faisant suite au transfert des Nématodes de 24 à 24,5<sup>e</sup>

Les effectifs de chaque classe ont été représentés en pourcentage de l'effectif total des reproducteurs à chaque génération. Pour que cet effectif total soit suffisamment important, les résultats de cinq expériences mnées en parallèle et au cours desquelles les animaux se sont comportés de façon très analogue ont été groupés.

C. — *Inefficacité d'une alternance régulière des températures d'élevage*

Les partisans de la préadaptation soutiennent souvent leur position en arguant que, par exemple, la résistance aux poisons croît beaucoup plus vite lorsque l'on soumet les organismes à des doses alternativement fortes et faibles que lorsqu'on prolonge l'action d'une dose donnée. Selon eux, cette alternance favoriserait la sélection des plus aptes.

Dans le cas des Nématodes, on peut décrire une expérience de ce type tentée à 23°, au début de la phase II d'adaptation. A partir de la 114<sup>e</sup> génération, l'élevage des animaux a été réalisé pendant 6 générations successives alternativement à 23 et 24°. Ainsi que le montre le tableau 3<sub>2</sub> :

a) la comparaison des générations successives issues de 23° et se reproduisant à 24° (G<sub>114-116-118</sub>) indique une diminution progressive et significative des fécondités moyenne et maximum et une augmentation corrélative du pourcentage de stériles ;

b) la comparaison des deux générations issues de 24° et se reproduisant à 23° (G<sub>115-117</sub>) révèle un résultat analogue.

Ainsi, en alternant régulièrement la température d'élevage des Nématodes, leur fécondité décroît. L'existence d'individus plus adaptés à la chaleur ne se trouve donc pas confirmée par cette technique.

TABLEAU 3<sub>2</sub>

*Effets sur les fécondités moyennes et maxima ainsi que sur le pourcentage d'animaux stériles d'une alternance régulière de la température d'élevage, de 23° à 24°*

La température de prélèvement figure, entre parenthèses, avant l'indicatif de la génération étudiée ; après celui-ci est inscrite la température à laquelle s'effectue la ponte (Milieu 2,3 S — Modalité expérimentale I)

	Génération(s) étudiée(s)					
	G <sub>114</sub> (23) → (24)	G <sub>115</sub> (24) → (23)	G <sub>116</sub> (23) → (24)	G <sub>117</sub> (24) → (23)	G <sub>118</sub> (23) → (24)	G <sub>119</sub> (24) → (24)
Nombre d'animaux .....	17	15	18	12	12	23
Pourcentage de stériles .....	0	6,7	33,3	8,33	83,3	78,3
Fécondité moyenne .....	11,4	41,9	4,3	32,2	0,2	0,3
Fécondité maximum .....	26	84	13	73	1	1

D. — *Relations entre les variations de la pression de sélection et les modifications de fécondité des générations successives*

A 23,5°, entre les générations 432 et 493 — c'est-à-dire pendant 61 générations consécutives — la fécondité des animaux a été calculée sans interruption, hormis deux exceptions. Dans l'intervalle, la fertilité augmente d'environ 25 p. 100 (fécondité moyenne des 10 premières générations étudiées : 26,9 ± 4,6 ; fécondité moyenne des 10 dernières générations : 36,7 ± 3,7).

Comme cet accroissement de fécondité se réalise de façon irrégulière, selon un processus analogue à celui décrit figure 17 — c'est-à-dire avec des chutes fréquentes et nettement marquées dans la reproduction — on serait tenté de penser que des inégalités de sélection pourraient en être responsables.

Afin de vérifier cette hypothèse, j'ai examiné les relations susceptibles d'exister entre fécondité et pression de sélection, en calculant un indice de pression de sélection  $\delta$  de la façon suivante :

Pour une génération  $a$

$$\delta = \frac{\Delta_{a-1}}{n} \quad (1)$$

formule dans laquelle :

—  $n$  est le nombre d'individus de la génération  $a - 1$  à l'origine de la génération  $a$  dont on étudie la fécondité (cf. modalité expérimentale fig. 11 a) ;

—  $\Delta_{a-1}$  est la différence de sélection au niveau de la génération  $a - 1$ . Elle correspond à la somme algébrique des écarts entre la fécondité de chaque géniteur et la fécondité moyenne de la population à laquelle il appartient.

Si on désigne la fécondité des géniteurs  $P_1, P_2 \dots P_n$  et la fécondité moyenne des populations respectives dont est extrait chacun d'eux par  $\bar{P}_1, \bar{P}_2 \dots \bar{P}_n$ , on a :

$$\Delta_{a-1} = \sum_{i=1}^n (P_i - \bar{P}_i). \quad (2)$$

Les résultats de cette étude sont les suivants :

a) sauf 3 exceptions, la sélection au niveau de chacune des 56 générations considérées a été positive ;

b) il n'y a aucune corrélation entre l'intensité de sélection et la fécondité de *C. elegans*. La figure 34 se révèle, à ce sujet, fort démonstrative ;

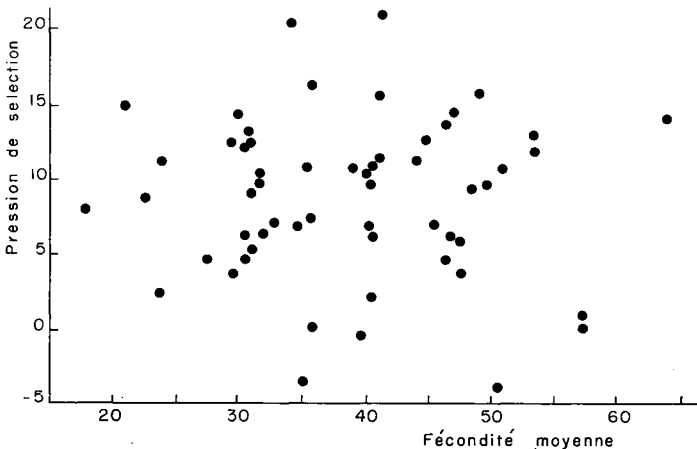


FIG. 34. — Relations entre la fécondité moyenne des générations 432 à 493 et la pression de sélection exercée

(Milieu 2,3S — Modalité expérimentale I —)

La pression de sélection a été calculée d'après la formule (1) p. 448

c) *il n'y a pas de liaison évidente entre la pression de sélection exercée et la différence de fécondité constatée entre génération-fille et génération-parentale.* C'est ce que montre la figure 35 : dans 27 cas, la sélection positive entraîne une augmentation de fécondité ; dans 26 cas, elle aboutit à une diminution de fécondité. On notera cependant qu'une sélection forte (supérieure à + 10) conduit à une fécondité accrue dans 15 cas sur 26. Une sélection plus faible donne seulement 12 cas de fécondité plus forte sur 30.

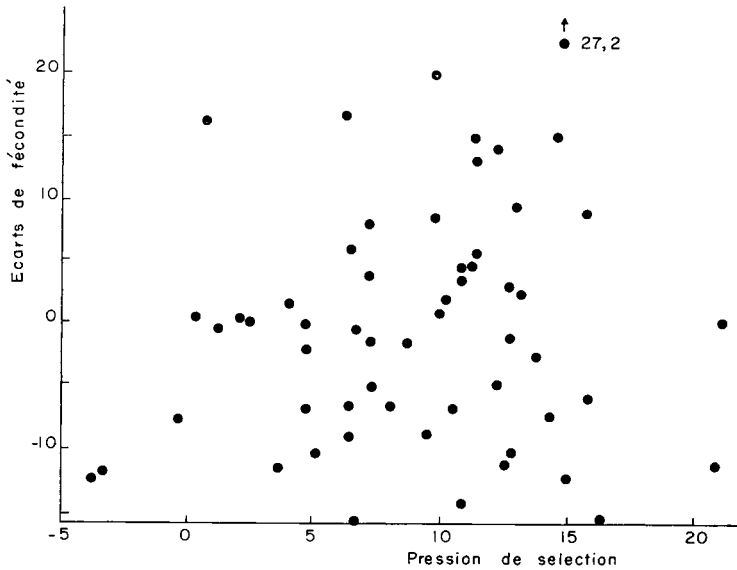


FIG. 35. — Relations entre la pression de sélection exercée et la différence de fécondité moyenne constatée entre génération-fille et génération-parentale

#### E. — Corrélation entre fécondité des parents et fécondité des enfants

On peut admettre que les variations de fécondité constatées résultent de ce que l'on observe, au niveau d'une génération  $n + 1$  par exemple, une fraction héritée d'une différence volontairement créée, par sélection, dans la génération  $n$ . Cette comparaison, en fait, n'est pas simple. Il est classique actuellement de l'effectuer en employant la méthode préconisée par F. W. ROBERTSON (1955) d'*héritabilité réalisée*. Celle-ci est définie par le rapport suivant :

$$h^2 = \frac{r}{\delta} \quad (3)$$

dans lequel :  $h^2$  = héritabilité réalisée,

$\delta$  = moyenne de la différence de sélection,

$r$  = moyenne de la réponse par génération.

Le calcul est relativement simple lorsqu'on cherche à estimer la part de variation qui a été héritée d'une génération à la génération suivante :

$\delta$ . — Il correspond à l'indice de pression de sélection calculé selon la formule (1).  $n$  est ici le nombre de géniteurs dont la fécondité a été considérée dans le calcul

$r$ . — Pour chacun des géniteurs  $i$  appartenant à la génération  $a - 1$ , on calcule

la différence entre la fécondité moyenne,  $\bar{F}_i$ , de ses descendants et celle,  $\bar{P}_i$ , de la famille dont il est issu. La réponse à la sélection s'écrira alors :

$$r_a = \frac{\sum_{i=1}^n (\bar{F}_i - \bar{P}_i)}{n}. \quad (4)$$

Dans ces conditions, il apparaît que

$$\frac{r}{\delta} = \frac{\sum_{i=1}^n (\bar{F}_i - \bar{P}_i)}{\sum_{i=1}^n (P_i - \bar{P}_i)}.$$

Si on considère que

$$\sum_{i=1}^n (P_i - \bar{P}_i) = \Delta, \quad (5)$$

on pourra écrire par homologie

$$\sum_{i=1}^n (\bar{F}_i - \bar{P}_i) = R, \quad (6)$$

d'où  $h_2 = \frac{R}{\Delta}$ .

Le calcul est plus complexe lorsqu'on cherche à estimer la part de la variation héritée au cours d'une expérience qui s'étend sur plusieurs générations. Les paramètres sont alors calculés de la façon suivante :

$\Delta$  — La différence de sélection sera la somme algébrique des différences de sélection (5) mesurées pour les diverses générations parentales considérées, c'est-à-dire :

$$\Delta_T = \Delta_{a-1} + \Delta_a + \dots + \Delta_{p-1}$$

$R$  — La réponse à la différence de sélection sera donc la somme algébrique des réponses aux différences de sélection (6) constatées au niveau de chacune des générations, c'est-à-dire :

$$R_T = R_a + R_b + \dots + R_p$$

Dans ce cas, l'estimation de l'héritabilité réalisée se rapproche de la définition qu'en fournit FALCONER (1960) : l'héritabilité réalisée correspond à la régression de la réponse totale à la sélection, pour des générations successives, sur les différences de sélection cumulées.

Ces deux modalités d'appréciation ont été considérées pour caractériser les conséquences de la sélection artificielle effectuée :

- d'une part lors du transfert des Nématodes à température plus élevée ;
- d'autre part lors d'une culture de longue durée à température élevée.

#### 1. Conséquences de la sélection lors du transfert à température plus élevée.

*Remarque préliminaire.* — Subissant un transfert de température, les Nématodes ne sont pas dans des conditions d'élevage stables. Dans ces conditions, la variabilité due à l'environnement risque d'être si grande qu'elle en masquera l'effet de la variabilité

génétique. En outre, il s'établit des relations de parenté entre générations successives et le système d'apparentement varie d'une génération à l'autre. *Il en découle que le coefficient  $h^2$  calculé ne saurait correspondre à l'héritabilité telle qu'elle est théoriquement définie.* Il peut cependant être utilisé comme indice de travail pour apprécier l'influence éventuelle d'une sélection positive ou d'une sélection négative.

Le tableau 3<sub>3</sub> fournit les valeurs de l'héritabilité réalisée et de la pression de sélection d'une génération à la suivante, pendant tout le temps que les Nématodes peuvent subsister à 23,5° lorsqu'ils sont transférés directement à cette température à partir de la température initiale de 18°. En ce qui concerne l'héritabilité, ce tableau indique, outre l'héritabilité globale mentionnée ci-dessus, les valeurs prises par  $h^2$ , d'une part pour l'ensemble des cas de sélection positive, d'autre part pour l'ensemble des cas de sélection négative.

TABLEAU 3<sub>3</sub>

*Valeurs prises par l'indice défini comme héritabilité réalisée et la pression de sélection au cours des générations successives pendant lesquelles les Nématodes, provenant directement de 18°, peuvent se maintenir à la température de 23,5°*

(Milieu 2,3 S ; ensemble des résultats de 11 expériences de transfert à 23,5° effectués à partir de la 1249<sup>e</sup> génération à 18°. Pour chaque expérience, 48 géniteurs étaient utilisés, répartis en 8 familles de 6 animaux-frères ; modalité expérimentale I)

On définit, comme sélection positive, le cas où le géniteur employé a une fécondité supérieure à la fécondité moyenne de la génération à laquelle il appartient.

Génération à 23,5°C étudiées (fécondités moyennes)	$h^2$ globale		$h^2$ pour sélection positive		$h^2$ pour sélection négative	
	$h^2$	Pression de sélection	$h^2$	Nombre de cas	$h^2$	Nombre de cas
F <sub>1</sub> → F <sub>2</sub> (7,9) (7,7)	- 0,69	+ 6,76	- 0,53	74	+ 2,30	12
F <sub>2</sub> → F <sub>3</sub> (7,7) (5,4)	- 0,16	+ 5,97	- 0,31	72	+ 1,67	19
F <sub>3</sub> → F <sub>4</sub> (5,4) (4,2)	- 0,81	+ 6,65	- 0,76	46	+ 3,08	2
F <sub>4</sub> → F <sub>5</sub> (4,2) (1,9)	- 0,72	+ 4,03	- 0,42	36	+ 3,26	9
F <sub>5</sub> → F <sub>6</sub> (1,9) (0,8)	- 1,12	+ 3,95	- 1,05	39	+ 3,03	8
F <sub>6</sub> → F <sub>7</sub> (0,8) (0)	- 1,58	+ 3,03	- 1,01	29	+ 3,05	9

On constate que :

a) dans le cas d'une sélection positive, l'indice défini comme héritabilité réalisée est constamment négatif. En outre, il semble qu'il devienne de plus en plus négatif dans les deux dernières générations. Ainsi, après transfert de température, le choix

de géniteurs plus féconds que la moyenne de la population à laquelle ils appartiennent n'empêche pas la fécondité de diminuer de plus en plus au cours des générations successives ;

b) dans le cas d'une sélection négative, l'indice  $h^2$  prend des valeurs positives de plus en plus grandes. Donc la réponse à la sélection varie dans le même sens que la sélection : les géniteurs peu féconds ont donc une descendance de moins en moins féconde.

Il en découle que l'on doit considérer la sélection effectuée comme incapable de contrecarrer un mécanisme prédominant qui nuit à la reproduction des animaux. Il est intéressant de constater que l'on arrive aux mêmes conclusions lorsqu'on considère le comportement des Nématodes lors des passages d'une température élevée à une autre encore plus forte (tabl. 34).

TABLEAU 34

Valeurs de l'indice défini comme héritabilité réalisée et de la pression de sélection pour l'ensemble des 5 premières générations à 24° de Nématodes prélevés au niveau des 93<sup>e</sup> et 481<sup>e</sup> générations à 23,5°

(Milieu 2,3 S ; modalité expérimentale I)

Le transfert 23°5 → 24° effectué avec la 93<sup>e</sup> génération à 23,5° échoue

Le transfert 23°5 → 24° effectué avec la 481<sup>e</sup> génération à 23,5° réussit

Génération prélevée à 23,5 °C	$h^2$ globale		$h^2$ pour sélection positive		$h^2$ pour sélection négative	
	$h^2$	Pression de sélection globale	$h^2$	Nombre de cas	$h^2$	Nombre de cas
93 <sup>e</sup> .....	- 0,64	+ 6,48	- 0,64	26		0
481 <sup>e</sup> .....	- 0,74	+ 8,72	- 0,12	12	+ 1,93	4

2. Conséquences de la sélection lors d'un long élevage à température élevée.

*Remarque préliminaire.* — Puisque les conditions de milieu sont stables et bien qu'il existe toujours des liens de parenté entre les géniteurs, le coefficient  $h^2$  utilisé précédemment comme indice de travail se rapproche ici de la définition théorique de l'héritabilité réalisée.

Le tableau 35 rassemble les valeurs obtenues en considérant le comportement des Nématodes à 23 et à 23,5°, lors de la phase III d'adaptation, c'est-à-dire à un niveau où l'augmentation de fécondité est encore importante (cf. fig. 15).

Les résultats obtenus peuvent s'interpréter ainsi :

a) lorsqu'on pratique une sélection positive, les valeurs de l'héritabilité réalisée trouvées pour les différentes expériences ne sont pas significativement différentes de zéro. Ceci tend à prouver que le choix d'animaux féconds ne se traduit pas par une augmentation de la fécondité des descendants. Si la sélection exerce un effet, celui-ci doit donc être masqué par l'influence prédominante d'un autre facteur.

b) Si on pratique une sélection négative, on constate que la réponse à la sélection est elle-même négative, ce qui explique que l'héritabilité soit positive dans ce cas. On note que pour les expériences portant sur un effectif assez faible (21-31), la valeur de l'héritabilité obtenue n'est pas significativement différente de zéro. Par contre, pour l'expérience 34, l'information doit être considérée comme plus précise : on observe alors une héritabilité nettement positive. Ainsi, dans le cas d'une sélection négative, moins les individus sélectionnés sont féconds, moins leur descendance est féconde.

TABLEAU 3<sub>5</sub>

*Valeurs globales de l'héritabilité réalisée mesurées lors de 2 périodes d'accoutumance, à 23° d'une part, 23,5° d'autre part, lors de la phase III d'adaptation (Milieu 2,3 S ; modalité expérimentale I)*

Température	N° d'expérience	Génération étudiées	$h^2$ globale	$h^2$ Pour sélection positive		$h^2$ Pour sélection négative	
				$h^2$	Nombre de cas	$h^2$	Nombre de cas
23°	21	451 à 455	— 2,76	— 0,18	12	+ 0,12	12
	31	542 à 551	— 0,02	+ 0,09	30	+ 0,03	16
23,5°	33	392 à 401	— 0,34	+ 0,16	52	+ 0,44	24
	34	432 à 493	— 0,23	— 0,02	314	+ 0,73	105

### F. — Discussion

L'ensemble des considérations précédentes permet de répondre aux deux questions abordées dans ce chapitre : y a-t-il eu sélection ? si oui, quel effet a exercé cette sélection ?

La première de ces questions doit incontestablement recevoir une réponse positive. En effet, dans toutes mes expériences, les animaux stériles sont forcément éliminés. En outre, dans la mesure du possible — car cela ne peut être systématique — des reproducteurs relativement féconds ont été choisis. Cela se traduit, en particulier par le fait que la pression de sélection, sans être considérable, est très généralement positive.

Quant à l'effet exercé par cette sélection, il est nécessaire d'adopter une position nuancée.

D'une part, une sélection négative conduit, de toute évidence, à la stérilité. Mais, d'autre part, une sélection positive est loin de suffire à créer les conditions d'une fécondité accrue. Cette asymétrie dans les conséquences de la sélection peut être constatée dans les premières générations qui suivent un transfert à température plus élevée comme dans les générations suivantes. Cependant l'effet est beaucoup plus net dans le premier cas. Ainsi, à mesure que l'acclimatation progresse, l'effet défavorable d'une sélection négative diminue d'intensité.

Le caractère dissymétrique de cette influence exercée par la sélection peut trouver une explication si l'on admet que les éléments transmissibles, responsables de la fécondité, se décomposent en deux ensembles obéissant à des règles de transmission différentes :

1<sup>o</sup> des facteurs de stérilité *S*, de signe négatif quant à leur influence sur la fécondité, se transmettant de façon particulièrement efficace ;

2<sup>o</sup> des facteurs d'acclimatation *A*, de signe positif ou négatif, selon les cas, se transmettant avec un indice d'héritabilité relativement faible.

Dans le cadre de cette hypothèse, les facteurs de stérilité doivent être présents dans tous les élevages pratiqués à température élevée. En revanche, ces éléments *S* n'apparaîtraient pas lorsque les élevages sont pratiqués à 18<sup>o</sup>, sauf dans l'expérience comportant un double passage entre 23,5<sup>o</sup> et 18<sup>o</sup> et où l'on constate une influence défavorable exercée par le vieillissement des parents (tabl. 2<sub>14</sub>). Cette dernière observation conduit à émettre l'hypothèse que le vieillissement des parents apporte aux descendants un élément de stérilité supplémentaire dont l'influence est décelée lorsqu'ils sont portés à température élevée. En définitive, les facteurs de stérilité pourraient tirer leur origine de processus physiologiques divers. Le caractère cumulatif de leur activité de génération en génération, leur transmissibilité élevée, expliqueraient aisément le caractère efficace d'une sélection négative.

La sélection positive, au contraire, repose sur le choix de géniteurs dont les déterminations génétiques comportent, entre les deux ensembles de facteurs *S* et *A* responsables de la fécondité, une dominante positive *A*. Mais, entre la détermination génétique des parents et celle des descendants, viennent s'insérer les processus dont on a vu précédemment que certains d'entre eux inclinent vers la stérilité avec une efficacité considérable. Dans ces conditions, la moyenne des descendants montrera une fécondité relativement faible, aboutissant, pour ce caractère, à un indice d'héritabilité proche de zéro.

Cependant, dans ces conditions, comment expliquer que l'accoutumance finisse par l'emporter ? Trois hypothèses peuvent être considérées :

a) par le jeu de la sélection, on élimine d'abord les individus chez lesquels les processus de stérilisation sont les plus puissants. On provoque ainsi une survie de la lignée qui autorise le développement progressif de processus antagonistes ;

b) l'avènement d'une régulation physiologique qui s'installe progressivement vient ralentir le développement des processus de stérilisation. Cette régulation se traduit par un allongement de la période féconde ;

c) un mécanisme régulateur — peut-être identique au précédent — vient limiter l'héritabilité des processus de stérilisation. Cet effet se traduit par une efficacité diminuée de la sélection négative lorsqu'elle porte sur des animaux convenablement acclimatés.

Si l'on admet que les deux derniers processus s'installent lentement, on expliquera, à la fois, que la sélection positive est peu efficace et que l'acclimatation exige une sélection poursuivie sur de nombreuses générations.

Il n'échappera à personne que ces spéculations doivent être considérées comme des hypothèses de travail : elles paraissent, en effet, ouvrir la voie à de nouvelles investigations. D'autre part, nous n'avons guère examiné jusqu'à présent, sur quels

supports cellulaires peut reposer la transmission des processus dont nous avons été conduits à supposer l'existence. C'est à l'examen de cette question que va être consacrée la discussion générale.

## DISCUSSION GÉNÉRALE

Les considérations précédentes n'affectent pratiquement pas la conclusion à laquelle conduisaient les données expérimentales relatées dans les deux premières parties de l'exposé de ce travail (BRUN, 1966 *b* et *c*) : l'adaptation de *Caenorhabditis elegans* aux températures élevées se présente comme la résultante d'effets cumulatifs agissant directement sur le Nématode. Elle se traduit non seulement par l'augmentation graduelle et lente des capacités de multiplication du Nématode mais aussi par une stabilisation progressive de la transformation adaptative, en fonction de la durée de l'élevage à haute température. Cependant cette stabilité n'est jamais complète : l'accoutumance tend à disparaître dans diverses circonstances, en particulier lorsque les animaux adaptés sont transférés pendant de nombreuses générations à une température inférieure ou lorsqu'on utilise des reproducteurs âgés.

J'essaierai maintenant de répondre à deux questions-clés :

1. Quels sont les types de facteurs transmissibles sur lesquels peut reposer la stabilité de l'adaptation ?

2. Par quel processus une souche non adaptée peut-elle devenir adaptée ?

### I. FACTEURS TRANSMISSIBLES RESPONSABLES DE LA STABILITÉ DE L'ADAPTATION

Les expériences réalisées ont permis de mettre en évidence les trois caractéristiques suivantes :

*a*) l'inadaptation complète d'un individu — exprimée par la stérilité totale — n'est observée, après une seule génération, que si cet animal est soumis à un très important incrément thermique (passage de 18 à 24,5°). Si celui-ci est un peu plus faible, l'inadaptation va croissant au cours des générations successives jusqu'à atteindre l'inadaptation totale. Mais si l'incrément thermique est encore un peu moindre, à l'inadaptation initiale pourra succéder, au cours des générations ultérieures, le début d'une phase d'accoutumance ;

*b*) lorsqu'un élevage a atteint la phase d'adaptation, la stabilité de cette acquisition, telle qu'elle se manifeste après retour à des températures moins élevées et avec des cultures utilisant de jeunes géniteurs, s'avère d'autant plus grande que le degré d'acclimatation atteint (exprimé par la fécondité) a été plus important ;

*c*) la stabilité des transformations ainsi déterminées peut finalement être considérable puisqu'une lignée adaptée pendant 453 générations à 23,5° puis ramenée à la température de base (18°) conserve, à cette température, pendant plus de 180 générations, une fécondité significativement différente de celle de la souche main-

tenue constamment à 18°. Cependant l'acclimatation à la température de 23,5° proprement dite commence à décroître de façon sensible 17 générations environ après les débuts du transfert à 18°.

Pour rendre compte de ces faits, trois catégories d'hypothèses peuvent être envisagées.

#### A — Hypothèse d'une détermination exclusivement génique

S'il était établi que l'adaptation obtenue est définitivement acquise et si l'on s'en tenait uniquement à cette caractéristique, l'hypothèse génique s'imposerait : une transformation du génotype est en effet la garantie d'une transformation permanente. Dans cette perspective, les résultats de FATT et DOUGHERTY (1963) constituent peut-être un indice intéressant. Ces auteurs, après avoir constaté que la souche de *Caenorhabditis elegans* provenant de Bristol (Grande-Bretagne) est naturellement plus résistante que ma propre souche récoltée à Bergerac, ont observé que la résistance élevée de la forme Bristol pourrait être due, en particulier, à la présence d'un gène dominant : la thermorésistance pourrait donc correspondre au fonctionnement d'un petit nombre de gènes.

Cependant le caractère très instable des transformations lorsqu'elles sont obtenues après un petit nombre de générations reste inexplicable dans une hypothèse aussi simple. En outre, il semble bien que le degré de stabilité que j'ai observé dépende toujours de conditions critiques (âge des reproducteurs, par exemple). Si bien que l'hypothèse génique paraît à exclure dans le cas qui nous intéresse, au moins en tant qu'explication unique.

#### B — Hypothèse d'un déterminisme extra-chromosomique

Dans certains cas, la résistance des Insectes vis-à-vis du D.D.T. se transmet par voie matrocline, ce qui constituerait l'indice d'une hérédité cytoplasmique (AFIFI et KNUSTON, 1956 ; COCHRAN et *al.*, 1952-1962 ; FAY, BAKER et GRAINGER, 1949 ; GRAYSON, 1957 ; JOHNSTON, BOGART et LINDQUIST, 1954 ; PIMENTEL, SCHWARDT et DEWEY, 1954 ; RASMUSSEN, 1952). Une hypothèse du même ordre est concevable dans le cas qui nous intéresse. En fait, trois modalités peuvent être invoquées :

a) intervention d'une structure particulière, éventuellement parasite, et transmise selon un mécanisme non chromosomique ;

b) mise en place d'états cytoplasmiques nouveaux (conçus soit comme des « équilibres de flux » selon DELBRUCK, 1949, soit d'après les schémas d'HINSHELWOOD, 1952-1960, ou de POLLOCK, 1958) ;

c) transmission directe de métabolites d'une génération à l'autre par le canal des gamètes, principalement l'ovocyte. C'est ainsi que la cynurénine peut être transmise d'une mère pigmentée d'*Ephestia kühniella* à ses descendants dont certains sont incapables de former cette substance. (CASPARI, 1949).

On doit constater que des travaux de plus en plus nombreux attribuent — chez les organismes inférieurs ainsi que chez les végétaux (cf. JINKS, 1964) — à des particules cytoplasmiques autoreproductibles et à leurs modifications quantitatives ou qualitatives, la responsabilité de caractéristiques morphologiques ou biologiques singulières et persistantes : chez les Paramécies (caractère *killer* : SONNEBORN,

1943 ; type d'appariement : SONNEBORN, 1951 ; caractères antigéniques : BEALE, 1954 ; adaptation au chlorure de calcium : GENERMONT, 1963), les Flagellés (Euglènes blanches : BRAWERMAN et CHARGAFF, 1960 ; résistance de *Chlamydomonas* aux toxiques : SAGER, 1965), les Levures (formes « petites » : EPHRUSSI et al., 1955 ; résistance de *S. ellipsoideus* aux ions cuivriques : ANTOINE, 1964), les Champignons (phénomène de sénescence et de barrage chez *Podospora* ; RIZET et al., 1958 ; caractère *poky* de *Neurospora* : MITCHELL et al., 1952, PITTINGER 1956 ; variants *red*, *purple*, *alba*, *minute*, *brown* et *compact* d'*Aspergillus nidulans* : ARLETT et al., 1962, GRINDLE, 1963, MAHONY et WILKIE, 1962 ; adaptation d'*Aspergillus glaucus* à divers toxiques : BRIAULT, 1956, JINKS, 1959 *a* ; forme à sporulation réduite d'*Aspergillus glaucus* : JINKS, 1959 *b*).

Il apparaît cependant que, dans son économie générale, l'hypothèse d'états cytoplasmiques stables ne diffère pas essentiellement de l'hypothèse particulière : il est clair, en effet, qu'une particule autoreproductible constitue, elle-même, le support et le résultat d'un ensemble d'interactions que, dans leur totalité, on pourrait qualifier comme des états cytoplasmiques. Par ailleurs, on peut fort bien imaginer que ces états se maintiennent à travers les processus de différenciation cellulaire d'un Métazoaire de façon « quasi génique » comme on a pu le constater à propos de certains phénomènes d'induction enzymatique chez les Bactéries (cf. NOVICK et Mc COY, 1958).

### C — Hypothèses d'interactions entre facteurs nucléaires et cytoplasmiques

A ce niveau, la diversité des hypothèses possibles devient très grande. Je me limiterai ici au rappel de certaines interprétations qui pourraient servir de modèle :

1. HINSHELWOOD et son école (DEAN et HINSHELWOOD 1964, *a* et *b*) effectuent, chez les Bactéries, des observations qu'ils interprètent en faveur d'une induction, par le milieu, de modifications qui finiraient par acquérir une très grande stabilité. Celle-ci pourrait, d'après ces auteurs, résulter d'une altération du code génétique consécutive à une transformation du cytoplasme.

2. Chez l'Ascomycète *Podospora anserina*, RIZET et al. (1958), MARCOU (1961) ont admis que la sénescence et le phénomène de barrage sont dus à l'apparition de particules cytoplasmiques. Celles-ci pourraient dériver de « préparticules » intégrées au génome à la façon d'un provirus.

Il en serait de même en ce qui concerne la résistance aux toxiques chez une Bactérie d'après WATANABE et FUKASOWA (1962). Inversement, les travaux de L'HÉRITIER et ses collaborateurs (L'HÉRITIER, 1962) ont montré que le germen des *Drosophiles* sensibles héréditairement au CO<sup>2</sup> peut être affecté par un virus provenant du soma, avec apport de caractères héréditaires.

3. Chez *Drosophila melanogaster*, l'effet de masse produit certaines modifications du nombre d'ovarioles des descendants. Si cet effet de masse ne s'exerce que sur une seule génération, le mécanisme mis en jeu est un effet prolongé. Mais si l'action se poursuit sur de nombreuses générations, le génome est modifié. Selon DAVID (1962) « ou bien le parallélisme est accidentel et les deux processus sont sans liens réels. Ou bien l'effet prolongé peut aider les remaniements géniques ».

## II. PAR QUELS PROCESSUS UNE SOUCHE NON ADAPTÉE PEUT-ELLE DEVENIR ADAPTÉE ?

Nous venons de rappeler un certain nombre d'exemples susceptibles de fournir des modèles de systèmes de transmission éventuellement applicables au cas qui nous intéresse. Dans quelle mesure l'examen du processus de transmission permettra-t-il de choisir entre ces modèles ? De ce point de vue, deux catégories d'hypothèses peuvent être considérées sous les titres généraux respectifs de préadaptation ou de mutation.

### A — *Hypothèse d'une préadaptation au niveau des structures intracellulaires*

L'explication la plus couramment avancée consiste à attribuer aux facteurs externes le rôle d'agent sélectif triant, dans une population hétérogène au départ, les individus porteurs de facteurs transmissibles à effet favorable, qu'ils soient géniques ou extra-chromosomiques.

Lorsqu'elle joue sur des reproducteurs à sexes séparés, la sélection permet d'éliminer certaines informations génétiques et d'en valoriser d'autres. C'est sur les combinaisons d'information qui résultent de la multiplication sexuée que le mécanisme sélectif peut exercer son action avec la plus grande puissance, pour permettre, finalement, l'apparition de formes et de propriétés dont on ne saurait cependant affirmer, sans un certain abus de langage, qu'elles étaient réellement contenues dans la population initiale. A cet égard, la sélection est réellement créatrice. *Mais elle l'est seulement au-delà du niveau des unités génétiques. Au sein de ces unités elles-mêmes, les structures élémentaires se répètent selon des formes déjà présentes au début de l'expérience. L'effet observé résulte seulement de leur redistribution et de l'élimination de certaines d'entre elles.* Ainsi, ce mécanisme peut, sans doute, jouer un très grand rôle dans de nombreux types de processus évolutifs et même expliquer complètement une partie d'entre eux. Toutefois, dans le cas qui nous intéresse, ce système apparaît partiellement inapplicable. En effet, l'hermaphroditisme autogame de *C. elegans* nous met en présence d'une forme de multiplication dans laquelle aucun croisement n'intervient entre des individus différents.

Il n'est pas certain que l'on doive, pour autant, renoncer à envisager l'existence de structures préadaptatives au sein de lignées autofécondes. Toutefois, à supposer qu'il existe, au départ, une hétérogénéité génétique, celle-ci ne semble pas pouvoir se trouver au sein du matériel génique. En effet, l'autofécondation — qu'on peut considérer comme la forme d'inbreeding la plus stricte — instaure fatalement l'homozygotie. D'après WRIGHT (1933), le pourcentage d'homozygotes dans une population peut théoriquement passer, par autofécondation, de 50 à 100 p. 100 en 6 générations. Même si l'on admet que l'évolution vers l'homozygotie doit, en réalité — comme le montrent des travaux récents (cf. bibliographie complète dans ALLARD et JAIN, 1962 ; IMAM et ALLARD 1965) — exiger un nombre relativement important de générations, il y a tout lieu de penser que, dans le cas de *C. elegans*, le maintien de la souche par autofécondation pendant 700 générations avant que ne débute l'expérimentation garantit l'homogénéité génique des Nématodes qui doivent former une véritable « lignée pure ».

On est donc conduit à chercher le support d'une éventuelle hétérogénéité génétique dans des structures non géniques.

En simplifiant à l'extrême, on peut envisager, par exemple, l'existence dans la cellule de deux catégories d'organites qui, en présence de la stimulation thermique, réagiraient dans des sens opposés : les unes s'orienteraient alors vers un comportement pathologique qui entraîne plus ou moins tôt la stérilité complète ; les autres au contraire maintiendraient une activité cellulaire normale. Dans ces conditions l'accoutumance peut être conçue comme résultant de l'élimination de l'une des deux catégories considérées.

Une vue plus nuancée des choses pourra être fournie par un modèle dans lequel la vie cellulaire normale est assurée par un équilibre, entre diverses structures ou processus, qui dépend lui-même d'une situation initiale. Si certains facteurs, une élévation de température par exemple, modifient cet équilibre, on peut concevoir l'entrée en jeu de processus régulateurs qui, le temps aidant, parviendraient à rétablir une situation compatible avec une fécondité stable. Dans le cadre d'hypothèses de ce genre, les processus stérilisateurs *S* — dont j'ai été conduit à supposer l'existence comme nous l'avons vu plus haut — correspondraient aux facteurs de déséquilibre ou à certaines transformations dont ils seraient responsables. Les processus d'accoutumance *A* correspondraient, au contraire, au fonctionnement des mécanismes régulateurs. Si l'on admet que l'adaptation à une certaine température maximale traduit une équilibration des processus cellulaires, on pourra imaginer qu'un nouvel incrément thermique déterminera un autre pas dans l'évolution de cet équilibre.

D'autres observations ont déjà montré l'existence de processus défavorables transmissibles et d'action cumulative. Rappelons, en particulier, les résultats de LANSING (1954) sur le Rotifère parthénogénétique *Philodina citrina*. Lorsque cette espèce est élevée en lignées contrôlées, en utilisant des géniteurs d'âge constant, la longévité de la lignée dépend de l'âge des reproducteurs employés. Avec des géniteurs âgés de 5 jours, la lignée subsiste indéfiniment ; avec des géniteurs de 12 jours elle s'éteint en quatre générations. L'effet cumulatif de l'âge des reproducteurs ainsi observé pourrait s'expliquer par une modification caractéristique des équilibres entre constituants cellulaires ou par l'accumulation de métabolites défavorables.

D'autre part, en ce qui concerne la résistance aux insecticides où des phases de sensibilisation initiale (DERBENEVA-UKHOVA, 1962 ; FORGASH et HANSENS, 1962) ou de latence (cf. BROWN, 1959) sont connues pour s'étendre sur une dizaine de générations, les auteurs (CROW, 1957 ; MILANI, 1958) ont été conduits à émettre des hypothèses relativement complexes dans le cadre d'une interprétation génique. Une interprétation non génique pourrait apporter à des situations de ce genre une réponse de caractère plus simple.

### B — Hypothèse mutationniste

L'hypothèse d'une préadaptation suppose que l'accoutumance résulte d'un équilibre nouveau institué entre des structures intra-cellulaires dont la constitution élémentaire reste inchangée. L'hypothèse mutationniste repose, au contraire, sur

l'idée que ces structures subissent elles-mêmes une modification. Les deux hypothèses s'opposeraient ainsi par leurs conceptions respectives du niveau auquel se produisent les changements.

Pour aboutir à une meilleure définition de ce niveau, la comparaison des deux théories mériterait d'être fouillée dans de nombreuses directions. Un point capital serait de reconnaître, parmi les structures cellulaires, celles dont les transformations pourraient être rendues responsables du phénomène d'accoutumance tel que je l'ai observé. A cet égard, trois explications sont possibles : mutations chromosomiques, géniques ou extra-chromosomiques.

### 1. *Mutations chromosomiques.*

C'est l'hypothèse la moins plausible car, nous l'avons vu (BRUN, 1966 c), l'étude de la gamétogenèse n'a permis de reconnaître aux formes adaptées ni un nombre particulier de chromosomes ni une évolution méiotique originale.

### 2. *Mutations géniques.*

Les caractéristiques essentielles observées, d'une part dans la transmission de l'accoutumance — lignée pure à l'origine et inefficacité d'une sélection positive (cf ci-dessus), d'autre part dans sa stabilité — susceptible d'être considérable mais jamais totale (cf BRUN, 1966 c) — rendent peu vraisemblable son explication par une modification intervenant au niveau du gène. L'étude du développement même de l'adaptation conduit à des conclusions qui vont dans le même sens. En effet, on admet généralement qu'il est très difficile de concevoir une succession de mutations géniques favorables assurant l'accoutumance d'un organisme à des conditions de milieu de plus en plus sévères. La difficulté est bien plus grande encore si l'on tient compte de ce que l'adaptation se produit sur plusieurs lignées élevées parallèlement (BRUN, 1966 b et c). En outre, au niveau où la phase de sensibilisation marque son effet maximum, on constate (cf fig. 3<sub>3</sub>) que plus de la moitié des animaux restent fertiles et semblent donc capables de fournir une lignée acclimatée à une température plus élevée. On ne peut imaginer qu'un taux de mutation aussi élevé survienne dans le petit nombre de générations auxquelles correspond la phase de sensibilisation. Il faudrait, dans ces conditions, admettre que ces mutations se sont accumulées durant la phase de lente adaptation à la température immédiatement inférieure.

Mais peut-on supposer que des mutations provoquées se succéderaient ainsi de telle sorte qu'elles aboutissent à un changement graduel? On se trouve alors en face du problème des mutations géniques dirigées dont, actuellement, l'existence ne peut guère être envisagée autrement que comme une éventualité. Les données de CUENOT sur *Chelidonium* (GUYENOT, 1930), le fait qu'on puisse parfois dresser un « spectre » de l'effet mutagène, ne sont pas des arguments suffisamment convaincants. Il en va de même des considérations de BALDWIN (1902), SIMPSON (1953), WADDINGTON (1953) sur « l'effet Baldwin », HOVASSE (1950) sur la sélection parallèle » GOLDSCHMIDT (1937) sur « l'induction parallèle ».

Certaines expériences ont cependant fourni des résultats étonnants :

— JOLLOS (1931), en soumettant des *Drosophiles* à des chocs thermiques de 35-36°C, obtint certaines mutations avec une fréquence assez élevée. En traitant

à nouveau par la chaleur quelques-uns des mutants ainsi obtenus, il fit apparaître des allèles réalisant des écarts encore plus grands, de telle sorte qu'il se manifesterait une sorte d'orthogénèse dans ces mutations successives ;

— Chez *Saccharomyces cerevisiae* (*Yeast Foam*) (ANTOINE, 1965 *a* et *b*), les ions cuivriques agissent comme toxique. Ils exercent sur un gène  $Cu_{0,5}$ , contrôlant une résistance faible à ce poison, une action spécifique qui le fait passer, dans une première étape mutationnelle, sous une forme  $Cu_{MR}$  conditionnant une résistance supérieure à celle de  $Cu_{0,5}$ . Dans une seconde étape, les ions cuivriques provoquent spécifiquement la mutation de  $Cu_{MR}$  en  $Cu_1$ , forme du gène qui définit la résistance la plus élevée.

Finalement, de telles observations sont trop peu nombreuses et mes propres indications en ce sens si peu encourageantes, qu'il paraîtrait osé de fonder sur un mécanisme de mutations géniques l'explication de l'accoutumance constatée. Il reste cependant que, dans l'avenir, il sera peut-être possible d'affecter, à de véritables mutations géniques, un rôle essentiel dans l'adaptation. En effet, si l'on admet par exemple, que l'acheminement progressif vers un équilibre crée une situation d'accoutumance douée d'une stabilité qui est seulement relative et soumise aux conditions ambiantes, on peut envisager qu'une étape mutationnelle relativement simple confèrera à cette stabilité un caractère plus définitif. Il suffirait pour cela que la mutation touche l'une des étapes du processus d'adaptation pour lui retirer son caractère de réversibilité, établissant ainsi un verrou qui va conférer aux caractéristiques thermiques une stabilité génique. Si ce « verrou » était poussé lorsque l'animal qui le porte est en phase non adaptée, sa descendance deviendrait inadaptable. Si, au contraire, il était poussé en phase adaptée, la lignée resterait irréversiblement accoutumée. L'existence de la race Bristol de *C. elegans* pourrait éventuellement relever d'une explication de ce genre. Peut-être trouvera-t-on, dans un tel processus, l'explication de certaines formes d'assimilation génétique (WADDINGTON, 1961) et, d'une façon générale, de la fixation par mutation au sein du génome de propriétés qui auraient pu trouver leur origine ailleurs.

### 3. Mutations extra-chromosomiques.

La plupart des auteurs considèrent que seuls les caractères à transmission extra-nucléaire peuvent être modifiés dans un sens prévisible par divers facteurs externes.

De nombreuses observations concernant des modifications de cette nature décrivent des changements que l'on peut considérer comme adaptatifs :

— Utilisation de métabolites inhabituels (*Bactéries* : DEAN et HINSHELWOOD, 1965 *b* ; *Levures* : KOSSIKOV, 1957 ; *Aspergillus glaucus* : JINKS, 1959 ; KLASTERKA, 1963).

— Résistance à l'effet de certains toxiques (*Bactéries* : DEAN et HINSHELWOOD, 1964 *b* ; *Saccharomyces ellipsoideus* : ANTOINE, 1964 ; *Aspergillus* : ARLETT, 1957 ; BRIAULT, 1956 ; JINKS, 1959 *a* ; KLASTERKA, 1963 ; *Chlamydomonas* : GILLHAM et LEVINE, 1962 ; SAGER, 1965 ; *Tetrahymena* : MC CASHLAND et ANDRESEN, 1963).

Le caractère adaptatif de ces modifications oblige évidemment à penser qu'elles reposent sur des structures dotées d'une certaine labilité et dépendant susceptibles de transmission. Toutes propriétés que l'on peut concevoir aussi bien au niveau

des plasmagènes ou d'épisomes à structure particulière qu'à celui d'états cytoplasmiques dont la définition est évidemment plus floue. En revanche, ces caractéristiques paraissent beaucoup plus difficiles à insérer dans la mécanique rigide qui gouverne la synthèse et la répartition de l'ADN chromosomique.

Dans d'autres cas, la modification observée présente un caractère qui va à l'encontre d'une adaptation. Ainsi des facteurs responsables de la sénescence chez *Podospora anserina* (RIZET et al., 1958) et de la mort végétative et conidiale chez *Aspergillus glaucus* (JINKS, 1959 b). Il serait sans doute possible d'expliquer également de cette façon les observations de LANSING déjà exposées.

Dans le cadre d'une hypothèse de cette nature, JINKS (1964) fournit un schéma qui pourrait éventuellement s'appliquer au cas de l'acclimatation de *C. elegans* (fig. 36). Il faudrait cependant compliquer encore ce schéma pour le rendre en me-

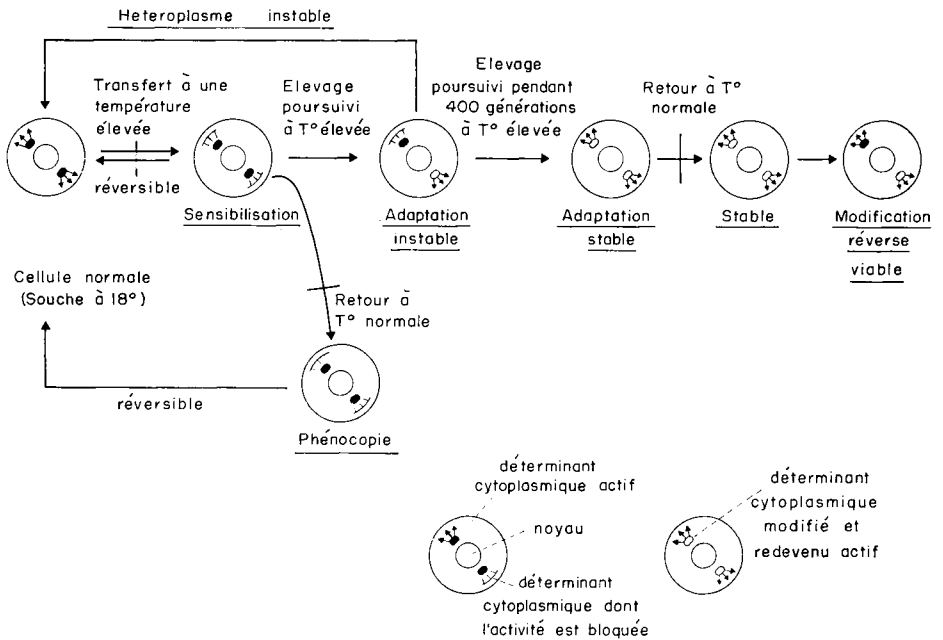


FIG. 36. — Schéma théorique traduisant les modalités de l'adaptation de *C. elegans* aux températures élevées par suite de modifications de caractères à transmission extranucléaire

sure d'apporter une explication à l'ensemble des observations que j'ai faites. On pourrait admettre, par exemple, que l'activité des déterminants supposés dépend non seulement de leur structure mais aussi d'une situation intra-cellulaire sensible à l'égard de facteurs externes et internes. L'adaptation résulterait alors d'une modification des déterminants qui les rend capables de rester actifs malgré un certain degré de modification subie par la structure cellulaire. En quelque sorte, les déterminants supposés deviendraient relativement indépendants vis-à-vis des variations cytoplasmiques ambiantes et l'on imagine volontiers qu'une telle indépendance puisse comporter des degrés.

Conçue de cette façon, cette hypothèse conduirait à admettre que les structures cellulaires altérées comporteraient, en elles-mêmes, un certain degré de transmissibilité. De sorte que l'on revient, par cette voie, à la notion de processus stérilisateurs *S* transmissibles (cf p. 454 et 459). En revanche, le processus d'accoutumance *A* apparaît ici comme le résultat d'une étape mutationnelle au sein d'une structure cytoplasmique auto-reproductible. Le caractère relativement réversible de l'accoutumance pourrait alors s'expliquer en supposant que les déterminants n'ont pas tous été modifiés de sorte que l'on revient à une forme de sélection intracellulaire. Ou bien, il faudrait admettre que la transformation des déterminants responsables répond elle-même à un mécanisme doué de réversibilité.

En définitive, tous les éléments de réflexion convergent pour nous conduire à supposer que le processus observé pourrait trouver son origine dans des modifications portant, au départ du moins, sur des structures non géniques. Ces modifications peuvent être conçues comme un changement d'équilibre, plus ou moins progressif, entre structures existantes, ou comme une série de mutations produites au niveau de telles structures, ou comme une combinaison quelconque de ces deux hypothèses. L'intervention de phénomènes géniques, si elle se produit, ne pourra guère être envisagée, dans le cadre des résultats apportés, qu'à un niveau passablement avancé de l'adaptation. Il ne s'agit là sans doute que de réflexions dont le caractère logique ne saurait faire oublier que nous ne disposons pas encore, en ce qui concerne le phénomène que nous avons étudié, d'une preuve expérimentale définitivement positive, en faveur d'une hypothèse précise.

*Reçu pour publication en mars 1966.*

## SUMMARY

### ACCLIMATIZATION OF « *CAENORHABDITIS ELEGANS* » (NEMATODA) TO HIGH TEMPERATURES III. ROLE OF OTHER FACTORS THAN TEMPERATURE IN THE ADAPTIVE PROCESS

Under our experimental conditions, *Caenorhabditis elegans* stocks kept at 18°C could never survive a direct transfer to 24,5°C. However, they can bear this temperature if they have been kept for many generations at intermediate temperatures : 22 — 23 — 23,5 and 24°C. An experimental analysis entitles us to consider negligible the part played in this adaptive process by the nutritive medium.

At intermediate temperatures, fertility increases with the duration of breeding : so does the ability to bear the next higher temperature.

On the other hand, the stability of the acclimatization appears to depend on the duration of breeding at a given temperature. The longer are the nematodes bred at a high temperature, the stronger the inurement is and the quicker the readaptation.

Thus is undisputably defined the fundamental characteristic of the genetic adaptation of *Caenorhabditis elegans*: the acclimatization results from a cumulative effect in the action of temperature. This effect is very slow ; at 23,5°C for instance, it was only after 100 generations at least that the fertility of the animals was 4 times what it was in the first generations following the transfer from 23°C. It was only after 1081 generations that the nematodes raised from 18°C were able to bear 24,5°C.

If temperature is indeed the determining factor in the setting up and development of adaptive processes, its role may be conceived either as that of a selective agent of pre-adapted forms or as that of an instigator of adaptive modifications.

Theoretically, the application of the first hypothesis is limited. As a matter of fact, the stri-

ckly autogamous fertilization of this nematode forbids, in a highly heterozygous state, to investigate upon a basis of genetic variability that might be used in order that the acclimatization process be progressively set up.

In practice, a number of experimental data led us to think that this effect is almost unconceivable as far as our case is concerned. The most important of these data are :

a) At any new-borne temperature, the acclimatization always begins with a short period of sensitization during which fertility decreases before progressively increasing. Now, at the minimum level it reaches, firstly the classes of high fertility are never present ; secondly, there are never less than 50 per cent fertile animals.

b) A positive selection of begetters is next to inefficient for it may induce either a decrease or an increase in fertility.

The action of heat must therefore be considered responsible for the working out of adaptive processes. From this viewpoint, the progressive character of the modifications noticed in fertility, the fact that these modifications seem to take place in the same way at every stage of acclimatization, lead us to think that the corresponding genetic alterations are made of a sequence of stages of little moment distributed throughout the generations under experiment.

The whole of our observations lead us to suppose that there is a progressive production of adapted and transmittable cytoplasmic states which would be responsible for the begetting of lineages fertile at high temperatures.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFIFI S. E. D., KNUTSON H., 1956. Reproductive potential, longevity and weight of houseflies which survived one insecticidal treatment. *J. econ. Entomol.*, **49**, 310-313.
- ALLARD R. W., JAIN S. K., 1962. Population studies in predominantly self-pollinated species. II. Analysis of quantitative genetic changes in a bulk-hybrid population of barley. *Evolution*, Lancaster, Pa., **16**, 90-101.
- ANTOINE A., 1964. La résistance de la levure aux ions cuivriques. I. *Saccharomyces ellipsoideus*. *Expl.-Cell Res.*, **36**, 73-85.
- ANTOINE A., 1965. La résistance de la levure aux ions cuivriques. II. *Saccharomyces cerevisiae*, *Yeast Foam*, influence des ions  $Cu^{2+}$  sur l'apparition de cellules résistantes. *Expl. Cell Res.*, **37**, 278-291.
- ANTOINE A., 1965. La résistance de la levure aux ions cuivriques. III. *Saccharomyces cerevisiae*, *Yeast Foam*, nature de deux formes résistantes. *Expl. Cell Res.*, **40**, 570-584.
- ARLETT C. F., 1957. Induction of cytoplasmic mutations in *Aspergillus nidulans*. *Nature, Lond.*, **179**, 1250-1251.
- ARLETT C. F., GRINDLE M., JINKS J. L., 1962. The « red » cytoplasmic variant of *Aspergillus nidulans*. *Heredity, Lond.*, **17**, 197-209.
- BALDWIN J. M., 1902. *Development and evolution*. London, 1 vol.
- BEALE G. H., 1954. The genetics of *Paramecium aurelia*. Cambridge Univ. Press, 1 vol., 179 p.
- BRAWERMAN G., CHARGAFF E., 1960. A self-reproducing system concerned with the formation of chloroplasts in *Euglena gracilis*. *Biochim. biophys. Acta*, **37**, 221-229.
- BRIAULT P. G., 1956. Cytoplasmic changes associated with adaptation and differentiation. *Nature, Lond.*, **178**, 1223-1224.
- BRUN J., 1966 a. Influence des conditions de milieu sur la fécondité de *C. elegans* à différentes températures. *Nématologica*, **12**, n°4. (sous presse)
- BRUN 1966 b L'adaptation aux températures élevées chez un Nématode : *Caenorhabditis elegans* MAUPAS 1900. I : L'adaptation et son évolution. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* **6**, 127-158.
- BRUN J., 1966 c. L'adaptation aux températures élevées chez un Nématode : *Caenorhabditis elegans* MAUPAS 1900. II : Stabilité et physiologie de l'adaptation. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* **6**, 267-300.
- CASPARI E., 1949. Physiological action of eye color mutants in the moths *Ephesia kühniella* and *Ptychopoda seriala*. *Quart. Rev. Biol.*, **24**, 185-189.
- COCHRAN D. G., GRAYSON J. M., LEVITAN M., 1952. Chromosomal and cytoplasmic factors in transmission of DDT resistance in the German cockroach. *J. econ. Entomol.*, **45**, 997-1001.
- COCHRAN D. G., ROSS M. H., 1962. Inheritance of resistance to DDT in *Blattella germanica*. *J. econ. Entomol.*, **55**, 88-89.
- CROW J. F., 1957. Genetics of insect resistance to chemicals. *Annu. Rev. Entomol.*, **2**, 227-246.
- DEAN A. C. R., HINSHELWOOD C., 1964 a. Some basic aspects of cell regulation. *Nature, Lond.*, **201**, 232-239.
- DEAN A. C. R., HINSHELWOOD C., 1964 b. What is heredity. *Nature, Lond.*, **202**, 1046-1051.
- DELBRUCK M., 1949. Discussion du rapport de SONNEBORN et BEALE. Dans « *Unités biologiques douées de continuité génétique* ». Éditions C. N. R. S., n° 7, Paris, p. 33-34.

- EPHRUSSI B., HOTTINGER H., ROMAN H., 1955. Suppressiveness : a new factor in the genetic determination of the synthesis of respiratory enzymes in yeast. *Proc. nation. Acad. Sci., U. S. A.*, **41**, 1065-1071.
- FALCONER D. S., 1960. *Introduction to quantitative genetics*. Ronald Press, New York, 1 vol., 365 p.
- FATT H. V., DOUGHERTY E. C., 1963. Genetic control of differential heat tolerance in two strains of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science, N. Y.*, **141**, 266-267.
- FAY R. W., BAKER W. C., GRAINGER M. M., 1949. Laboratory studies on the resistance of *Anopheles quadrimaculatus* to DDT and other insecticides. *J. natn. Malar. Soc.*, **8**, 137-146.
- FORGASH A. J., HANSENS E. J., 1962. Effect of selection on cross resistance in diazinon-resistant *Musca domestica*. *J. econ. Entomol.*, **55**, 679-682.
- GENERMONT J., 1963. Déterminisme génétique de la résistance au chlorure de calcium chez *Paramecium aurelia*. *Archs Zool. exp. gén.*, **102**, 181-182.
- GILLHAM N. W., LEVINE R. P., 1962. Studies on the origin of streptomycin resistant mutants in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Genetics, Princeton*, **47**, 1463-1474.
- GOLDSCHMIDT R. B., 1937. A remarkable parallelism. *Proc. natn. Acad. Sci., U. S. A.*, **23**, 219-223.
- GRAYSON J. M., 1958. Polyfactorial and cytoplasmic inheritance of insecticide resistance in cockroaches. In : *Seminar on the susceptibility of insects to insecticides*. Panama, p. 124.
- GRINDLE M., 1964. Nucleo-cytoplasmic interactions in the « red » cytoplasmic variant of *Aspergillus nidulans*. *Heredity, Lond.*, **19**, 75-96.
- GUYENOT E., 1930. *La variation et l'évolution. II. L'évolution*. Doin, Paris, 1 vol., 414 p.
- HANSEN E. L., YARDWOOD E. A., NICHOLAS W. L., SAYRE F. W., 1960. Differential nutritional requirements for reproduction of two strains of *Caenorhabditis elegans* in axenic culture. *Nematologica*, **5**, 27-31.
- HINSHELWOOD C. N., 1952. On the chemical kinetics of auto-synthetic systems. *J. chem. Soc.*, 745-755.
- HINSHELWOOD C. N., 1960. The Royal Society. Anniversary address. *Nature, Lond.*, **188**, 974-979.
- HOUASSE R., 1950. *Adaptation et évolution*. Hermann, Paris, 1 vol., 138 p.
- JINKS J. L., 1959 a. Selection for adaptability to new environments in *Aspergillus glaucus*. *J. gen. Microbiol.*, **20**, 223-236.
- JINKS J. L., 1959 b. Lethal suppressive cytoplasmic variants in aged clones of *Aspergillus glaucus*. *J. gen. Microbiol.*, **21**, 397-409.
- JINKS J. L., 1964. *Extrachromosomal inheritance*. Prentice Hall, Englewood Cliffs. 1 vol., 177 p.
- JOHNSTON E. F., BOGART R., LINDQUIST A. W., 1954. The resistance to DDT by houseflies. Some genetic and environmental factors. *J. Hered.*, **45**, 177-182.
- JOLLOS V., 1931. Gerichtete Mutationen und ihre Bedeutung für das Evolutionsproblem. *Biol. Zbl.*, **51**, 137-140.
- KLASTERSKA I., 1963. The effect of cytoplasmic factors on the variability of *Aspergillus* strains. *Biologia Pl.*, **5**, 100-108.
- KOSSIKOV K. V., 1957. Directed hereditary changes of fermentative properties of yeast by a specific substrate. In : *Drug resistance in microorganisms. Ciba Fdn Symp.*, 102-135.
- L'HÉRITIER P., 1962. Le problème de l'hérédité non chromosomique. *Rev. Quest. sci.*, **23**, 208-251.
- Mc CASHLAND B. W., ANDRESEN W. F., 1963. The nature of cyanide adaptation in *Tetrahymena pyriformis* W. *Growth*, **27**, 47-56.
- MAHONY M., WILKIE D., 1958. An instance of cytoplasmic inheritance in *Aspergillus nidulans*. *Proc. r. Soc. B.*, **148**, 359-361.
- MARCOU D., 1961. Notion de longévité et nature cytoplasmique du déterminant de la sénescence chez quelques champignons. *Ann. Sci. nat. Bot.*, **12**, 653-674.
- MILANI R., 1958. Some aspects of genetic research on insecticide resistance. *Riv. Parassitol.*, **18**, 199-202.
- MITCHELL M. B., MITCHELL H. K., 1952. A case of « maternal » inheritance in *Neurospora crassa*. *Proc. nation. Acad. Sci., U. S. A.*, **38**, 442-449.
- NIGON V., 1951. Polypléidie expérimentale chez un Nématode libre, *Rhabditis elegans* MAUPAS. *Bull. biol. Fr. Belg.*, **95**, 187-225.
- NIGON V., DOUGHERTY E. C., 1954. Variations dans la vitesse de croissance chez un Nématode *Caenorhabditis elegans* MAUPAS. IX Congrès International de Génétique. *Caryologia*, vol. suppl. p. 796-797.
- NOVICK A., Mc COY A., 1958. Quasi genetic regulation of enzymatic level. In « *Physiological adaptation* ». C. L. Prosser, ed., Baltimore Press, Baltimore, 140-157.
- PIMENTEL D., SCHWARDT H. H., DEWEY J. E., 1954. The inheritance of DDT resistance in the housefly. *Ann. ent. Soc. Am.*, **47**, 208-213.
- PITTINGER T. H., 1956. Synergism of two cytoplasmically inherited mutants in *Neurospora crassa*. *Proc. natn. Acad. Sci., U. S. A.*, **42**, 747-752.
- POLLOCK M. R., 1958. Enzymic « de-adaptation » : the stability of an acquired character on withdrawal of the external inducing stimulus. *Proc. r. Soc. B.*, **148**, 340-352.
- RASMUSSEN B., 1952. Evidence of an autonomous cytoplasmic system in *Drosophila melanogaster* influencing the resistance to ether. *Hereditas*, **38**, 504-505.
- RIZET G., MARCOU D., SCHECROUN J., 1958. Deux phénomènes d'hérédité cytoplasmique chez l'Ascomycète *Podospora anserina*. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **4**, 136-149.

- ROBERTSON F. W., 1955. Selection response and the properties of genetic variation. *Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol.*, **20**, 166-177.
- SAGER R., 1965. Non-chromosomal genes in *Chlamydomonas*. In « *Genetics To-day* ». Edit. by S. J. Geerts, Pergamon Press, Oxford, III, 579-589.
- SIMPSON G. G., 1953. The BALDWIN effect. *Evolution*, Lancaster, Pa., **7**, 110-117.
- SONNEBORN T. M., 1943. Gene and Cytoplasm. I. The determination and inheritance of the killer character in variety 4 of *Paramecium aurelia*. *Proc. nation. Acad. Sci.*, U. S. A., **29**, 329-343.
- SONNEBORN T. M., 1951. Some current problems of genetics in the light of investigations on *Chlamydomonas* and *Paramecium*. *Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol.*, **16**, 483-503.
- WADDINGTON C. H., 1953. The BALDWIN effect, genetic assimilation and homeostasis. *Evolution*, Lancaster, Pa., **7**, 386-387.
- WATANABE T., FUKASAWA T., 1962. Episome-mediated transfer of drug resistance in Enterobacteriaceae. IV. Interactions between resistance transfer factor and F-factor in *Escherichia coli K-12*. *J. Bacteriol.*, **83**, 727-735.
- WRIGHT S., 1933. Inbreeding and homozygosis. *Proc. natn. Acad. Sci.*, U. S. A., **19**, 411-420.
-