

Recherches sur la phylogénie du genre *Saga* (Orthoptera : Tettigoniidae) : données chromosomiques

MICHÈLE LEMONNIER-DARCEMONT⁽¹⁾, ANNE-MARIE DUTRILLAUX⁽²⁾,
BERNARD DUTRILLAUX⁽²⁾ & CHRISTIAN DARCEMONT⁽¹⁾

⁽¹⁾ Groupement d'Etudes Entomologiques Méditerranée (G.E.E.M.), Hameau de St Donat, 240 chemin du Vignaou, F-83440 Callian, France

⁽²⁾ Muséum National d'Histoire Naturelle, UMR 5202-OSEB, CNRS/MNHN, 16 rue Buffon, CP 39, F-75005 Paris, France

Abstract. Studies on the phylogeny of the genus *Saga* (Orthoptera: Tettigoniidae): chromosomic data. Combining the first cytogenetic analysis of four European *Saga* species, and the re-assessment of the karyotype of *Saga pedo* (Pallas 1771), with published data and the results of investigations in the field, a phylogeny of the species included is proposed. The most ancestral karyotypes seem to be those of *Saga ornata* Burmeister 1839 and *Saga cappadocica* Werner 1903, with all autosomes being acrocentrics. The merge of two pairs of their chromosomes resulted in the karyotypes of *Saga natoliae* Serville 1839 and *Saga hellenica* Kaltenbach 1967, including one pair of large submetacentrics. These two karyotypes differ by a pericentric inversion on these large chromosomes, that probably took place in *S. natoliae*. *Saga campbelli* Uvarov 1921 and *Saga rammei* Kaltenbach 1965, got an additional chromosomic merge and therefore include two pairs of large submetacentrics. The karyotype of *S. rammei* has an additional distinctive feature in its heterochromatin. The karyotype of *S. pedo* is tetraploid, probably the result of juxtaposition of two diploid genomes as a result of hybridisation. The distinctive feature in heterochromatin of *S. rammei* is found on *S. pedo* into two distinct chromosomes. Although one could expect quadruplets or doublets of chromosomes, a wide diversity of single chromosomes was noted. This demonstrates that a high rate of chromosomal restructuring has modified the karyotype of *S. pedo*, after its transition to tetraploidy. These accumulated restructuring, resulting in a high heterozygosity, can be explained by the lack of meiotic barrier for this parthenogenetic species. During our recent research in the field in the south of Balkans, an area with a possible intergradation between *Saga pedo* and some bisexual closely related species was discovered. The chromosome analysis of specimens from this area will be a main subject for the continuation of our research.

Résumé. L'analyse cytogénétique de quatre espèces européennes de Saginae, dont les caryotypes n'avaient jamais été étudiés, la ré-investigation de celui de *Saga pedo* (Pallas 1771), la prise en compte des données publiées, et le résultat d'investigations sur le terrain, permettent de proposer une reconstitution de leur phylogénie. Les caryotypes les plus ancestraux semblent être ceux de *Saga ornata* Burmeister 1839 et de *Saga cappadocica* Werner 1903, publiés antérieurement, dont tous les autosomes seraient acrocentriques. La fusion de deux paires de leurs chromosomes aboutirait aux caryotypes de *Saga natoliae* Serville 1839 et de *Saga hellenica* Kaltenbach 1967, comportant une paire de grands submetacentriques. Ces deux caryotypes se différencient par une inversion péracentrique touchant ces grands chromosomes, probablement chez *S. natoliae*. *Saga campbelli* Uvarov 1921 et *Saga rammei* Kaltenbach 1965, ont acquis une fusion chromosomique de plus et possèdent donc deux paires de grands submetacentriques. Le caryotype de *S. rammei* détient en plus une particularité de son hétérochromatine. Enfin, le caryotype de *S. pedo* est tétraploïde, probablement formé de la juxtaposition de deux génomes diploïdes par hybridation. La particularité de l'hétérochromatine de *S. rammei* se retrouve chez *S. pedo* sur deux chromosomes différents. Alors que l'on pourrait attendre des quadruplets ou des doublets de chromosomes, il existe une grande diversité de chromosomes en copie unique. Ceci démontre qu'un fort taux de remaniements chromosomiques a modifié le caryotype de *S. pedo*, postérieurement à son passage à la tétraploïdie. Cette accumulation de remaniements, aboutissant à une forte hétérozygotie, peut s'expliquer par l'absence de filtre méiotique chez cette espèce parthénogénétique. Nos dernières prospections terrain dans le sud des Balkans, nous ont amené à découvrir une zone probable d'intergradation entre *Saga pedo* et certains taxons sexués affines. L'analyse chromosomique des individus de cette région va sans doute se révéler d'une importance essentielle pour la poursuite de nos recherches.

Keywords: Orthoptera, Saginae, *Saga pedo*, karyotype, intergradation area.

Depuis 2004 le G.E.E.M. s'est engagé dans une étude sur la sous-famille des *Saginae* (Orthoptères Tettigoniidae) en Europe avec, comme axe principal, la recherche de l'origine phylogénétique de l'espèce parthénogénétique *Saga pedo* (Pallas 1771). Ces recherches nous ont amené à réaliser plusieurs élevages pour expérimenter des hybridations entre *S. pedo* et certaines espèces sexuées affines : *Saga rammei* Kaltenbach 1965 ; *S. hellenica* Kaltenbach 1967 et *S. campbelli* Uvarov 1921. Nous avons ainsi pu vérifier l'absence de barrière d'isolement éthologique, mécanique ou gamétique, par la naissance d'hybrides issus de croisements entre *S. pedo* et *S. rammei*, qui à leur tour se sont accouplés (Lemonnier-Darcemont & Darcemont 2006).

En 2007, afin d'approfondir une de nos hypothèses selon laquelle *S. pedo* serait issue d'hybridation(s), nous avons ciblé nos travaux sur trois orientations prioritaires : 1. Analyse cytogénétique des *Sagas* européennes ; 2. Accouplements croisés entre *S. pedo*, *S. rammei* et *S. hellenica*, en élevage ; 3. Prospections de terrain dans le sud-ouest des Balkans, sur certains points de contact éventuels entre les trois taxa cités ci-dessus.

Les premiers résultats sont exposés dans cet article.

Matériel et méthodes

Analyse cytogénétique

Les caryotypes des différentes espèces européennes ont été réalisés, à l'exception de *Saga rhodiensis* Salfi 1929, taxon qui se cantonne à l'île de Rhodes (Grèce) et dans le sud de l'Anatolie (Turquie asiatique).

Matériel biologique

Saga natoliae : une femelle juvénile collectée en avril 2007, sur la commune de Eresos dans l'île de Lesbos, en Grèce (39°10'N 22°55'E).

Saga hellenica : un mâle juvénile de nos pontes 2005. La souche provient de la commune de Pardalitsa, dans la région de Macédoine occidentale, en Grèce (39°30'N 20°38'E).

Saga rammei : un mâle juvénile de nos pontes 2003. La souche provient de la commune de Olympiada dans la région de Macédoine occidentale, en Grèce (40°35'N 23°46'E).

Saga campbelli : un mâle juvénile de nos pontes 2005. La souche provient de la commune de Messi, dans la région de Thrace, en Grèce (40°59'N 25°12'E).

Saga pedo : une femelle juvénile collectée sur la commune des Mayons, dans le département du Var en France (43°17'N 6°21'E) et deux femelles juvéniles de nos pontes 2003. La souche provient de la commune de Coursegoules, dans le département des Alpes-Maritimes en France (43°45'N 7°02'E).

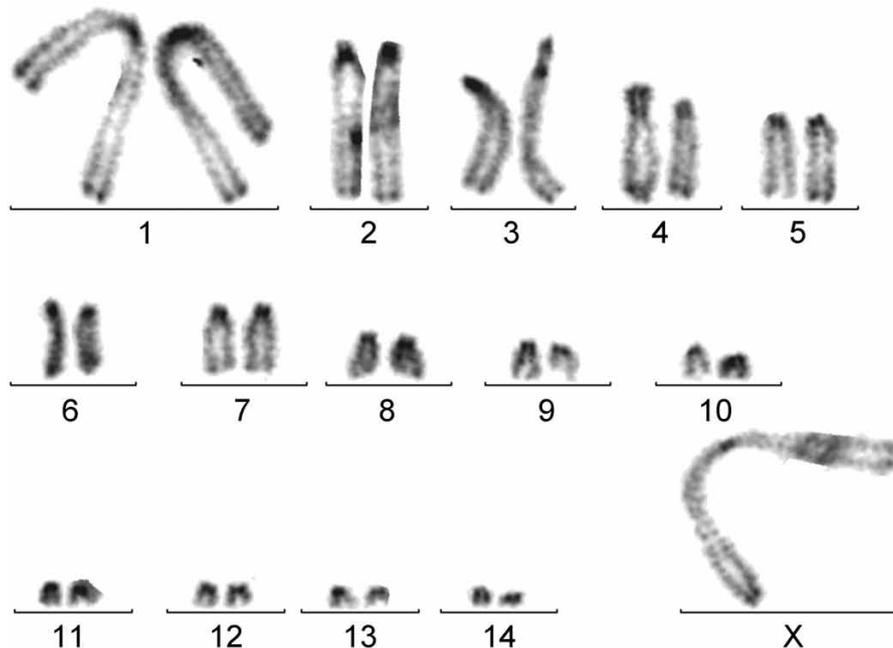


Figure 1

Caryotype de *Saga hellenica* mâle après marquage en bandes C. L'hétérochromatine (en sombre) est peu abondante et variable sur les bras courts des acrocentriques. *Karyotype of Saga hellenica male after C-banding. Heterochromatic components are small and variable on acrocentric short arms.*

Protocole

Après nutrition la veille, une injection intra-abdominale de 50 microlitres de colcémide à 0,04 milligramme par millilitre est réalisée trois heures avant le sacrifice. L'animal est anesthésié par l'acétate d'éthyle et disséqué afin de découvrir la cavité thoracique. La partie dorsale de celle-ci est raclée doucement avec des épingles montées. Les amas cellulaires récupérés sont mis en suspension et dissociés dans du sérum de veau fœtal dilué (sérum : 1 vol./ eau bi-distillée : 3 vol.) et laissés 15 minutes. Après centrifugation, les culots cellulaires sont repris dans du fixateur de Carnoy (éthanol 3 vol. : acide acétique 1 vol.) et laissés reposer une heure. Après changement de fixateur, les suspensions cellulaires sont étalées sur lame, selon nos techniques habituelles. Les préparations sont colorées par le Giemsa, photographiées, puis traitées pour obtenir des bandes C et photographiées à nouveau (Dutrillaux *et al.* 2006).

Investigations de terrain dans la partie sud-occidentale des Balkans

La donnée la plus méridionale de *S. pedo* dans les Balkans (F. Willemse *comm. pers.*) a déterminé notre point de départ, sachant que dans cette région, la relative proximité de *S. hellenica* et de *S. rammei* (Kaltenbach 1967 ; Willemse 1984) ne rendait pas improbable leur cohabitation sur les mêmes territoires.

La zone explorée se situe le long de la chaîne de Macédoine,

dans les régions méridionales de l'Ex-République Yougoslave de Macédoine (E.R.Y.M.), de l'Albanie et du nord-ouest de la Grèce. Elle s'étend depuis le Mont Galičica au sud-est du lac Ohrid (E.R.Y.M.), redescend vers le sud-ouest des lacs Prespa, dans le secteur du Mali I Thatë (Albanie), jusqu'à la frontière grecque, sur la montagne de Triklario. Ce secteur est constitué de montagnes calcaires fortement karstifiées, colonisées par des formations végétales aux affinités méditerranéennes marquées, entre 1400 m et 1760 m d'altitude. Les prospections ont été programmées de juillet à début août 2007, période d'occurrence optimum pour les adultes de Saginae en montagne.

Résultats

Analyse chromosomique

Saga hellenica (fig.1). Son caryotype comprend 29 chromosomes, dont une paire de grands submétacentriques. Chez le mâle étudié, un troisième grand submétacentrique correspond à l'unique chromosome X. Comme chez de nombreux autres Orthoptères, il n'y a pas de chromosome Y. Tous les autres chromosomes sont acrocentriques, et leur taille décroissante permet de former trois groupes : paires 1, 2 et 3 (grands); 4-7 (moyens) et 8-14 (petits). Les

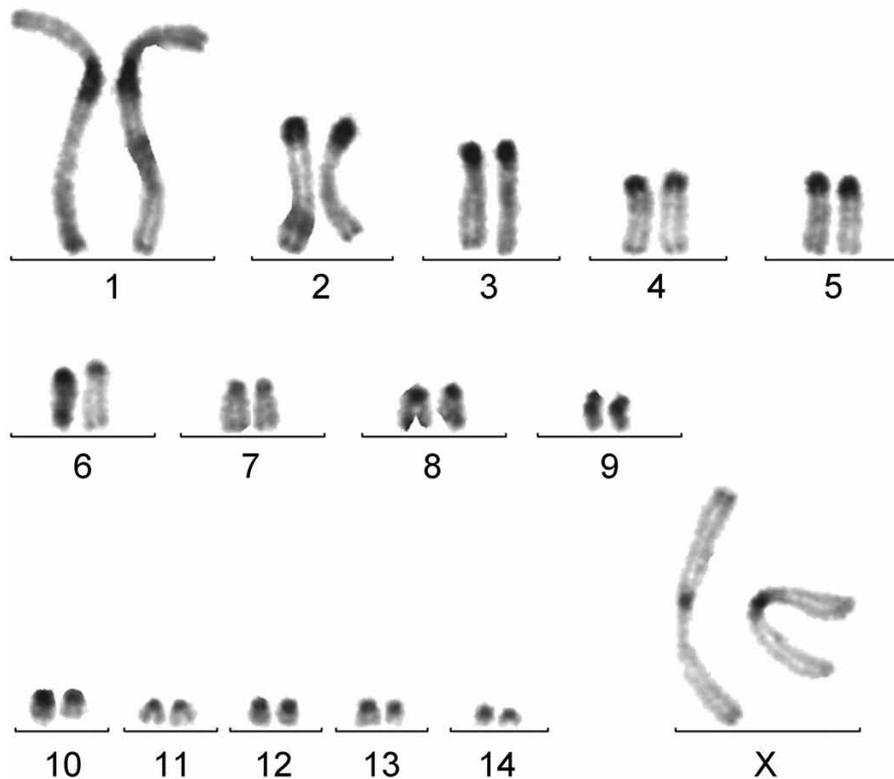


Figure 2

Caryotype de *Saga natoliae* femelle en bandes C. L'hétérochromatine est plus abondante, en particulier dans la région du centromère de la paire n°1. C-banded female karyotype of *Saga natoliae*. Heterochromatin is more abundant, at chromosome 2 centromeric region in particular.

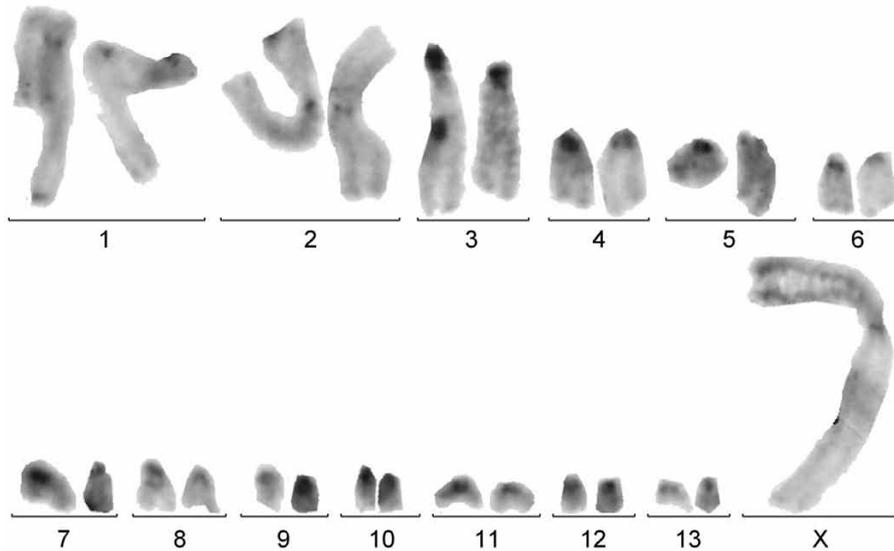


Figure 3
Caryotype en bandes C de *Saga campbelli* mâle. *C-banded male karyotype of Saga campbelli*.

bras courts de ces acrocentriques sont, par définition petits, mais l'hétérochromatine qui les compose est d'importance variable, comme le montre le marquage C (coloration sombre sur les figures).

Saga natoliae (fig. 2). Chez la femelle étudiée, le caryotype comprend 30 chromosomes, dont deux paires de grands submetacentriques. L'une d'elles, qui a la même taille et la même morphologie que l'X de l'espèce précédente, correspond vraisemblablement aux deux X.

L'autre paire, classée en n° 1, a la même longueur relative que la paire 1 de *S. hellenica*, mais son centromère est plus distal et son marquage hétérochromatique est plus étendu autour du centromère. Les autres chromosomes, tous acrocentriques, peuvent être classés en trois groupes, comme précédemment. Au total, ce caryotype pourrait différer du précédent par un remaniement (inversion péricentrique et gain d'hétérochromatine) de la paire n° 1.

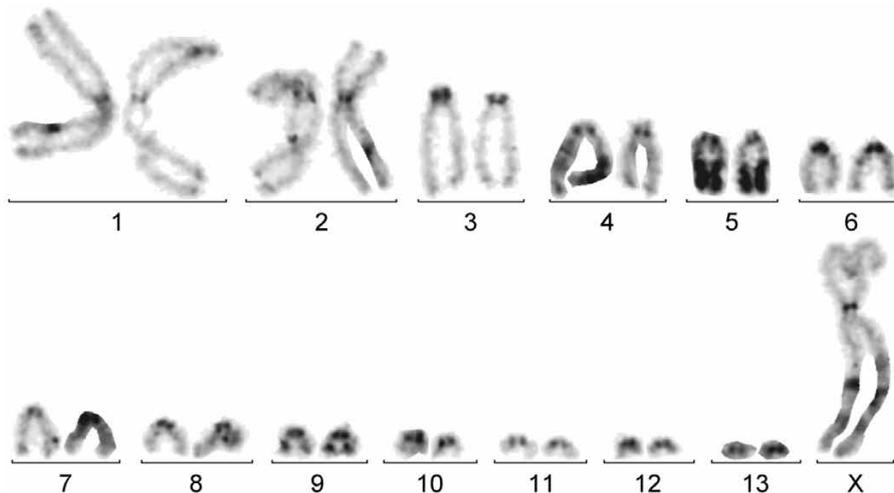


Figure 4
Caryotype en bandes C de *Saga rammei* mâle. La paire n°5 porte un grand fragment d'hétérochromatine. *C-banded male karyotype of Saga rammei*. *Pair n° 5 is carrier of a large heterochromatic fragment.*

Saga campbelli (fig. 3). Le caryotype de l'exemplaire mâle étudié comprend 27 chromosomes, dont cinq grands submetacentriques. L'un d'eux, probablement le plus grand, est l'X, et les quatre autres forment deux paires de grands autosomes (nos 1-2). Les autres chromosomes sont acrocentriques. La différence de longueur entre les deux plus grands acrocentriques est plus marquée que chez les espèces précédentes, ce qui peut signifier que les chromosomes équivalant aux nos 3-4 des deux premières espèces sont impliqués dans une translocation pour former la paire n° 2. Les chromosomes 4-7 et 8-13 pourraient former deux groupes correspondant aux moyens et petits acrocentriques des deux premières espèces.

Saga rammei (fig. 4). Le caryotype du mâle étudié est très semblable à celui de *S. campbelli*. Les seules différences visibles avec les techniques utilisées portent sur l'hétérochromatine. La paire n° 5 porte un long segment d'hétérochromatine, qui n'est retrouvé chez aucune des espèces précédentes. En revanche, les bras courts des acrocentriques sont globalement pauvres en hétérochromatine. La présence d'un grand segment d'hétérochromatine en position distale sur

un bras chromosomique, comme sur la paire 5, est un caractère caryologique rare. A part ces variations d'hétérochromatine, les caryotypes de *S. campbelli* et *S. rammei* sont proches, ils pourraient tous deux dériver de celui de *S. hellenica* par la même translocation robertsonienne. A notre connaissance, aucun des caryotypes précédents n'avait été décrit.

Saga pedo (figs. 5-6). Ce caryotype a déjà été décrit par Matthey (1941, 1946, 1948), comme comprenant 68 chromosomes. Nous en trouvons 70 sur les exemplaires des Alpes-Maritimes et du Var. Alors que Matthey décrit des paires de grands chromosomes, nous constatons qu'il est très difficile de former des paires, presque tous les grands chromosomes paraissant être en copie unique. Toutefois, le nombre et la taille des chromosomes laissent penser que ce caryotype comprend deux fois plus de matériel chromosomique que celui des espèces précédentes. Il serait donc bien tétraploïde, comme l'avait proposé Matthey. Par analogie avec les autres espèces de *Saga*, nous supposons que les quatre plus grands chromosomes sont les X. L'un d'eux porte un marquage hétérochromatique qui rappelle celui de la paire n° 5 de *S. rammei*. Huit autres

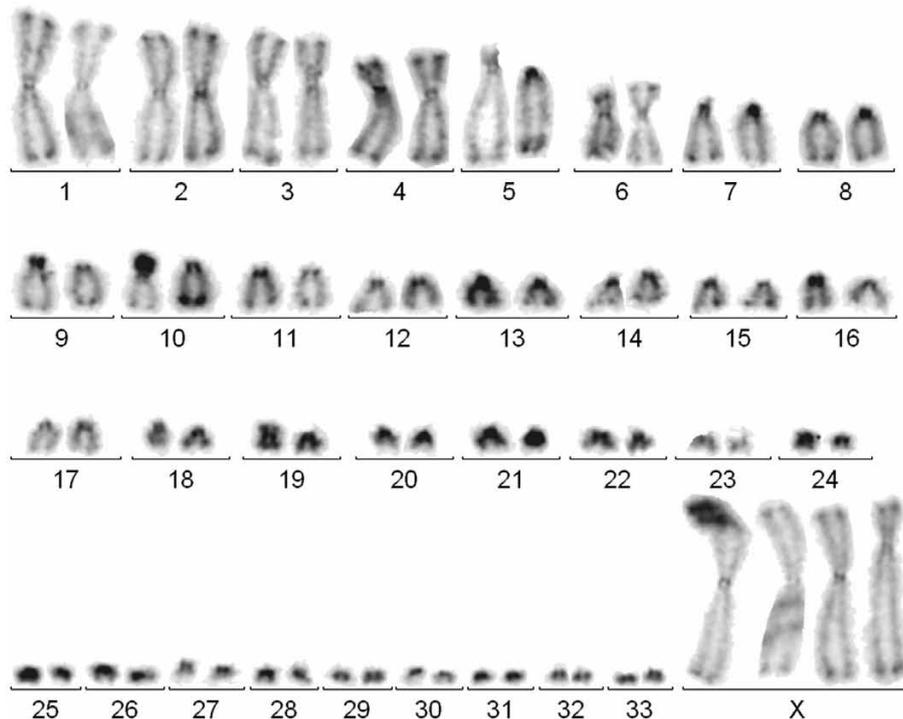


Figure 5

Caryotype en bandes C de *Saga pedo* femelle provenant des Alpes-Maritimes. Les quatre chromosomes X présumés ont été classés ensemble. Les autosomes ont été appariés artificiellement. La position des centromères, comme le marquage hétérochromatique, montre que de nombreux chromosomes sont en copie unique, bien que le caryotype soit apparemment tétraploïde. *C-banded female karyotype of Saga pedo from Alpes-Maritimes (France). The four presumed chromosomes X are classified together. Autosomes are artificially paired in spite of their obvious difference, many of them being in single copy.*

grands submetacentriques pourraient correspondre aux paires 1 et 2 de *S. rammei* et *S. campbelli*, dupliquées et remaniées. Quant aux 58 chromosomes restants, ils ne peuvent simplement correspondre à la duplication des acrocentriques de ces espèces, car on en attendrait que 44. Ainsi, quelle que soit leur origine, les chromosomes de *S. pedo* ne peuvent provenir de la superposition simple de deux génomes. Beaucoup de remaniements chromosomiques seraient survenus secondairement et auraient créé un état de forte hétérozygotie, reflété non seulement par les morphologies différentes des grands chromosomes, mais aussi par la variation des marquages hétérochromatiques des acrocentriques.

Prospections de terrain

Nos observations concernent deux régions (fig. 7).

Secteur du Mont Galičica, commune d'Ohrid (40°58'N 20°50'E), en E.R.Y.M.

Nous trouvons cinq individus adultes de *Saga pedo* sur l'ensemble du site, à la fin du mois de juillet (point G sur la carte). Les formations végétales intéressées sont situées autour de 1600 m d'altitude, en exposition sud-est, et sont composées de pelouses plus ou moins envahies par *Arctostaphylos uva-ursi* (L.), *Astragalus*

sp., *Satureja* sp., et *Juniperus* sp. De nombreuses autres espèces d'Orthoptères sont également recensées sur le site, avec une dominance de *Paracaloptenus caloptenoides caloptenoides* (Brunner von Wattenwil 1861) ; *Stenobothrus rubicundulus* Kruseman & Jeekel 1967 ; *Euchorthippus declivus* (Brisout, 1848) ; *Ephippiger ephippiger ephippiger* Fiebig 1784 ; *Decticus verrucivorus* (L. 1758).

Montagne de Triklario, commune de Kristallopigi (21°07'N E 40°48'), en Grèce

Un mâle de *S. hellenica* est collecté début août, au sud de la montagne de Triklario à 1761 m d'altitude (point Ks sur la carte), dans un vallonnet situé sur une pente à 30° en versant ouest, et recouvert par un tapis herbacé relativement dense. Cent mètres plus bas, dans le même type de biotope mais sur un replat, nous prélevons une femelle dont l'habitus correspond à *S. rammei*. Les Orthoptères sont abondants et nous remarquons surtout *Gampsocleis abbreviata* Hermann 1874, *Psorodonotus illyricus macedonicus* Ramme 1931, *Decticus verrucivorus* (L. 1758), *Celes variabilis* (Pallas 1771), *Stenobothrus rubicundulus* Kruseman & Jeekel 1967.

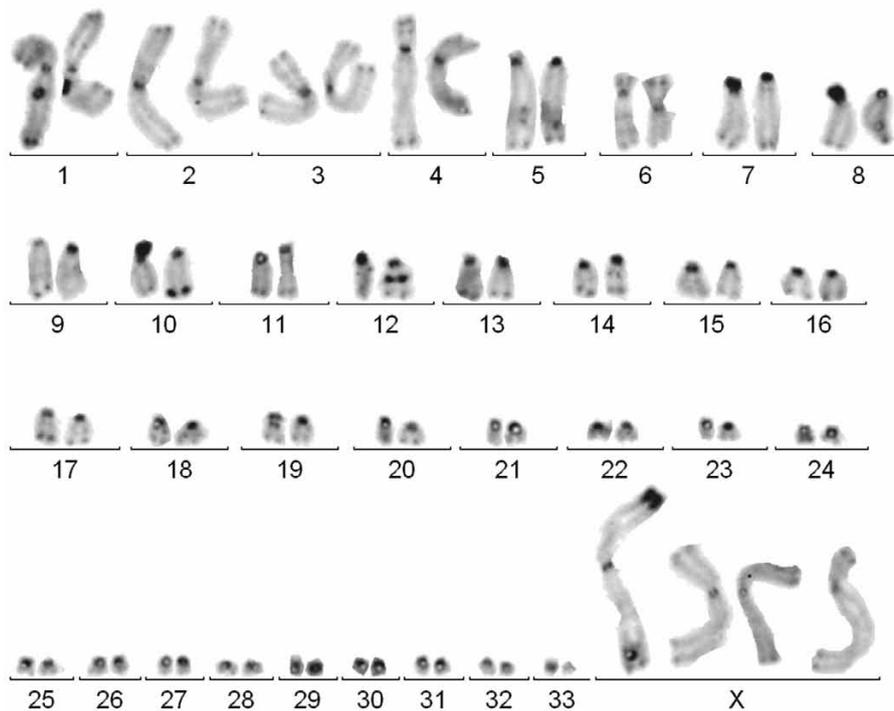


Figure 6

Caryotype de *Saga pedo* provenant du Var. Quelques marquages hétérochromatiques sont différents de ceux de la fig. 5. *C-banded female karyotype of Saga pedo from Var (France). Some C-bands differ from the previous karyotype.*

Au nord de la montagne de Triklario (point Kn sur la carte), deux jours plus tard, dans un milieu similaire mais à plus basse altitude (1492 m) en versant est, nous découvrons à moins de 50 m de distance deux femelles dont une présente les caractéristiques de *S. pedo* et la seconde un habitus intermédiaire entre *S. hellenica* et *S. rammei*. La première femelle porte encore à la base de son oviscapte les vestiges d'un spermatophore, ce qui indique un accouplement récent. Dans cet étage de végétation la saison est déjà très avancée et le peuplement d'Orthoptères moins diversifié que dans les régions élevées, d'autant plus que la sécheresse particulièrement marquée de cette année est encore accentuée par les incendies récents qui se sont produits à proximité du site. Nous trouvons néanmoins en nombre *Euthystira brachyptera* (Ocskay 1826), *Stenobothrus rubicundulus* Kruseman & Jeekel 1967, et *Euchorthippus pulvinatus* (Fischer de Waldheim 1846).

Discussion

Les données de la littérature sur les chromosomes des espèces du genre *Saga* sont anciennes, donc techniquement dépassées, mais heureusement informatives. Elles concernent trois espèces sexuées et *S. pedo* (Matthey 1941, 1946, 1948; Goldschmidt 1946). Parmi les espèces bisexuées étudiées, les mâles des espèces asiatiques *Saga ornata* Burmeister 1839 (= *S. gracilipes* Uvarov 1923) et *Saga cappadocica* Werner 1903 ont des caryotypes à 31 chromosomes, dont l'X est le seul grand submetacentrique. Le caryotype du mâle de cette dernière espèce comprend aussi un grand X submetacentrique, plus 33 chromosomes acrocentriques. De tels caryotypes, où tous les autosomes sont acrocentriques et l'X submetacentrique, sont assez fréquents chez les Orthoptères et en particulier chez les Tettigoniidae, dont beaucoup d'espèces possèdent autour de 30 chromosomes. Dans cette famille, les mâles sont généralement XO et les

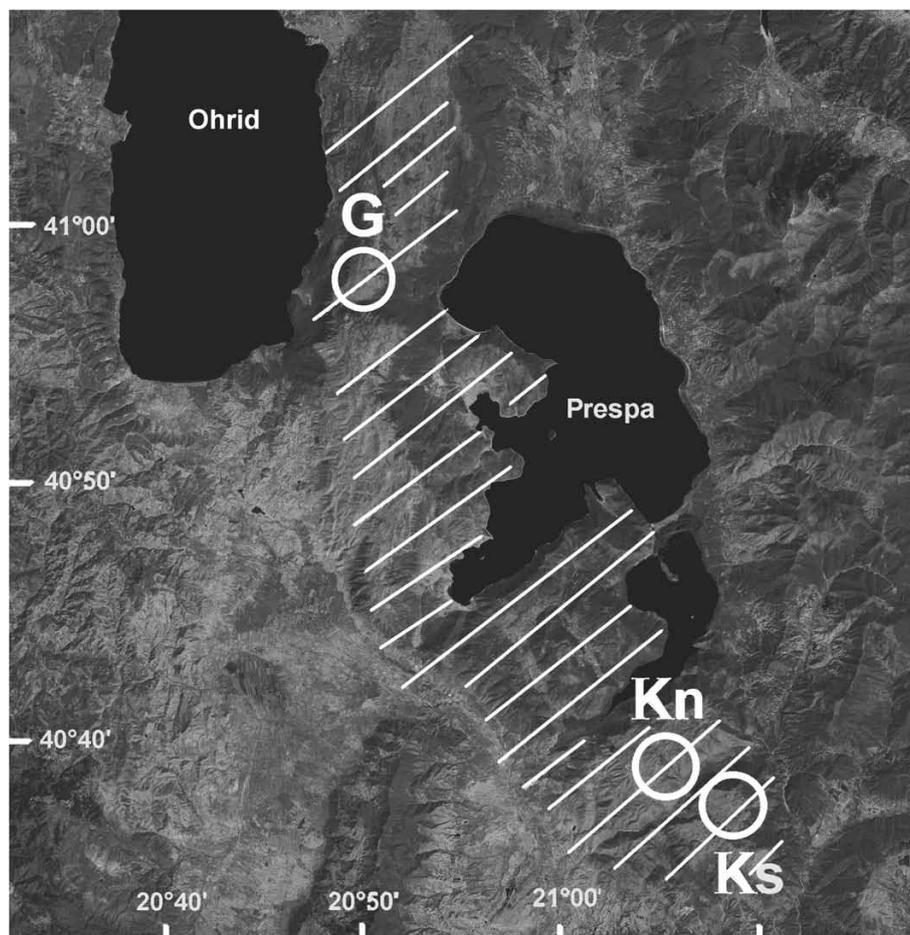


Figure 7
Observations de terrain de Saginae en 2007, dans le sud-ouest des Balkans. *Field observations of Saginae in 2007, in south-west of Balkans.*

femelles XX (Hewitt 1979), comme chez les espèces étudiées ici. Ainsi, les caryotypes de *S. ornata* et de *S. cappadocica* sont vraisemblablement proches du caryotype ancestral des Saginae. L'étude des quatre espèces diploïdes supplémentaires étudiées ici apporte quelques informations sur la phylogénie de cette sous-famille (Fig.8). Les caryotypes de *S. natoliae* et de *S. hellenica* possèdent 29 chromosomes, dont une paire d'autosomes submétacentriques. Il est aisé de concevoir que cette paire s'est formée par translocation robertsonienne entre des acrocentriques encore présents chez *S. ornata* et *S. cappadocica*. Ce processus est fréquent chez les invertébrés comme chez les vertébrés. Les caryotypes de *S. hellenica* et de *S. natoliae* se seraient ensuite différenciés par la survenue d'une inversion ayant touché la paire n°1 de l'un des deux.

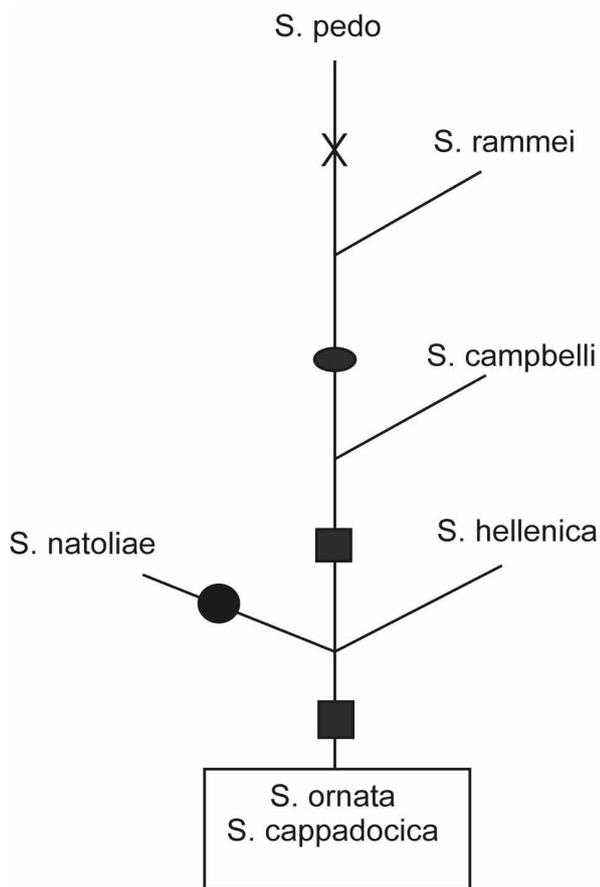


Figure 8

Reconstitution de l'arbre phylogénétique de quelques espèces de Saginae basé sur l'accumulation de remaniements chromosomiques. Carré : translocation robertsonienne ; cercle : inversion péricentrique ; ovale : addition d'hétérochromatine ; croix : tétraploïdisation. *Phylogenetic positions of some Saga species proposed after analysis of chromosomal rearrangements.* Square: Robertsonian translocation; circle: pericentric inversion; oval: heterochromatin addition; cross: tetraploidization.

Les caryotypes de *S. campbelli* et de *S. rammei* marquent une étape de plus dans l'évolution robertsonienne, avec une paire de submétacentriques de plus et deux paires d'acrocentriques de moins. Enfin, le caryotype de *S. rammei* montre une particularité n'existant pas ailleurs : l'acquisition d'hétérochromatine en position distale sur une paire d'acrocentriques. Cette acquisition, qui correspond à une amplification de séquences d'ADN hautement répétée, est banale lorsqu'elle survient dans la région des centromères et sur les bras courts attenants. Sa localisation distale, comme ici, est beaucoup plus rare, et signe un événement dont nous retrouverons la trace chez *S. pedo*.

Les 70 chromosomes de *S. pedo* se répartissent dans une gamme de tailles et de formes que l'on retrouve chez les espèces précédentes. Leur nombre élevé ne peut donc s'expliquer que par un événement de tétraploïdisation, en accord avec l'hypothèse de Matthey (1946). Toutefois, le caryotype de *S. pedo* est loin de correspondre à la juxtaposition de deux des caryotypes précédents. Son caractère exceptionnel provient de son très fort taux d'hétérozygotie, rendant difficile la constitution des appariements, et encore plus des quadruplets, et ce pour tous les chromosomes. Le caractère tétraploïde résulte le plus souvent de l'endoreduplication d'un même génome. Dans ce cas, tous les chromosomes forment des quadruplets. Le mécanisme d'endoreduplication semble donc très improbable ici. La tétraploïdie peut aussi résulter de l'addition de deux génomes, qui, s'ils différents, ne permettront que d'établir des doublets. Bien que cela ne soit pas observé ici, c'est l'hypothèse la moins improbable, car elle nécessiterait moins de modifications ultérieures, mais cela mérite quelques commentaires : 1) Quelques paires peuvent être formées, comme les n°s 1 et 2, et probablement aussi quelques acrocentriques. Elles peuvent donc provenir d'un même caryotype diploïde. 2) L'hétérochromatine à localisation distale, observée chez *S. rammei*, se retrouve aussi chez *S. pedo*, mais sur deux chromosomes différents. L'un pourrait être un X, et l'autre un chromosome 10. Donc, les équivalents de la paire 5 de *S. rammei* auraient pu être secondairement remaniés, l'un par translocation sur l'X et l'autre par réduction de taille de son contenu hétérochromatique. Cette notion de remaniements secondaires à la tétraploïdisation et à l'acquisition de la reproduction parthénogénétique pourrait être la clé du mystère qui entoure l'origine du caryotype de *S. pedo* depuis si longtemps. En effet, les auteurs précédents, en voulant former des quadruplets chromosomiques, aboutissaient à une impasse. Ils supposaient, en outre, que la parthénogénèse fige l'évolution chromosomique, car il n'y a plus de méiose, et que la descendance

devient un clone immuable de son parent. Or, on sait aujourd'hui que l'instabilité des chromosomes peut se manifester dans tout type cellulaire et à tout stade. Nos observations sur *S. pedo* mènent à l'hypothèse exactement inverse, car la présence de nombreux chromosomes en copie unique démontre qu'ils se sont formés par remaniements, postérieurement à la tétraploïdisation, présumée être contemporaine de l'acquisition de la parthénogénèse. Ainsi, l'absence de méiose supprime un facteur important de contre-sélection des remaniements chromosomiques, pour peu que ceux-ci restent équilibrés, c'est-à-dire n'entraînent ni duplication, ni déficience d'euchromatine. Ceci peut aboutir à créer, au sein de l'espèce, une diversité chromosomique qui s'accroîtra au fil des générations. Pour une espèce qui se déplace facilement, cela devrait se retrouver avec l'éloignement géographique. Effectivement, les caryotypes des spécimens du Var et des Alpes-Maritimes montrent quelques différences, en particulier de leur hétérochromatine. Le génome n'est donc pas figé par la reproduction parthénogénétique. Il sera donc du plus haut intérêt de rechercher s'il existe des différences caryotypiques plus grandes entre des spécimens provenant de régions plus distantes.

Comme nous venons de le voir, ces résultats nous laissent envisager le mécanisme d'endoreduplication comme très improbable, et nous permettent par conséquent de formuler deux hypothèses quant à l'origine de *S. pedo*.

S. pedo, issu d'hybridations d'espèces sexuées aujourd'hui disparues, s'est dispersé sur un vaste territoire. Dans ce cas, des évolutions différenciées du matériel chromosomique ont pu se produire en fonction des zones géographiques. Par rapport aux populations analysées, celles qui sont situées à proximité des régions occupées par les espèces sexuées actuelles ne devraient pas *a priori* présenter une plus grande similitude génétique avec ces dernières.

S. pedo provient d'un processus d'hybridation se poursuivant actuellement. Dans ce cas, les populations proches de la zone de séparation devraient statistiquement montrer certaines particularités qui les rapprochent des espèces sexuées circonvoisines. En revanche, si nous nous écartons de la (ou des) région(s) présumée(s) d'origine, les populations proviennent de générations plus anciennes et le matériel chromosomique a pu évoluer davantage.

Sur le secteur de Kristallopigi en Grèce, la présence de *S. pedo*, *S. hellenica* et *S. rammei* est avérée. La découverte d'une femelle fécondée de *S. pedo*

indique que des accouplements spontanés *in situ* sont possibles. Enfin, l'existence d'individus aux caractères morphométriques intermédiaires, hybrides potentiels, laisse fortement penser à une zone d'intergradation.

L'analyse cytogénétique des individus de cette région va se révéler d'une importance capitale pour la poursuite de ces recherches.

Les résultats de nos expérimentations ont déjà révélé l'absence de barrière prézygotique entre *S. pedo* et *S. rammei*. Par ailleurs, en 2007 nous avons obtenu en élevage plusieurs accouplements spontanés croisés entre les différents taxons affines : *S. rammei*, *S. campbelli*, *S. pedo* et *S. hellenica*. La viabilité gamétique demeure une interrogation à laquelle nous ne pourrions répondre avant une période de deux ou trois années, ce qui est un délai moyen pour la maturation des œufs.

Remerciements. Nous tenons à remercier Simone Lemonnier pour la gestion des élevages durant nos missions ainsi que nos collègues et amis Claire & Jean-François Voisin, Fer & Luc Willemse, pour leurs support et conseils avisés.

Références

- Dutrillaux A., Moulin S., Dutrillaux B. 2006.** Use of meiotic pachytene stage of spermatocytes for karyotypic studies in insects. *Chromosome Research* 14: 549-557.
- Goldschmidt E. 1946.** Polyploidy and parthenogenesis in the genus *Saga*. *Nature* 158: 587-588.
- Hewitt G.M. 1979.** *Animal Cytogenetics, vol.3: Insecta 1:Orthoptera*. Gebrüder Borntraeger, Berlin-Stuttgart, 195 p.
- Kaltenbach A. 1967.** Unterlagen für eine Monographie der Saginae I. Superrevision der Gattung *Saga* Charpentier (Saltatoria: Tettigoniidae). *Beiträge zur Entomologie*, Berlin 17: 3-107.
- Kaltenbach A. 1986.** Saginae Saltatoria-Tettigoniidae, p. 1-92 in: **Wermuth H., Möhn E. (eds.), Das Tierreich, 103**, W. de Gruyter, Berlin, New York.
- Kaltenbach A. 1990.** The predatory Saginae, p.280-302 in: **Bailey W.J., Rentz D.C.F. (eds), The Tettigoniidae: biology, systematics and evolution**. Crawford House Press, Bathurst, 395 p.
- Lemonnier-Darcemont M., Darcemont C. 2005.** Hybridation entre *Saga pedo* (Pallas 1771) et *Saga rammei* Kaltenbach 1965 (Orthoptera: Tettigoniidae). *Annales de la Société Entomologique de France* (N.S.) 43(2): 249-252.
- Matthey R. 1941.** Étude biologique et cytologique de *Saga pedo* Pallas (Orthoptera-Tettigoniidae). *Revue suisse de Zoologie* 48(2): 91-142.
- Matthey R. 1946.** Démonstration du caractère géographique de la parthénogénèse de *Saga pedo* Pallas et de sa polyploïdie, par comparaison avec les espèces bisexuées *S. ephippigera* et *S. gracilipes*. *Experientia* 2(7): 1-3.
- Matthey R. 1948a.** Données nouvelles sur les chromosomes des Tettigoniides et la parthénogénèse de *Saga pedo* Pallas. *Revue suisse de Zoologie* 55(2): 45-56.
- Matthey R. 1948b.** A propos de la polyploïdie de *Saga pedo* Pallas. *Experientia* 4: 26.
- Willemse F. 1984.** *Catalogue of the Orthoptera of Greece. – Fauna Graeciae I*. Hellenic Zoological Society, Athens, 275 p.
- Willemse F. 1985.** *A key to the Orthoptera species of Greece. – Fauna Graeciae II*. Hellenic Zoological Society, Athens, 288 p.