

# Étude comparée de *Saga rhodiensis* Salfi 1929 et *Saga natoliae* Serville 1839 (Orthoptera : Tettigoniidae)

MICHÈLE LEMONNIER-DARCEMONT<sup>(1)</sup>, ANNE-MARIE DUTRILLAUX<sup>(2)</sup>,  
BERNARD DUTRILLAUX<sup>(2)</sup> & CHRISTIAN DARCEMONT<sup>(1)</sup>

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

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

**Abstract. A comparison of *Saga rhodiensis* Salfi 1929 and *Saga natoliae* Serville 1839 (Orthoptera: Tettigoniidae).** *Saga rhodiensis* is very close to *S. natoliae*, and the two species can copulate together. Moreover, the chromosomal analysis shows that their karyotype are similar, and also closely related to that of *S. hellenica*. But, based on the morphology, *S. hellenica* can be easily separated from the two other species, and no cross-mating has been successful within our breeding. As we found females of *S. natoliae* with criteria of *S. rhodiensis* far away from the known distribution of this species, we wonder about the relevance of these criteria. Additional researches are required to clarify the real status of *S. rhodiensis*.

**Résumé.** *Saga rhodiensis* se révèle très proche de *S. natoliae* et ces deux taxons s'acceptent mutuellement pour la copulation. En outre, ils constituent, avec *S. hellenica*, un groupe assez homogène au niveau chromosomique. Sur le plan morphologique *S. hellenica* se distingue aisément des deux autres espèces, et aucun accouplement croisé n'a pu aboutir dans nos élevages. La découverte d'individus femelles de *S. natoliae* présentant les critères morphologiques de *S. rhodiensis* bien au-delà de l'aire de distribution actuellement connue, nous interroge sur la pertinence de ces critères. Des investigations complémentaires sont nécessaires pour préciser le statut exact de *S. rhodiensis*.

**Keywords:** Orthoptera, Saginae, *Saga rhodiensis*, *Saga natoliae*, karyotype.

Les *Saginae* comportent treize espèces, réparties sur le continent européen et l'Asie paléarctique. Six se retrouvent en Europe, avec un pôle principal dans les Balkans, notamment en Grèce, en Macédoine (A.R.Y.M.) et en Bulgarie.

Depuis plusieurs années le G.E.E.M. a orienté une grande en partie de ses recherches sur la phylogénie de ce genre. En 2008, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'étude du caryotype des différentes Sagas présentes en Europe (Lemonnier-Darcemont *et al.*, 2008), à l'exception de *Saga rhodiensis* signalée uniquement sur l'île de Rhodes en Grèce, pour ce continent. En ce qui concerne les espèce sexuées, notre étude fait apparaître deux groupes : *S. natoliae* / *S. hellenica* et *S. rammei* / *S. campbelli*

La présente étude vient compléter notre travail précédent, en présentant le caryotype de *S. rhodiensis* ainsi qu'une synthèse comparative des critères qui permettent de séparer ce taxon de *S. natoliae*.

## Matériel et méthodes

### Etude cytologique

### Le matériel biologique

***Saga natoliae*.** Une femelle juvénile collectée en avril 2007, sur la commune de Eresos dans l'île de Lesbos, en Grèce (39°10'02"N 25°55' 56"E).

***Saga rhodiensis*.** Un mâle juvénile collecté en mai 2008, sur la commune d'Apolakkia dans l'île de Rhodes, en Grèce (36°03'21" N 27°47'24" E).

### Protocole

Une injection de colcémide est réalisée trois heures avant le sacrifice. Après anesthésie par l'acétate d'éthyle, les animaux sont tués par décapitation. Une incision longitudinale de toute la face ventrale permet d'extraire le tube digestif, non utilisé, et de donner accès à la partie interne du thorax et de l'abdomen. Celle-ci est grattée à l'aide d'aiguilles montées, après mise dans un verre de montre contenant du sérum de veau fœtal dilué au quart dans de l'eau bi-distillée ou du KCL à 0,55M.

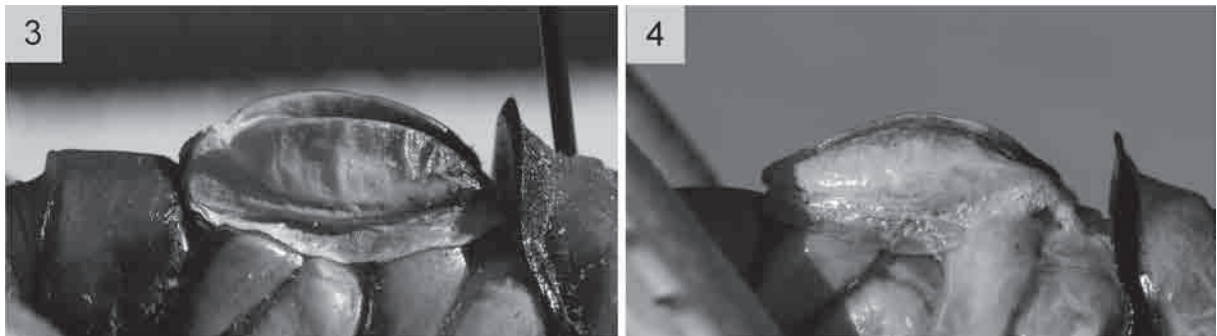
Les cellules en suspension sont reprises à la pipette pour être placées dans un tube et l'opération est répétée quatre fois. Après 15 minutes, les tubes sont centrifugés pour effectuer le reste de la technique comme décrit (Dutrillaux *et al.* 2006, 2007).

**Tableau 1.** Mesures comparatives entre *Saga natoliae* et *Saga rhodiensis*, d'après Kaltenbach (1986).

Longueurs en mm	<i>Saga natoliae</i>		<i>Saga rhodiensis</i>	
	♂♂	♀♀	♂♂	♀♀
Corps	51,5–81,5	60,0–88,6	49,0–84,0	54,0–84,0
Pronotum	10,0–17,5	11,5–20,0	10,4–17,5	11,3–21,0
Tegmina	7,5–10,8		6,7–8,5	
Oviscapte		31,0–45,0		29,0–37,0
Fémur postérieur	37,2–51,0	38,0–54,0	36,5–52,2	39,5–55,0

**Comparaison de différentes populations****Matériel biologique**

*Saga natoliae*. À l'exception d'un spécimen collecté dans la région de Kočani en République de Macédoine (A.R.Y.M.), le matériel biologique étudié provient essentiellement de Grèce du Nord : Chalcidique et région des lacs Prespa en Macédoine occidentale, île de Lesbos en mer Égée.

**Figures 1–2**  
Cercues. 1, *Saga natoliae* ♂; 2, *S. rhodiensis* ♂.**Figures 3–4**  
Tegmina. 3, *Saga natoliae* ♂; 4, *S. rhodiensis* ♂.**Figures 5–6**  
Plaque sous-génitale. 5, *Saga natoliae* ♀; 6, *S. rhodiensis* ♀.

***Saga rhodiensis*.** Tous les individus ont été collectés sur l'île grecque de Rhodes, en mer Égée.

**Protocole**

Afin de séparer les deux espèces, nous avons utilisé les clés taxonomiques de Kaltenbach (1967, 1986) où seuls les caractères morphologiques externes sont pris en compte.

Relevés de terrain : les stations de *S. natoliae* ou de *S. rhodiensis* font l'objet lors de nos prospections, d'un relevé le plus complet possible (altitude ; type de sol ; structure et formation végétale avec liste des principales plantes représentées ; autres Orthoptères présents sur le site).

Les populations sont dénombrées. Chaque individu recensé est mesuré, le sexe et le stade larvaire pour les juvéniles sont notés, de même que la météo et l'activité de l'insecte au moment de l'observation (insolation, déplacement, prise de nourriture, etc.).

Ces informations sont complétées par diverses données issues de la littérature (Kaltenbach 1967, 1970, 1986), ou de communications personnelles de collègues (F. & L. Willemse, K-G Heller).

Élevage et reproduction : plusieurs grandes cages en bois de différentes tailles, coiffées par un toit, et recouvertes sur les quatre côtés de toile type moustiquaire sont disposées à l'extérieur, sur un terrain exposé au sud. Elles sont protégées de l'excès du soleil par des oliviers. Une petite station météo autonome placée à proximité, nous permet de recueillir des

mesures régulières, à corrélérer avec certains comportements et la biologie de ces insectes.

La plupart du temps, les individus sont isolés. Un regroupement de deux à trois individus peut être réalisé dans les tous premiers stades mais jamais au-delà du troisième, compte tenu des risques de cannibalisme plus élevés.

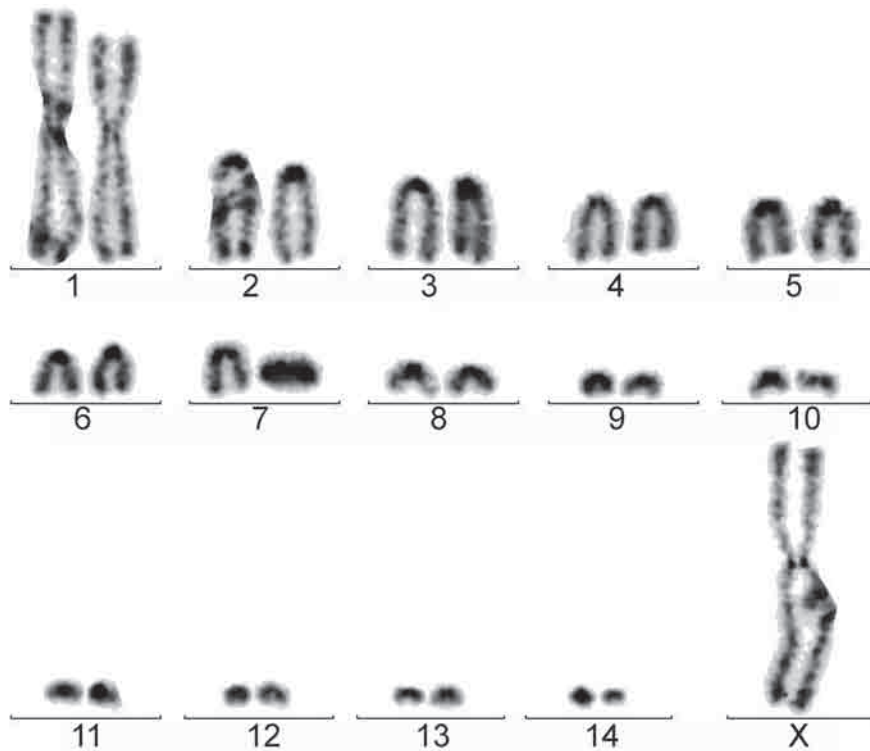
Mâle et femelle adultes ne sont mis en relation que brièvement pour l'accouplement et toujours sur une aire semi-naturelle spacieuse, afin de limiter les éventuels comportements agressifs des partenaires, liés à la promiscuité.

**Résultats**

**Morphologie**

Les caractères discriminants entre ces deux taxa sont principalement constitués par la forme des cerques et des tegmina chez les mâles, et de la plaque sous génitale chez les femelles (Kaltenbach 1967, 1986) (fig. 1–6).

Pour l'ensemble des mesures extrêmes, l'écart entre les deux espèces semble peu élevé si ce n'est dans la longueur de l'oviscapte des femelles ou celle des tegmina des mâles (Cf. Tableau I). Par ailleurs, nous notons à propos de notre matériel d'étude, un ratio longueur du corps / longueur de l'oviscapte plus élevé chez *S. rhodiensis* que chez *S. natoliae*.



**Figure 7**  
Caryotype en bandes C de *Saga rhodiensis* mâle.

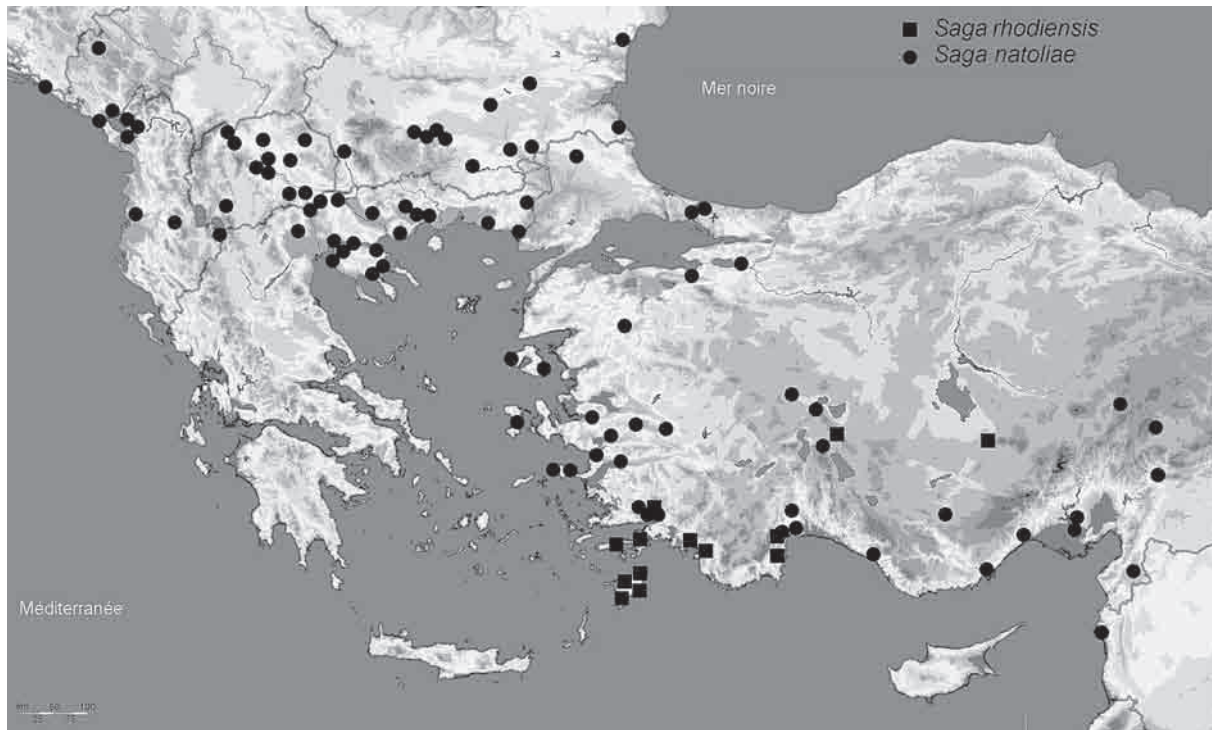
### Analyse chromosomique

***Saga natoliae*.** Nous avons récemment décrit son caryotype femelle (Lemonnier-Darcemont *et al.* 2008), qui comprend 30 chromosomes, dont seules les deux plus grandes paires chromosomiques (X et n°1) ne sont pas acrocentriques : l'une est franchement sub-métacentrique et riche en hétérochromatine, et l'autre presque métacentrique. Seul un caryotype femelle isogamétique (XX) ayant été étudié par nous, une confusion restait possible entre les chromosomes 1 et X, de longueur relative assez proche. Heureusement, l'analyse d'une cellule mâle en métaphase a été récemment publiée, où il n'apparaît qu'un seul grand sub-métacentrique (Warchalowska *et al.* 2007). L'X est donc ce sub-métacentrique. On notera que, dans notre caryotype, comme dans la métaphase publiée par Warchalowska *et al.* (2007), les grands acrocentriques (n° 2 à 6 dans notre caryotype), ont une hétérochromatine juxta-centromérique fortement marquée en bandes C.

***Saga rhodiensis*.** Le caryotype du mâle étudié ici comprend 29 chromosomes, en accord avec Warchalowska *et al.* (2007). Il existe trois grands sub-métacentriques, la paire n°1 et l'X, les autres chromosomes étant acrocentriques. La présence d'un

seul X et l'absence d'Y est habituelle chez les *Saga* mâles. Le caryotype de la femelle est à 30, XX. L'X unique du mâle peut aisément être différencié de la paire n°1 par sa taille et la présence d'une bande C juxta-centromérique bien marquée, alors qu'elle est très réduite sur la paire n°1 (Fig. 7). Après mesure des chromosomes de cinq caryotypes, l'X est plus grand ( $217 \pm 9,4 \mu\text{m}$ ) que la paire n°1 ( $182,1 \pm 13,9 \mu\text{m}$ ), mais leurs indices centromériques (rapport longueur du bras court sur longueur totale) sont semblables ( $0,415 \pm 0,024$  versus  $0,427 \pm 0,016$ ). Les chromosomes acrocentriques ont une taille progressivement décroissante, comme chez *S. natoliae*, mais leur hétérochromatine est moins abondante. Sur la métaphase publiée par Warchalowska *et al.* (2007), l'hétérochromatine de l'X est beaucoup plus abondante que chez notre spécimen.

Au total, le caryotype de *S. rhodiensis* est très proche de celui de *S. natoliae*. En première analyse, il se caractérise par la plus faible abondance de l'hétérochromatine des régions centromériques des autosomes, révélée par le marquage en bandes C. Il est possible qu'il diffère aussi par une inversion péricentrique du chromosome X, car celui-ci a un centromère plus médian chez *S. rhodiensis* que chez *S. natoliae*.



**Figure 8**  
Carte de répartition de *Saga natoliae* et *Saga rhodiensis*.



## Répartition

La distribution de *S. natoliae* s'étend depuis la Syrie au sud-est, jusqu'au Monténégro au nord-ouest, via l'Anatolie, et certaines îles grecques proches de la côte Turque, la Bulgarie, le nord de la Grèce, la Macédoine et l'Albanie.

*S. rhodiensis* affiche quant à elle une répartition beaucoup plus limitée. Elle se cantonne à l'extrême sud de l'Anatolie, principalement en Lycie et Carie ainsi que sur l'île grecque de Rhodes. La collecte en 2003, dans la région d'Halkidiki, au nord de la Grèce de femelles de *S. « natoliae »* dont la forme de la plaque sous-génitale semble plus proche de celle de *S. rhodiensis*, nous incite à nous interroger sur la pertinence de certains critères discriminants ou sur une éventuelle sous-estimation de l'aire de répartition de *S. rhodiensis*.

## Écologie

Les deux espèces se rencontrent depuis le niveau de la mer jusqu'à 1800 m d'altitude pour *S. rhodiensis* et 1700 m pour *S. natoliae* (Kaltenbach 1970) dans des biotopes *a priori* similaires, notamment dans les prairies à hautes herbes, les garrigues et les maquis lâches, les friches souvent en bordure de cultures (oliveraies, champs de céréales), les landes à buis et les lisières de forêts de feuillus. Si la plupart du temps ces insectes se trouvent dans la végétation herbacée ou sur des buissons bas ( $\leq 1$  m), à plusieurs reprises dans l'étage méditerranéen, nous avons eu la surprise d'observer des adultes de *S. natoliae* perchés dans des arbustes parfois jusqu'à près de 2 m de hauteur.

## Phénologie

Pour les deux espèces et à l'image de ce qui se produit généralement pour l'ensemble des Saginae européens, les premières naissances peuvent se produire dès le mois de mars dans les régions les plus chaudes. La période d'occurrence maximale se situe toutefois entre la première quinzaine d'avril et la mi-mai, d'après la littérature (Kaltenbach 1970), nos observations dans le sud des Balkans (Ile de Rhodes, Macédoine grecque, République de Macédoine) et nos relevés d'élevage entre 2004 et 2008. L'insecte est adulte après cinq à six mues, soit au bout de deux mois environ.

En ce qui concerne *S. rhodiensis* sur l'île de Rhodes, nos prospections dans les premiers jours de mai 2008 ont montré qu'au sein d'une même station, plusieurs stades présentant un écart important entre-eux, coexistent parfois : une majorité d'individus en J4-J5, un subadulte et également quelques rares individus encore en J2 localisés dans des zones fraîches, où la végétation est plus dense.

## Comportement reproducteur

Le comportement reproducteur de *Saga natoliae* et *Saga rhodiensis* s'avère analogue à celui des autres Saginae européens. Une fois de plus nous constatons lors de nos expériences d'élevage, que la stridulation du mâle semble avoir davantage un effet apaisant sur la femelle lors de l'accouplement qu'un rôle attractif préalable (Lemonnier-Darcemont & Darcemont, 2008). Les copulations étudiées en captivité sont habituellement brèves, entre 10 et 15 mn, rarement jusqu'à 30 mn et toujours inférieures aux observations faites par Kaltenbach (1970), qui cite une durée minimum d'une heure pour *S. natoliae*.

Durant l'été 2008, plusieurs essais réussis d'accouplements croisés entre deux femelles de *S. natoliae* provenant de notre élevage et un mâle de *S. rhodiensis* collecté à Rhodes, ont révélé qu'il n'existait pas de barrière mécanique entre ces deux taxa. Néanmoins, le spermatophyllax de *S. rhodiensis*, légèrement plus petit que celui de *S. natoliae*, tend à se décoller en grande partie de la plaque sous-génitale de la femelle, seulement quelques minutes après la copulation.

## Discussion

Le caryotype de *S. rhodiensis* est très proche de celui de *S. natoliae*, mais aussi de *S. hellenica* Kaltenbach 1967 (Lemonnier-Darcemont *et al.*, 2008, Warchalowska *et al.* 2007) : il comprend 29–30 chromosomes dont deux paires (X et n° 1) sont méta- ou sub-métacentriques. *S. ornata* Burmeister 1839 et *S. cappadocica* Werner 1903, possèdent une paire chromosomique de plus (Goldschmidt 1946), mais seul leur X est métacentrique. La paire n° 1 de *S. rhodiensis*, *S. natoliae* et *S. hellenica* s'est donc vraisemblablement formée par translocation robertsonienne (ou fusion centrique) de deux acrocentriques encore présents chez *S. ornata* et *S. cappadocica*.

A l'inverse, le nombre de chromosomes du caryotype de *S. campbelli* Uvarov 1921 et de *S. rammei* Kaltenbach 1965 s'est encore réduit, alors qu'il a gagné une nouvelle paire de métacentriques (Lemonnier-Darcemont *et al.* 2008). Le même processus de fusion centrique est donc vraisemblablement intervenu, plaçant le caryotype de *S. hellenica*, *S. natoliae* et *S. rhodiensis* en position intermédiaire. Quant à *S. pedo* (Pallas 1771), son caryotype polyploïde est plus difficile à situer, mais il possède 12 grands méta- ou sub-métacentriques, ce qui est compatible avec la duplication des trois paires observées chez *S. rammei* et *S. campbelli* ainsi que la survenue de modifications ultérieures.

*S. rhodiensis* constitue donc, avec *S. natoliae* et



Figures 9–11  
9, *Saga hellenica* ♀; 10, *Saga natoliae* ♀; 11, *Saga rhodiensis* ♀.

**Tableau 2.** Mesures comparatives entre *Saga rhodiensis* et *Saga hellenica*, d'après Kaltenbach (1986)

Longueurs en mm	<i>Saga rhodiensis</i>	<i>Saga hellenica</i>
Corps	49,0–84,0	48,0–78,0
Pronotum	10,4–21,0	8,3–15,2
Oviscapte	29,0–37,0	26–37,0
Tegmina	6,7–8,5	8,0–11,6
Fémur postérieur	36,5–55,0	36,4–52,0

*S. hellenica*, un groupe assez homogène au niveau chromosomique. Le caryotype de *S. rhodiensis* se caractérise par une faible abondance d'hétérochromatine en position juxta-centromérique sur les autosomes, comparé aux deux autres espèces. L'hétérochromatine constitue toutefois un matériel chromosomique non transcrit et variable. Sa réduction chez *S. rhodiensis* peut donc être un simple caractère individuel et l'étude d'autres individus reste donc nécessaire pour conclure.

Dans l'état actuel des résultats, il n'est pas possible de savoir si le caryotype de *S. rhodiensis* est plus proche de celui de *S. hellenica* ou de celui de *S. natoliae*. En dehors des variations de l'hétérochromatine, les trois caryotypes sont très proches, mais pourraient différer par la morphologie du chromosome X, plus métacentrique chez *S. hellenica*, plus sub-métacentrique chez *S. natoliae* et intermédiaire chez *S. rhodiensis*. Des inversions péricentriques seraient donc survenues après leur formation par translocation robertsonienne, mais leur ordre reste inconnu. Des distinctions notables existent entre le groupe *S. natoliae* / *S. rhodiensis* et *S. hellenica* tant au niveau des mesures morphologiques (Cf. Tableau II) que de l'habitus, même chez les femelles (Cf. Fig. 9–11). Par ailleurs, nos expériences d'accouplements croisés entre des mâles de *S. hellenica* et des femelles *S. rhodiensis* ou de *S. natoliae* se sont toujours soldées par un échec, avec impossibilité pour le mâle de former un spermatophore, malgré ses efforts insistants. Pour confirmer cette incompatibilité mécanique, il est toutefois nécessaire de faire l'essai de croisements entre des femelles de *S. hellenica* et des mâles de *S. rhodiensis*.

## Conclusion

La comparaison des caryotypes de *S. rhodiensis*, *S. natoliae* et *S. hellenica* révèle leurs affinités chromosomiques. En revanche, la proximité morphologique n'est vérifiée que pour les deux premiers taxa.

Des analyses caryotypiques complémentaires et moléculaires, le suivi de l'évolution des pontes issues des accouplements croisés, l'analyse fine de leur distribution et la réalisation sur le terrain de mesures morphométriques permettront peut-être de répondre aux questions qui restent encore en suspens sur le statut précis de *S. rhodiensis* et *S. natoliae*.

## Références

- Dutrillaux A. M., Moulin S., Dutrillaux B. 2006.** Use of pachytene stage of spermatocytes for karyotypic studies in insects. *Chromosome Research* **14**: 549-557.
- Dutrillaux A. M., Moulin S., Dutrillaux B. 2007.** Présence d'un caryotype très original à 53-54 chromosomes chez *Vesperus xatarti* Mulsant 1839 (Coleoptera : Cerambycidae : Vesperinae). *Annales de la Société entomologique de France* (n.s.), **43**: 81-86.
- Goldschmidt E. 1946.** Polyploidy and parthenogenesis in the genus *Saga*. *Nature* **158**: 587-588.
- 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. 1970.** Unterlagen für eine Monographie der Saginae II. Beiträge zur Autökologie der Gattung *Saga* Charpentier (Saltatoria: Tettigoniidae). *Zoologische Beiträge, Berlin* **16**: 155-245.
- Kaltenbach A. 1986.** Saginae Saltatoria-Tettigoniidae, p. 1–92 in: **Wermuth H., Möhn E. (eds.)**, *Das Tierreich*, 103, Berlin, New York (W. de Gruyter).
- Lemonnier-Darcemont M., Dutrillaux A.-M., Dutrillaux B., Darcemont C. 2008.** Recherches sur la phylogénie du genre *Saga* (Pallas, 1771) (Orthoptera : Tettigoniidae) : données chromosomiques. *Annales de la Société entomologique de France* (n.s.) **44**: 477-485.
- Lemonnier-Darcemont M., Darcemont C. 2008.** Quelques notes sur le comportement social et reproductif des *Saginae* européens (Orthoptera : Tettigoniidae). *Biocosme Mesogéen* **25**(1):29-38.
- Warchalowska-Sliwa E., Maryanska-Nadachowska A., Heller K.-G. 2007.** Cytogenetic variability of the genus *Saga* Charp. (Orthoptera, Tettigoniidae, Saginae): heterochromatin differentiation. *Caryologia* **60**: 29-36.

*Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays*

La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective » et d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple ou d'illustration, « toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite » (alinéa 1<sup>er</sup> de l'article 40).

Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal.

---