

gènes. La nature de l'organe utilisé semble indifférente, puisque nous obtenons des cas positifs dans les 5 séries d'expériences et que les pourcentages de réussite sont toujours très voisins. Ce pourcentage est légèrement supérieur lors des injections de broyats d'ovaires de femelles thélygènes. Les résultats des témoins ont toujours été négatifs: les implantations d'organes provenant de mâles normaux sont incapables d'induire le développement des oostégites chez les mâles normaux; il en est de même pour les injections de broyats d'ovaires de femelles normales.

Ces expériences démontrent que le facteur responsable de la différenciation d'oostégites chez les mâles intersexués peut être transmis expérimentalement à des mâles normaux; ceux-ci acquièrent l'une des caractéristiques morphologiques des intersexués. En général, la forme des gnathopodes n'est pas modifiée; dans 3 cas seulement ces gnathopodes ont évolué vers la forme des gnathopodes de mâles intersexués.

Une expérience complémentaire montre que les organes des mâles transformés en intersexués peuvent à leur tour induire l'apparition d'oostégites chez des mâles normaux. Des oostégites se sont différenciés quel que soit l'organe implanté: 6 cas positifs sur 11 avec les implants de glande androgène, 8/12 avec des implants testiculaires, 1/10 avec des implants de muscles, 1/8 avec des implants de vésicules séminales, soit un total de 16/41. Le pourcentage moyen de réussite (39%) est très voisin de celui obtenu dans la première expérience (40%). Nous pouvons conclure de cette expérience que le facteur responsable de l'intersexualité est capable de se multiplier dans des mâles normaux.

B) Implantations hétérospécifiques. Afin de déterminer si le facteur responsable de l'intersexualité est spécifique, des expériences analogues ont été réalisées en utilisant comme receveurs les mâles de deux espèces où l'intersexualité des caractères sexuels externes n'est pas connue: *Orchestia cavimana* et *Talitrus saltator*.

Chez *Talitrus saltator*, nous avons observé 11 cas positifs sur 13 et 19 sur 26 chez *Orchestia cavimana*. La proportion de cas positifs est, dans les deux espèces, supérieure à celle obtenue chez *Orchestia gammarellus*. Des indices d'une plus forte intersexualité se sont manifestées chez *O. cavimana*: les gnathopodes de quatre intersexués expérimentaux se sont différenciés et ont évolué vers une forme intermédiaire entre la forme mâle et la forme

femelle; d'autre part les oostégites de ces intersexués ont développé des soies juvéniles, ce qui n'a jamais été observé chez les intersexués d'*Orchestia gammarellus*.

Discussion. Ces expériences renforcent l'hypothèse de l'existence d'un facteur épigénétique responsable de l'intersexualité des mâles. Elles démontrent que ce facteur possède un pouvoir infectieux et qu'il n'est pas localisé dans les gonades. Les implantations hétérospécifiques indiquent une absence de spécificité du facteur, au moins entre espèces voisines.

L'aspect paradoxal du développement d'oostégites chez des mâles normaux doit être souligné. Chez *Orchestia gammarellus*, la différenciation des oostégites n'est pas un caractère sexuel neutre inhibé par la glande androgène. De nombreuses expériences⁶ ont démontré que la présence des ovaires est indispensable à la différenciation des oostégites: ceux-ci ne se différencient jamais spontanément chez des mâles privés de glandes androgènes, mais apparaissent après l'implantation d'un fragment d'ovaire. Nous retrouvons, lors de nos expériences, un résultat déjà observé par CHARNIAUX-COTTON⁷: les glandes androgènes des mâles intersexués peuvent induire l'intersexualité chez des mâles normaux. Cette action peut difficilement être imputée à des anomalies de l'hormone androgène comme le concluait CHARNIAUX-COTTON⁸, puisque d'autres organes de mâles intersexués ou de femelles thélygènes ont la même action.

On pourrait supposer que le facteur intersexualisant agit au niveau de la glande androgène et de l'appareil génital in situ. Toutefois, des observations préliminaires indiquent que la présence des glandes androgènes et des testicules autochtones n'est pas nécessaire à la différenciation des oostégites. Celle-ci a été observée après l'injection de 5 ml de broyat de muscles de mâles intersexués dans des mâles privés de leurs glandes androgènes ou de leurs testicules.

A titre d'hypothèse, on peut penser que le facteur responsable de l'intersexualité agit directement au niveau des cellules épithéliales intervenant dans la formation des oostégites.

⁶ H. CHARNIAUX-COTTON, in *Organogenesis* (Eds. H. DE HAAN and H. URSprung; Holt, Rinehart and Winston, New York 1965), p. 701.

⁷ H. CHARNIAUX-COTTON, C. r. Acad. Sci., Paris 245, 1665 (1957).

⁸ H. CHARNIAUX-COTTON, Bull. Soc. Zool. 87, 338 (1962).

Metabolic Requirements for Entry of DNA in *Branhamella catarrhalis*

G. BRYANT and R. B. OTERO¹

Department of Biological Sciences, Eastern Kentucky University, Richmond (Kentucky 40475, USA), 5 April 1976.

Summary. Although requirements for transformation in *Branhamella catarrhalis* are quite complex, DNA synthesis does not appear to be one of these needs, as indicated by the inability of nalidixic acid to interfere with transformation. Exogenous sources of energy, such as cAMP and cGMP, also failed to enhance frequency, suggesting cells may actively engage in energy production to achieve uptake of DNA, or lack a transport mechanism for these compounds.

Previous reports^{2,3} have shown that *Branhamella catarrhalis* (formerly known as *Neisseria catarrhalis*⁴) transformation can be inhibited with antibodies, various chemical inhibitors, and antibiotics. These studies have further demonstrated that *B. catarrhalis* transformation is dependent on: 1. protein synthesis as evidenced by chloramphenicol inhibition; 2. sites present on cell surface as sodium periodate and specific antibodies interfered

with transformational frequency; 3. cell wall formation as indicated by cycloserine interference; and 4. energy as shown by dinitrophenol intervention.

This study was concerned with the effects of nalidixic acid, an inhibitor of DNA synthesis⁵, to determine if this activity is required for DNA entry in this system. Also, the effects of adding an exogenous supply of energy molecules, such as cyclic adenosine monophosphate and

cyclic guanosine monophosphate, to the transformation system were examined to determine their ability to enhance transformation.

Materials and methods. The procedure for the preparation and isolation of a streptomycin-resistant mutant (STR) was similar to that of other investigators^{6,7}. The actual procedure for the STR transformation experiment has been described elsewhere^{2,3}. The minimal inhibitory concentration of nalidixic acid was determined according to the methods of GROOVE and RANDALL⁸. Competent cells were exposed to varying concentrations of this compound (100, 500 and 1000 μ g) for 30 min during the latter segment of the log phase. From this point, the transformation was completed as described elsewhere³. Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and cyclic guanosine monophosphate (cGMP), at concentrations of 10 μ g and 100 μ g per ml, were added to the transformational system in the same manner as the nalidixic acid.

Results and discussion. The results of 3 independent studies showed a very slight reduction in the transformational frequency as compared with the controls when nalidixic acid at the 500 μ g level was added to the log phase culture. No loss of viability at this concentration was observed. Greater concentrations demonstrated detrimental effects. These results indicate that DNA inhibition caused by nalidixic acid does not interfere with the transformation of *B. catarrhalis*, thus suggesting that nuclear replication may not be a prerequisite for this model. These results are similar to observations in other systems, such as *Neisseria meningitidis*⁹, *Bacillus subtilis*¹⁰, and *Streptococcus pneumoniae*¹¹. ARCHER and LANDMAN¹² have shown that donor DNA can enter a competent cell regardless of the location of replicative points of the recipient DNA on the membrane. This would indicate that DNA can enter at any point on the membrane where receptors are located, and not just at points where DNA synthesis is occurring.

The exposure of competent cells to cAMP and cGMP prior to the addition of DNA did not alter in any way the transformational frequency in this model system. Inhibitors of energy metabolism have been shown to block DNA uptake in the pneumococci^{13,14}; in *Hemophilus influenzae*¹⁵; in *B. subtilis*¹⁶; in *N. meningitidis*⁹ and in *B. catarrhalis*³. It seems reasonable that if energy is required for DNA uptake, supplying a population of com-

petent cells with a source of preformed energy molecules would be stimulatory to transformation. Although the role of these two chemicals in the cell is not completely understood, it appears that cAMP in particular may serve as an activator of synthesis of many catabolic enzymes¹⁷. WISE, POWERS and ALEXANDER¹⁸ have found that cAMP added to exponential cultures of *H. influenzae* raises the transformability of cells as much as 10,000 fold after one generation time in growth medium. Either these energy precursors have no stimulatory effect on this model, or the cells do not possess a transport system for them. Another alternative is that the cells must actively engage in energy metabolism to achieve uptake. This is supported by the work of LACKS and GREENBERG¹⁹ who have shown that an exogenous source of ATP cannot substitute for sugar in the medium for DNA uptake in *St. pneumoniae*.

¹ To whom reprint requests should be sent. Eastern Kentucky University Grant No. 05-03-422-41 was the sole support of this project and was given to the last author.

² R. B. OTERO and J. W. SNYDER, *Experientia* 29, 888 (1973).

³ J. L. KENNEDY, J. W. SNYDER and R. B. OTERO, *Experientia* 30, 1147 (1974).

⁴ R. E. BUCHANAN and N. E. GIBBONS, *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Williams and Wilkins, Baltimore 1974).

⁵ B. D. DAVIS, R. DULBECCO, H. N. EISEN, H. S. GINSBERG and W. B. WOOD, *Microbiology* (Harper and Row, New York 1973).

⁶ B. W. CATLIN, *J. Bact.* 79, 579 (1960).

⁷ J. MARMUR, *J. molec. Biol.* 3, 208 (1961).

⁸ D. C. GROOVE and W. A. RANDALL, *Medical Encyclopedia Inc.*, N.Y. (1965).

⁹ K. JYSSUM, *Acta path. microbiol. scand.* 77, 477 (1969).

¹⁰ A. M. PEDRINI, D. GEROLDI and A. FALASCHI, *Molec. gen. Genet.* 116, 91 (1972).

¹¹ H. EPHRUSSI-TAYLOR and B. A. FREED, *J. Bact.* 87, 1211 (1964).

¹² L. J. ARCHER and O. E. LANDMAN, *J. Bact.* 97, 166 (1969).

¹³ J. S. LEVINE and N. STRUSS, *J. Bact.* 89, 281 (1965).

¹⁴ A. TOMASZ, *J. Bact.* 101, 860 (1970).

¹⁵ J. H. STUY, *J. gen. Microbiol.* 29, 537 (1962).

¹⁶ N. STRAUSS, *J. Bact.* 101, 35 (1970).

¹⁷ R. Y. STANIER, M. DOUDOROFF and E. A. ADELBERG, *The Microbial World* (Prentice Hall, New Jersey 1970).

¹⁸ E. M. EISE, M. POWERS and S. P. ALEXANDER, *Bact. Proc.* (1973), p. 58.

¹⁹ S. LACKS and B. GREENBURG, *J. Bact.* 114, 152 (1973).

Insulin Resistance and Related Electrical Activity of the Small Intestine

M. RUCKEBUSCH and T. E. C. WEEKES¹

Laboratoire de Physiologie, Ecole Nationale Vétérinaire, 23, chemin des Capelles, F-31076 Toulouse Cédex (France), 24 December 1975.

Summary. Postprandial disruption of the migrating myoelectric complex is of longer duration in obese hyperinsulemic Zucker rats than in control rats. No postprandial disruption was seen in an insulin resistant dog. This gives further support to a major role for insulin in control of gut activity.

A cyclic recurring sequence of regular spiking activity (RSA) in which spike bursts are superimposed on all slow waves is characteristic of the small intestine in many species, e.g. rats or dogs fasted for 24 h². Each phase of RSA is preceded by a period of irregular spiking activity (ISA) and followed by a quiescent phase. This cyclic pattern has been called the migrating myoelectric complex (MMC), because of its slow propagation along the small intestine. The MMC recurs at intervals of about

15 min in rats and 80–110 min in dogs³. The MMCs disappear after feeding being replaced by a postprandial

¹ On leave from the Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen (Scotland).

² M. RUCKEBUSCH and J. P. FERRE, *C. r. Soc. Biol.*, Paris 167, 2005 (1973).

³ M. RUCKEBUSCH and J. FIORAMONTI, *Gastroenterology* 68, 1500 (1975).