

we have attributed the lysis as due to the bacteria present inside the cells. The healthy cell of this alga is a bivalved structure with the 2 halves containing dense chloroplast. Nucleus and other cell organelles are masked by the chloroplast in the healthy cell (figure, 1). Infection begins with the attachment of bacteria on the cell wall. Generally a few cocci were seen fixed on the cell surface but many were present inside the cells exhibiting advanced infection. This showed that the bacteria multiplied inside the cell (figure, 2). As the number of cocci increased, the algal cytoplasm receded from the cell wall. The pyrenoids decreased considerably in size in an infected cell (of np. 1 and 2). Some of the pyrenoids were also detached from the chloroplast as a result of bacterial lysis. There was little effect on the structural outline of the cell (figure, 2). In the next stage of lysis, the cytoplasm was reduced to a small spherical body occupying less than half the area in the cell. A few bacteria were attached on the surface of cytoplasm while most of them were embedded inside it. There was little change in cellular outline. At a more advanced stage, the lysed cytoplasm was seen escaping through a hole in one of the half-cells. Interestingly, at this stage, the cytoplasms of both the half-cells fused and appeared to flow-out in a continuum through the hole. Pyre-

noids were less in number and lay free in the cell (figure, 3). Further, at this stage numerous rod-shaped and coccoid bacteria were seen attached on the outer surface of the wall. These bacteria are attracted toward the wall presumably by the cytoplasmic lysate which has descended out (figure, 3).

Some cells containing the lysed cytoplasm break at the point of junction of the 2 halves. In several such cases, very few bacteria were seen at the point of breakage. The cause of breakage at the junction is ambiguous, especially because the whole of the cell wall remained intact. Several cells were completely devoid of cytoplasm and we consider this to be the final stage in the bacterial lysis of cytoplasm. The lysed cytoplasm and bacteria have escaped through a hole as that marked by arrow (figure, 4).

It is evident that coccoid bacteria attacking *Cosmarium* lyse only the cytoplasm and do not affect the wall. Pyrenoids are also much less affected, whereas the chloroplast is readily lysed. The whole process of lysis is completed within 48 h under laboratory conditions, although the time varies with alteration of many factors. Studies are in progress to determine the host range of this bacterium including some blue-green algae.

## Développement larvaire et déterminisme de la diapause nymphale chez un lépidoptère hétérocère, *Actias selene* Hbn. (Attacidae)

### Larval development and determinism of nymphal diapause in a lepidoptera, *Actias selene* Hbn. (Attacidae)

M. Vuillaume<sup>1</sup> et J. Bergerard<sup>2-5</sup>

*Laboratoire de Zoologie, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris Cédex 05 (France), 29 octobre 1976*

**Summary.** *Actias selene* has been reared under different conditions of lights, photophases and temperatures. The red light (630–670 nm) corresponding to the maximum of absorption of pterobilin and phorcabilin chromoproteins reduces the average length of development from 29 days to 50 days and totally inhibits the nymphal diapause. The results are discussed.

En 1971 une hypothèse<sup>6</sup> a été émise concernant une relation possible entre le déterminisme de la diapause nymphale, facultative de *Pieris brassicae* et le rôle photorécepteur d'un pigment tétrapyrrolique bleu-vert, la ptérobiline<sup>7,8</sup>. Une série d'expériences utilisant des lumières de différentes longueurs d'ondes sous divers énergies et photophases a montré la vraisemblance d'une telle hypothèse<sup>9-12</sup>. Actuellement 3 pigments tétrapyrroliques bleus sont connus chez les Lépidoptères: la ptérobiline, la phorcabiline et la sarpédobiline<sup>13,14</sup>. Les transformations photochimiques de la ptérobiline en phorcabiline et de la phorcabiline en sarpédobiline ont été établies *in vitro*<sup>15</sup> et les modalités physico-chimiques de telles réactions ont été précisées<sup>16</sup>. Le passage d'une structure à l'autre se fait par la cyclisation d'un groupe vinyle sur un cycle voisin conduisant à des molécules de propriétés différentes. Cependant l'existence de tels processus *in vivo* n'a pas encore été démontrée.

Avec *Pieris brassicae* on a pu établir une relation entre la longueur d'onde de l'absorption de la ptérobiline, la durée du développement larvaire d'une part, la mise en place de la diapause d'autre part. Il nous a paru intéressant de transposer une telle étude à un Lépidoptère ayant un mode de vie différent: l'hétérocère *Actias selene* (Attacidae). Cet insecte est caractérisé par la présence des 2 pigments bleu-vert: la ptérobiline et la phorcabiline<sup>13</sup>.

L'évolution de ces 2 pigments, tout au long du cycle biologique de même que leur biosynthèse ont été étudiées<sup>14</sup>. Dans le présent travail nous reportons les premiers résultats de ces expériences et montrons que la lumière rouge de longueur d'onde correspondant aux chromoprotéines de la ptérobiline et de la phorcabiline a une action puissante sur la durée du développement larvaire et l'inhibition du déterminisme photopériodique de la diapause.

**Méthodes.** Les lumières blanches, vertes et rouges sont celles précédemment définies<sup>9-11</sup>. La lumière du maximum d'absorption de la phorcabiline libre (570–610 nm) est celle fournie par une lampe à vapeur de sodium basse pression ORSAM (émission à 589 nm). Les énergies sont mesurées sous les couvercles de boîtes d'élevage, au niveau des animaux.

**Résultats.** 1. Les conditions de températures, neutre ou active, sur l'inhibition du déterminisme photopériodique de la diapause nymphale, facultative, d'*Actias selene* ont été précisées: 20°C est neutre; 25°C ne permet que 20% de développement continu; 27°C amène 100% d'émergence. Au delà de 32°C il y a une forte mortalité larvaire. 2. Les photophases diapauses sont celles habituellement rencontrées chez de nombreux insectes: 8 h ou 9 h/24 h; 16 h/24 h est responsable du développement continu.

3. Il y a un rapport entre la qualité nutritive de la nourriture (ici pommier ou prunier) et les durées de développement larvaire. Celles-ci sont minimales lorsque la qualité du feuillage est optimum. Un feuillage grêlé, atteint de mycose ou par la sécheresse amène une augmentation du temps de vie larvaire. Il est donc nécessaire de conduire les séries expérimentales complètes à la même époque pour analyser correctement les temps de vie larvaire.
4. La lumière rouge correspondant au maximum d'absorption des chromoprotéines de la phorcabiline et de la ptérobiline (630–670 nm), provoque (sous la photophase diapausante de 8 h/24 h, la température de 20°C, et lorsqu'elle est fournie dans les boîtes d'élevage avec une énergie quantique voisine, de celle de la lumière blanche expérimentale, de 1200 à 1400 p. Einsteins  $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
- une accélération spectaculaire du développement larvaire ( $\bar{m}: 29,13$  jours au lieu de 48,52 chez les témoins),
  - une inhibition totale de la diapause nymphale (le comportement physiologique et étiologique est parfaitement normal).
5. Lorsque l'énergie est diminuée de moitié (730 p. Einsteins  $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) nous n'obtenons plus cette double action. Cependant, dans sa substitution à la scotophase d'un rythme de 8 h/24 h en lumière blanche, elle conduit à 100% de nymphes à développement direct, sans accélération notable de la durée du développement larvaire.
6. La lumière correspondant au maximum d'absorption (570–600 nm) de la phorcabiline libre, fournie avec l'énergie quantique correcte, est sans effet sur le déterminisme photopériodique de la diapause mais amène un raccourcissement important de la vie larvaire ( $\bar{m}: 37,13$  jours au lieu de 48,52 jours).
7. La lumière du minimum d'absorption pigmentaire (lumière verte), toujours avec la photophase de 8 h/24 h et la température de 20°C, conduit à une mortalité des chenilles, supérieure à 76%, un asynchronisme dans les mues larvaires, une durée de développement plus importante que chez les témoins et à 100% de diapause nymphale.

**Conclusion.** La lumière correspondant à l'absorption maximum des chromoprotéines de la ptérobiline et de la phorcabiline, fournie dans des conditions d'énergie quantique voisine de celle de la lumière blanche, avec la photophase diapausante de 8h/24 h et la température neutre de 20°C, provoque chez *Actias selene* un double effet physiologique: raccourcissement spectaculaire de la durée de

vie larvaire et inhibition totale du déterminisme photopériodique de la diapause nymphale. Ce résultat précédemment obtenu chez *Pieris brassicae* dans les mêmes conditions de longueurs d'onde, d'énergie, de photophase et de température, ne devrait pourtant apparaître que sous des photophases et des températures élevées (par exemple 27°C et 16h/24 h d'éclairement). Nous pouvons donc établir une relation entre les longueurs d'ondes utilisées et le métabolisme de l'insecte sans qu'il soit cependant possible, dans l'état actuel des recherches, de définir (*in vivo* comme *in vitro*) la part d'activité des 2 chromoprotéines.

- 1 Laboratoire de Zoologie, Ecole Normale Supérieure, 46 rue d'Ulm, F-75230 Paris Cedex 05, France.
- 2 Station Biologique, F-29211 Roscoff, France.
- 3 Nous remercions M. Jacques, directeur-adjoint du Phytotron, C.N.R.S., F-91190 Gif-sur-Yvette, pour l'analyse des spectres lumineux et les mesures des énergies au niveau des animaux, ainsi que M. Hurpin et son équipe de l'I.N.R.A. (La Minière 78) pour la réalisation des élevages préliminaires et la fourniture des pommiers.
- 4 Nous remercions MM. Mauchamp, Brulfert et Lapadu, Laboratoire de Zoologie, E.N.S., F-75230 Paris Cedex 05, pour leur aide dans les élevages expérimentaux.
- 5 Nous sommes reconnaissants à M. Barbier, I.C.S.N., C.N.R.S., F-91190 Gif-sur-Yvette, pour des discussions. Ce travail a été effectué dans le cadre de l'A.T.P. d'Ecologie Physiologique du C.N.R.S., n° 4699-10.
- 6 M. Vuillaume, J. Seuge et J. Bergerard, C. r. Acad. Sci. Paris 273, 1608 (1971).
- 7 W. Rüdiger, W. Klöse, M. Vuillaume et M. Barbier, Experientia 24, 1000 (1968).
- 8 W. Rüdiger, W. Klöse, M. Vuillaume et M. Barbier, Experientia 25, 487 (1969).
- 9 J. Seuge, M. Vuillaume, R. Jacques et J. Bergerard, C. r. Soc. Biol. 166, 526 (1972).
- 10 M. Vuillaume, J. Seuge, R. Jacques et J. Bergerard, C. r. Soc. Biol. 166, 541 (1972).
- 11 M. Vuillaume, J. Seuge et J. Bergerard, J. Chronobiol. 2, 181 (1974).
- 12 M. Vuillaume, J. Insect Biol. 22, 1056 (1976).
- 13 M. Choussy et M. Barbier, Helv. chim. Acta 58, 2651 (1975).
- 14 M. Choussy, M. Barbier et M. Vuillaume, Biochimie 57, 369 (1975).
- 15 M. Choussy et M. Barbier, C. r. Acad. Sci. 282, 619 (1976).
- 16 R. Gautron, P. Jardon, C. Petrier, M. Choussy, M. Barbier et M. Vuillaume, Experientia 32, 1100 (1976).

## Elongated chromosomes in *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera, Pieridae) after treatment with colchicine

S. Rishi and K. K. Rishi<sup>1</sup>

Department of Zoology, B. N. Chakravarty University, Kurukshetra 132 119 (India), 18 August 1976

**Summary.** Elongated chromosomes, which can be arranged into karyograms on the basis of length, were obtained for the first time in *Pieris brassicae* L. (Pieridae: Lepidoptera).

To make the karyology of any group meaningful a detailed characterization of the karyotypes of the various species is very necessary. However, the lepidopteran chromosomes generally have a marked tendency to contract extremely and assume the form of small spherical or ovoid bodies at metaphase, and, except for the numerical counting, other features of the karyotypes cannot be characterized. The bulk of the chromosomal data on the lepidopteran species is due to the analyses of De Lesse,

Soumalainen, Saitoh and a few others<sup>2</sup>. These workers made extensive studies and reported many important observations with regard to the numerical details of the

- 1 Acknowledgments. We wish to express our sincere thanks to Dr A. K. Datta-Gupta, Professor and Head of our Department, for providing the research facilities and for encouragement.
- 2 R. Robinson, in: Lepidoptera Genetics, p. 687. Pergamon press, Oxford 1971.