

µg/ml, earlier found to be effective in producing chromosomal damage^{6,7}, is also capable of inducing chlorophyll mutations in barley. This finding seems to provide the first evidence that the drug induces gene mutations in plants. The mutagenic action of LSD could be due to its interaction with DNA²⁵, the mechanism of which is not clearly understood.

- 1 Acknowledgment. We are grateful to Dr H.K. Jain, Indian Agricultural Research Institute, for his interest and guidance.
- 2 L.S. Browning, *Science* 161, 1022 (1968).
- 3 E. Vann, *Nature* 223, 95 (1969).
- 4 N.E. Shakkebeck, J. Phillips and O.J. Rafaelsen, *Science* 160, 1246 (1968).
- 5 N.C. Quinn, *Entomol. News* 81, 241 (1971).
- 6 M.P. Singh, C.S. Kalia and H.K. Jain, *Science* 169, 491 (1970).
- 7 C.S. Kalia, M.P. Singh, H.K. Jain and R.K. Katiyar, *Chromosoma (Berl)* 32, 142 (1970).
- 8 R.S. Sadasivaiah, G.B. Collins and D.L. Davis, *Chromosoma (Berl)* 44, 309 (1973).
- 9 M.M. Cohen, M.J. Marinello and B. Nathan, *Science* 155, 1417 (1967).
- 10 M.M. Cohen, K. Hershoom and W.A. Froese, *New Engl. J. Med.* 227, 1042 (1976).
- 11 M.J. Corey, J.C. Andrews, M.J. Meleod, J.R. Mclean and W.E. Wilby, *Science* 282, 943 (1970).
- 12 S. Sturelid and B.A. Kihlman, *Hereditas* 62, 259 (1969).
- 13 H.P. Riley and J.V. Neuroth, *J. Hered.* 61, 282 (1970).
- 14 D. Grace, E.A. Carlson and P. Goodman, *Science* 161, 694 (1968).
- 15 A. Gustafsson, *Lunds Univ. Arsskr.* 361 (1940).
- 16 R.A. Nilan, C.F. Konzak, R.E. Heiner and E.E. Froese-Gertzem, in: *Barley genetics*, vol. 1, 35, Wageningen, 1963.
- 17 R.A. Nilan, in: *The cytology and genetics of barley*. Monograph, vol. 3, 1964.
- 18 E.A. Favret, *Hereditas* 46, 622 (1960).
- 19 D. Von Wettstein, A. Gustafsson, L. Ehrenberg and F. Frosch, *Arbeitsgem. Nordrheinwestfalen* 73, 7 (1959).
- 20 T. Kawai, in: *Induced mutations in plants*, IAEA 137 (1969).
- 21 T. Mabuchi and T.J. Arnson, *Arabidopsis Inform. Serv.* 6, 27 (1969).
- 22 G. Zetterberg, *Hereditas* 62, 262 (1969).
- 23 Norman I. Dishotsky, W.D. Longman, R.E. Mogar and W.R. Lipscomb, *Science* 172, 431 (1971).
- 24 E.H. Markowitz, E. George, G.E. Brosseau and E. Marjowitz, Jr, *Mutation Res.* 8, 337 (1969).
- 25 T.E. Wagner, *Nature* 222, 337 (1969).

Influence du rang de ponte dans la transmission du caractère *atrophie gonadique* chez *Drosophila melanogaster*

Influence of the rank of egg-laying on the transmission of the *gonadal atrophy* character in *Drosophila melanogaster*

G. Periquet

Laboratoire de Génétique des Populations, Tour 42-32, 4^e étage, Université Paris 7, F-75221 Paris Cédex 05 (France), 17 mars 1978

Summary. Gonadal atrophy (*atrophie gonadique*, *ag*) is a hereditary character of variable expression and penetrance in *Drosophila melanogaster*, the penetrance of which varies with temperature but also with the rank order of eggs produced. It is shown that 'early' zygotes are more often affected than 'late' zygotes who not only, but also transmit the character more efficiently to their offspring.

Chez *Drosophila melanogaster*, le caractère *atrophie gonadique* (*ag*) se présente sous 2 aspects selon qu'une seule gonade est atrophiée (type S1) ou les deux (type SO). La fréquence d'*ag* augmente avec la température d'élevage, ce caractère manifestant une pénétrance variable en fonction de la température subie durant les 2 premières h du développement embryonnaire¹. L'atrophie gonadique peut être attribuée à une thermo-sensibilité des cellules polaires embryonnaires induisant leur dégénérescence², les imagos formés présentant en règle générale des gonades agamétiques³. Cette dégénérescence des cellules polaires apparaît déterminée par un système polyfactoriel composé principalement de 2 gènes ou groupes de gènes localisés sur les autosomes 2 et 3⁴.

La fréquence de ce caractère varie en fonction du rang de ponte, les œufs pondus durant les 2 premiers jours donnant naissance à des imagos plus fréquemment porteurs d'une atrophie des gonades⁵. Les travaux présentés ici cherchent à préciser la nature de cette différence en vérifiant si la transmission du caractère *ag* par des individus issus d'un lot d'œufs pondus durant les 2 premiers jours est identique à celle des individus issus d'un lot d'œufs pondus les jours suivants.

Matériel et méthodes. A partir de la souche Marseillan 65 conservée au laboratoire à 20°C par repiquages massifs, plusieurs lignées ont été sélectionnées durant 5 générations de croisements frère × sœur à 25°C, afin d'augmenter la

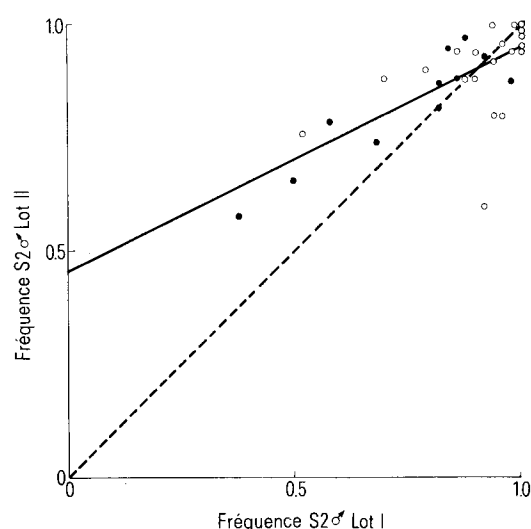
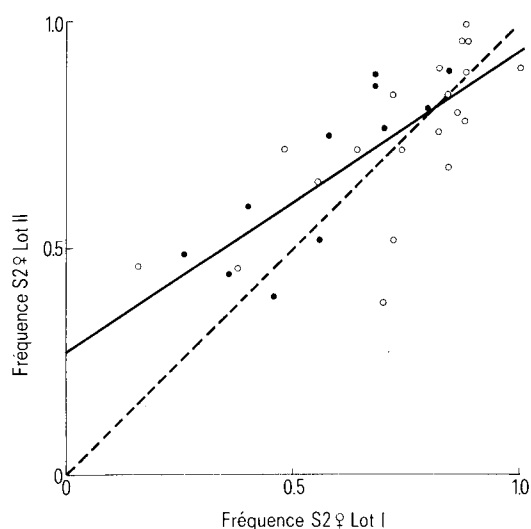
fréquence du caractère *ag*. C'est la lignée *Ma 65 A*, fournissant la meilleure réponse à la sélection (de l'ordre de 50% d'*ag* chez les femelles et 35% chez les mâles), qui a été utilisée.

2 séries d'expériences similaires ont été réalisées à 8 mois d'intervalle. Dans chaque cas, une quinzaine de couples est extraite de la souche *Ma 65 A* dès l'émergence. Placés chacun à 25°C dans un tube de milieu au maïs (lot 1), ils y restent 2 jours au-delà desquels les mâles sont enlevés et les femelles transférées dans un tube de nourriture fraîche. Ce transfert est renouvelé tous les 2 jours jusqu'à ce que les femelles aient atteint l'âge de 8 jours (lot 2, 3, 4). Chaque population F₁ issue de ces différents tubes est repiquée et donne naissance à une population F₂ dont seront observés uniquement les individus émergés les 2 premiers jours.

Résultats. On trouve en F₁ une différence de fréquence des formes *ag* entre les imagos issus des œufs pondus les 2 premiers jours (Lot I) et ceux issus des œufs pondus les jours suivants (Lot II = lot 2 + lot 3 + lot 4). Les différences sont significatives pour chaque expérience (tableau). En F₂, les différences entre les mouches issues des œufs pondus les 2 premiers jours et les autres sont beaucoup plus faibles et ne sont significatives avec le test du χ^2 que dans la première série d'expériences. Ceci peut s'expliquer par le fait que la souche *Ma 65 A* a évolué entre les 2 séries d'expériences: en effet, sélectionnée pour une forte fréquence de *ag* cette souche n'est pas stable et tend à retourner vers un état

Fréquence d'atrophie gonadique chez les imagos issus d'œufs pondus durant les 2 premiers jours (Lot I) et chez les imagos issus des œufs pondus les jours suivants (Lot II)

Femelles							Mâle				
		Nombre total	% S2	% S1	% S0		Nombre total	% S2	% S1	% S0	
1 ^e expérience											
F ₁	Lot I	207	62,9	22,7	15,0	$\chi^2_2 = 90,20$	219	88,1	9,1	2,8	$\chi^2_2 = 20,11$
	Lot II	1113	87,6	9,6	2,8		1097	95,7	3,4	0,9	
F ₂	Lot I	554	56,1	21,5	22,4	$\chi^2_2 = 23,98$	550	75,1	18,4	6,5	$\chi^2_2 = 22,21$
	Lot II	1600	67,1	18,1	14,8		1658	82,4	10,7	6,9	
2 ^e expérience											
F ₁	Lot I	643	82,4	12,0	5,6	$\chi^2_2 = 62,03$	618	94,5	4,5	1,0	$\chi^2_2 = 17,23$
	Lot II	562	96,4	3,2	0,4		472	99,2	0,8	0	
F ₂	Lot	1000	72,5	15,6	11,9	$\chi^2_2 = 1,71$ NS	1000	90,9	7,0	2,1	$\chi^2_2 = 0,34$ NS
	Lot II	995	74,6	15,3	10,1		990	90,2	7,7	2,1	



Relation entre la fréquence des types S2 chez les descendants des imagos provenant des premiers œufs pondus (Lot I) et la fréquence des types S2 chez les descendants des imagos provenant des œufs pondus ultérieurement (Lot II). ● 1^{ère} expérience, ○ 2^{ème} expérience.

d'équilibre dans lequel la fréquence d'*ag* est basse. Cette évolution s'est poursuivie entre les 2 séries d'expériences comme le montrent les données, c'est ainsi que lors de la première expérience on observe chez les femelles en F₁ 62,9% de S2 (2 gonades normales) contre 82,4% lors de la seconde. Compte tenu de cette évolution, les valeurs des F₂ de chaque lot ont dû être comparées entre elles. En supposant que les différences observées en F₁ proviennent d'une simple modification de l'expression du caractère, les populations F₂ issues de chaque lot et dénombrées au même âge (de 0 à 2 jours) devraient présenter la même fréquence d'*ag*. Dans ces conditions, si l'on reporte sur un graphique la fréquence en F₂ des types S2 issus des imagos des lots postérieurs à 2 jours (Lot II) en fonction des types S2 issus des imagos du Lot I, les points obtenus devront se répartir autour de la droite de pente 1 (figure). Les tests de signification sur les valeurs des pentes de régression permettent de comparer les 2 séries d'expériences. Ces pentes ne sont pas significativement différentes: $t\bar{f} = 0,90-27$ ddl- $p = 0,20$ et $t\delta = 1,18-27$ ddl- $p = 0,15$. Les points des 2 séries peuvent donc être groupés autour d'une même droite de régression, mais ils sont disposés plus ou moins haut sur cette droite ce qui correspond à l'évolution déjà signalée de la souche *Ma 65 A*. D'autre part, ces pentes sont significativement différentes de 1, chez les femelles ($t\bar{f} = 3,18-29$ ddl- $p < 0,01$) et chez les mâles ($t\delta = 5,68-29$ ddl- $p < 0,01$), ce qui met en évidence une différence entre les Lots I et II.

Discussion. L'hypothèse d'une transmission identique du caractère *ag* par des individus issus des lots d'œufs pondus durant les 2 premiers jours et par des individus issus d'œufs pondus plus tardivement est donc ici mise en défaut. Les différences de fréquences d'atrophie gonadique observées ne peuvent être totalement attribuées à une simple modification de l'expression du caractère. Plusieurs interprétations de ce phénomène restent possible. Une infection virale pourrait être à l'origine de l'atrophie gonadique, mais des travaux précédents^{6,7} n'ont pas mis en évidence de corrélation entre la présence de virus et l'atrophie gonadique et ceci aussi bien dans des souches naturelles que dans les souches de laboratoire fortement sélectionnées. Certaines caractéristiques de l'atrophie gonadique nous permettent également de la comparer avec divers mutants possédant ce phénotype tel *grandchildless* de *D. melanogaster*⁸ ou de *D. subobscura*⁹, ou le mutant 459 de *D. melanogaster* qui montre aussi une influence de l'âge des mères sur les phénotypes des descendants¹⁰. Mais ces différents mutants présentent toujours un effet maternel important qui n'a pu

être mis en évidence dans le cas de *ag*. C'est également pour cette raison que l'atrophie gonadique ne peut être directement reliée au phénomène de stérilité SF¹¹ ou à celui de la distorsion de ségrégation due à l'élément extrachromosomique delta¹², bien que l'on observe aussi dans ces cas des variations de l'expression du caractère liées à l'âge des mères ou à l'élévation de la température.

Dans l'état actuel du problème, il paraît donc préférable de

rapprocher le phénomène observé pour l'atrophie gonadique d'une distorsion de ségrégation sans pouvoir préciser s'il s'agit d'un processus de méiose anormale¹³, d'une différence de viabilité gamétique ou d'une utilisation différente de certains gamètes¹⁴. Cette transmission différentielle apparaît cependant très importante pour l'évolution de caractère *ag* dans les populations naturelles et expérimentales.

- 1 G. Periquet, C.r. Acad. Sci. Paris 283, 1547 (1976).
- 2 G. Periquet, Physiol. Zool. 51, 4 (1978).
- 3 G. Martin, D.E.A. d'Entomologie, Paris XI-Orsay 1977.
- 4 G. Periquet, Biol. cell. 33, 1 (1978).
- 5 G. Periquet, C.r. Acad. Sci. Paris 284, 227 (1977).
- 6 N. Plus, G. Croizier, J. Duthoit, J. David, D. Anxolabehere et G. Periquet, C.r. Acad. Sci. Paris 280D, 1501 (1975).
- 7 G. Periquet, Thèse Paris VII, 1978.
- 8 D. Thierry-Mieg, J. Microsc. Biol. cell. 25, 1 (1976).
- 9 H. Spurway, J. Genet. 49, 126 (1949).
- 10 M.C. Mariol, Thèse, Paris 6, 1978.
- 11 G. Picard, Thèse, Clermont-Ferrand II, 1978.
- 12 S. Minamori, Genetics 70, 549 (1972).
- 13 S. Zimmering, Genetics Biol. Drosophila, 1b, 569 (1976).
- 14 A.P. Mange, Genetics 85, 95 (1970).

Chromosome variations in *Xenopsylla astia* Rothschild, 1911 (Siphonaptera). A preliminary report

Cheriyian Thomas and R.S. Prasad¹

University of Kerala, Department of Zoology, Kariyavattom, Trivandrum 695 581, Kerala (India), 3 April 1978

Summary. 2 populations of rat fleas, *Xenopsylla astia*, collected from (A) Bombay and (B) Trivandrum, were found to differ in chromosome number as follows; (A) $2n=10$ in both sexes; (B) $2n=18$ (male) and 20 (female). Preliminary observations have further shown that the 2 'populations' differ in certain morphological characters and that their reciprocal hybrids are sterile in the male and partially sterile in the female sex.

Rat fleas are important as vectors of human and animal diseases. Though there are many reports of studies on ecology, general biology and vector potentialities of rat fleas, there are only 5 short accounts of observations made on the chromosome cytology of fleas in general²⁻⁶. However, the only recent information available is restricted to observations made on spermatogenesis and oogenesis in 3 different species of rat and mouse fleas, viz., *Nosopsyllus fasciatus*, *Xenopsylla cheopis* and *Leptopsylla segnis*⁷⁻⁸.

Materials and methods. The fleas used in the present study consisted of *Xenopsylla astia* collected from Bombay (2061 km north of Trivandrum) and Trivandrum. Colonies of these were set up in the laboratory before using them for experiments.

'Sexing' of the larvae was carried out at the 3rd stage before pupation. The testes are larger than the ovaries and clearly discernible through the cuticle as 2 ellipsoidal translucent bodies occupying the lateral sides of the 6th abdominal segment. Meiotic preparations were made by dissecting the late larval and pupal testes in physiological saline solution, allowing them to stand in hypotonic solution (0.17% NaCl) for about 7 min, fixing in acetic-alcohol (1:1) for 1 min and staining in 2% acetic-orcein for about 5 min before squashing. Egg squashes were made by dechorionating the fixed (1:1 acetic-alcohol) eggs, 5 min after laying, staining in lactic-acetic-orcein for 3 days and squashing in 45% acetic acid⁸. Mitotic metaphase chromosomes were prepared from imaginal limb buds of the inactive bent larvae (after puparium was formed) by acetic-orcein squash method. In order to ensure an accumulation of mitotic plates, 0.1 µl of 1% chilled colchicine solution was injected into the thoracic region of the larvae through the intersegmental membrane. The injected larvae were kept at 15°C for 1 h and the imaginal limb bud tissues were dissected out in a drop of physiological saline, thoroughly washed in it, and allowed to stand for 10-15 min in hypotonic solution (0.9%) of sodium citrate to effect swelling of the cytoplasm. The tissues were fixed in acetic-alcohol (1:1) for 1 min, stained for about 5 min in 2% acetic-orcein and squashed. Per-

manent slides were prepared by passing the slides through alcohol-xytol series and mounting in euparal.

Results and discussion. Though the fleas from Bombay and Trivandrum were morphologically similar with regard to the generally used criteria for the identification of fleas (confirmed by Prof. Robert E. Lewis), such as shapes of spermatheca in female (figure 1, a and b) and IX sternite in male (figure 1, c and d), the former has $2n=10$ chromosomes in both sexes (figure 2, a and c), and the latter has $2n=18$ (male) and 20 (female) (figure 2, e and h). The chromosomes of fleas from the Bombay population, mostly metacentrics, are relatively larger in size than those of the

Fig. 1. Spermatheca of female, and aedeagus and sternite IX (arrows) of male *Xenopsylla astia*. a, c Bombay population; b, d Trivandrum population. $\times 60$.