

Caractéristiques génétiques et physiologiques de la thermosensibilité du développement embryonnaire chez un mutant à létalité conditionnelle de *Caenorhabditis elegans*, lignée Bergerac

Nabil ABDULKADER et Jean-Louis BRUN

Laboratoire de Génétique Physiologique et Nématologie,
Université Claude-Bernard Lyon I,
43, bd. du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne, France.

RÉSUMÉ

Des études génétiques et physiologiques ont été entreprises sur un mutant thermosensible (ts) létal, issu d'un traitement mutagène par une solution 0,1 M d'Éthyl-Méthane-Sulfonate (E.M.S.), du nématode hermaphrodite autofécond *C. elegans*, lignée Bergerac. Cette mutation est mendélienne, monofactorielle récessive et autosomique. Les mutants diffèrent de la souche sauvage par l'existence d'une période thermosensible létale monophasique située entre la 6^{ème} ($\pm 1/2$) et la 18^{ème} ($\pm 1/2$) heures de l'embryogenèse. Pendant cette période, une exposition de quatre heures à la température non-permissive (24°) peut être suffisante pour entraîner l'expression complète de la mutation. Cependant, la phase létale diffère selon le moment de la période thermosensible où s'exerce le choc thermique. Si celui-ci est effectué au début de cette période ts, les embryons n'arrivent pas à éclore (= phase létale I). Par contre, des larves L₁ de forme normale éclosent, mais meurent avant la première mue (= phase létale II) si le choc thermique est appliqué plus tardivement.

SUMMARY

Genetical and physiological characteristics of the temperature-sensitivity of the embryonic development in a conditional lethal mutant of the nematode Caenorhabditis elegans, Bergerac strain

Genetic and physiological studies have been made on a 0.1M E.M.S. - induced temperature - sensitive (ts) mutation affecting the embryonic development of the hermaphrodite nematode *C. elegans*, Bergerac strain. This mutation is Mendelian monofactorial recessive and autosomal. Using shift up and shift down experiments between permissive (18°) and non permissive (24°) temperatures, and brief heat shock at 24°, it can be seen that the mutant differs from the wild strain by a monophasic temperature-sensitive lethal period situated between the 6th ($\pm 1/2$) and 18th ($\pm 1/2$) hours of the embryogenesis. During this period (= TSP), 4 hours - exposure to the non-permissive temperature (24°) may be sufficient for a complete expression of the mutation, i.e. lethality of all the ts nematodes. However, two lethal phases may be observed, according to the TSP time at which embryos are subjected to 24°. In early TSP, the embryos fail to hatch, (= lethal phase I) while in late TSP the L₁ normal larvae die before moulting (= lethal phase II).

La forte prolificité des nématodes est fonction d'une gamétogenèse efficace (Brun, 1979) ainsi que de la grande résistance des étapes de leur développement aux stress environnementaux (Evans & Perry, 1976). Dans ces conditions, une meilleure connaissance des facteurs internes et externes susceptibles d'affecter les processus ontogéniques des nématodes constitue un préalable important à tout programme de contrôle. Dans cette perspective, et bien que leur intérêt économique apparaisse moindre que celui des phyto et zooparasites, des nématodes libres

tels que *Caenorhabditis elegans* peuvent servir de modèle du fait des facilités expérimentales qu'ils présentent (Riddle, 1978).

Ce travail rapporte des résultats relatifs au contrôle génétique de l'embryogenèse. Ils sont issus de l'obtention (Abdulkader & Brun, 1978) de mutants conditionnels dont le développement n'est pas affecté à la température de 18° (= température permissive) mais est bloqué à la température non-permissive de 24°. Chez le mutant l₁^{ts}, cette thermosensibilité dépend d'un seul gène dont l'expression phénotypique

varie selon le moment du développement et la durée d'exposition à la température non-permissive au cours de la période thermosensible embryonnaire.

Matériels et méthodes

OBTENTION ET CONDITIONS DE CULTURE DU MUTANT TS LÉTAL.

Le mutant thermosensible (ts) létal, let₁ 103 (désigné l₁^{ts}) a été obtenu en traitant la souche sauvage du nématode libre autofécond *C. elegans*, lignée Bergerac, pendant 7 h, avec une solution 0,1 M d'E.M.S., selon le protocole décrit par Abdulkader et Brun (1976, 1978). A 18° (température permissive), en culture individuelle et xénique sur milieu gélosé (Abdulkader & Brun, 1978), sa viabilité est légèrement inférieure à celle de la souche sauvage (de l'ordre de 0,76 au lieu de 0,85). A 24° (température non-permissive) ses œufs n'éclosent pas alors que la viabilité de la souche sauvage est de l'ordre de 0,75.

PROTOCOLES D'ÉTUDES GÉNÉTIQUES

La caractérisation du mutant l₁^{ts} a nécessité l'élaboration de deux protocoles expérimentaux :

Protocole I : Des hermaphrodites homozygotes mutés l₁^{ts}/l₁^{ts} sont croisés à 18° avec des mâles hétérozygotes Qbl₃^{ts}/+ [Qb et l₃^{ts} sont deux mutations autosomiques montrant un linkage absolu : Qb, semi-dominante, affecte la forme de la queue; l₃^{ts}, récessive, est létale à la température non-permissive de 24°, la même que pour l₁^{ts}, par suite de la perturbation du développement embryonnaire (Abdulkader, 1977; Abdulkader & Brun, 1979)]. Les œufs de leurs descendants F₁ hermaphrodites « doubles » hétérozygotes Qbl₃^{ts}/+, l₁^{ts}, facilement reconnaissables grâce à la forme de leur queue, sont incubés soit à 24° soit à 18° (témoins). Au bout de 3 j 1/2, on examine le nombre de survivants F₂ adultes ainsi que leurs caractères phénotypiques relatifs à la forme de la queue.

Protocole II : Des hermaphrodites homozygotes l₁^{ts}/l₁^{ts} sont croisés à 18° avec des mâles sauvages +/+. Les mâles F₁ qui en sont issus

sont soumis à un croisement-test avec des hermaphrodites l₁^{ts}/l₁^{ts}. Dans les cultures où ce test-cross réussit (présence de mâles dans la descendance), la descendance F₂ hermaphrodite est isolée à 18°. Ses œufs F₃ sont alors transférés individuellement à 24° sur des milieux de culture vierges. Le nombre de survivants F₃ adultes est déterminé au bout de 3 j-3 j 1/2.

MÉTHODES D'ÉTUDES PHYSIOLOGIQUES.

Pour déterminer la période thermosensible (= période ts) du développement ainsi que la (les) phase(s) létale(s) qu'elle induit, le mutant l₁^{ts} a été soumis d'une part, à des expériences de changement de température (= « shift ») et d'autre part à des chocs thermiques.

Expériences de shift up et shift down

Des lots de 200 œufs, peu segmentés (huit blastomères environ), issus de jeunes adultes l₁^{ts}/l₁^{ts} élevés à 18°, sont d'abord incubés à 18° puis transférés à 24° (« shift up ») après des durées égales à 6, 12 et 18 h.

D'autres lots de 200 œufs, choisis dans les mêmes conditions, sont immédiatement incubés à 24° puis ramenés à 18° (« shift down ») au bout de 6, 13 et 18 h.

Dans les deux cas, après un temps suffisant pour que les animaux atteignent la maturité sexuelle, on détermine le nombre des survivants adultes et par suite le pourcentage de viabilité.

Expériences de chocs thermiques de courte durée

Des lots de 100 œufs, pondus à 18° par des mutants l₁^{ts}/l₁^{ts} et systématiquement choisis aux stades deux à quatre blastomères, sont exposés à 24° à un moment donné de leur développement embryonnaire ou post-embryonnaire. A la fin d'un choc thermique de 2, 3 ou 4 h, les lots sont ramenés à 18° et observés à l'âge de 4 j 1/2-5 j. On détermine ainsi, d'une part le nombre des survivants adultes et par suite le pourcentage de viabilité, d'autre part le stade du développement atteint par les individus morts (phase létale).

Tableau 1

Étude de la descendance F_2 obtenue par autofécondation des doubles hétérozygotes F_1 $Qbl_3^{ts} +/+ l_1^{ts}$ (cf. protocole I). Les œufs F_2 issus d'autofécondation à 18° des doubles hétérozygotes F_1 hermaphrodites $Qbl_3^{ts} +/+ l_1^{ts}$ sont incubés soit à 24°, soit à 18° (témoins).

Study of the F_2 progeny produced by self-fertilisation, from the F_1 double heterozygous hermaphrodites $Qbl_3^{ts} +/+ l_1^{ts}$, (cf. protocol I).

The F_2 eggs produced at 18° by the double heterozygous $Qbl_3^{ts} +/+ l_1^{ts}$ are incubated at 24° or 18° (control).

	Nombre d'œufs considérés	Adultes survivants	Queue normale +/+	Queue intermédiaire Qb/+	Queue anormale Qb/Qb
24°	1.050	505	180	325	0
18° (témoins)	465	429	109	216	104

Résultats

CARACTÉRISTIQUES GÉNÉTIQUES DE LA MUTATION l_1^{ts}

Déterminisme génétique de la mutation l_1^{ts}

Comme le montre le tableau 1, 505 œufs F_2 , sur les 1 050 obtenus dans le cadre du protocole I, se sont développés en adultes à 24°. Dans le cas d'un déterminisme mendélien monofactoriel récessif de la mutation l_1^{ts} , $1\ 050 \times 9/16 \simeq 590$ œufs devraient s'être transformés en adultes car de génotype $l_1^{ts} +/+ Qbl_3^{ts}$, $l_1^{ts} +/++$, $+/+ Qbl_3^{ts}$ ou enfin $+/++$. Cependant, la différence s'explique si l'on tient compte du fait que les animaux ne présentent pas à 18° une viabilité complète mais seulement de l'ordre de $429/465 \simeq 0,92$ (Tabl. 1), c'est-à-dire très voisine de celle envisagée à 24° ($505/590 \simeq 0,85$). D'ailleurs l'autre explication possible c'est-à-dire le déterminisme bifactoriel de cette mutation s'avère totalement inacceptable puisque, dans cette éventualité, $1\ 050 \times 27/64 \simeq 443$ œufs auraient un génotype viable, ce qui, étant donné que 505 œufs se sont développés en adultes à 24°, obligerait à concevoir que la viabilité des œufs est supérieure à 1!

Par ailleurs, compte tenu de ce que, sur 750 œufs F_3 mis en culture à 24° suivant le protocole II, 88 sont arrivés au stade adulte

(Tabl. 2), cela prouve que la mutation l_1^{ts} est autosomique puisque son éventuel linkage au chromosome X aurait entraîné la mort de tous les animaux avant qu'ils atteignent le stade adulte.

Tableau 2

Étude de la descendance F_3 issue de l'autofécondation des F_2 adultes obtenus suivant le protocole II. Absence de linkage au chromosome X.

Les œufs F_3 pondus à 18° ont été incubés à 24° et observés au bout de 3j-3j 1/2.

Study of the F_3 progeny obtained by self-fertilisation, from F_2 hermaphroditic adults according to protocol II. l_1^{ts} mutation is not X-linked. The F_2 eggs laid at 18° have been incubated at 24° and observed after 3 to 3 1/2 days.

Nombre d'œufs F_3	Nombre d'adultes F_3 survivants à 24°
150	9
150	23
150	15
150	25
150	16
Total 750	88

l_1^{ts} et Qbl_3^{ts} sont complémentaires et génétiquement indépendants

Les résultats consignés dans le tableau 1 montrant un rapport nombre des F_2 survivants à 24°/nombre des œufs F_2 mis en culture à 24°, égal à 7,695/16, ceci conduit à conclure que les deux mutations ts récessives létales l_1^{ts} et Qbl_3^{ts} sont complémentaires. C'est-à-dire sont situés en deux loci différents, car l'allélisme des deux mutations aurait entraîné la mort de tous les animaux. D'autre part, le rapport entre le nombre des animaux à queue intermédiaire $Qb +$ et le nombre des animaux à queue normale $+/+$, étant égal à 1,805, ne diffère pas significativement de la valeur attendue, théoriquement, dans le cas d'une absence de linkage entre l_1^{ts} et Qbl_3^{ts} ($\chi^2 = 1,212$ est inférieur à la valeur critique au risque 5 % avec 1 d.d.l. = 3,841). On peut donc conclure que l_1^{ts} et Qbl_3^{ts} sont localisés sur deux autosomes différents.

CARACTÉRISTIQUES PHYSIOLOGIQUES

La période thermosensible létale de la mutation l_1^{ts} est embryonnaire

Le transfert d'embryons âgés de 6 h de 18° à 24° entraîne la mort de tous les individus (Tabl. 3, « shift up »). Par contre, leur transfert à l'âge de 12 ou 18 h permet des viabilités respectivement égales à 35 % et 65 %. Cette dernière n'étant pas significativement différente de celle des témoins (72 %) on peut en conclure que la fin de la période ts se situe vers l'âge de 18 h du développement embryonnaire. Comme, par ailleurs, les embryons ramenés de 24° à 18° à l'âge de 13 h ou de 18 h sont inviables (Tabl. 3, « shift down ») le début de la période ts se situe avant l'âge de 13 h; plus précisément même entre l'âge de 6 h et 13 h puisque les embryons de 6 h ramenés à 18° montrent une viabilité égale à 70 %, non différente de celle des témoins.

Des précisions sur les limites de la période ts sont fournies par des expériences de chocs thermiques d'une durée de 4 heures, dont les résultats sont résumés à la figure 1. On constate tout d'abord que la viabilité des animaux

diminue très significativement entre les expériences B et C. En effet, alors que les animaux de l'expérience B soumis à un choc thermique à des âges compris entre 2 et 6 h montrent une viabilité (71 %) non significativement différente de celle des témoins à 18° ou de celle des animaux de l'expérience A, ceux de l'expérience C (choc thermique entre 4 h et 8 h) ont une viabilité extrêmement faible (4 %), très proche de celle des témoins à 24° et des animaux de l'expérience D (choc thermique entre 8 h et 12 h). Ce qui amène à conclure que la période ts doit commencer à l'âge de 6 h car la très grande diminution de viabilité constatée dans l'expérience C ne peut être provoquée que par les deux heures, comprises entre 6 h et 8 h, d'exposition des embryons à 24°. Toutefois deux contraintes expérimentales obligent à envisager le début de la période ts à l'âge de $6 h \pm 1/2 h$:

1. l'équilibration thermique des cultures transférées de 18° à 24°, ou inversement, nécessite une demi-heure à une heure;
2. la mise en culture à chaque expérience d'un lot de 100 œufs exige 40 à 60 minutes.

Tableau 3

Détermination de la période ts létale du mutant l_1^{ts} . Pourcentage de viabilité des mutants soumis à des changements de température (= shift).

Determination of the lethal temperature-sensitive period of l_1^{ts} mutation.

Percent viability of mutants subjected to shift experiments.

	Age, en heures, des animaux transférés	Pourcentage de viabilité
	6	0 %
" Shift	12	35 %
up "	18	65 %
	6	70 %
" Shift	13	0 %
down "	18	0 %
Témoins	18°	72 %
	24 °	0 %

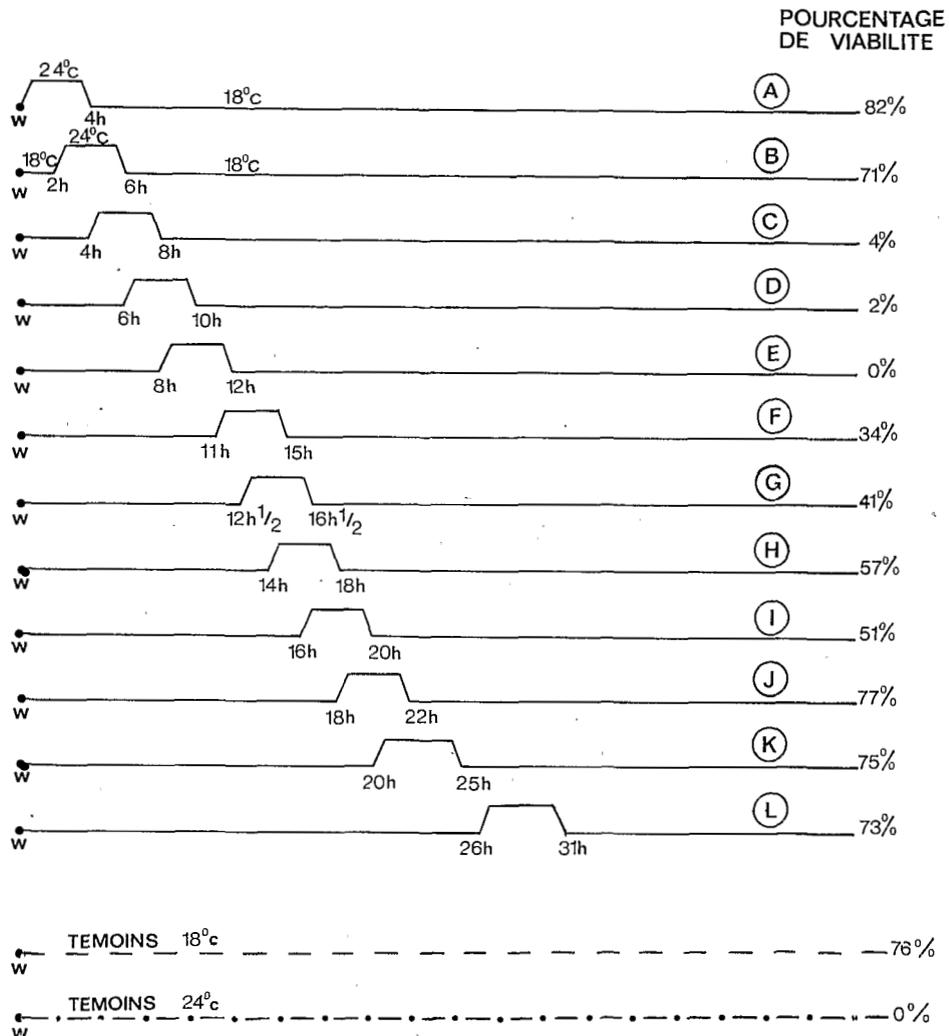


Fig. 1 : Viabilité des animaux L_1^{ts} soumis à des chocs thermiques de 4 heures (à l'exception des expériences K et L : 5 h), à des âges croissants de leur développement embryonnaire.

Viability of L_1^{ts} animals subjected to brief heat shock experiments. Batches of 100 eggs (w) chosen at the 2-4 blastomeres stage, were subjected to 4 hours heat shocks (except K and L experiments = 5 h) at different times during their embryonic development.

Quant à la fin de la période ts, la viabilité à 51 % des animaux de l'expérience I soumis à 24° entre la 16^{ème} et la 20^{ème} heure de leur développement, très significativement inférieure à celle des témoins à 18° (76 %), ne peut être expliquée que par leur traitement au cours de la période ts. Il n'en est plus de même lorsque les embryons sont au moins âgés de 18 h lors du

choc thermique : ainsi, les animaux de l'expérience J soumis à 24° entre 18 et 22 h, montrent une viabilité (77 %) non significativement différente de celle des témoins (76 %). Compte tenu des contraintes expérimentales signalées ci-dessus, ceci oblige à considérer que la période ts finit à l'âge de 18 h \pm 1/2 h du développement embryonnaire.

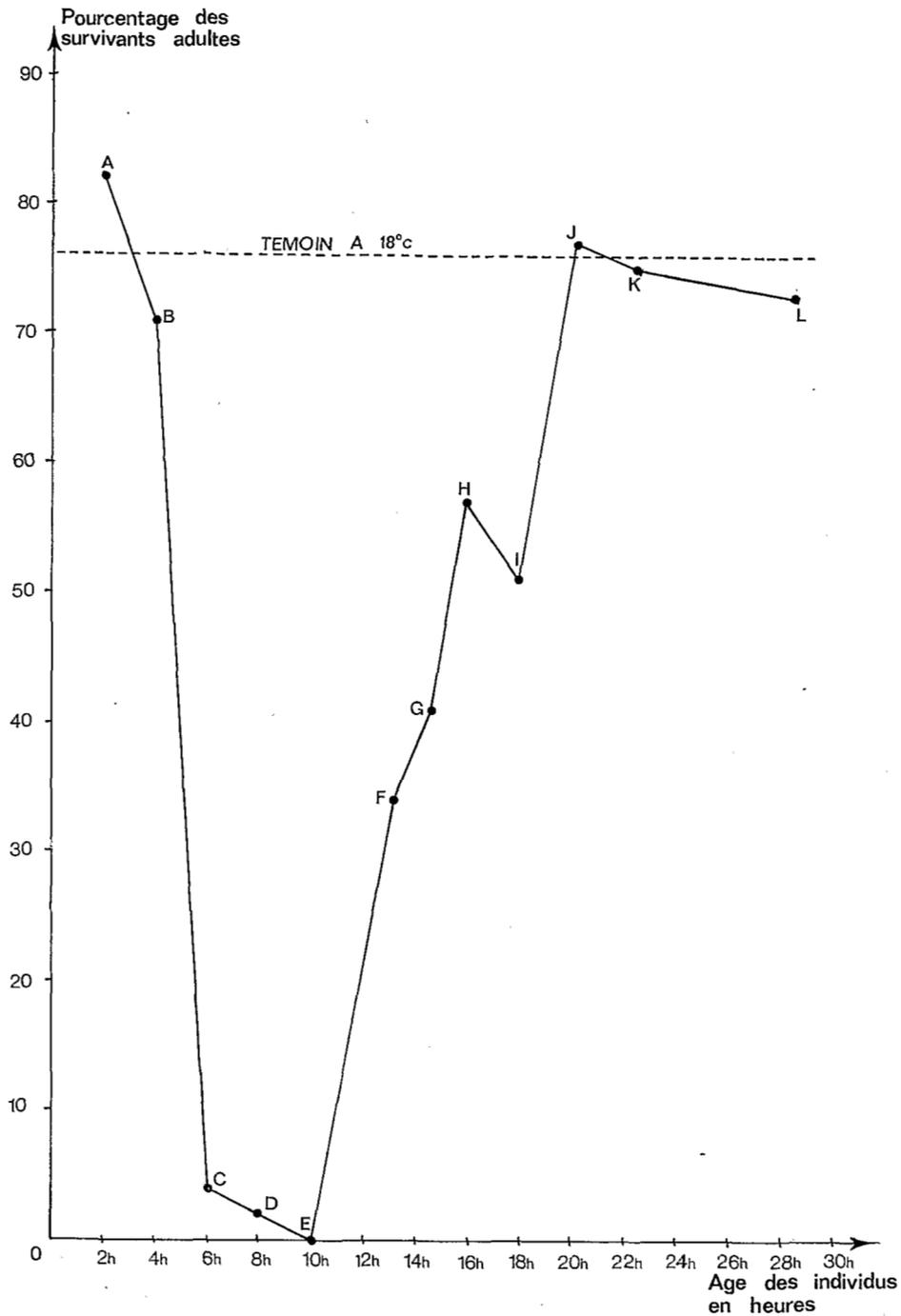


Fig. 2 : Viabilité des animaux l_1^{ts} soumis à des chocs thermiques de 4 heures (à l'exception des expériences K et L = 5 h). On porte en ordonnée la viabilité et en abscisse l'âge en heures des animaux après l'écoulement de la moitié de la durée du choc thermique (A, B, C, etc., cf. Fig. 1).

Viability of l_1^{ts} animals subjected to 4 hours heat shocks (except K and L experiments = 5 h). The ordinate represents the viability and the abscissa the age in hours of the animals half-way through the heat shock (A, B, C, etc., cf. Fig. 1).

La période ts est monophasique

La courbe de viabilité (Fig. 2) des embryons L_1^{ts} soumis à des chocs thermiques de 4 heures montre une forme voisine d'un « V » donc avec un seul minimum. Il en découle que la période ts est monophasique.

Durée d'exposition à 24° et expression phénotypique

La partie basse de la courbe en V de la figure 2 peut être considérée comme correspondant à une période de thermosensibilité maximum de l'embryon. Aussi peut-on comparer, à ce niveau compris entre 7 et 12 h, les effets de la durée d'exposition à 24° sur la viabilité (Fig. 3). On constate que l'exposition à 24°, au cours de la période ts « optimale », doit être supérieure à 3 heures pour provoquer une létalité totale, c'est-à-dire entraîner l'expression phénotypique « complète » de la mutation L_1^{ts} .

Effets de l'exposition des mutants à 24° sur leur développement embryonnaire et post-embryonnaire

Les embryons, exposés dès les stades 2-4 blastomères à 24°, de même que ceux ayant subi un choc de 4 h dès l'âge de 6 h meurent avant l'éclosion (phase létale I). Observés au microscope (Fig. 4a), ils se montrent repliés 3 à 4 fois sur eux-mêmes à l'intérieur de leur coque, ce qui ne diffère pas visiblement d'un stade prééclosionnaire normal. Mais si on les libère artificiellement de leur coque, l'anomalie de leur forme et de leur organisation devient très apparente (Fig. 4b).

Par contre, les embryons qui subissent 4 heures de choc thermique, plus tardivement dans leur période thermosensible, éclosent. Mais les larves L_1 meurent avant d'atteindre la première mue (= phase létale II). Leur observation microscopique n'a pas permis d'y déceler d'anomalies morphologiques ou anatomiques.

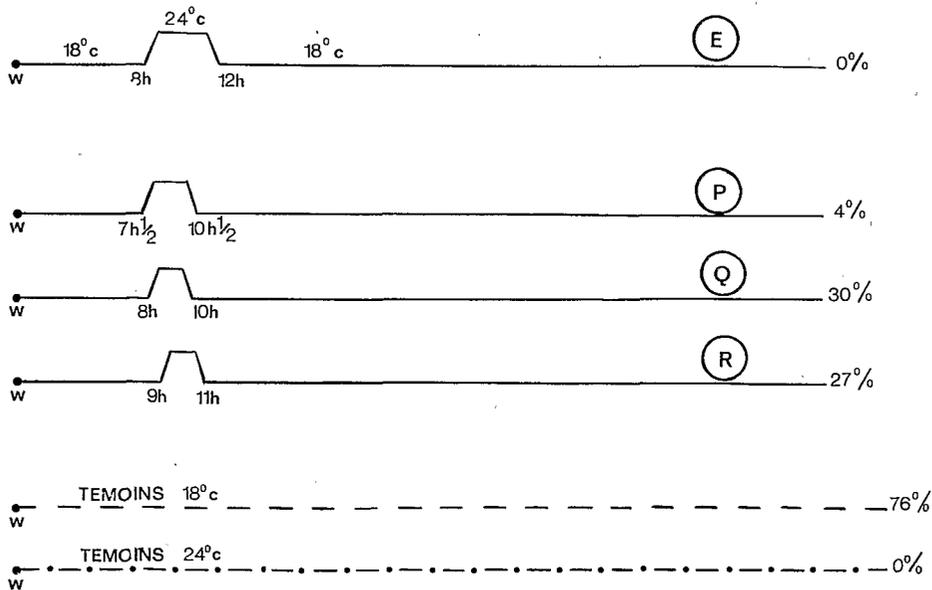


Fig. 3 : Effets de la durée d'exposition à 24° sur la viabilité des animaux L_1^{ts} soumis à des expériences de chocs thermiques de courte durée, à des âges compris entre 7 h 1/2 et 9 h.

Effects of time of exposure at 24° on the viability of 7 1/2 to 9 hours old L_1^{ts} mutants subjected to brief heat shock experiments.

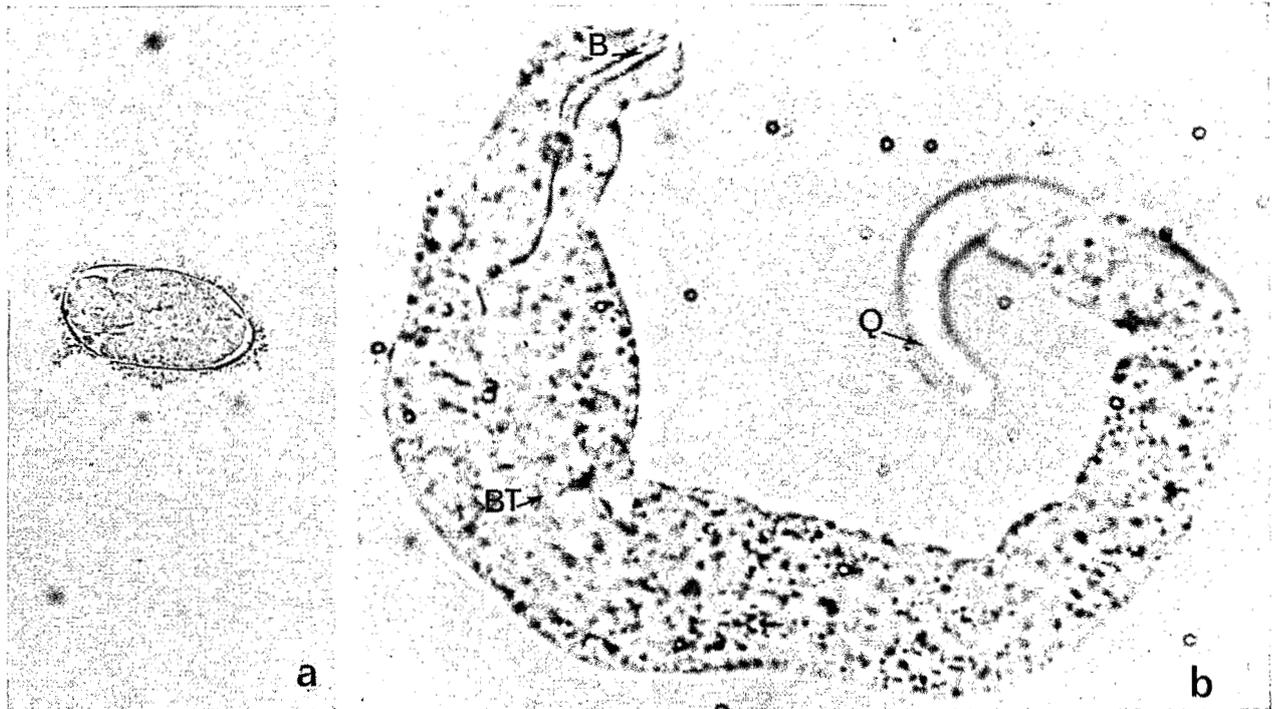


Fig. 4. a : Embryon l_1^{ts} élevé à 24° , replié 3 à 4 fois sur lui-même et bloqué en phase létale I. ($\times 350$). b : Embryon l_1^{ts} élevé à 24° bloqué en phase létale I et libéré de sa coque (éclosion artificielle). Outre la queue (Q), on peut observer, dans la partie antérieure, la cavité buccale (B) et le bulbe terminal (BT) de l'œsophage. ($\times 1200$).

a : l_1^{ts} embryo raised at 24° , folded up 3 or 4 times and blocked in lethal phase I ($\times 350$). b : l_1^{ts} embryo raised at 24° blocked in lethal phase I and freed from its shell (artificial hatching). Apart from the tail (Q), one can see, in the anterior part, the buccal cavity (B) and the terminal bulb (BT) of the oesophagus ($\times 1200$).

Discussion

Les résultats rapportés dans ce travail démontrent que le mutant thermosensible l_1^{ts} , obtenu sous l'action du mutagène E.M.S., ne diffère constitutivement de la forme sauvage que par une simple mutation affectant une région limitée du matériel chromosomique. Cette modification localisée a cependant des effets considérables sur la biologie du développement du mutant puisqu'elle ne permet plus à aucun de ses œufs d'éclore s'ils sont constamment maintenus à 24° . Ainsi cette dernière température, qui est seulement nocive pour la forme sauvage dont elle entraîne la mort du quart environ des œufs, est devenue, du fait d'une modification factorielle de l'ADN autosomique, totalement létale pour le mutant thermosensible.

Que la différence de comportement thermique

soit la résultante d'une altération du (ou des) produit(s) du locus affecté, on ne peut en douter au niveau actuel de nos connaissances du fonctionnement du matériel génique. Nos résultats ne nous permettent pas d'en définir le processus chimique, mais, en mettant en évidence la monophasie de la période thermosensible, ils fournissent la preuve convaincante de la dénaturation d'un seul produit génique comme Suzuki (1970, 1976) l'a démontré chez *Drosophila melanogaster*.

Cette altération s'effectue, ainsi que le montrent les expériences de changement de températures (= « shift »), dans la période de développement comprise entre la 6^{ème} et la 18^{ème} heure de l'embryogenèse, c'est-à-dire à des stades déjà bien avancés de la multiplication cellulaire. Il serait important de savoir si, à ces niveaux, toutes les lignées cellulaires sont affectées. D'autant plus qu'un effet de dose se

manifeste dans la dénaturation du produit génique. En effet, les expériences de chocs thermiques effectuées dans la période thermosensible, c'est-à-dire dans l'intervalle 6 heures-18 heures, influencent différemment la viabilité des œufs selon leur durée. Des stress de 2 heures à 24° font seulement baisser cette viabilité de 75 à 30 %. Prolongés durant 3 heures, ils conduisent à la production d'un produit génique muté en quantité telle qu'elle ne permet plus le développement que de 4 % des œufs. Leur létalité totale sera obtenue après 4 heures de choc thermique, mais à une condition seulement : le stress doit être effectué entre la 8^e et la 12^e heure de l'embryogenèse.

Ce qui signifie qu'il n'est pas possible de limiter l'action du produit génique muté à la seule influence de son dosage. En effet, une même dose n'agit pas de la même façon sur l'expression phénotypique selon le moment précis de son intervention dans l'embryogenèse. Ainsi, une dose létale de produit génique élaborée au début de la période thermosensible du développement embryonnaire entraîne l'impossibilité de l'éclosion. Par contre, si cette même dose est produite plus tardivement au cours de cette même période, elle n'empêchera plus l'éclosion d'une larve L₁ de forme normale mais celle-ci mourra avant la première mue. Cette nocivité moindre de la dose létale tardive est-elle simplement à mettre en relation avec le degré plus avancé de la multiplication cellulaire embryonnaire et de la diversification des lignées cellulaires? Des observations plus précises à ce niveau, rendues envisageables à la suite des travaux de Deppe *et al.* (1978) et de Sulston et Horvitz (1977), devraient nous éclairer sur ce sujet.

Ces recherches ne devraient pas être sans intérêt pour une meilleure compréhension de la variabilité du comportement des populations naturelles de nématodes libres ou phytoparasites vivant dans des environnements soumis à d'importants changements de température. Il est vraisemblable, en effet, que ces populations doivent être génétiquement hétérogènes et

comporter des proportions variables d'individus présentant une période thermosensible à un âge plus ou moins avancé de leur développement.

RÉFÉRENCES

- ABDULKADER, N. (1977). *Mutations thermosensibles stériles et létales chez le Nématode hermaphrodite autofécond Caenorhabditis elegans, variété Bergerac. Obtention, étude génétique et caractéristiques physiologiques.* Thèse de Spécialité, 3^e Cycle, Lyon, 50 p.
- ABDULKADER, N. & BRUN, J. (1976). Isolation of sterile or lethal temperature-sensitive mutants in *Caenorhabditis elegans*, var. Bergerac. *Nematologica*, 22 : 221-222.
- ABDULKADER, N. & BRUN, J. (1978). Induction, detection and isolation of temperature-sensitive lethal and/or sterile mutants in nematodes. I. The free-living nematode *Caenorhabditis elegans*. *Revue Nématol.*, 1 : 27-37.
- BRUN, J., ABDULKADER, N., ABIRACHED, M., BEGUET, B., GIBERT, M. A., MOUNIER, N., STARCK, J. & BOSCH, C. (1979). Contrôle génétique de la gamétogenèse et de la différenciation ovocytaire chez *Caenorhabditis elegans*, souche Bergerac. *Rapport annuel 1978 du Groupe Lyonnais de Recherche en Biologie Cellulaire*, n° 4 : 25-43.
- DEPPE, U., SCHIERENBERG, E. COLE, T., KRIEG, C., SCHMITT, D., YODER, B. & EHRENSTEIN, G. von (1978). Cell lineages of the embryo of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, 75 : 376-380.
- EVANS, A. A. F. & PERRY, R. N. (1976). Survival strategies in nematodes. In : Croll, N. A. (Ed.). *The Organization of Nematodes*, London, Academic Press : 383-424.
- RIDDLE, D. L. (1978). The genetics of development and behavior in *Caenorhabditis elegans*. *J. Nematol.*, 10 : 1-16.
- SULSTON, J. E. & HORVITZ, H. R. (1977). Post-embryonic cell lineages of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Devl. Biol.*, 56 : 110-156.
- SUZUKI D. T. (1970). Temperature-sensitive mutations in *Drosophila melanogaster*. *Science, N. Y.*, 170 : 695-706.
- SUZUKI, D. T., KAUFMAN, T., FALK, D. & THE U.B.C. DROSOPHILA RESEARCH GROUP (1976). Conditionally expressed mutations in *Drosophila melanogaster*. In : Ashburner, M & Novitski, C. (Eds) *The Genetics and Biology of Drosophila*, Vol. 1a, London, Academic Press : 208-264.

Accepté pour publication le 15 juin 1979.