

Action de la castration partielle ou totale sur la croissance et le fonctionnement de l'appareil génital chez le planorbe *Biomphalaria glabrata* (gastéropode pulmoné)

Effects of surgical castration on the growth and the genital apparatus on the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda Pulmonata)

M. Vianey-Liaud

Laboratoire d'Ichthyologie et Parasitologie Générale, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, place E.-Bataillon, F-34060 Montpellier Cédex (France), 26 juin 1978

Summary. Total castration increases the weight, delays oviposition and reduces the functioning of the genital organs but partial gonadectomy has no effect. After partial castration, the ovotestis does not regenerate. Partial or total castration has no effect on the wet and dry weight of the genital tracts.

Ce travail a pour but d'étudier chez *Biomphalaria glabrata* l'influence de la castration sur la croissance, le fonctionnement de l'appareil génital et les poids frais et sec des organes génitaux. Des planorbes adultes, de souche brésilienne, ont subi la castration chirurgicale totale ou partielle. L'expérience a duré 20 semaines.

1. Croissance

Le tableau 1 montre que ni l'augmentation du diamètre ni celle de la longueur de la ligne de suture ne sont modifiées par la castration partielle ou totale. Pour la variation pondérale, la valeur de F montre qu'il y a des différences entre les 3 lots; la décomposition orthogonale ou le test de Tukey montrent que la castration totale entraîne une croissance pondérale qui diffère de façon hautement significative de celle des témoins ou des castrats partiels, ceux-ci présentant en revanche un accroissement pondéral comparable.

2. Apparition de l'oviposition après la castration

L'ordre de grandeur du délai qui sépare la castration de la première oviposition est environ 8 jours pour les témoins, 11 jours pour les castrats partiels et 30 jours au moins pour les castrats totaux (un témoin et un castrat total n'ont jamais pondu). L'analyse de variance puis la décomposition orthogonale ou le test de Tukey montrent que les castrats totaux présentent un retard de l'oviposition hautement significatif par rapport aux témoins ou aux castrats partiels, qui ne diffèrent pas entre eux.

La castration totale entraîne un retard dans l'oviposition mais la castration partielle est sans effet.

3. Variation du fonctionnement de l'appareil génital; influence de la castration

Les castrats partiels déposent des pontes fertiles semblables à celles des témoins; les castrats totaux, eux, déposent des pontes stériles.

a) Variation du fonctionnement de l'appareil génital au cours du temps

Témoins. Le nombre de pontes par animal ne varie statistiquement pas durant les 20 semaines de l'expérience. Les nombres hebdomadaires d'œufs et d'œufs par ponte semblent suivre une loi complexe, non linéaire, mais qui montre globalement sur 20 semaines, une stabilité.

Castrats partiels. Le nombre de pontes par animal augmente linéairement durant 15 semaines, avec une confiance de 95% pour que l'augmentation hebdomadaire se situe

entre 0,15 et 0,39. Les 5 semaines qui suivent, on assiste à une diminution variant entre 0,39 et 1,99. L'augmentation du nombre hebdomadaire d'œufs par animal se situe entre 1,6 et 4,5 durant 17 semaines puis au-delà se stabilise. Le nombre d'œufs par ponte augmente linéairement durant 6 semaines (augmentation variant entre 0,62 et 1,86); il est ensuite stable pendant 10 semaines, diminue entre la 16^e et la 17^e semaine puis demeure à nouveau stable.

Castrats totaux. Le fonctionnement des tractus augmente progressivement au cours des 20 semaines. On a une confiance de 95% pour que l'augmentation linéaire hebdomadaire se situe entre 0,034 et 0,110 pontes par animal, 0,69 et 1,59 sphères par animal, 0,13 et 0,37 sphères par ponte.

b) Effets de la castration

Nombre de pontes par animal. La première semaine, les castrats totaux déposent significativement moins de pontes que les castrats partiels qui déposent eux-mêmes significativement moins de pontes que les témoins. Ensuite, jusqu'à la 16^e semaine (exception faite des 7^e et 8^e semaine), les castrats partiels pondent autant que les témoins. Au-delà, il apparaît des différences significatives entre témoins et castrats partiels. Les castrats totaux pondent moins que les castrats partiels jusqu'à la 15^e semaine. Au-delà il n'y a plus de différence entre les 2 catégories d'opérés. Durant toute l'expérience les castrats totaux pondent significativement moins que les témoins.

Nombre d'œufs ou de sphères par animal. La 1^{re} semaine les castrats totaux produisent significativement moins de sphères que les castrats partiels qui en produisent eux-mêmes moins que les témoins. Les castrats partiels élaborent constamment moins d'œufs que les témoins cependant les différences ne sont statistiquement significatives que jusqu'à la 9^e semaine et ensuite ne le sont plus. Durant 15 semaines, les castrats totaux produisent moins de sphères que les castrats partiels puis au-delà se hissent à leur niveau. A l'exception de la 16^e et de la 20^e semaine, les castrats totaux produisent moins de sphères que les témoins.

Nombre d'œufs ou de sphères par ponte. Les témoins déposent des pontes qui contiennent significativement plus d'œufs que celles déposées par les castrats partiels (exception faite des semaines 17, 19 et 20). Durant 15 semaines, les castrats totaux déposent des pontes qui contiennent significativement moins de sphères que les témoins. Ensuite, bien que peu nombreuses, les pontes des castrats

Tableau 1. Croissance, 20 semaines après le début de l'expérience, des témoins, des castrats partiels et des castrats totaux

	Témoins (n = 18)	Castrats partiels (n = 10)	Castrats totaux (n = 9)	F
Variation du diamètre	5,30 ± 0,48	4,71 ± 0,52	5,83 ± 0,72	0,78
Variation de la ligne de suture	9,05 ± 0,89	8,85 ± 0,73	12,33 ± 2,02	2,21
Variation pondérale	0,36 ± 0,05	0,38 ± 0,06	0,61 ± 0,08	5,00

Le diamètre et la ligne de suture sont exprimés en mm, le poids en g. F: résultat de l'analyse de variance portant sur les 3 groupes. La valeur seuil de F pour la limite de probabilité $p = 0,05$ est $F_{0,05} = 3,25$.

totaux présentent un nombre de sphères légèrement supérieur à celui des témoins.

4. Action de la castration sur l'appareil génital

Le poids des organes est un critère qui peut facilement être mesuré et qui donne une idée satisfaisante de leur développement. J'ai procédé à la mesure du poids frais puis du poids sec des différents organes qui composent l'appareil génital. La comparaison des résultats obtenus dans les 3 groupes est faite par l'analyse de covariance (tableaux 2 et 3).

La gonade des castrats partiels est statistiquement plus légère que celle des témoins, ce qui prouve que même en 20 semaines la portion restante de la gonade amputée ne régénère pas une gonade semblable à celle des témoins.

Ni la castration partielle ni la castration totale n'entraînent de modification du poids frais ou sec des tractus génitaux, si ce n'est au niveau de la vésicule séminale.

5. Discussion

La castration chirurgicale n'a été réalisée que chez un petit nombre de basommatophores: *Biomphalaria glabrata*^{1,2}, *Bulinus truncatus*^{3,4}, *Tropicorbis centimetralis*, *Planorbarius corneus* et *Bulinus globosus*³ et *Helisoma duryi*⁵.

Chez *Bulinus*, Brisson³ pense que la croissance somatique des castrés ne diffère pas de celle des témoins. Chez *H. duryi*⁵ la castration n'accélère pas la croissance de la

coquille et du corps. Au contraire, Boer et coll.⁴ montrent qu'après 65 jours, les bulins castrés ont une taille et un poids significativement supérieur à celui des témoins. Le cas de *Biomphalaria* est donc assez semblable à celui des bulins puisqu'il y a une action stimulatrice de la castration sur le poids total chez les 2 espèces; cependant, l'accroissement de la taille n'est pas affecté chez *Biomphalaria* alors que chez *Bulinus* il y a aussi une augmentation significative de la taille.

Chez *Biomphalaria*, les castrats totaux déposent moins de pontes, produisent moins de sphères que les témoins. La castration partielle ne réduit pas le nombre de pontes mais il faut plus de 2 mois pour que le nombre d'œufs (et par conséquent le nombre de sphères) soit identique à celui des témoins. L'élaboration des enveloppes de la ponte peut donc se dérouler en l'absence de gonade, l'intensité du phénomène étant cependant réduite.

Il apparaît que la gonade des castrats partiels ne possède pas la faculté de redonner une gonade complète de même poids que celle d'un témoin. Il est confirmé que chez *Biomphalaria* l'adulte ne régénère pas son ovotestis. De ce point de vue, *Biomphalaria* diffère radicalement de *Bulinus* chez qui la castration totale peut être suivie, chez l'adulte, de la formation d'une néogonade^{3,4} mais au contraire se rapproche des 2 planorbes *T. centimetralis* et *P. corneus*³.

Tableau 2. Poids frais du corps, de la gonade et des différentes parties des tractus génitaux, au bout de 20 semaines, chez les planorbes des 3 groupes

	Corps	Gonade	Tractus génitaux	Vésicule séminale	Glande de l'albumine	Partie mâle	Partie femelle	Pénis
Témoins (n = 18)	922,8 ± 52,0	1570 ± 142	3979 ± 428	261 ± 21	1867 ± 218	287 ± 29	1308 ± 153	183 ± 23
Castrats partiels (n = 9)	859,3 ± 90,0	635 ± 48	4076 ± 488	116 ± 18	2198 ± 483	292 ± 42	1541 ± 238	136 ± 26
Castrats totaux (n = 9)	1101,6 ± 87,0	-	4885 ± 511	158 ± 72	2236 ± 348	386 ± 54	1950 ± 280	153 ± 71

Significativité

Comparaison								
T-CP	p < 0,001	ns	p < 0,05	ns	ns	p < 0,05	ns	
CP-CT	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
T-CT	-	ns	p < 0,001	ns	ns	ns	ns	ns

Analyse statistique des résultats. Le poids du corps est exprimé en mg, celui des organes génitaux en centièmes de mg. Abréviations utilisées: n: nombre d'animaux, p: probabilité, T: témoins, CP: castrats partiels, CT: castrats totaux, ns: différence non significative.

Tableau 3. Poids secs du corps, de la gonade et des différentes parties des tractus génitaux, au bout de 20 semaines, chez les planorbes des 3 groupes

	Corps	Gonade	Tractus génitaux	Vésicule séminale	Glande de l'albumine	Partie mâle	Partie femelle	Pénis
Témoins (n = 18)	287,9 ± 15,1	198 ± 25	910 ± 112	35 ± 4	546 ± 74	61 ± 11	238 ± 26	28 ± 4
Castrats partiels (n = 9)	322,0 ± 34,4	95 ± 16	1137 ± 275	16 ± 5	695 ± 152	36 ± 8	267 ± 49	17 ± 7
Castrats totaux (n = 9)	422,7 ± 33,3	-	1215 ± 125	30 ± 11	660 ± 95	80 ± 10	408 ± 70	38 ± 2

Significativité

Comparaison								
T-CP	p < 0,01	ns	p < 0,05	ns	ns	ns	ns	ns
CP-CT	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
T-CT	-	ns	p < 0,05	ns	ns	ns	ns	ns

Mêmes légendes que pour le tableau 2.

La vésicule séminale d'un individu castré pèse statistiquement moins que celle d'un témoin mais le poids ne diffère pas entre castrat partiel et total. Même très longtemps après la castration totale le poids de la vésicule séminale n'est pas négligeable, car il y subsiste encore des spermatozoïdes. Par ailleurs, la vésicule séminale des castrats partiels contient moins de spermatozoïdes que celle des témoins (la gonade des opérés est moins grosse que chez les témoins et produit moins de spermatozoïdes).

Les autres portions des tractus génitaux après 140 jours ont un poids frais et sec qui n'est manifestement pas influencé par la présence ou l'absence de l'ovotestis. L'hypertrophie des portions glandulaires, particulièrement au niveau de la partie femelle, a été mise en évidence chez *B. contortus*, *T. centimetralis* et *P. corneus*³. Rien de comparable n'apparaît chez *Biomphalaria glabrata*, que la castration ait été partielle ou totale. Longtemps après la castration, le poids des différentes parties des tractus génitaux ne dépend pas d'une éventuelle action de la gonade.

L'absence totale de gonade n'empêche pas le dépôt de pontes semblables à celles des témoins mais stériles. Le

nombre de ces pontes, le nombre de sphères d'albumine produites, sont inférieurs à ceux observés chez les témoins. La présence d'une gonade même profondément amputée suffit pour que s'établisse un rythme d'oviposition comparable aux témoins. Qualitativement, l'oviposition est donc indépendante de l'ovotestis. Cependant, l'intensité du phénomène dépend quantitativement de la présence d'une gonade fonctionnelle. Les tractus génitaux, même en l'absence de gonade, ont un fonctionnement qui conserve une intensité liminaire et la présence de l'ovotestis l'augmente nettement.

- 1 H. W. Harry, Trans. Am. microsc. Soc. 84, 157 (1965).
- 2 M. Vianey-Liaud, Bull. Soc. zool. Fr. 97, 675 (1972).
- 3 P. Brisson, Ann. Embryol. Morph. Fr. 4, 189 (1971).
- 4 H. H. Boer, A. M. Mohamed, J. van Minnen et M. de Jong-Brink, Neth. J. Zool. 26, 94 (1976).
- 5 A. S. M. Saleuddin, non publié, communication personnelle.

DNA-repair in mammary tumor cell lines with different X-ray sensitivities

J. Shaeffer, A. M. El-Mahdi and B. M. Karr¹

Department of Radiation Oncology and Biophysics, Eastern Virginia Medical School, Norfolk (Virginia 23507, USA), 3 July 1978

Summary. 2 murine mammary tumor cell lines with different radiosensitivities ($D_0=65$ and 92 rad) showed no significant differences in levels of unscheduled DNA-synthesis following X-ray or UV-exposure.

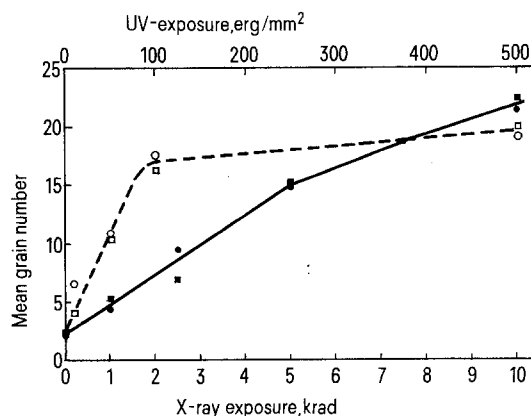
Mammalian cells not in the normal DNA synthetic (S) phase may carry out a DNA-repair synthesis following exposure to ionizing and UV-radiation² or certain chemicals³. This DNA-repair synthesis is called unscheduled DNA-synthesis (UDS) when assayed autoradiographically or repair replication if assayed by density gradient centrifugation techniques⁴.

A deficiency in UDS following UV-exposure in xeroderma pigmentosum is correlated with carcinogenesis and UV-radiation sensitivity in this disease⁵ and this has prompted examination of levels of UDS in other diseases and tumors^{6,7}.

Early (6-12th generation) s.c. transplants from a spontaneous CD₂F₁ mammary tumor were highly radioresponsive, exhibiting remarkable tumor shrinkage during fractionated X-ray doses of 2000 rad⁸. Following continued transplantation past the 19th generation, the tumors became refractory to radiation treatment. Cell lines cultured from sensitive and resistant tumors demonstrated a considerable difference in radiosensitivity ($D_0=65$ and 92 rad, respectively)⁹. It is of interest to test the levels of UDS in these cell lines.

Cell lines from the sensitive (12th generation) and resistant (19th generation) tumors were initiated and maintained as previously described^{8,9}. For UDS experiments, coverslip cultures in early monolayer were exposed to X-rays or UV-light at room temperature. X-ray exposures utilized a therapy unit operated as follows: 250 kVp, 15 mA, 0.52 mm Cu half-value-thickness, exposure rate of 1000 R/min. UV-irradiations ($\lambda=254$ nm) utilized a Mineralite UV-11 source with an exposure rate of 5 erg/mm²/sec. Tritiated thymidine (New England Nuclear Corp.) was added to the media within 2 min following irradiation at a concentration

of 5 μ Ci/ml at a specific activity of 18 Ci/mM. After 1 h at 37°C, the radioactive medium was poured off, and the cultures were washed 3 times with normal saline containing 100 μ g/ml unlabeled thymidine. Following overnight fixation in 1:3 acetic ethanol at 4°C, the coverslip cultures were rinsed in 70% ethanol, cold 4% perchloric acid, and twice in distilled water. Coverslips were then mounted on slides, dipped in Ilford K-5 photographic emulsion, stored



Mean numbers of autoradiographic silver grains over the nuclei of non-S-phase cells cultured from radiosensitive and resistant CD₂F₁ mammary tumors. The dose-dependent increase in mean grain number indicates unscheduled DNA-synthesis. The solid line refers to X-ray exposure; the dashed line refers to UV-exposure. Squares designate the resistant line while circles represent the sensitive line.