

The general view is that the minor incidence of SCE in heterochromatic regions could be a result of the high degree of coiling of chromatin fibres in such regions throughout the cell cycle except for a brief replication period. This supercoiling is thought to be responsible for making DNA more difficult of access to breakage, as a 1st step for the occurrence of a SCE, although factors other than chromatin condensation, e.g. base composition and base sequence of DNA may also enter the SCE picture¹⁸. On the other hand it is now clear that BrdU concentration has an effect on the incidence of SCE^{21,22} and it can be postulated that fractions of DNA rich in AT-pairs might incorporate more BrdU than DNA rich in GC-pairs, resulting in a higher sensitivity to SCE occurrence.

If we consider that SCE occur in heterochromatic regions in *Allium cepa* L. chromosomes at a lower frequency than expected, we certainly cannot establish any conclusion about the intrinsic cause of this phenomenon, e.g. chromatin condensation or the base sequence of the DNA, but the case of the apparent suppression of 'dot-like' exchanges in heterochromatin seems different.

If we assume that 'dot-like' exchanges may be a consequence of 2 exchanges occurring in close proximity it is difficult to imagine that the base composition or base sequence of DNA in these chromosomal regions could prevent the occurrence of such neighboring exchanges. This statement allow us to postulate that the special structural characteristics of heterochromatin rather than the base-composition of DNA could be the cause of the suppression of 'dot-like' exchanges. With respect to pericentromeric regions of chromosomes (late replicating DNA-rich but not C-banded) an explanation is more difficult to reach, mainly because there is not yet complete knowledge about its

inclusion or not in constitutive heterochromatin. In this sense, it seems that the pericentromeric banding in *Allium cepa* L. chromosomes can be obtained under certain conditions²³.

- 1 Present address: Departamento de Citología. Facultad de Biología, Sevilla (Spain).
- 2 S.A. Latt, Proc. natl Acad. Sci. USA 70, 3395 (1973).
- 3 M.B. Dutrillaux, C. Laurent and J. Couturier, C. r. Acad. Sci. 276, 3179 (1973).
- 4 H. Kato, Nature 251, 70 (1974).
- 5 M.S. Lin and O.S. Alfí, Chromosoma 57, 219 (1976).
- 6 P. Perry and S. Wolff, Nature 251, 156 (1974).
- 7 J. Korenberg and E. Freedlender, Chromosoma 48, 355 (1974).
- 8 R. Tice, J. Chaillet and E.L. Schneider, Exp. Cell Res. 102, 426 (1976).
- 9 T. Ikushima and S. Wolff, Exp. Cell Res. 87, 15 (1974).
- 10 S. Wolff, J. Bodycote and R.B. Painter, Mutation Res. 25, 73 (1974).
- 11 S.A. Latt, Proc. natl Acad. Sci. USA 71, 4162 (1974).
- 12 S. Wolff, R. Rodin and J.E. Cleaver, Nature 265, 347 (1977).
- 13 B.A. Kihlman, Chromosoma 51, 11 (1975).
- 14 J.B. Schwartzman and F. Cortés, Chromosoma 62, 119 (1977).
- 15 J.B. Schwartzman, F. Cortés and J.F. López-Sáez, Exp. Cell Res. 114, 443 (1978).
- 16 W. Schnedl, W. Pumberger, R. Czaker, P. Wagenbichler and H.G. Schwarzacher, Hum. Genet. 32, 199 (1976).
- 17 A.T. Natarajan and I. Klásterská, Hereditas 79, 150 (1975).
- 18 T.C. Hsu and S. Pathak, Chromosoma 58, 269 (1976).
- 19 C.J. Bostock and S. Christie, Chromosoma 56, 275 (1976).
- 20 J.B. Schwartzman and J.L. Díez, Cytobiologie 14, 310 (1977).
- 21 S. Wolff and P. Perry, Chromosoma 48, 341 (1974).
- 22 H. Kato, Nature 251, 70 (1974).
- 23 G. Fiskesjö, Hereditas 78, 153 (1974).

Action des températures élevées sur la reproduction du planorbe *Biomphalaria glabrata* (gastéropode pulmoné)

Effects of high temperature on reproduction of the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Pulmonata)

M. Vianey-Liaud

Laboratoire d'Ichthyologie et Parasitologie Générale, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Place Eugène-Bataillon, F-34060 Montpellier Cedex (France), 25 juin 1980

Summary. A temperature of 33 °C increases growth of young snails but not that of adults. Adult fecundity is reduced and young snails do not reach sexual maturity. Oogenesis remains normal but late stages of spermatogenesis are scarce. The weight of the albumen gland in adult snails is increased, as is that of the albumen gland and the female part in young specimens. High temperatures, however, do not prevent differentiation of the genital apparatus but disturb its functioning.

Chez les mollusques vecteurs, il existe une température optimum permettant d'observer une fécondité importante: au delà de cette température, on constate le plus souvent que la croissance s'accélère et que la fécondité diminue¹. Chez *Biomphalaria glabrata*, c'est vers 25 °C que la fécondité est maximum. A 30 °C la croissance corporelle est plus forte qu'à 25 °C mais la fécondité diminue ou s'annule²⁻⁷. Michelson³ a étudié l'appareil génital d'animaux élevés à 30 °C. Les individus primitivement immatures de 7 mm de diamètre s'accroissent plus vite qu'à 25 °C mais leur fécondité est très faible; la glande de l'albumine est réduite et l'ovotestis contient peu d'ovocytes. Si les animaux ont 4,8 mm de diamètre, ils sont totalement stérilisés; leur glande de l'albumine est réduite ou absente, il y a peu d'ovocytes dans la gonade mais la spermatogenèse est

normale. Chez les adultes, on a des résultats similaires mais la réduction de la glande de l'albumine est plus limitée. Souvent, l'été, j'ai observé une diminution de la fécondité des planorbes en élevage, sans que leur dissection ne révèle de modification spectaculaire de l'appareil génital. J'ai donc entrepris une étude de l'action des températures élevées sur le fonctionnement de l'appareil génital.

Matériel et méthodes. Les expériences sont effectuées à partir de 3 lots de *Biomphalaria glabrata* de souche brésilienne de taille et poids comparables, élevés à une température constante de 25, 30 ou 33 °C. Les animaux placés à 25 °C constituent le groupe témoin.

La 1re série d'expériences porte sur des individus adultes fonctionnels (diamètre supérieur à 13 mm), et dure au moins 4 semaines.

La 2e série porte sur des planorbes immatures dont le diamètre initial varie selon les expériences de $6,3 \pm 0,1$ à $7,0 \pm 0,1$ mm; elle dure au moins 5 semaines.

La 3e série est conçue ainsi: des adultes sont placés à 25, 30 ou 33 °C; dès qu'ils ont pondu, ces adultes sont éliminés. Les jeunes planorbes sont ainsi soumis aux différentes températures dès la fécondation. Ces expériences durent au minimum 5 semaines.

A 30 ou 33 °C, la survie est importante tant que les animaux sont immatures. Dès que les animaux atteignent la maturité sexuelle ou la taille pour laquelle les témoins sont mûrs, la mortalité augmente considérablement et frappe jusqu'à 90% des individus.

Croissance. La croissance des planorbes est estimée par leur variation pondérale et celle de leur diamètre.

Chez les adultes, la croissance est légèrement plus importante à 30 et 33 °C qu'à 25 °C mais les différences ne sont pas significatives.

Pour les animaux juvéniles, la croissance est plus importante à 30 °C qu'à 25 °C, des différences significatives apparaissant à partir de la 3e semaine. A 33 °C, la croissance est également très accélérée et les tailles et poids obtenus sont significativement plus élevés qu'à 25 °C; après la 3e semaine, la croissance se ralentit considérablement et les différences entre les 2 groupes disparaissent.

Chez les Planorbes de la 3e expérience, on observe un raccourcissement significatif de la durée de la vie embryonnaire, une accélération de la croissance durant la période d'immaturité des témoins puis un ralentissement ultérieur.

Tableau 1. Comparaison du nombre d'ovocytes et du diamètre ovocytaire chez des planorbes préalablement immatures élevés 5 semaines à 25 °C et 33 °C

	Nombre d'ovocytes	Diamètre ovocytaire (µm)
25 °C (n=6)	1395 ± 85	44,2 ± 1,3
33 °C (n=7)	1147 ± 313	41,4 ± 3,7
Significativité	n.s.	n.s.

n.s., différence non significative.

Oviposition. Quand les adultes sont soumis à 30 °C durant 4 semaines, la fécondité est plus faible qu'à 25 °C mais elle n'est pas nulle. L'action sur le nombre de pontes est peu nette mais en revanche le nombre d'œufs par animal diminue nettement; de même, dès la 1re semaine le nombre d'œufs par ponte est significativement plus faible que chez les témoins. A 33 °C la fécondité diminue très rapidement et devient nulle à partir de la 3e semaine.

Maintenus à 30 °C, les planorbes juvéniles acquièrent leur maturité sexuelle et le dépôt des premières pontes n'est pas décalé dans le temps par rapport aux témoins. La fécondité est beaucoup plus faible qu'à 25 °C. Une température prolongée de 30 °C finit par stériliser les animaux. Les individus élevés à 33 °C n'acquièrent pas la maturité sexuelle et demeurent stériles.

Pour les animaux de la 3e expérience, la situation est comparable à celle des juvéniles. Les planorbes éclosent en 5 jours à 30 °C et sont fertiles environ un mois plus tard. A 33 °C les animaux demeurent stériles.

J'ai soumis des animaux à 33 °C durant de plus longues périodes et ensuite replacé certains d'entre eux à 25 °C. Les individus des 1re, 2e et 3e expériences ont pu ainsi être suivis respectivement durant 2, 3 et 5 mois. Dans les 3 cas, on constate qu'ils demeurent totalement stériles. Si les animaux sont ensuite replacés à 25 °C, on voit rapidement apparaître (ou réapparaître) l'oviposition. Les pontes ainsi obtenues sont d'emblée toutes fertiles. Ainsi, des planorbes de l'expérience 3 sont toujours stériles 5 mois après l'éclosion (ils ont alors un diamètre de $14,3 \pm 1,6$ mm); placés alors à 25 °C, ils déposent des pontes 9 jours plus tard.

Une température de 33 °C provoque donc un blocage réversible de la reproduction.

Gamétogenèses. Dans l'ovotestis des adultes élevés à 33 °C durant 5 semaines, la totalité des différents stades de l'ovogenèse et de la spermatogenèse sont présents. Au bout de 2 mois, l'ovogenèse n'est toujours pas modifiée; en revanche, la spermatogenèse est limitée essentiellement aux spermatogonies et aux spermatocytes 1 en prophase de méiose, les stades ultérieurs étant peu abondants. La vésicule séminale contient encore des spermatozoïdes au bout de 5 semaines mais ils deviennent rares après 2 mois.

Tableau 2. Poids du corps et des différentes parties de l'appareil génital chez des planorbes adultes élevés à différentes températures durant 4 semaines. Analyse statistique des résultats

	Poids sec (mg) Corps	Gonade	Vésicule séminale	Glande de l'albumine	Partie mâle	Partie femelle	Pénis
25 °C, n=11	150 ± 8,5	1,35 ± 0,19	0,25 ± 0,06	1,45 ± 0,20	0,65 ± 0,07	1,34 ± 0,12	0,53 ± 0,07
30 °C, n=8	170 ± 8,5	1,83 ± 0,24	0,35 ± 0,08	2,85 ± 0,61	0,68 ± 0,16	1,98 ± 0,32	0,51 ± 0,09
33 °C, n=8	182 ± 17,2	1,67 ± 0,26	0,28 ± 0,06	3,48 ± 0,75	0,47 ± 0,09	1,48 ± 0,25	0,34 ± 0,09
Significativité (25-30 °C)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
(25-33 °C)	n.s.	n.s.	n.s.	<0,01	n.s.	n.s.	n.s.

Tableau 3. Poids du corps et des différentes parties de l'appareil génital chez des planorbes juvéniles élevés à différentes températures durant 5 semaines

	Poids sec (mg) Corps	Gonade	Vésicule séminale	Glande de l'albumine	Partie mâle	Partie femelle	Pénis
25 °C, n=10	98 ± 8,3	0,82 ± 0,14	0,17 ± 0,06	0,98 ± 0,69	0,30 ± 0,07	0,76 ± 0,12	0,21 ± 0,06
30 °C, n=9	125 ± 6,9	1,18 ± 0,16	0,13 ± 0,04	3,32 ± 0,74	0,32 ± 0,08	1,72 ± 0,21	0,24 ± 0,07
33 °C, n=9	139 ± 8,2	1,10 ± 0,16	0,15 ± 0,06	3,72 ± 0,85	0,36 ± 0,06	1,92 ± 0,25	0,28 ± 0,08
Significativité (25-30 °C)	<0,05	n.s.	n.s.	<0,05	n.s.	<0,05	n.s.
(25-33 °C)	<0,05	n.s.	n.s.	<0,05	n.s.	<0,05	n.s.

Chez les animaux préalablement immatures, au bout de 5 semaines à 33 °C, l'observation histologique révèle que l'ovogenèse n'est pas sensiblement modifiée par rapport aux témoins.

On note l'abondance à 33 °C de gros ovocytes en dégénérescence. Pour la spermatogenèse, les stades postérieurs à la prophase méiotique sont peu abondants. La vésicule séminale ne contient pas de spermatozoïdes. Au bout de 14 semaines on trouve toujours des spermatides âgées et des spermatozoïdes dans la gonade.

Les animaux de la 3e série d'expériences, sacrifiés au bout de 5 mois à 33 °C montrent la totalité des stades des 2 gamétogenèses. La vésicule séminale contient des spermatozoïdes.

Tractus génitaux. L'étude pondérale de la gonade et des tractus génitaux à différentes températures donne les résultats suivants:

La dissection comme l'étude pondérale ne montre pas de réduction de la glande de l'albumine; au contraire, on constate qu'elle est significativement plus importante chez les adultes à 33 °C que chez les témoins. A 30 °C et à 33 °C il en est également de même chez les juvéniles. Chez ces derniers, de plus, la partie femelle a un poids supérieur à celui des témoins.

Discussion. Une température constante de 33 °C stérilise totalement les *Biomphalaria glabrata* adultes ou immatures. Ce blocage de la reproduction dure tant que la température reste élevée. Quelques jours après le retour à une température plus basse, les planorbes deviennent ou redeviennent fertiles.

La température élevée n'empêche pas le développement de l'appareil génital. Les différentes catégories de cellules sexuelles apparaissent; les diverses parties des tractus génitaux se différencient et se développent mais elles ne fonctionnent pas.

Quels que soient les animaux utilisés, contrairement aux observations de Michelson³, il n'y a aucune régression de la glande de l'albumine; au contraire, son poids relatif par rapport au corps est plus élevé à haute température. Chez les immatures, on observe aussi un plus grand développement de la partie femelle.

Contrairement à Michelson³, il apparaît que l'ovogenèse n'est pas notablement affectée par une élévation de la température, tout au plus peut on noter l'abondance des gros ovocytes en dégénérescence.

En revanche, chez les immatures et les adultes, les stades postérieurs à la prophase méiotique de la spermatogenèse semblent affectés par une haute température et sont peu abondants. Cependant des spermatozoïdes se différencient si l'animal est soumis à 33 °C dès la fécondation.

Des individus dont l'ovotestis renferme tous les stades des gamétogenèses et dont les tractus sont normalement développés peuvent rester stériles plusieurs mois. Une température élevée n'empêche donc pas la différenciation de l'appareil génital mais elle en perturbe cependant le fonctionnement jusqu'à stériliser totalement les animaux.

Il est probable que l'action de la température ne s'effectue pas directement sur les gamétogenèses et les tractus. On ne peut écarter l'hypothèse de l'existence d'un relais au niveau du système nerveux central mais ceci reste encore actuellement à démontrer.

- 1 C.C. Appleton, *Malac. Rev.* 11, 1 (1978), et références citées.
- 2 E. Brumpt, *Annls Parasit. hum. comp.* 18, 9 (1941).
- 3 E. Michelson, *Am. J. Hyg.* 73, 66 (1961).
- 4 E. Chernin, *J. Parasit.* 53, 1233 (1967).
- 5 W. Jobin, *Am. J. trop. Med. Hyg.* 19, 1038 (1970).
- 6 R.F. Sturrock et B.M. Sturrock, *Ann. trop. Med. Parasit.* 66, 385 (1972).
- 7 M. Graber, J. Euzéby et J. Gevrey, *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* 30, 293 (1977).

Determination of adhesive rate constant in normal and neoplastic homogeneous cells¹

P. Pippia², A. Cogoli, M. Gaias, G. Piras and G. Ivaldi

Istituto di Fisiologia Generale, Università di Sassari, I-07100 Sassari (Italy), Laboratorium für Biochemie, ETH Zentrum, CH-8006 Zürich (Switzerland), and Cattedra di Fisiologia Generale, Facoltà di Farmacia, Università di Genova, I-16100 Genova (Italy), 14 January 1981

Summary. The adhesive rate constant (ARC) of neoplastic SGS-2 cells which have a low contact inhibition, is remarkably higher than that of normal homogeneous fibroblasts. This is in contrast with the mutual adhesion theory which states that the loss of contact inhibition is strictly related to the loss of cell recognition and consequently to the loss of cell adhesion capacity.

Cell recognition and cell-cell adhesion are important phenomena involving certain components of the cell membrane. Intercellular contact induces a series of events which lead to specific cellular differentiation by regulating mitosis and gene expression. Thereby histological and organogenesis are under control. In a normal tissue, contact inhibition, with its manifold aspects like inhibition of movement, mitosis, growth and density dependence, hinders an uncontrolled cellular proliferation and guarantees a physiological and harmonious development of tissues and organs. This control mechanism is lacking or is defective in most neoplastic cells. The consequence is an anomalous cell proliferation which determines the invasive properties of neoplasias in loco and at a distance. One possible explanation^{3,4} is that

the loss of contact inhibition observed in a number of neoplastic cells is caused by the loss of mutual recognition capacity and consequently of their adhesive properties. According to the mutual adhesion theory of Gail and Boone⁵ the molecular mechanism of cell-cell adhesion is very similar if not identical to that which regulates contact inhibition. Irrespective of this theory, there are several experimental observations which clearly show that the adhesion capacity of certain neoplastic cells, either derived from spontaneous tumors or transformed by oncogenic viruses, is very low. Conversely, we found that SGS-2 cells, a neoplastic cell strain actually investigated in our laboratories⁶, have a remarkably higher adhesion than that reported for other neoplastic cells in non-specific cell-substrate ad-