Répercussion de la durée d'éclairement journalier sur l'évolution des cellules nourricières et de la lignée mâle dans l'ovotestis d'*Helix aspersa*

P. GOMOT, Bernadette GRIFFOND

Laboratoire de Zoologie et Embryologie,
UA C.N.R.S., n° 040687, Faculté des Sciences et des Techniques,
place Maréchal Leclerc, 25030 Besançon Cedex, France.

Summary. *The effect of lighting duration on the evolution of nurse cells and male line in the Helix aspersa ovotestis.*

Adult snails (*Helix aspersa*) were bred under two photoperiods *i.e.* long-day : 18 h (JL), short-day : 8 h (JC) immediately after a 4 month hibernation. In these conditions only the long-day snails began to lay eggs from the 10th week of experiment, whereas the others did not.

To explain these differences, the structure and functioning of the hermaphroditic glands were investigated in both groups, 6 and 10 weeks later, using electron microscopic and quantitative biochemical methods.

At 6 weeks, compared to short-day cycles (JC), long-days (JL) highly increased spermatogonial multiplication measured by ^3H thymidine incorporation and on the other hand shortened the duration of spermatogenesis. Ultrastructural observations showed that modifications of the nurse cells were strongly correlated with the evolution of the male line.

At 10 weeks, the rates of spermatogonial multiplication were rather similar in all snails.

In spite of the absence of anomalies in the male cells, no reproduction occurred among the short-day animals ; this is probably due to a low concentration of sperm, suggesting an insufficient stimulation by the neuroendocrine controlling centers.

Introduction.

L'analyse expérimentale de l'action des facteurs externes sur la gamétogenèse et la reproduction des Gastéropodes n'a été abordée que récemment (Tardy, 1982). En particulier, les données concernant les effets de la photopériode sont relativement peu nombreuses. Chez les Limaces, Henderson et Pelluet (1960) montrent qu'un éclaircissement continu stimule la spermiogenèse de *Deroceras reticulatum* ; la photopériode est un facteur d'environnement important dans le contrôle de la différenciation du tractus génital (Sokolove et McCrone, 1978) et de la synthèse d'ADN gonadique chez *Limax maximus* (Sokolove *et al.*, 1983). Chez *Lymnaea stagnalis*, les longues photophases stimulent la production d'œufs (Bohken et Joosse, 1982) et accélèrent la maturation sexuelle (Joosse, 1984). Chez l'Escargot *Helix aspersa*, elles favorisent la reproduction (Enée *et al.*, 1982), tandis que les courtes photophases l'inhibent plus ou moins totalement (Stephens et Stephens, 1966 ; Enée *et al.*, 1982). Cependant, contrairement à ce qui se passe chez des Escargots maintenus en inactivité à basse température

(Gomot *et al.*, 1986), la spermatogenèse n'est pas bloquée chez des animaux élevés en jours courts (Gomot et Gomot, 1985). Les raisons de la faible proportion d'accouplements et de pontes observée dans ces conditions restant à élucider, nous avons réalisé d'une part une étude histologique et ultrastructurale de la gonade, visant à rechercher l'existence d'éventuelles anomalies au niveau des cellules germinales ou accessoires, d'autre part une étude biochimique et autoradiographique permettant d'évaluer le taux de multiplication des cellules gonadiques. Le présent travail a donc pour objet l'analyse des répercussions de deux photophases, une courte (JC) et une longue (JL) sur les aspects qualitatifs et quantitatifs du fonctionnement de l'ovotestis d'animaux adultes, au cours de la période qui sépare la sortie de l'hibernation de l'entrée en reproduction.

Matériel et méthodes.

Les animaux.

Des Escargots adultes « bordés », recueillis enterrés dans la nature au début de leur période de repos hivernal en octobre, sont conservés en chambre froide obscure à 7 ± 1 °C pendant 4 mois au Centre Universitaire d'Héliciculture ⁽¹⁾. On réalise alors 4 lots de 30 animaux qui sont placés en atmosphère favorable à une reprise d'activité : hygrométrie constante de 95 % et alternance de température de $17 \pm 0,2$ °C pendant 12 h (6 h à 18 h) et de $12 \pm 0,2$ °C pendant le reste de la journée, mimant ainsi la succession naturelle de température entre le jour et la nuit. En ce qui concerne l'éclairement, les animaux sont partagés en deux groupes, l'un soumis à une photophase de 18 h (JL) et l'autre à une photophase de 8 h (JC) par 24 h.

Au cours de l'expérience, le nombre d'accouplements est noté chaque jour et les pontes sont relevées chaque semaine. L'expression de ce comportement de reproduction a été exposée précédemment (Gomot et Gomot, 1985).

Méthodes.

Prélèvements d'organes. — Des expériences antérieures, réalisées dans les mêmes conditions d'éclairement et de température (Bonney-Claudet et Deray, 1984), ayant démontré qu'après une hibernation de 6 mois on n'observe pratiquement pas d'accouplements avant le 40^e jour, nous avons choisi d'étudier les gonades au 39^e (début des accouplements) et au 69^e jour de l'expérience (début de la ponte).

A la 6^e et à la 10^e semaine de l'expérience [prélèvements P1 (39^e jour) et P2 (69^e jour)], 5 animaux de chaque groupe reçoivent 3 injections de thymidine méthyle ³H ⁽²⁾ à la dose de 5 µCi par gramme de poids frais dans la cavité générale à 2 h d'intervalle à partir de 9 h (soit 1 h après le début de la période d'éclairement journalier). Les animaux sont sacrifiés 5 h après la première injection. La gonade, prélevée rapidement, est pesée afin de déterminer l'indice gonadique

⁽¹⁾ Centre Universitaire d'Héliciculture - 5, rue Ronchaux - 25000 Besançon.

⁽²⁾ C.E.A. (Commissariat à l'Énergie Atomique) - 91191 Gif-sur-Yvette.

apprécié par le rapport : poids de la gonade/poids de l'Escargot $\times 10^5$. Elle est ensuite divisée en trois parties :

- la première est fixée et incluse suivant les conditions décrites par Courtot et Gomot (1982) pour la réalisation de coupes semi-fines nécessaires à l'étude autoradiographique et de coupes ultrafines destinées à l'observation ultrastructurale ;
- quant aux deux autres fragments, l'un est congelé aussitôt à $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour le dosage des protéines et l'autre est traité immédiatement pour l'extraction de l'ADN afin d'estimer l'incorporation de thymidine marquée dans la gonade.

Histologie et cytologie. — Des coupes semi-fines sont colorées au bleu de toluidine (Trump *et al.*, 1961) tandis que des coupes voisines sont recouvertes d'émulsion Ilford L4, révélées à l'aide du révélateur D19 et fixées à l'hyposulfite de sodium à 30 %. Cette mise en évidence autoradiographique des cellules incorporant la thymidine tritiée est suivie de l'évaluation des cellules marquées par unité de surface gonadique. L'examen ultrastructural est effectué sur coupes ultrafines contrastées selon la méthode de Reynolds (1963).

Biochimie. — L'évaluation de l'incorporation de thymidine tritiée est déterminée par comptage en scintillation liquide de la fraction soluble après hydrolyse à chaud par le PCA (acide perchlorique) 0,5 M selon la méthode employée par Sokolove *et al.*, (1983). La radioactivité est rapportée à la quantité de protéines dosées selon la méthode de Lowry *et al.*, (1951).

Les mesures de radioactivité et les comptages de cellules marquées sont comparés à l'aide du test non paramétrique U de Mann et Whitney (d'après Siegel, 1956).

Résultats.

1. Etude histologique et ultrastructurale.

L'ovotestis d'*Helix aspersa* adulte est une glande en grappe, constituée de tubules ou acini dans lesquels se distinguent nettement deux régions : une région proximale ou col, limitée par un épithélium composé de cellules plus ou moins cubiques, et une région distale, tapissée par des cellules non germinales dont l'aspect varie selon le stade d'avancement de la gamétogenèse. Les cellules germinales femelles subissent la totalité de leur différenciation contre la paroi à l'intérieur d'une enveloppe folliculaire, tandis que les cellules mâles, en relation avec les cellules nourricières, évoluent dans la lumière des acini. Après 4 mois d'hibernation, les tubules gonadiques sont peu remplis ; ils contiennent principalement des spermatogonies et des spermatocytes mais aussi quelques paquets de spermatozoïdes désordonnés parmi des débris cellulaires. Aucune spermatide n'est observée suggérant un arrêt total de la spermiogenèse. La lignée femelle est représentée par de nombreux ovocytes en préméiose et prévitellogenèse et par quelques gros ovocytes en dégénérescence.

1) *Prélèvement P1.*

a) *Animaux placés en JL.* — La lumière des tubules est remplie de cellules mâles à tous les stades de la spermatogenèse, les stades les plus avancés, spermatides et spermatozoïdes, prédominant (fig. 1). Contre les parois, des ovocytes de toutes tailles sont visibles.

Au microscope électronique, la lame basale est bien étalée (fig. 4). Les cellules du col (fig. 2), ancrées les unes aux autres par des jonctions septées et des desmosomes apicaux, possèdent un noyau à contour irrégulier, renfermant quelques blocs d'hétérochromatine et un ou deux nucléoles en position centrale ou pariétale. Leur cytoplasme est garni de rosettes de glycogène souvent associé à des globules lipidiques (fig. 3). L'apex est orné de nombreuses villosités plus ou moins dilatées (fig. 2). Dans la zone distale, les cellules nourricières sont allongées contre la lame basale (fig. 4). Latéralement, elles sont unies par des jonctions septées. Leur noyau vraisemblablement polypléide, possède un nucléole réticulé et une hétérochromatine dispersée en petits amas. Dans le cytoplasme encombré de lipides et de glycogène, quelques lysosomes sont observés ainsi qu'un appareil de Golgi bien développé. Ces cellules, qui ont souvent une forme pyramidale, émettent vers la lumière des prolongements auxquels sont accrochés des faisceaux de spermatides rondes (fig. 4) ou allongées (fig. 5). Il n'est pas rare qu'entre la lame basale et l'assise de cellules nourricières s'intercale une couche, plus ou moins continue, de cellules pariétales très aplaties (fig. 4).

b) *Animaux maintenus en JC.* — L'aspect des acini diffère nettement de celui décrit précédemment. Les tubules, entourés d'un tissu vésiculeux très développé, sont beaucoup moins remplis. Les cellules mâles sont aux stades précoces de la spermatogenèse : spermatogonies et spermatocytes (fig. 6). Chez 2 animaux sur 5, on peut cependant noter la présence de quelques spermatides et spermatozoïdes. Ainsi la spermiogenèse redémarre seulement. Toutes les étapes de l'ovogenèse (Griffond et Bolzoni-Sungur, 1986) sont représentées.

FIG. 1. — *Aspect d'un acinus.* La lignée mâle est fortement stimulée ($\times 300$).

FIG. 2. — *Cellules du col d'un acinus.* Le noyau est relativement pauvre en hétérochromatine. On notera l'abondance des villosités apicales ($\times 6\,300$).

FIG. 3. — *Détail du cytoplasme de cellules du col :* le glycogène et les lipides sont abondants ($\times 8\,000$).

FIG. 4. — *Relation typique entre cellule nourricière et spermatides rondes en cours de différenciation* ($\times 1\,900$).

FIG. 5. — *Etroite liaison entre cellule nourricière et faisceau de spermatides allongées* ($\times 5\,000$).

c : centriole ; cn : cellule nourricière ; cp : cellule pariétale ; da : desmosome apical ; go : appareil de Golgi ; g : tissu glial ; gl : glycogène ; js : jonction septée ; L : lumière ; l : lipides ; lb : lame basale ; m : mitochondries ; N : noyau ; pi : pièce intermédiaire ; pn : prolongement de cellule nourricière ; sc : spermatocytes ; st : spermatides ; sz : spermatozoïdes ; t : tête de spermatide ; flèches : villosités.

Gonade d'un Escargot élevé 39 jours en JL

Au niveau ultrastructural, la lame basale apparaît souvent plissée, sans doute en raison du faible remplissage des acini : par endroits, aucune cellule ne lui est plus accolée. Par rapport aux Escargots élevés en JL, quelques différences existent dans les cellules du col : le noyau, plus sombre, renferme de gros blocs hétérochromatiniens ; les villosités sont moins nombreuses et moins développées (fig. 7), les mitochondries à matrice sombre sont très allongées et volumineuses. Dans la région distale, les cellules nourricières sont plus hautes et plus développées, aspect qui peut être corrélé à l'état d'avancement moins prononcé de la gamétogenèse mâle. Beaucoup possèdent un noyau volumineux, plus ou moins repoussé vers l'intérieur de la lumière. Nous n'observons pas d'anomalies dans la différenciation des cellules germinales : dans les ovocytes, préméiose, prévitellogénèse, vitellogénèse I et II se déroulent normalement. Pour la lignée mâle, les spermatocytes au stade zygotène abondent (fig. 8) ; groupés en bouquets autour des prolongements de cellules nourricières, ils présentent les complexes tripartites caractéristiques ; leur cytoplasme renferme de très nombreuses mitochondries ainsi qu'un appareil de Golgi bien développé, localisé à la base du pédoncule par lequel ils s'accrochent aux cellules nourricières. Dans les spermatides rondes (fig. 8), la condensation de la chromatine et l'accumulation de matériel dense à deux pôles opposés de l'enveloppe nucléaire s'effectuent normalement. Quelques figures de dégénérescence (éclaircissement des noyaux, disparition de l'euchromatine) sont visibles dans des cellules nourricières ainsi que dans des cellules mâles ; de même, certains ovocytes en fin de vitellogénèse se nécrosent, mais ces phénomènes affectent un nombre restreint de cellules.

2) *Prélèvement P2.*

a) *Escargots placés en JL.* — 2 cas sont observés : dans 3 gonades sur 5, les stades terminaux de la spermatogenèse, spermatides et spermatozoïdes sont extrêmement abondants et les cellules de la paroi distale sont très aplaties. Dans les 2 autres gonades, les cellules nourricières sont très hautes, très riches en lipides, elles envahissent la majeure partie de la lumière acineuse dans laquelle ne sont visibles que de rares spermatogonies et spermatocytes I. Ces observations suggèrent qu'il y a eu évacuation du sperme et que l'ovotestis est dans une phase de repos précédant une future vague gamétogénétique.

En ultrastructure, la lame basale des tubules vidés de leurs spermatozoïdes est plissée et dépourvue de cellules sur de grandes surfaces (fig. 9). Des débris cellulaires, fragments de membranes, gouttelettes lipidiques, noyaux nécrosés... encombrant la lumière. Par contre, dans les autres acini, la lame basale n'est pas ou peu plissée (fig. 10) ; elle supporte une ou parfois deux assises de cellules non germinales (fig. 10). L'assise la plus externe est alors constituée de cellules allongées parallèlement au bord de l'acinus, à noyau ovale (fig. 10) ou à contour irrégulier (fig. 11), à cytoplasme renfermant un appareil de Golgi bien développé, quelques lysosomes et des globules lipidiques. Face à la lame basale, ces cellules émettent de longs pseudopodes qui s'enchevêtrent avec ceux des cellules voisines. L'assise la plus interne est formée de cellules nourricières volumineuses, dont le cytoplasme a des caractères similaires (abondance de lipides, présence de lysosomes mais en beaucoup plus grand nombre) mais dont le noyau est très

Gonade d'Escargot placé 39 jours en JC

FIG. 6. — Les acini renferment principalement des spermatogonies, des spermatocytes et quelques spermatides ronds. On remarque des figures de dégénérescence ($\times 300$).

FIG. 7. — Cellule du col montrant un noyau riche en hétérochromatine, peu de villosités apicales et une trame de collagène périacineuse abondante ($\times 6\,300$).

FIG. 8. — Bouquet de spermatocytes accrochés aux prolongements d'une cellule nourricière ($\times 3\,600$).

cn : cellule nourricière ; co : collagène ; da : desmosome apical ; go : appareil de Golgi ; gl : glycogène ; j : jonction entre cn et sc ; js : jonction septée ; L : lumière ; l : lipides ; lb : lame basale ; m : mitochondries ; N : noyau ; sc : spermatocytes ; sg : spermatogonies ; st : spermatides ; astérisques : figures de dégénérescence ; flèches : accumulation de matériel dense contre l'enveloppe nucléaire d'une spermatide.

Gonade d'Escargot placé 69 jours en photophase longue (JL)

différent ; repoussé vers la lumière, hypertrophié, il renferme une hétérochromatine dispersée en fines mottes et un nucléole réticulé lorsqu'un faisceau de spermatozoïdes est fiché dans le cytoplasme (fig. 12). Si au contraire la cellule nourricière ne supporte plus de cellules mâles, le noyau très allongé a un contour tourmenté, il s'étire en longues digitations et possède également un nucléole réticulé (fig. 10).

b) *Escargots conservés en JC.* — Spermatogonies et spermatocytes sont plus nombreux qu'en JL. Par rapport au prélèvement P1, les stades spermatides et spermatozoïdes sont atteints dans tous les cas, mais à côté de tubules bien remplis beaucoup apparaissent relativement vides. Les cellules de la paroi distale sont d'autant plus aplaties que la spermatogenèse est avancée et active. Dans les acini renfermant peu de cellules mâles, les cellules nourricières comblent presque totalement la lumière. Les figures de nécrose de cellules nourricières et germinales sont plus abondantes que dans tous les autres lots étudiés, du matériel en dégénérescence obstrue la lumière. Des cellules mâles tétranucléées sont observées, indiquant l'absence de cytodiérèse au cours de certaines divisions.

En microscopie électronique, les cellules de la paroi (fig. 13) et les cellules nourricières (fig. 14) ont sensiblement le même aspect qu'en JL. Les cellules germinales mâles, parvenues au terme de leur différenciation, semblent tout à fait normales.

II. Analyse quantitative.

Les données quantitatives sont regroupées dans le tableau I.

1) *Indices gonadiques.* — La comparaison des indices ne fait pas apparaître de différences significatives entre les animaux placés en JL et en JC.

2) *Teneur en protéines de la gonade.* — Au moment du prélèvement P1, alors que les gonades des animaux en JL et en JC ont le même poids moyen, la teneur en protéines est plus faible chez les premiers. La proportion relative de protéines diffère donc, ce qui implique une répartition différente des constituants non protéiques (sucres, lipides... des cellules nourricières et pariétales, réserves calciques ou lipidiques des ovocytes par exemple). En P2, la teneur en protéines a fortement augmenté aussi bien pour les JC que pour les JL et les valeurs obtenues sont très proches, confirmant les observations histologiques qui mettent en évidence les mêmes types cellulaires dans les deux conditions expérimentales.

FIG. 9. — Dans un tube gonadique ayant évacué ses spermatozoïdes, la lame basale est très plissée et la lumière est occupée par des débris de clasmotose des cellules nourricières ($\times 4\ 200$).

FIG. 10. — Epithélium de la zone distale d'un acinus après spermiation avec une cellule pariétale allongée entre la lame basale et une cellule nourricière à noyau fortement découpé ($\times 5\ 500$).

FIG. 11. — Cellule pariétale épousant intimement les contours de la lame basale ($\times 6\ 800$).

FIG. 12. — Juste avant la spermiation, les spermatozoïdes sont fichés dans le cytoplasme encombré de réserves d'une cellule nourricière à noyau polyploïde ($\times 2\ 400$).

cn : cellule nourricière ; cp : cellule pariétale ; g : tissu glial ; L : lumière ; l : lipides ; lb : lame basale ; ly : lysosomes ; m : mitochondries ; mu : muscle ; N : noyau ; n : nucléole ; sz : spermatozoïde.

TABLEAU 1
Comparaison après 39 jours (prélèvement P1) et 69 jours (prélèvement P2) des caractéristiques essentielles des gonades des Escargots placés en jours longs (JL) ou en jours courts (JC).

	Prélèvement P1		Prélèvement P2	
	JL (5)	JC (5)	JL (5)	JC (5)
Poids de la gonade (mg)	42 ± 13	41 ± 21	54 ± 21*	35 ± 12*
Indice gonadique	320 ± 154	350 ± 131	420 ± 129	320 ± 111
Teneur en protéines (µg/mg)	71 ± 29	113 ± 50	155 ± 35	168 ± 20
Histologie	Tous les stades mâles Tous les stades femelles	Spermatogonies spermatocytes Tous les stades femelles	Tous les stades mâles Tous les stades femelles	Tous les stades mâles Tous les stades femelles
Incorporation de thymidine ³ H (dpm/mg de poids frais)	13 663 ± 2 799*	8 000 ± 2 873*	9 157 ± 2 432	10 226 ± 2 363
Incorporation de thymidine ³ H (dpm/µg de protéines)	220 ± 81*	77 ± 27*	60 ± 10	62 ± 16
Autoradiographie (nombre de cellules marquées/1 000 µm ²)	7 à 24	7 à 11	6	8

Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre d'animaux sur lesquels ont porté les investigations.
Les valeurs différant significativement sont accompagnées d'un astérisque en exposant.

3) *Evaluation de la synthèse d'ADN gonadique.* — Pour P1, l'incorporation de thymidine tritiée est significativement plus importante en JL qu'en JC. La multiplication cellulaire est donc beaucoup plus intense en JL ($\times 2$ ou 3 selon qu'on exprime la radioactivité en fonction du poids de la gonade ou de la quantité de protéines). Après 69 jours, le taux d'incorporation a diminué fortement chez les Escargots placés en JL, ce qui s'explique aisément car les animaux sont en fin de spermatogenèse ; il a varié plus faiblement chez les autres, la multiplication se poursuivant à peu près au même rythme.

4) *Autoradiographie.* — 5 heures après l'injection de thymidine tritiée, les cellules marquées sont essentiellement des spermatogonies et quelques spermatoctes. Pour P1, elles constituent souvent des groupes isogéniques en JL alors qu'en JC, elles sont plutôt éparses dans les acini. Pour des surfaces de coupes équivalentes, le nombre de cellules ayant incorporé la thymidine est plus élevé en JL. En P2, le nombre de cellules marquées et leur répartition sont très semblables dans les deux groupes d'animaux (fig. 15 et 16).

Par ailleurs, quelques noyaux de cellules nourricières sont fortement radioactifs en particulier en P1 chez les Escargots élevés en JC : cette observation prouve qu'il y a replication de l'ADN et polyploïdie de ces cellules dont le noyau s'accroît considérablement au cours du cycle spermatogénétique.

Discussion - Conclusion.

Les résultats conjugués de notre étude anatomique, cytologique, biochimique et autoradiographique démontrent que des Escargots placés à des photophases différentes après une hibernation de 4 mois ne réagissent pas de la même façon. Après 6 semaines en JL, la multiplication spermatogoniale est active et de nombreuses cellules mâles sont parvenues au terme de la spermiogenèse. Par contre en JC, la synthèse d'ADN est plus faible et les cellules mâles dans leur majorité sont encore aux étapes précoces de la spermatogenèse. Ces observations rejoignent celles d'Henderson et Pelluet (1960) qui montrent qu'un éclaircissement continu stimule la spermiogenèse de *Deroceras reticulatum*, de Sokolove *et al.* (1984) qui observent en JL une augmentation de la multiplication spermatogoniale de *Limax maximus*. Chez *Helix aspersa* après 10 semaines, les différences s'estompent : les animaux placés en JL sont en fin de spermiogenèse et chez les animaux de JC, des spermatozoïdes, bien que moins abondants, se sont différenciés. Contrairement aux basses températures (Gomot *et al.*, 1986), les photophases courtes ne provoquent pas un blocage de la lignée mâle à un stade précis ; elles n'entraînent pas non plus l'apparition d'une forte proportion d'anomalies dans la différenciation cytosexuelle. Mais d'une part elles ralentissent le déroulement de la spermatogenèse, d'autre part elles abaissent le taux de multiplication cellulaire, ce qui a pour répercussion une densité finale de spermatozoïdes beaucoup plus faible que chez les animaux de JL. Ces résultats rejoignent ceux de Hunter et Stone (1986) qui, chez *Cepaea nemoralis*, notent un retard dans le début de la ponte et un moins grand nombre d'œufs pondus chez les animaux de JC.

Gonade d'un Escargot placé 69 jours en photophase courte (JC)

Incorporation de thymidine tritiée

En ce qui concerne la lignée femelle, tous les stades de son évolution sont observés dans les deux conditions expérimentales analysées, mais sans doute les proportions de chaque catégorie d'ovocytes diffèrent-elles, comme le suggèrent les variations de la teneur en protéines. Des comptages de chaque classe ovocytaire devront être effectués pour préciser le comportement des cellules femelles.

Au niveau des cellules de la paroi, cellules du col et cellules nourricières, des différences sont notées entre animaux de JC et de JL, en particulier au moment de P1 ; elles semblent liées à un asynchronisme de fonctionnement des gonades plutôt qu'à des perturbations physiologiques. En effet, les cellules nourricières par exemple présentent un cycle en relation avec l'état de différenciation de la lignée mâle, comme chez *Biomphalaria glabrata* (De Jong-Brink *et al.*, 1977). Les dissimilitudes dans leur taille, leur position, leur forme... traduisent un décalage dans leur évolution.

Dans nos conditions expérimentales (températures alternées de 17 et 12 °C), les courtes photophases entraînent une absence de reproduction, alors que chez un autre Hélicidé, à des températures alternées de 28 et 23 °C, elles n'inhibent pas la ponte (Hunter et Stone, 1986). D'autres séries expérimentales sont donc nécessaires pour définir lequel des deux facteurs, température ou lumière, joue chez *Helix aspersa* le rôle de facteur critique.

Quoiqu'il en soit, nos observations mettent en évidence une action primaire de la lumière sur la gamétogenèse qui, dans le cas des JC, n'exerce pas une stimulation suffisante des centres neuro-endocrines qui contrôlent la reproduction.

Reçu en octobre 1986.

Accepté en décembre 1986.

Remerciements. — Les auteurs adressent leurs remerciements au personnel du laboratoire et plus particulièrement à Brigitte Jolibois pour la mise en page du manuscrit et à Félix Sanchez pour la réalisation des planches photographiques.

FIG. 13. — Cellule pariétale émettant de nombreux prolongements contre la lame basale et tout à fait comparable à celle de la Fig. 11 ($\times 6\,800$).

FIG. 14. — Cellule nourricière d'une zone peu activée de l'épithélium acineux avec un noyau lobé et un cytoplasme riche en globules lipidiques. On remarque sa liaison étroite avec une cellule nourricière voisine ($\times 6\,800$).

cn : cellule nourricière ; cp : cellule pariétale ; d : desmosome ; g : cellule gliale ; js : jonction septée ; l : lipides ; lb : lame basale ; m : mitochondries ; mu : fibres musculaires ; N : noyau ; n : nucléole.

FIG. 15. — Bouquet de cellules mâles marquées dans la gonade d'un Escargot élevé 69 jours en JL ($\times 680$).

FIG. 16. — Spermatogonies marquées dans la gonade d'un Escargot élevé 69 jours en JC ($\times 680$).

sz : spermatozoïdes ; flèches : marquage des cellules mâles.

Références

- BOHLKEN S., JOOSSE J., 1982. The effect of photoperiod on female reproductive activity and growth of the freshwater pulmonate snail *Lymnaea stagnalis* kept under laboratory breeding conditions. *Int. J. Invert. Reprod. Dev.*, **4**, 213-222.
- BONNEFOY-CLAUDET R., DERAY A., 1984. Influence de la durée d'hibernation sur l'activité reproductrice de l'Escargot *Helix aspersa* Müller. *C. R. Soc. Biol.*, **178**, 442-449.
- COURTOT A. M., GOMOT L., 1982. Les stades de l'organogenèse et la cytodifférenciation de la glande à albumen de l'Escargot *Helix aspersa* Müller. *Reprod. Nutr. Dév.*, **22**, 661-680.
- DE JONG-BRINK M., BOER H. H., HOMMES T. G., KODDE A., 1977. Spermatogenesis and the role of Sertoli cells in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Cell Tiss. Res.*, **181**, 37-58.
- ENÉE J., BONNEFOY-CLAUDET R., GOMOT L., 1982. Effet de la photopériode artificielle sur la reproduction de l'Escargot *Helix aspersa* Müller. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **294**, 357-360.
- GOMOT P., GOMOT L., 1985. Action de la photopériode sur la multiplication spermatogoniale et la reproduction de l'Escargot *Helix aspersa*. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **110**, 445-459.
- GOMOT P., GRIFFOND B., GOMOT L., 1986. Effets de la température sur la spermatogenèse d'Escargots *Helix aspersa* maintenus en repos artificiel. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **302**, 27-32.
- GRIFFOND B., BOLZONI-SUNGUR D., 1986. Stages of oogenesis in the snail, *Helix aspersa*: cytological, cytochemical and ultrastructural studies. *Reprod. Nutr. Dév.*, **26**, 461-474.
- HENDERSON N. E., PELLUET D., 1960. The effect of visible light on the ovotestis of the slug *Deroceras reticulatum* (Müller). *Can. J. Zool.*, **38**, 173-178.
- HUNTER R. D., STONE L. M., 1986. The effect of artificial photoperiod on growth and reproduction in the land snail *Cepaea nemoralis*. *Int. J. Invert. Reprod. Dev.*, **9**, 339-344.
- JOOSSE J., 1984. Photoperiodicity, rhythmicity and endocrinology of reproduction in the snail *Lymnaea stagnalis*, 204-220. In *Photoperiodic regulation of insect and molluscan hormones*, Pitman, London (Ciba Foundation Symposium 104).
- LOWRY O. H., ROSEBROUGH N. J., FARR A. L., RANDALL R. J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, **193**, 265-275.
- REYNOLDS E. S., 1963. The use lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, **17**, 208-212.
- SIEGEL S., 1956. *The case of two independent samples in non parametric statistics*. International Student (Ed) McGraw Hill International Book Company, Auckland, p. 116.
- SOKOLOVE P. G., McCRONE E. J., 1978. Reproductive maturation in the slug *Limax maximus* and the effects of artificial photoperiod. *J. comp. Physiol.*, **125**, 317-325.
- SOKOLOVE P. G., MELROSE G. R., GORDON T. M., O'NEILL M. C., 1983. Stimulation of spermatogonial DNA synthesis in slug gonad by a factor released from cerebral ganglia under the influence of long days. *Gen. comp. Endocrinol.*, **50**, 95-104.
- SOKOLOVE P. G., McCRONE E. J., VAN MINNEN J., DUNCAN W. C., 1984. Reproductive endocrinology and photoperiodism in a terrestrial slug, 189-203. In *Photoperiodic regulation of insect and molluscan hormones*, Pitman, London (Ciba Foundation Symposium 104).
- STEPHENS G. J., STEPHENS G. C., 1966. Photoperiodic stimulation of egg laying in the land snail *Helix aspersa*. *Nature*, **212**, 1582.
- TARDY J., 1982. Action des facteurs externes sur la sexualité des Mollusques Gastéropodes aquatiques. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **107**, 53-70.
- TRUMP B. F., SMUCKLER E. A., BENDITT E. P., 1961. A method for staining epoxy sections for light microscopy. *J. Ultrastruct. Res.*, **5**, 343-345.