SPERMATOGONIES ET SPERMATOCYTES FLAGELLÉS CHEZ *POECILIA RETICULATA* (TÉLÉOSTÉENS CYPRINODONTIFORMES)

R. BILLARD, J.-E. FLÉCHON

avec la collaboration technique de Anne-Marie ESCAFFRE

*Station centrale de Physiologie animale,
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas
Institut national de la Recherche agronomique*

SOMMAIRE

La présence d'un flagelle sur des spermatogonies et spermatocytes et de 2 flagelles sur des spermatides est décrite chez le Guppy (*Poecilia reticulata*). Les flagelles présents sur les gonies et spermatocytes sont plus courts que ceux des spermatides et débouchent directement hors des cellules. Le mode de formation des flagelles est discuté.

INTRODUCTION

Des cils ou des flagelles ont été identifiés sur un grand nombre de catégories cellulaires (revue de SCHERFT et DAEMS, 1967), mais n'avaient jamais été signalés, à notre connaissance, sur des cellules germinales autres que des spermatides ou des spermatozoïdes, même dans les cas de spermatogenèses atypiques (FAIN-MAUREL, 1966).

Les observations de flagelles sur des spermatocytes, effectuées en microscopie photonique par SCHREINER et SCHREINER, (1905) chez les Cyclostomes ; MOORE (1895) chez les Sélaciens ; MEVES (1897) et GATENBY (1918) chez les Lépidoptères et JOHNSON, (1931) chez les Orthoptères, n'ont pas été confirmées par la microscopie électronique, bien que GATENBY et TAHMISIAN (1959) estiment que la croissance du flagelle se manifeste dès les spermatocytes II.

Chez *Poecilia reticulata*, seules les dernières phases de la spermatogenèse ont été étudiées au microscope électronique. GRONBERG et TELKKA (1967) identifient une

paire de centrioles sur les spermatocytes I et ce n'est qu'à partir des spermatides rondes que les flagelles apparaissent (GRONBERG et TELKKA, 1968 ; PORTE et FOLLENIUS, 1960). Nos observations montrent cependant que des flagelles peuvent se former à partir des centrioles dans des spermatogonies et des spermatocytes I.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les testicules de *Poecilia reticulata* prélevés après anesthésie sont immédiatement plongés dans une solution à 4 p. 100 de glutaraldéhyde (tampon phosphate à pH 7.25) où ils sont disséqués en vue de l'isolement des tubules (BILLARD, 1969 a). Ces derniers sont ensuite replacés dans un nouveau bain pendant 30 mn à 4°C, puis dans une solution d'acide osmique à 2 p. 100 dans le même tampon. Après inclusion dans l'épon, les coupes sont colorées successivement à l'acétate d'uranyle (5 mn) et au citrate de plomb (10 mn) puis recouvertes d'un film de carbone et observées à l'Elmiskop Siemens.

Les observations ont porté sur 30 tubules prélevés sur 10 animaux appartenant à 4 souches différentes.

RÉSULTATS

La présence de flagelles a pu être identifiée sur des spermatogonies de l'apex du tubule (fig. 1) ou de cystes (fig. 2) et sur des spermatocytes I (fig. 3). Environ la moitié des mâles examinés, quelle que soit leur origine, présentent des flagelles avec une fréquence assez faible, allant de 0 à 5 p. 100 sur des cellules à l'intérieur de cystes et de l'ordre de 1 p. 100 sur les gonies de l'apex. Sur les spermatides rondes, on rencontre généralement un flagelle, mais il est quelquefois possible d'identifier la présence d'un deuxième flagelle (fig. 4).

Les flagelles des spermatogonies et spermatocytes se différencient de ceux des spermatides par le mode de sortie du flagelle hors de la cellule. Sur les spermatides rondes, à un stade avancé dans la formation du flagelle, les 2 centrioles se localisent près de la membrane cytoplasmique. Le centriole le plus proche de la membrane s'organise en centriole proximal et le centriole opposé, orienté vers l'intérieur de la cellule, se prolonge par un flagelle caractérisé par un long parcours dans le cytoplasme et autour duquel se disposent les mitochondries (fig. 5). Au contraire, sur les spermatogonies et les spermatocytes I, les flagelles identifiés sont toujours très courts (5 μ au maximum) et débouchent directement dans l'espace intercellulaire, soit perpendiculairement à la surface de la cellule (fig. 1 et 6), soit tangentiellement (fig. 2 et 3). Dans ce cas, la sortie du flagelle se fait au niveau d'un épaulement.

Certaines images donnent l'impression que la ciliogenèse est précédée par l'individualisation de vésicules qui se placent à l'extrémité du centriole distal, soit à proximité de la membrane plasmique (fig. 7), soit près du noyau (fig. 8). De petites vésicules secondaires s'accumulent autour de la vésicule initiale qui augmente de taille (fig. 11 et 12). Le flagelle débouche dans cette vésicule, puis à l'extérieur de la cellule (fig. 13).

Sur les spermatogonies et spermatocytes I, les centrioles à l'origine des flagelles sont toujours entourés d'un Golgi abondant (fig. 13), mais il en est de même pour les paires de centrioles qui ne donnent pas lieu à la formation de flagelles dans les autres cellules. Dans plusieurs cas (par exemple fig. 1), le flagelle provient d'un centriole localisé à proximité d'un pont cellulaire.

En coupe transversale, les flagelles présents sur les gonies et les spermatocytes I apparaissent quelquefois dépourvus de la paire de fibres axiales (fig. 15), mais le plus souvent, cette paire existe (fig. 16 et 17). Les fibres périphériques associées par paires sont généralement au nombre de 18, mais certaines peuvent manquer et d'autres, se trouver ouvertes (fig. 17). Le flagelle de cette figure présente, en outre, une expansion latérale (en forme de vésicule) ; cette particularité peut également se rencontrer sur les flagelles de spermatides rondes (fig. 18).

DISCUSSION

Il apparaît qu'un faible pourcentage de spermatogonies et de spermatocytes I possèdent un flagelle toujours court et qui débouche directement en dehors de la cellule — ce qui le différencie de celui des spermatides rondes où le trajet intracellulaire est plus long. La structure (9 + 2) des flagelles de gonies et spermatocytes peut être considérée comme analogue à celle des spermatozoïdes, bien que de nombreuses variations aient été relevées. En raison de la situation du flagelle dans l'espace intercellulaire, la coupe transversale de la figure 8 passe probablement par l'extrémité du flagelle et la paire centrale peut déjà avoir disparu ainsi que MATTEI et *al.* (1967) l'ont observé sur l'extrémité flagellaire des spermatozoïdes de cette même espèce ; les structures intercentriolaires particulières à cette espèce, décrites par MATTEI et BOISSON (1966) et qui apparaissent sur la figure 4, se retrouvent le plus souvent entre les centrioles des flagelles de gonies et de spermatocytes I (fig. 1 et 14). En outre, les vésicules identifiées sur les flagelles des spermatocytes se rencontrent également sur les flagelles des spermatides et ont été signalées dans d'autres espèces et discutées par SATIR (1965). On peut conclure qu'il n'existe qu'un seul type de flagelle sur les cellules germinales de ce poisson. La situation est donc différente de celle de *Pieris brassicae* où 2 types de flagelles, morphologiquement différents, ont été identifiés dans un même testicule (ZYLBERBERG, 1963).

Deux modes de formation de flagelles ont été décrits dans la littérature. Dans le 1^{er} cas, le flagelle débouche directement dans le milieu extracellulaire. Une paire de centrioles est d'abord identifiée à proximité de la membrane cellulaire, le centriole distal entre en contact avec cette membrane et pousse un flagelle directement à l'extérieur de la cellule. Secondairement, la paire de centrioles peut se rapprocher du noyau entraînant avec elle la membrane cytoplasmique. Cela se rencontre au cours de la spermiogenèse chez *Poecilia reticulata* (MATTEI et BOISSON, 1966 ; BILLARD, 1969 *b*) ou dans une espèce voisine, *Cnesterodon decemmaculatus* (SOTELO et TRUJILLO-CENOZ, 1958 *a*) et au cours de la ciliogenèse dans les cellules de l'épithélium neural de l'embryon de Poulet (SOTELO et TRUJILLO-CENOZ, 1958 *b*).

Dans le deuxième cas, les centrioles restent localisés à l'intérieur du cytoplasme et la croissance du flagelle s'organise dans une vésicule qui vient se placer à l'extrémité du centriole distal (MARTINEZ-MARTINEZ et DAEMS, 1967 ; LYSER, 1968). Ces vésicules sont d'origine cytoplasmique (golgienne) pour SOROKIN (1962), ou de nature extracellulaire pour RENAUD et SWIFT (1964).

Ces deux modes de formation pourraient coexister dans un même tissu (SOROKIN,

1968), mais, dans tous les cas, le flagelle devient finalement un organite extracellulaire.

Dans les spermatogonies et spermatocytes, on retrouve des vésicules à l'extrémité de centrioles situés à proximité du noyau (fig. 8) ou de la membrane plasmique (fig. 7). De telles vésicules peuvent être en relation avec l'appareil de Golgi (fig. 8), mais aussi avec l'espace extracellulaire (fig. 10). L'augmentation de taille de la vésicule pourrait résulter de la coalescence de vésicules plus petites, comme le suggère la figure 11; ce qui serait en accord avec RENAUD et SWIFT (1964).

Des auteurs ont apporté des images qui peuvent être interprétées comme des tentatives de formation de flagelles sur des spermatocytes. SAKAI et SHIGENAGA (1967) décrivent, dans les spermatocytes de la sauterelle, une extrémité distale de centriole semblable à un flagelle sans filaments centraux qui s'invagine dans une structure qualifiée de *granular body* et pourrait correspondre aux vésicules précédemment décrites. HOAGE et KESSEL (1968) montrent que les spermatocytes I de l'Abeille mâle (*n*) subissent une division méiotique abortive, avec duplication des centrioles et élimination de certains d'entre eux en dehors de la cellule, sous forme d'ampoules, à l'intérieur desquelles on peut voir des microtubules qui correspondraient à ceux de l'ébauche d'un flagelle. Dans ces deux cas, on se trouverait donc en présence de formation de flagelles sur des cellules germinales autres que spermatides ou spermatozoïdes.

Il n'a pas été possible de vérifier le devenir des flagelles au cours des divisions cellulaires et le comportement des centrioles à ce moment. Le problème se pose, en effet, de savoir si la présence d'un flagelle dans les spermatogonies et spermatocytes de *Poecilia* ne perturbe pas la division cellulaire et, par là, le rendement spermatogénétique. Mais il est possible que les flagelles soient conservés au cours des divisions cellulaires, ce qui expliquerait la présence de 2 flagelles sur des spermatides rondes.

Reçu pour publication en janvier 1969.

SUMMARY

THE OCCURENCE OF FLAGELLATED SPERMATOGONIA AND SPERMATOCYTES IN THE GUPPY « *POECILIA RETICULATA* »

The current paper reports the occurrence of one flagellum on spermatogonia and spermatocytes in the Guppy, versus two flagella on spermatides (picture 4). These events are tentatively related.

The flagella of gonias and cytes (maximum 5 μ in length) have a very short cytoplasmic pathway, whereas the flagella of spermatides typically have a long cytoplasmic pathway (pictures 2, 3 v. 5). Before reaching the cell surface, some gonial and cyte flagella penetrate through a vesicle which can be seen on the best photographs in relation with the extracellular medium.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BILLARD R., 1969 a. La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. I. Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogenèse. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 9, 251-271.
 BILLARD R., 1969 b. La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. V. La spermiogenèse, étude ultrastructurale. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, à paraître.

- FAIN-MAUREL M. A., 1966. Acquisitions récentes sur les spermatogénèses atypiques. *Ann. Biol.*, **5**, 513-564.
- GATENBY J. B., 1918. The cytoplasmic inclusions of the germ-cells. I. Lepidoptera. *Quart. J. Micr. Sci.*, **62**, 407-463.
- GATENBY J. B., TAHMISIAN T. N., 1959. Centriole adjunct centrioles mitochondria and ergatoplasm Orthopteran spermatogenesis. *Cellule*, **60**, 105-133.
- GRONBERG R., TELKKA A., 1968. Juxtanuclear changes during the early spermatogenesis in *Lebistes reticulatus* (Guppy). *Z. Zellforsch.*, **84**, 342-349.
- HOAGE T. R., KESSEL R. G., 1968. An electron microscope study of the process of differentiation during spermatogenesis in the Drone Honey Bee (*Apis mellifera* L.) with special reference to centriole replication and elimination. *J. Ultrastruct. Res.*, **24**, 6-32.
- JOHNSON H. H., 1931. Centrioles and other cytoplasmic components of the male germ cells of the Gryllidae. *Z. Wissen. Zool.*, **140**, 115-166.
- LYSER K. M., 1968. An electron microscope study of centrioles in differentiation of motor neuroblasts. *J. Embryol. Exp. Morph.*, **30**, 343-354.
- MARTINEZ-MARTINEZ P., DAEMS W. Th., 1968. Les phases précoces de la formation des cils et le problème de l'origine du corpuscule basal. *Z. Zellforsch.*, **87**, 46-68.
- MATTEI X., BOISSON C., 1966. Le complexe centriolaire du spermatozoïde de *Lebistes reticulatus*. *C. R. Acad. Sci.*, **262**, 2620-2622.
- MATTEI X., MATTEI C., BOISSON C., 1967. L'extrémité flagellaire du spermatozoïde de *Lebistes reticulatus* (Poeciliidae). *C. R. Soc. Biol.*, **161**, 884-887.
- MEVES F., 1897. Ueber Centrialkörper in Männlichen Geschlechtszellen von Schmetterlingen. *Anat. Anz.*, **14**, 1-6.
- MOORE J. E. S., 1895. On the structural changes in the reproductive cells during the spermatogenesis of Elasmobranchs. *Quart. J. Microsc. Sc.*, **38**, 275-314.
- PORTE A., FOLLENIUS E., 1960. La spermiogénèse chez *Lebistes reticulatus*. Étude au microscope électronique. *Bull. Soc. Zool. France*, **85**, 82-88.
- RENAUD F. L., SWIFT H., 1964. The development of basal bodies and flagella in *Allomyces arbusculus*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **23**, 339-354.
- SAKAI A., SHIGENAGA, 1967. Fine structure of centrioles of the Grasshoppers *Acrida Turrita* (LINNÉ) and *Atractomorpha bedeli* (BOLIVAR). *Cytologia*, **32**, 105-110.
- SATIR P., 1965. Structure and function in cilia and flagella. *Protoplasmologia*, **3**, 1-52.
- SCHERFT J. P., DAEMS W. Th., 1967. Single cilia in chondrocytes. *J. Ultrastruct. Res.*, **19**, 546-555.
- SCHREINER A., SCHREINER K. E., 1905. Ueber die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von *Myxine glutinosa* (L.). II. Die centriolen und ihre Vermehrungsweise. *Arch. Biol.*, **21**, 315-355.
- SOROKIN S. P., 1968. Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mammalian lungs. *J. Cell. Sci.*, **3**, 207-230.
- SOTELO J. R., TRUJILLO-CEÑOZ O., 1958 a. Electron microscope study of the kinetic apparatus in animal sperm cells. *Z. Zellforsch.*, **48**, 565-601.
- SOTELO J. R., TRUJILLO-CEÑOZ O., 1958 b. Electron microscopic study on the development of the ciliary components of the neural epithelium of the chick embryo. *Z. Zellforsch.*, **49**, 1-12.
- ZYLBERBERG L., 1963. Remarques sur l'ultrastructure des flagelles des spermatozoïdes typiques et atypiques de *Pieris brassicae* L. *C. R. Acad. Sci.*, **256**, 2702-2703.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES SUR LES FIGURES

c	—	centriole
cd	—	centriole distal
cp	—	centriole proximal
cs	—	complexe synaptinémal
f	—	flagelle
fi	—	formation intercentriolaire
G	—	appareil de Golgi
mt	—	microtubule
n	—	noyau
pc	—	pont cytoplasmique
v	—	vésicule
vf	—	vésicule sur flagelles
vs	—	vésicule secondaire.

FIG. 1. — *Flagelle sur spermatogonies de l'apex près d'un pont cytoplasmique.*
La formation intercentriolaire est très développée. Des microtubules subsistent
au niveau du pont cytoplasmique $\times 40\,000$

FIG. 2. — *Flagelle sur une spermatogonie G*
Le flagelle débouche directement dans l'espace extracellulaire
au niveau d'un épaulement $\times 15\,000$

R. BILLARD, J.-E. FLÉCHON.

PLANCHE II

- FIG. 3. — Flagelle sur spermatocyte I. Le Golgi est très abondant autour des centrioles. X : 15 000.
- FIG. 4. — Présence de 2 flagelles sur une spermatide ronde. Les 2 flagelles débouchent dans un même diverticule de la membrane cellulaire. X : 15 000.
- FIG. 5. — Disposition du flagelle sur une spermatide ronde. Le trajet du flagelle à l'intérieur du cytoplasme est long ; les mitochondries se disposent autour du flagelle. X : 20.000.
- FIG. 6. — Flagelle débouchant directement dans l'espace extracellulaire, perpendiculairement à la membrane plasmique, sur une spermatogonie appartenant à l'une des dernières générations. X : 25.000.

R. BILLARD, J.-E. FLÉCHON.

PLANCHE III

- FIG. 7. — Vésicule disposée à l'extrémité d'un centriole distal orienté vers la membrane cytoplasmique sur un spermatocyte I. Diplotène X : 30.000.
- FIG. 8. — Deux paires de centrioles sur spermatocytes I (Pachytène) les 2 centrioles en position distale convergent vers une vésicule et sont orientés vers le noyau. X : 30.000.
- FIG. 9. — Vésicule en relation avec l'appareil de Golgi, à proximité d'un centriole sur une spermatogonie (dernières générations). X : 24.000.
- FIG. 10. — Une vésicule en relation avec un centriole distal débouche dans le milieu extracellulaire sur un spermatocyte I qui peut être attribué au stade Pachytène, en raison du complexe synaptinémal visible sur un noyau du cyste. X : 30.000.

R. BILLARD, J.-E. FLÉCHON.

PLANCHE IV

- FIG. 11. — Flagelle débouchant dans une vésicule principale entourée de vésicules secondaires. X : 45.000.
- FIG. 12. — Le flagelle donne l'impression de s'enfoncer dans l'amas de vésicules secondaires disposées au-dessous de la vésicule principale. Cependant, le flagelle n'est pas coupé longitudinalement (dernières générations spermatogoniales). X : 45.000.
- FIG. 13. — Le flagelle débouche dans le milieu extracellulaire (dernières générations spermatogoniales). En certains points la membrane plasmatique n'est plus visible. X : 45.000.
- FIG. 14. — Formation intercentriolaire très apparente à la base d'un flagelle. Spermatocyte I. X : 30.000.
- FIG. 15 et 16. — Coupe transversale de flagelle sur spermatogonies (dernières générations), sans paire de fibres centrales (fig. 15) ou avec (fig. 16). X : 45.000.
- FIG. 17. — Coupe transversale de flagelle sur spermatogonie (dernières générations), les doublets périphériques sont au nombre de 5 et quelques sous-fibres sont ouvertes. Latéralement, une vésicule peut être identifiée. X : 45.000.
- FIG. 18. — Coupe transversale sur flagelle de spermatide ronde montrant une vésicule. X : 45.000.