LA SPERMATOGENÈSE DE *POECILIA RETICULATA*

III. — ULTRASTRUCTURE DES CELLULES DE SERTOLI

R. BILLARD

avec la collaboration technique de Anne-Marie ESCHAFFRE

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

RÉSUMÉ

Les cellules de Sertoli localisées autour des cystes subissent une évolution marquée à mesure que progresse la spermatogenèse. Plusieurs rôles peuvent leur être attribués à partir d'arguments morphologiques.

Rôle de soutien : la présence d'engrenage entre les cellules de Sertoli au début de la spermatogenèse fait place, lorsque la taille des cystes augmente, à des liaisons plus élaborées, telles que *zona occludens* et surtout desmosomes, associés à des faisceaux de tonofilaments, ce qui constitue une armature qui intervient vraisemblablement dans la consolidation des cystes.

Rôle de nutrition : toutes les cellules germinales sont séparées de la membrane basale par une couche de cellules de Sertoli, de sorte que ces dernières sont obligatoirement impliquées dans le transport des métabolites destinés aux cellules germinales. Les éléments figurés du cytoplasme sertolien sont peu nombreux au début de la spermatogenèse, mais le réticulum endoplasmique (essentiellement du type granulaire), prend une grande importance au cours de la spermiogenèse au moment où toutes les spermatides sont en contact avec les cellules de Sertoli.

Rôle de phagocytose : La présence d'inclusions cytoplasmiques (corps résiduels et lysosomes) fait supposer que les cellules de Sertoli interviennent dans la phagocytose des cellules germinales en dégénérescence et des résidus cytoplasmiques éliminés au cours de la spermiogenèse.

Les cellules de Sertoli sont également susceptibles d'intervenir dans la morphogenèse des spermatozoogones.

INTRODUCTION

Les relations entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales ont été décrites en microscopie électronique chez les Mammifères (NAGANO, 1966, 1968 *a* et *b* ; FLICKINGER et FAWCETT, 1967 ; FLICKINGER, 1967 ; NICANDER, 1967 ; SAPSFORD *et al.*, 1967, 1969), chez les Amphibiens (BRÖKELMANN, 1964 ; BURGOS et VITALE-CALPE,

1967). Par contre, peu de travaux ont abordé cette question chez les Poissons. Chez le Guppy : *Poecilia reticulata* = *Lebistes reticulatus*, les seules informations concernant les cellules de Sertoli sont dues à des études en microscopie photonique (VAUPEL, 1929 ; BILLARD, 1969) (cf. revue de COUROT *et al.*, 1969). Les cellules de Sertoli des Mammifères se voient généralement attribuer un rôle de soutien, mais également de nutrition (ELFTMAN, 1963 ; FOUQUET, 1968), de phagocytose des cellules germinales en dégénérescence et des résidus cytoplasmiques (HUGON et BORGERS, 1964, 1966 ; CLEGG et MAC MILLAN, 1965 ; CARR *et al.*, 1968). Les cellules de Sertoli interviendraient aussi dans le contrôle de la gamétogenèse (BRÖKELMANN, 1964 ; COUROT, 1967 ; LACY, 1967). Le présent travail analyse l'ultrastructure des cellules de Sertoli présentes chez le Guppy et les interprétations physiologiques qu'elle permet d'envisager.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel animal, ses conditions d'élevage et la description de la spermatogenèse, ont été exposés précédemment (BILLARD, 1969). Les techniques de microscopie électronique utilisées ont été précédemment décrites (BILLARD et FLÉCHON, 1969).

RÉSULTATS

A. — *Cellules de Sertoli de l'apex* (pl. I A)

Dans l'apex des tubules, les noyaux des cellules de Sertoli sont de forme allongée ou triangulaire et possèdent un nucléole très réduit.

Le cytoplasme est peu développé, pauvre en éléments figurés et s'applique contre la membrane basale, sous forme d'une couche très peu épaisse (1 000 Å) ; en outre, des prolongements pénètrent entre les spermatogonies qui ne sont pas organisées en cystes à ce niveau. Les contacts entre cellules de Sertoli se font par simple accollement.

B. — *Évolution de la forme des noyaux sertoliens autour des cystes, au cours de la spermatogenèse*

Dans les cystes de petite taille, de forme quadrangulaire, les noyaux sertoliens se localisent le plus souvent dans les angles, seuls ou par groupes ; certains d'entre eux affectent une forme triangulaire (pl. I B). La chromatine est claire et homogène dans tout le noyau et le nucléole dont la *pars fibrosa* est latérale ou périphérique, occupe une position centrale. La forme du noyau devient plus allongée autour des cystes de grande taille (spermatogonies finales et spermatocytes I ; pl. I D). Au cours de la spermiogenèse les noyaux sertoliens deviennent plus épais (pl. III C) et à la fin de la spermatogenèse, juste avant la dégénérescence des cellules de Sertoli, ils sont sphériques (pl. I C). L'évolution de la taille du noyau est résumée dans la figure 1.

FIG. 1. — Évolution de la taille des noyaux des cellules de Sertoli au cours de la spermatogénèse de *Poecilia reticulata*

(mesures faites en microscopie photonique fixation au bouin-Hollande).

Sur coupes tangentielles de cyste, les cellules de Sertoli apparaissent sous la forme d'une ellipse dont est possible de mesurer le plus grand axe $\circ$ et le diamètre orthogonal correspondant $\square$, $\bullet$ épaisseur des noyaux sertoliens mesurée sur coupe passant par le milieu des cystes.

Dans les noyaux sertoliens de l'apex seules les 2 plus grandes dimensions ont été mesurées.

Les intervalles de confiance des moyennes sont figurés sur les graphiques. $n = 30$. Les phases de la spermatogénèse sont définies par ailleurs (BILLARD, 1969). A = cellules de Sertoli de l'apex. Les mesures portant sur les cellules de Sertoli des générations spermatogoniales ont été réunies en 2 groupes G_1 à G_7 et G_8 à G_{14} . LZPD : prophase métodique; S_1 à S_4 : spermatides

C. — Évolution des structures cytoplasmiques des cellules de Sertoli au cours de la spermatogénèse (tabl. 1)

TABLÉAU I

Évolution de la structure des cellules de Sertoli au cours de la spermatogénèse (les p. 100 expriment la surface occupée par les jonctions cellulaires spécialisées par rapport à la surface totale de contact entre 2 cellules de Sertoli)

Structures dans les cellules de Sertoli	Localisation des cellules de Sertoli							
	Gonies de l'apex	Gonies en cystes		Spermatocytes I	Spermatides			
		G_1-G_7	G_8-G_{14}		S_1	S_2	S_3	S_4
Desmosomes (<i>macula adherens</i>) .	0	0,5 %	2 %	2 %	12 %	20 %	20 %	15 %
<i>Zona occludens</i>	0	0	0	0	1,2 %	8 %	30 %	40 %
Longueur des prolongements cytoplasmiques dans le cyste .	—	0	1 μ	2 μ	2 μ	5 μ	20 μ	15 μ
Tonofilaments :								
— épars	+	+	+	+	+	+	+	+
— organisés en faisceaux .								
G/S (1)		3,3	36	60	173	164	177	

(1) Le rapport G/S qui correspond au rapport du nombre de cellules germinales présentes dans un cyste et du nombre de cellules de Sertoli présentes autour de ce cyste, correspond au nombre moyen de cellules germinales par cellule de Sertoli. Les valeurs G et S sont reprises de BILLARD, (1969).

Évolution des contacts entre cellules de Sertoli.

Les cystes sont entièrement entourés par le cytoplasme des cellules de Sertoli dont les membranes plasmiques sont fortement imbriquées entre elles autour des premiers cystes (pl. II A). Ce système d'engrenage subsiste de façon moins marquée dans les cystes de grande taille (pl. II B, II C) où apparaissent des desmosomes (pl. II C).

Les limites entre deux cellules de Sertoli sont devenues parfaitement rectilignes dans les cystes à spermatides (pl. II D). A ce stade, sur les desmosomes devenus plus nombreux (tabl. 1) s'insèrent des faisceaux de tonofilaments. Ces derniers se disposent d'une part le long des membranes plasmiques (pl. IV B) et d'autre part, traversent toute la longueur de la cellule, mettant ainsi en relation 2 membranes plasmiques opposées (pl. IV A) (fig. 1). Au cours de cette phase apparaissent des *zona occludens* du côté du cyste.

Évolution des autres structures cytoplasmiques.

L'épaisseur de la couche de cytoplasme sertolien autour des cystes augmente progressivement au cours de la spermatogenèse.

Le réticulum endoplasmique des cellules de Sertoli, peu développé au début de la spermatogenèse, apparaît dans les cystes plus évolués sous forme granulaire (pl. II B) et prend une grande importance à partir des dernières générations spermatogoniales (pl. II C). Dans les cellules de Sertoli des cystes en spermiogenèse, l'ergastoplasme revêt un aspect gonflé (pl. II D) et peut entourer complètement les mitochondries (pl. I E). Dans le cytoplasme sertolien, il existe toujours des ribosomes qui sont le plus souvent groupés en rosettes (pl. II D). L'appareil de Golgi est peu développé dans les cellules de Sertoli au début de la spermatogenèse. Il prend plus d'importance à partir des spermatocytes I (pl. I D) et se localise au pôle apical de la cellule, qui est en contact avec les spermatides dans les cystes S_4 (pl. III C).

Les mitochondries peu nombreuses dans les cellules de Sertoli au début de la spermatogenèse, deviennent très apparentes autour des cystes des dernières générations spermatogoniales (pl. II C) et conservent leur matrice sombre autour des cystes où se déroule la spermiogenèse (pl. IV A). Les crêtes mitochondriales sont de structure lamellaire mais peuvent présenter quelquefois des aspects tubulaires.

Des corps résiduels se rencontrent dans les cellules de Sertoli de l'apex des tubules et des cystes à spermatogonies. Des structures considérées comme des lysosomes existent tout au long de la spermatogenèse, mais sont particulièrement abondantes au cours de la spermiogenèse (pl. II D et III C). Des vésicules identifiables dans les cellules de Sertoli des cystes à spermatogonies et spermatocytes (pl. II C) deviennent plus nombreuses au cours de la spermiogenèse (pl. III C).

Des microtubules ont pu être identifiés dans les cellules de Sertoli mais leur importance est négligeable par rapport à celle des tonofilaments. Il existe également des centrioles mais aucune mitose n'a été observée.

Les cystes à spermatides S_{4b} sont entourés par une couche de cellules de Sertoli (fig. 2) mais les spermatozeugmes identifiés dans le canal éférent et qui dérivent de ces cystes S_4 en sont dépourvus.

Les zones claires dépourvues d'organites cytoplasmiques observées autour des têtes de spermatides (pl. III C) s'étendent progressivement à l'ensemble du cyto-

FIG. 2. — Représentation schématique des cystes (cellules germinales entourées par une couche de cellules de Sertoli,) à l'intérieur d'un tubule séminifère de Guppy

A: Cyste de spermatocytes I. Les cellules de Sertoli sont peu épaisses et présentent un noyau allongé. Les membranes plasmiques des cellules de Sertoli sont fortement imbriquées entre elles. Seuls les spermatocytes I de la périphérie sont en contact avec les cellules de Sertoli.

B: Cyste de spermatides allongées. Les cellules de Sertoli sont plus épaisses que dans les cystes de spermatocytes I. Les noyaux sertoliens tendent à devenir sphériques. Entre deux cellules de Sertoli voisines les membranes plasmiques qui sont devenues rectilignes sont doublées par des faisceaux de tonofilaments parallèles. D'autres faisceaux de tonofilaments, perpendiculaires aux précédents, traversent chaque cellule et viennent s'insérer sur 2 desmosomes opposés. Les spermatides se sont regroupées à la périphérie du cyste et sont toutes en contact avec des prolongements cytoplasmiques sertoliens.

A la fin de la spermatogenèse les cellules de Sertoli vont dégénérer et les spermatozoïdes qui resteront groupés ensemble par simple accollement des pièces intermédiaires vont s'engager dans le canal efférent, sous la forme d'un spermatozoogme.

plasme apical (pl. I C) ; c'est alors que des images de dégénérescence apparaissent (pl. I C) et font supposer que les cellules de Sertoli dégèrent, mais toutes les phases de cette dégénérescence et le devenir des résidus n'ont pas été observés.

D. — *Relations entre les cellules de Sertoli
et la paroi du tubule séminifère*

Le tubule séminifère est constitué par une lame conjonctive sur laquelle s'appuie, du côté interne, une membrane basale. A l'intérieur de ce tubule migrent des cystes et une partie seulement des cellules de Sertoli entre en contact avec la membrane basale, laquelle n'entoure jamais complètement les cystes (pl. II C).

Les cellules de Sertoli de 2 cystes voisins qui se succèdent dans le tubule se trouvent de ce fait en contact.

De nombreux replis affectent la membrane basale au niveau de certains cystes (pl. II C). Il faut souligner l'existence de vésicules de pinocytose à la fois dans la paroi de vaisseaux sanguins (insérés entre la membrane basale et la paroi du tubule) et dans le cytoplasme sertolien ; un exemple est souligné dans la planche III A.

E. — *Relation entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales*

Toute la surface de chaque spermatogonie de l'apex est en contact avec les cellules de Sertoli (pl. I A). Au contraire, dans les cystes de spermatogonies et de spermatocytes seules les cellules germinales de la périphérie se trouvent partiellement en contact avec les cellules de Sertoli (pl. I B et II C).

Des prolongements de cytoplasme sertolien commencent à apparaître dans les cystes à spermatogonies (pl. II B) et à spermatocytes I (pl. II C) ; ils deviennent très nombreux et pénètrent de plusieurs microns (tabl. 1) vers l'intérieur des cystes à spermatides pendant les phases S_2 et S_3 . C'est au cours de celles-ci que se produisent l'allongement des têtes spermatiques, leur orientation et leur migration vers la périphérie. Ces prolongements cytoplasmiques sont dépourvus d'organites figurés de même que le cytoplasme sertolien autour des têtes spermatiques dans les cystes S_4 (pl. III C).

Au cours de la phase S_4 les contacts entre spermatides et cellules de Sertoli sont très étroits ; le plus souvent la tête spermatique s'applique étroitement contre la membrane plasmique sertolienne qui ne présente cependant jamais de rupture. Les 2 cellules ne sont séparées que par un espace de 100 Å qui est souvent occupé par un matériel rayonnant d'aspect fibreux.

DISCUSSION

Au cours de la spermatogenèse du Guppy, les cellules de Sertoli présentent une évolution marquée et les données morphologiques permettent de leur attribuer plusieurs rôles.

Les cellules de Sertoli se localisent d'abord dans l'apex des tubules mêlées aux spermatogonies dont chacune est complètement entourée par une couche de cytoplasme sertolien. Les cellules de Sertoli se retrouvent ensuite autour des groupes

isogéniques de cellules germinales : les cystes. Ces derniers migrent à l'intérieur d'un tubule séminifère qui est constitué par une gaine de tissu conjonctif doublée intérieurement par une membrane basale. Les cellules de Sertoli qui accompagnent les cystes au cours de leur migration glissent le long de cette membrane basale et n'occupent donc pas la même position tout au long de la spermatogenèse.

L'organisation et le devenir des cellules de Sertoli, chez le Guppy, présentent quelques analogies avec l'évolution observée chez les Élasmobranchés (STEPHAN, 1902 *a* et *b* ; MELLINGER, 1965). Cependant, le nombre moyen de spermatides par cellule de Sertoli chez le Guppy, est de l'ordre de 170 au cours de la spermiogenèse (entre 164 et 177, tabl. I) alors que chez les Élasmobranchés le nombre est d'environ 64 (SWAEN et MASQUELIN, 1883 ; STANLEY, 1966). En réalité chez les Élasmobranchés une seule cellule supporte un seul « clone » de cellules germinales (l'ensemble constituant un spermatogemme ; LA VALETTE SAINT-GEORGE 1878, ou spermatocyste STANLEY, 1966 ; HOLSTEIN, 1969). Chez le Guppy où le nombre de générations spermatogoniales est élevé (14) un « clone » de cellules germinales est réparti sur 124 cellules de Sertoli, dans un cyste, à la fin de la spermatogenèse (BILLARD, 1969). Le cyste du Guppy a pour équivalent le spermatocyste d'Élasmobranche et non le follicule qui contient un grand nombre de spermatocystes.

Chez le Guppy, l'évolution des noyaux sertoliens — passant d'une forme aplatie à une forme sphérique au cours de la spermatogenèse (fig. 1) — est comparable à celle qui se produit chez la Rousette (MELLINGER, 1965). A la fin de la spermatogenèse, les cellules de Sertoli dégénèrent ; les premiers signes de dégénérescence apparaissent dans le cytoplasme apical, le noyau conservant plus longtemps son intégrité ce qui rappelle les descriptions faites chez la Rousette par MELLINGER (1965). La spermiation fait suite à la dégénérescence des cellules de Sertoli dont le rôle semble passif alors que chez le poisson rouge (YAMAZAKI et DONALDSON, 1968) et chez les Élasmobranchés (SEMPER, 1875 ; SABATIER, 1896) les cellules de Sertoli interviennent activement dans la libération des spermatozoïdes.

Chez le Guppy comme chez les Élasmobranchés, la cellule de Sertoli ne supporte qu'une génération de cellules germinales tandis qu'elle peut en supporter plusieurs chez les Mammifères.

Le problème de l'origine des cellules de Sertoli

L'augmentation du nombre de cellules de Sertoli autour des cystes suppose une multiplication de ces cellules, bien qu'aucune mitose n'ait été observée chez *Poecilia* (déjà discuté par BILLARD, 1969). Le moyen par lequel ces cellules se multiplient n'a pu être élucidé ici. Toutefois, certaines images où 3 noyaux apparaissent groupés (pl. I B) et où 4 couches cytoplasmiques sertoliennes apparaissent côte à côte (pl. II C) permettent de supposer qu'après une division, les nouvelles cellules glissant entre deux cellules préexistantes, s'intègrent dans la couronne des cellules de Sertoli. Mais, l'absence de mitose reste troublante et le problème de l'origine des cellules de Sertoli n'est pas résolu. Chez un autre Téléostéen, *Fundulus diaphanus*, HUVER (1964) n'observe pas de mitose alors que LAGIOS (1965) en signale chez *Embiotoca jacksoni*. Chez les Élasmobranchés, s'il n'y a pas de mitose des cellules de Sertoli après la formation du spermatocyste, il existe une activité mitotique avant la formation de ce dernier. En outre il peut y avoir incorporation de thymidine (FÉLICE et RASCH, 1969).

Rôle dans l'architecture des cystes

Les cellules de Sertoli possèdent sans doute une fonction de soutien. Elles s'accrochent entre elles autour des premiers cystes par un engrenage des parois cellulaires, analogue à celui des Batraciens (BURGOS et VITALE-CALPE, 1967) et des Mammifères (NICANDER, 1967) et qui se retrouve dans d'autres types cellulaires (ANDRÉ, 1963). Les desmosomes typiques, semblables à ceux de la Grenouille (BRÖCKELMANN, 1964) apparaissent sur les cystes plus évolués et se localisent sur toute la surface de contact entre cellules de Sertoli, sauf dans leur zone apicale, comme chez le Crapaud (BURGOS et VITALE-CALPE, 1967). Il n'existe pas de desmosome entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales, alors que de telles relations existent chez la Grenouille (NAGANO, 1968). Dans les cellules de Sertoli du Guppy, les tonofilaments, dispersés au début de la spermatogenèse et comparables aux filaments décrits dans les cellules de l'épiderme de cette même espèce (HENRIKSON et MATOLTSY, 1968) s'organisent en faisceaux insérés sur les desmosomes, au cours de la spermiogenèse (tabl. 1). Les *zona occludens* qui sont fréquentes chez les Mammifères et que NICANDER (1967) a observé dans les cellules de Sertoli d'autres groupes de Vertébrés et chez la Lamproie, apparaissent au moment de la spermiogenèse. Les vésicules associées aux membranes plasmiques des cellules de Sertoli de Batraciens (BURGOS et VITALE-CALPE, 1967) ne se rencontrent pas chez *Poecilia*, bien que des images de réticulum endoplasmique gonflé aient pu être décelées dans le cytoplasme (pl. II D). Dans les cystes de spermatides, il apparaît que 50 p. 100 des surfaces de contact entre cellules de Sertoli sont spécialisées (tabl. 1), valeur légèrement inférieure à celles que FLICKINGER (1967) et FLICKINGER et FAWCETT (1967) signalent chez les Mammifères. A ce stade, les membranes plasmiques des cellules de Sertoli ne sont plus entremêlées comme elles l'étaient au début de la spermatogenèse. Elles sont au contraire devenues pratiquement rectilignes. Les relations entre cellules de Sertoli ne sont plus assurées par l'accrochage des membranes mais par les desmosomes et les *zona occludens*. Une complexification des liaisons entre les cellules de Sertoli au cours de la spermatogenèse, se produit en même temps que la taille du cyste augmente. Cependant, le nombre de cellules germinales dans un cyste augmente beaucoup plus vite que le nombre de cellules de Sertoli autour de ce cyste (rapport G/S, tabl. 1). Il est vraisemblable que l'évolution des structures sertoliennes et en particulier l'apparition des faisceaux de tonofilaments, répond à un besoin de consolidation des cystes du fait de l'augmentation du nombre de cellules germinales et des mouvements morphogénétiques qui se produisent au cours de la spermiogenèse.

Rôle dans la nutrition des cellules germinales

Les cellules de Sertoli de *Poecilia* sont probablement impliquées dans des fonctions de nutrition et certainement dans le transport des métabolites. Toutes les cellules germinales, y compris les spermatogonies de l'apex, se trouvent en effet complètement entourées par du cytoplasme sertolien et il n'existe jamais de contact entre cellules germinales et membrane basale comme chez les Mammifères, (VILAR *et al.*, 1962). Le transport des métabolites est vraisemblablement assuré par les vésicules de pinocytose. La fonction de nutrition des cellules de Sertoli apparaît plus nettement en fin de spermiogenèse ; pendant la phase S₃ les têtes des spermatides sont coiffées

par des prolongements sertoliens (pl. III C) en forme d'entonnoirs, moins marqués que ceux de *Cipangopaludina malleata*, décrits par YASUZUMI *et al.*, (1960). Au cours de la phase S₄, les contacts entre cellules de Sertoli et spermatides sont encore plus étroits et une auréole plus claire, dépourvue d'organite cytoplasmique, apparaît dans le cytoplasme sertolien, au contact immédiat des têtes spermatiques.

L'extension des prolongements cytoplasmiques sertoliens qui est importante chez le Guppy (20 μ au cours de la phase S₃ de la spermiogenèse, tabl. 1) a également été signalée dans d'autres espèces de poisson téléostéen : *Clupea harengus* (POLDER, 1961), *Embiotaca jacksoni* (LAGIOS, 1965), *Gobius paganellus* (STANLEY *et al.*, 1965).

La pénétration des prolongements cytoplasmiques sertoliens vers l'intérieur du cyste, au cours des phases d'orientation, puis de migration des spermatides allongées vers la périphérie du cyste (tabl. 1), peuvent faire supposer que les cellules de Sertoli interviennent dans l'attraction des spermatides et contribueraient ainsi à la morphogénèse du spermatozeugme.

Rôle de phagocytose

La fonction de phagocytose déjà signalée dans d'autres espèces (*Embiotaca jacksoni* (LAGIOS, 1965) semble caractériser les cellules de Sertoli de *Poecilia reticulata*, puisqu'il a été possible d'identifier des corps résiduels inclus dans le cytoplasme sertolien surtout dans la partie antérieure du tubule, où se rencontrent d'ailleurs la plupart des cellules germinales en dégénérescence (BILLARD, 1969). Au niveau des cystes S₄ des lysosomes identifiabiles dans le cytoplasme sertolien (pl. III C) pourraient correspondre à l'ingestion de cytoplasme résiduel expulsé des spermatides, ingestion que VAUPEL (1929) a mis en relation avec l'augmentation de taille des cellules de Sertoli. Cependant, la présence de lysosomes à la fin de la spermiogenèse dans les cellules de Sertoli pourrait également être mise en relation avec la dégénérescence de ces cellules intervenant un peu plus tard.

Les digitations de la membrane basale à l'intérieur du cytoplasme sertolien ont été quelquefois considérées comme moyen pour augmenter la surface des échanges métaboliques ou pour accrocher les cellules de Sertoli à la membrane basale (cf. BURGOS et VITALE-CALPE, 1967). Mais, dans le cas présent, les fortes identifications du cyste G II (pl. II C) ne s'observant pratiquement plus sur le cyste à spermatocyte I, leur disparition semble pouvoir être mise en relation avec l'augmentation de taille des cystes.

CONCLUSION

Les arguments morphologiques qui viennent d'être développés peuvent permettre d'attribuer aux cellules de Sertoli un rôle dans l'architecture des cystes, dans la nutrition des cellules germinales et vraisemblablement dans la phagocytose des résidus cytoplasmiques et des cellules germinales en dégénérescence. Il est également possible qu'au cours de la spermiogenèse le rôle nutritionnel des cellules de Sertoli se double d'un rôle dans la morphogénèse des spermatozeugmes.

Les transformations que subissent les cellules de Sertoli au cours de la spermatogénèse sont irréversibles puisque ces cellules dégèrent à la fin de la spermiogenèse.

Reçu pour publication en octobre 1969.

SUMMARY

THE SPERMATOGENESIS OF THE GUPPY (*POECILIA RETICULATA*)
 III. — FINE STRUCTURE OF THE SERTOLI CELLS

A fine structural study of the Sertoli cells of the Guppy (*Poecilia reticulata*) was undertaken in order to gain some insight into their evolution during spermatogenesis.

The Sertoli cells can first be noticed in the blind end of the seminiferous tubules, where they are interspersed among spermatogonias. Then they come to surround the spermatocysts. As spermatogenesis proceeds, their size and number increase, and their structure becomes more intricate.

At first, contact between the cells is sheer juxtaposition of the plasmic membranes, and aggregation is achieved by means of an interlocking. Desmosomes appear later on, at the final spermatogonial and spermatocyte I stages. At the beginning of spermiogenesis, the *zona occludens* appear together with the organization of tonofibrils in bundles bridging two eventual planes through the cell and attaching two opposite desmosomes (picture 2.).

In the course of spermiogenesis, 50 per cent of the contact surfaces between Sertoli cells have become specific. These developmental events support the contention that they promote a trussing cysts, in which the number of germinal cells increases much quicker than that the Sertoli cells.

Sertoli cell nuclei, first shaped as triangles, then rather prolate, become rounded towards the end of spermiogenesis. The numbers of mitochondria and ribosomes, the endoplasmic reticulum increase with final gonial and spermatocyte I cysts. The ergastoplasm is swollen for the whole spermiogenesis. The structure of mitochondria is classical, always with a dense matrix and sometimes with cristae.

The total impocketing of germinal cells within the Sertoli cell cytoplasm implies that the latter are involved in the transport of metabolites. At the beginning of spermatogenesis, only the peripheral germinal cells are in contact with the Sertoli cells, whereas at the end of it every spermatide is in contact with Sertoli cell cytoplasmic infoldings. The presence of lysosomes and residual bodies incline us to the view that the Sertoli cells play a part in the phagocytosis of degenerated germinal cells and cytoplasmic residues.

In view of these facts, it seems that the Sertoli cells have a three-fold function during spermiogenesis, trussing the cysts nutrition and phagocytosis, and perhaps play a part in spermatogonial morphogenesis during spermiogenesis.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDRÉ J., 1963. Sur l'assemblage de certaines cellules épithéliales. *J. Microscopie*, **2**, 183-188.
- BILLARD R., 1969. La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. I. Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogenèse. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **9**, 951-971.
- BILLARD R., FLÉCHON J.-E., 1969. Spermatogonies et spermatocytes flagellés chez *Poecilia reticulata* (Téléostéen cyprinodontiforme). *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **9**, 281-286.
- BRÜCKELMANN J., 1964. Über die stütz und Zwischenzellen des Froschhodens während des spermatogenetischen Zyklus. *Z. Zellforsch.*, **64**, 429-461.
- BURGOS M. H., VITALE-CALPE R., 1967. The fine structure of the Sertoli cell-spermatozoan relationship in the toad. *J. Ultrastructure Res.*, **19**, 221-237.
- CARR I., CLEGG E. J., MEEK G. A., 1968. Sertoli cells as phagocytes : an electron microscopic study. *J. Anat.*, **102**, 501-509.
- CLEGG E. J., McMILLAN E. W., 1965. Uptake of vital dyes and particulate matter by the Sertoli cells of the rat testis. *J. Anat.*, **99**, 219-229.
- COUROT M., 1967. Action des hormones gonadotropes et de la testostérone sur le testicule impubère. *Arch. Anat. microsc. Morph. exp.*, **56**, 97-110.
- COUROT M., HOCHEREAU M.-T., ORTAVANT R. Spermatogenesis in : *Testicular Physiology and Biochemistry*, Johnson, Gomes et Van Demark édit., Acad. Press (sous presse).
- ELFTMAN H., 1963. Sertoli cells and testis structure. *Amer. J. Anat.*, **113**, 25-33.
- FLICKINGER C. J., 1967. The postnatal development of the Sertoli cells of the mouse. *Z. Zellforsch.*, **78**, 92-113.
- FLICKINGER C. J., FAWCETT D. W., 1967. The functional specializations of Sertoli cells in the seminiferous epithelium. *Anat. Rec.*, **158**, 207-222.

- FELICE D. A. de, RASCH E. M. 1969. Chronology of spermatogenesis and spermiogenesis in Poeciliid fishes. *J. Exp. Zool.* **171**, 191-207.
- FOUQUET J. P., 1968. Étude infrastructurale du cycle du glycogène dans les cellules de Sertoli du Hamster. *C. R. Acad. Sci.*, **267**, 545-548.
- HENRIKSON R. C., MATOLTSY A. G., 1968. The fine structure of Teleost Epidermis. I. Introduction and filament containing cells. *J. Ultrastructure Res.*, **21**, 194-212.
- HOLSTEIN A. F., 1969. Zur Frage der lokalen Steuerung der Spermatogenese beim Dornhai (*Squalus acanthias* L.). *Z. Zellforsch.*, **93**, 265-281.
- HUGON J., BORGERS M., 1964. Ultrastructure des spermatogonies de souris après irradiation par rayons X. *Electr. Microsc., Proc. III, Eur. Reg. Conf. B* 257.
- HUGON J., BORGERS M., 1966. Ultrastructural and cytochemical changes in spermatogonia and Sertoli cells of wholebody irradiated mice. *Anat. Rec.*, **155**, 15.
- HUVER C. W., 1964. A quantitative study of DNA in the testis cells of *Fundulus diaphanus*. *Am. Zool.*, **4**, 15.
- LACY D., 1967. The seminiferous tubule in mammals. *Endeavour*, **26**, 101-108.
- LAGIOS M. D., 1965. Seasonal changes in the cytology of the adenohipophysis, testis, and ovaries of the black surfperch, *Embiotoca jacksoni* a viviparous percomorph fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **5**, 207-221.
- LA VALETTE SAINT-GEORGE A. J. H. VON., 1878. *Dissertation de spermatosomatum evolutione*. Plagiostomis. Bonn. D'après SWAEN et MASQUELIN, 1883 et SABATIER, 1886.
- MELLINGER J., 1965. Stades de la spermatogenèse chez *Scyliorhinus caniculus* L. : Description, données histochimiques, variations normales et expérimentales. *Z. Zellforsch.*, **67**, 653-673.
- NAGANO T., 1966. Some observations of the fine structure of the Sertoli cells in the human testis. *Z. Zellforsch.*, **73**, 89-106.
- NAGANO T., 1968 a. Contact area between Sertoli cell and developing spermatid in the testis (abstr) *J. Electron. Micr.*, **17**, 257.
- NAGANO T., 1968 b. Fine structural relation between the Sertoli cell and the differentiating spermatid in the human testis. *Z. Zellforsch.*, **89**, 39-43.
- NICANDER L., 1967. An electron microscopical study of cell contacts in the seminiferous tubules of some mammals. *Z. Zellforsch.*, **83**, 375-397.
- POLDER J. J. W., 1961. Cyclical changes in testis and ovary related to maturity stages in the north sea herring *Clupea harengus* L. *Arch. Zool.*, **14**, 45-60.
- SABATIER A., 1896. De la spermatogenèse chez les Poissons Sélaciens. *Trav. Inst. Zool. Univ. Montpellier et Stat. Marit. Cette N. S.*, **4**, 1-191.
- SAPSFORD C. S., RAE C. A., CLELAND K. W., 1967. Ultrastructural studies on spermatids and Sertoli cells during early spermiogenesis in the bandicoot *Parameles nasuta* GEOFFROY (*Marsupiala*). *Aust. J. Zool.*, **15**, 881-909.
- SAPSFORD C. S., RAE C. A., CLELAND K. W., 1969. Ultrastructural studies on maturing spermatid and on Sertoli cells in the bandicoot *Parameles nasuta* GEOFFROY (*Marsupiala*). *Aust. J. Zool.*, **17**, 195-292.
- SEMPER C., 1875. Das Urogenitalsystem der Plagiostomen und seine Bedeutung für das der übrigen Wirbelthiere. *Arch. Zool. Zootsch. Inst. Wurzburg*, **2**, 196-509.
- STANLEY H. P., 1966. The structure and development of the seminiferous follicle in *Scyliorhinus caniculus* and *Torpedo marmorata* (Elasmobranchii). *Z. Zellforsch.*, **75**, 453-468.
- STANLEY H., CHIEFFI G., BOTTE V., 1965. Histological and histochemical observations on the testis of *Gobius paganellus*. *Z. Zellforsch.*, **65**, 350-362.
- STEPHAN M. P., 1902 a. Sur le développement de la cellule de Sertoli chez les Sélaciens. *C. R. Soc. Biol.* **54**, 773-775.
- STEPHAN M. P., 1902 b. L'évolution de la cellule de Sertoli des Sélaciens après la spermatogenèse. *C. R. Soc. Biol.*, **54**, 775-776.
- SWAEN A., MASQUELIN M., 1883. Études sur la spermatogenèse. *Arch. Biol. Liège*, **4**, 741-801.
- VAUPEL J., 1929. The spermatogenesis of *Lebistes reticulatus*. *J. Morph.*, **47**, 555-587.
- VILAR O., PEREZ del CERRO M. I., MANCINI R. E., 1962. The Sertoli cell as a bridge cell between the basal membrane and the germinal cell. *Exp. Cell. Res.*, **27**, 158-161.
- YAMAZAKI F., DONALDSON E. M., 1968. The spermiation of Goldfish *Carassius auratus* as a Bioassay for Salmon *Oncorhynchus tshawytscha* gonadotrophin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **10**, 383-391.
- YASUZUMI G., TANAKA H., TEZUKA O., 1960. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy. VIII. Relation between the nutritive cells and the developing spermatids in a Pond Snail, *Cipangopaludina malleata* R. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **7**, 499-504.

ABRÉVIATIONS UTILISÉES DANS LES FIGURES ET DANS LES PLANCHES

cs	: Cellule sécrétrice (<i>canal efférent</i>)	pr. cyt.	: prolongement cytoplasmique sertolien vers l'intérieur du cyste
cyt	: cytoplasme	pt	: paroi du tubule
d	: desmosome (<i>macula occludens</i>)	pc	: pont cytoplasmique
ei	: espace intercellulaire	r	: ribosome
erg	: ergastoplasme	S ₃	: spermatides en fer de lance
G	: spermatogonie	S	: cellule de Sertoli
GA	: spermatogonie de l'apex	Spc. I	: spermatocyte I
G ₂ à 11	: numéro de la génération sper- matogoniale	Spt	: spermatide
g	: appareil de Golgi	Spz	: spermatozoïde
Ly	: lysosome	Tnf	: tonofilament
m	: mitochondrie	Vp	: vésicule de pinocytose
mb	: membrane basale	Z. o.	: <i>zona occludens</i>
mp	: membrane plasmique		
N	: noyau		

PLANCHE I

Évolution de la forme du noyau des cellules de Sertoli au cours de la spermatogenèse (cf. en outre les figures III C et IV A. Dans l'ordre chronologique de la spermatogenèse, les figures sont : I_A, B, D, IV_A, III_C, I_C.

A. — Noyau de cellule de Sertoli N_s entre deux gonies G_A dans l'apex d'un tubule. Le cytoplasme sertolien s'applique directement contre la membrane basale *mb* et émet des prolongements très minces (S) entre les cellules germinales. Le nucléole n'est pas visible ici : il est en général difficile à identifier dans les noyaux sertoliens de l'apex ($\times 15\ 000$).

B. — Noyaux sertoliens S_a, S_b et S_c groupés dans l'angle d'un cyste à spermatogonies G₉ ($\times 4\ 500$).

C. — Noyau sertolien autour d'un cyste en fin de la phase S₄. Le noyau a acquis une forme sphérique et présente un nucléole et des grains interchromatiniens. Le cytoplasme dans lequel sont insérés des spermatozoïdes *spz*, présente des signes de dégénérescence ($\times 7\ 000$).

D. — Noyau sertolien autour d'un cyste à spermatocyte I. Le noyau a acquis une forme allongée et présente un nucléole très apparent. Le corps de Golgi *g* est très développé et la matrice des mitochondries *m* est sombre.

Le cytoplasme sertolien s'applique contre la membrane basale *mb* à l'extérieur de laquelle subsiste une couche de cytoplasme qui constitue la paroi conjonctive du tubule *pt*. Le réticulum endoplasmique est bien développé ($\times 12\ 000$).

E. — Détail du cytoplasme d'une cellule de Sertoli à la fin de la spermiogenèse (S₄), l'ergastoplasme *erg*, fortement dilaté entoure étroitement les mitochondries *m*. Des ribosomes *r* se rencontrent dans le cytoplasme *cyt* ($\times 30\ 000$).

PLANCHE II

Evolution du contact entre cellules de Sertoli au cours de la spermatogénèse.

A. — Imbrication entre les membranes plasmiques m. p. de deux cellules de Sertoli S, voisines autour de petits cystes, contenant les premières générations spermatogoniales G. Des tonofilaments *Inf* sont visibles dans le cytoplasme. $\times 24.000$.

B. — id. A, mais sur cystes de plus grande taille. Des prolongements cytoplasmiques sertoliens *pr. cyt.* apparaissent en même temps que l'ergastoplasme *erg.* $\times 24.000$.

C. — Contact entre deux cystes voisins (GII et spermatocystes I) se succédant à l'intérieur d'un tubule. Au niveau de la zone de contact, on peut identifier 4 couches de cytoplasme sertolien S_a à S_d . Les membranes plasmiques de deux cellules de Sertoli voisines sont moins imbriquées que précédemment et des desmosomes *d* apparaissent. Des prolongements cytoplasmiques *pr. cyt.* sont toujours présents ; le cytoplasme est riche en mitochondries à matrice sombre, en reticulum endoplasmique et en vésicules *v.* $\times 12.000$.

D. — Contact entre deux cellules de Sertoli autour d'un cyste à spermatides S_3 . Les membranes plasmiques ne sont plus imbriquées et la limite est perpendiculaire à la membrane basale. Les desmosomes *d* deviennent plus nombreux et se doublent de tonofilaments *Inf* ; une zona occludens *Zo* apparaît du côté du cyste, de même que des lysosomes *Ly* dans le cytoplasme où l'ergastoplasme est gonflé. Les ribosomes se présentent principalement groupés en rosettes. $\times 22.500$.

PLANCHE III

Rapport entre les spermatides allongées et les cellules de Sertoli.

A. — Prolongements de cytoplasme sertolien *pr. cyl.* dans un cyste à spermatides S_3 . Ces prolongements sont dépourvus d'organites alors que le corps cellulaire est riche en structures cytoplasmiques : ergastoplasme *erg.*, Lysosome *Ly.* Une vésicule de pinnocytose *vp.* est identifiable près de la membrane basale *m. b.* $\times 10.000$.

B. — idem A. Ces prolongements cytoplasmiques *pr. cyl.* pénètrent vers l'intérieur du cyste sur une longueur d'environ $20\ \mu$ entre le cytoplasme des spermatides *cyl.* et les têtes de spermatides *spt.* L'absence d'organites figurés dans les prolongements apparaît nettement ici. $\times 22.000$.

C. — Rapport entre les cellules de Sertoli et les spermatides au début de la phase S_4 . Les prolongements cytoplasmiques subsistent *pr. cyl.*, mais beaucoup de têtes spermatiques sont directement implantées dans le cytoplasme qui présente une auréole plus claire dans la zone de contact. Cette zone plus claire est dépourvue d'organites et rappelle la structure des prolongements cytoplasmiques. En dehors de l'auréole plus claire autour des têtes de spermatides, le cytoplasme est riche en mitochondries, en ergastoplasme, en vésicules *v* et aussi en lysosomes *Ly.* $\times 6.250$.

PLANCHE IV

Faisceaux de tonofilaments dans les cellules de Sertoli autour des cystes de spermatides.

A. — Un faisceau de tonofilaments *tnf* perpendiculaire aux membranes plasmiques et parallèle à la membrane basale, traverse selon le plus grand axe, une cellule de Sertoli autour d'un ciste S₃. L'ergastoplasme *erg.* est gonflé et entoure certaines mitochondries (cf. pl. I). Une bande de cytoplasme sertolien située le long de la membrane basale, présente un aspect plus clair que le reste du cytoplasme et, comme les prolongements cytoplasmiques de la planche III, elle est dépourvue d'éléments figurés. Le noyau sertolien Ns conserve une forme allongée et possède une chromatine granulaire qui forme de petits amas le long de la membrane nucléaire. × 21.000.

B. — Faisceaux de tonofilaments *tnf* parallèles aux membranes plasmiques qui limitent deux cellules de Sertoli autour d'un ciste S₁. Il s'agit vraisemblablement d'une cellule de Sertoli en dégénérescence où l'absence d'autres structures cytoplasmiques fait apparaître les tonofilaments avec une particulière netteté. × 24.000.