

CONSTANCE DES FRÉQUENCES RELATIVES DES STADES DU CYCLE DE L'ÉPITHÉLIUM SÉMINIFÈRE CHEZ LE TAUREAU ET CHEZ LE RAT

Marie-Thérèse HOCHEREAU

avec la collaboration pour la partie statistique de Aline SOLARI

*Laboratoire de Physiologie de la Reproduction,
Centre national de Recherches zootechniques, Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise)*

SOMMAIRE

Nous avons étudié chez le Taureau et chez le Rat la constance des fréquences relatives des stades du cycle de l'épithélium séminifère.

Nos résultats ont mis en évidence chez le Rat une grande constance des fréquences relatives des stades entre les coupes d'un même testicule et entre animaux. Chez le Taureau, il n'y a pas de variation significative des fréquences relatives de chaque stade, malgré des variations qui peuvent exister d'une coupe à l'autre, d'une zone à l'autre (près du *rete testis* ou sous l'albuginée dans les trois zones étudiées : pôle caudal, zone équatoriale, pôle apical) entre les testicules d'un même animal et entre animaux. Les interactions entre ces différents facteurs ne sont pas significatives. Étant donné le grand nombre de circonvolutions présentes sur les tubes séminifères de Taureau, il est nécessaire de compter dans cette espèce un nombre important de tubes par coupes (au moins 300) et de coupes par zones (5) pour avoir la fréquence exacte d'un stade ; cependant la localisation même de la zone ne semble pas avoir d'influence sur la fréquence relative des stades.

INTRODUCTION

La constance de la durée du cycle de l'épithélium séminifère a été démontrée chez différentes espèces à l'aide de radioéléments ; ORTAVANT (1958), chez le Bélier, CLERMONT, MESSIER et LEBLOND (1959) chez le Rat. La durée des différents processus spermatogénétiques élémentaires a été calculée à partir de la fréquence relative

des différents stades du cycle de l'épithélium séminifère ; or, celle-ci a été considérée comme constante par CLERMONT et *al.* (1950, 1952, 1959, 1961) sur le Rat et le Macaque, par ROOSEN-RUNGE (1952) sur le Rat, par ORTAVANT (1958, 1959) sur le Bélier et le Taureau, par AMMAN (1961) sur le Taureau et variable par MOREE (1947) chez *Peromyscus* et par KRAMER (1960) chez le Taureau.

Si par ailleurs les études de PEREY, CLERMONT et LEBLOND (1961) et HOCHEREAU (1963) ont confirmé le déroulement continu du cycle spermatogénétique le long du tube, c'est-à-dire la vague spermatogénétique définie par REGAUD (1901), elles ont également montré l'existence de variations importantes dans les longueurs individuelles des segments de tube occupés par chaque stade.

Si les fréquences relatives des stades du cycle de l'épithélium séminifère varient d'une zone à l'autre, d'un testicule à l'autre et d'un animal à l'autre, bien que la durée totale du cycle spermatogénétique soit constante il faudrait admettre que les différents processus spermatogénétiques élémentaires ne sont pas absolument fixes et qu'à un allongement d'un stade ou d'un processus succède un autre stade ou un processus plus court (KRAMER, 1960).

Nous avons donc repris l'étude de ce problème chez le Taureau et chez le Rat, espèces où nous avons déjà étudié la répartition spatiale des stades du cycle de l'épithélium séminifère (HOCHEREAU, 1963) afin de vérifier la constance générale des fréquences relatives pour l'ensemble du testicule et de connaître la population de tubes minimum à considérer pour que cette constance, si elle existe, apparaisse.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nos études ont porté sur 4 rats de souche 03 Jouy-en-Josas âgés de 3 mois, déjà étudiés et sur 3 taureaux pubères de 2 ans 1/2 à 4 ans appartenant aux races *Frisonne* (2), et *Pic rouge de l'Est* (1) La fertilité de ces animaux avait été contrôlée au préalable.

Les techniques histologiques de fixation et de coloration ont été celles décrites précédemment (HOCHEREAU, 1963).

Chez le Taureau, nous avons prélevé des blocs allant du *rete testis* à l'albuginée dans trois régions du testicule : pôle apical, zone équatoriale, pôle central.

Nous avons compté 300 sections orthogonales de tubes séminifères par coupes, 5 coupes distantes de 900 μ environ par zones, 3 régions par testicule, 2 localisations par région près du *rete testis* et sous l'albuginée, ceci pour les 2 testicules de chaque animal. La taille du testicule de Rat étant telle qu'une section équatoriale de testicule comporte environ 450 sections orthogonales de tubes séminifères, il ne nous a pas été possible de différencier des zones assez importantes pour permettre l'étude de l'influence de la localisation; nous avons compté 300 tubes par coupes, 5 coupes distantes de 900 μ environ par testicule, 1 testicule par animal.

La classification des stades est celle utilisée par CURTIS (1918), ROOSEN-RUNGE (1950), ORTAVANT (1958, 1959) et AMMAN (1961).

Les résultats des comptages effectués sont exprimés en fréquence relative pour cent sections de tube. Les études statistiques ont été faites soit sur les nombres observés de sections transversales de tube soit sur les fréquences relatives des stades après transformation angulaire en arc $\sin \sqrt{P}$.

L'homogénéité de la variance a été testée selon BARTLETT (SNEDECOR, 5^e édition, 1956) et nous avons contrôlé l'indépendance des stades par rapport aux coupes puis procédé à une analyse de variance hiérarchique chez le Taureau (SNEDECOR, 1956) et à un test de χ^2 chez le Rat.

TABLEAU I
 Fréquences relatives des stades du cycle de l'épithélium séminifère chez le Rat
 (déterminées sur les sections orthogonales de tubes séminifères)

Animaux	N1		N2		N3		AK		Total	
	Nbre de sect. de tubes	% ± sm	Nbre de sect. de tubes	% ± sm	Nbre de sect. de tubes	% ± sm	Nbre de sect. de tubes	% ± sm	Nbre de sect. de tubes	% ± sm
1	35	2,37 ± 0,36	35	2,31 ± 0,50	45	2,97 ± 0,22	37	2,47 ± 0,20	152	2,53 ± 0,16
2	82	5,57 ± 0,52	80	5,28 ± 0,34	81	5,34 ± 0,75	81	5,41 ± 0,48	324	5,40 ± 0,22
3	277	18,81 ± 0,79	255	16,85 ± 0,36	271	17,88 ± 0,73	262	17,50 ± 0,78	1 065	17,76 ± 0,36
4	91	6,18 ± 0,42	408	7,13 ± 0,14	92	6,07 ± 0,29	88	5,87 ± 0,36	379	6,32 ± 0,18
5	431	8,89 ± 0,59	453	10,41 ± 0,40	436	8,87 ± 0,56	445	9,68 ± 1,35	565	9,42 ± 0,39
6	444	28,12 ± 0,54	443	27,29 ± 0,39	436	28,77 ± 0,76	423	28,25 ± 0,32	1 686	28,41 ± 0,27
7	456	10,59 ± 0,67	468	11,40 ± 1,09	481	11,94 ± 0,40	469	11,28 ± 0,72	674	11,24 ± 0,36
8	285	19,36 ± 0,40	301	19,89 ± 0,71	273	18,01 ± 0,60	292	19,50 ± 0,90	1 451	19,49 ± 0,34
Total	1 471		1 540		1 515		1 497		5 996	

TABLEAU 3
Fréquences relatives des stades du cycle de l'épithélium séminifère (déterminées sur les sections orthogonales de tubes séminifères)

Stades	8845 TG		8845 TD		44828 TG		44828 TD		162 TG		162 TD		Total	
	Nombre de sect. de tubes	% $\pm sm$	Nombre de sect. de tubes	% $\pm sm$	Nombre de sect. de tubes	% $\pm sm$	Nombre de sect. de tubes	% $\pm sm$	Nombre de sect. de tubes	% $\pm sm$	Nombre de sect. de tubes	% $\pm sm$	Nombre de sect. de tubes	% $\pm sm$
1	2 841	31,46 \pm 0,80	2 547	28,91 \pm 0,59	2 803	31,66 \pm 1,03	2 899	32,89 \pm 0,89	2 698	30,08 \pm 0,47	2 675	29,77 \pm 0,45	16 464	30,79 \pm 0,30
2	783	8,67 \pm 0,40	812	9,21 \pm 0,40	906	10,23 \pm 0,45	708	8,03 \pm 0,56	855	9,53 \pm 0,30	817	9,09 \pm 0,35	4 881	9,13 \pm 0,17
3	1 667	18,47 \pm 0,64	1 689	19,17 \pm 0,57	1 760	19,88 \pm 0,66	1 716	19,47 \pm 0,46	1 971	21,97 \pm 0,43	1 944	21,60 \pm 0,55	10 744	20,09 \pm 0,24
4	1 031	11,42 \pm 0,65	1 193	13,54 \pm 0,35	1 134	12,81 \pm 0,54	1 035	11,74 \pm 0,45	1 186	13,22 \pm 0,33	1 246	13,86 \pm 0,42	6 825	12,76 \pm 0,20
5	481	2,00 \pm 0,11	471	1,94 \pm 0,09	442	1,60 \pm 0,08	433	1,50 \pm 0,06	418	1,31 \pm 0,10	430	1,44 \pm 0,11	875	1,63 \pm 0,04
6	576	6,38 \pm 0,36	627	7,11 \pm 0,24	532	6,01 \pm 0,28	523	5,93 \pm 0,30	440	4,90 \pm 0,20	440	4,89 \pm 0,33	3 138	5,87 \pm 0,10
7	784	8,68 \pm 0,35	789	8,95 \pm 0,28	694	7,84 \pm 0,35	728	8,26 \pm 0,40	619	6,90 \pm 0,20	704	7,83 \pm 0,26	4 318	8,07 \pm 0,13
8	1 165	12,90 \pm 0,38	984	11,16 \pm 0,49	880	9,94 \pm 0,51	1 070	12,14 \pm 0,48	1 081	12,05 \pm 0,43	1 031	11,47 \pm 0,36	6 211	11,61 \pm 0,18
Total	9 028		8 813		8 851		8 812		8 968		8 984		53 456	

sm = erreur type.

RÉSULTATS

1^o) VARIATION DES FRÉQUENCES RELATIVES DES STADES
AU SEIN D'UNE ESPÈCE

a) *Entre coupes*

Chez le Rat, l'étude des différentes coupes d'un même testicule indique une grande homogénéité des fréquences relatives des différents stades du cycle de l'épithélium séminifère (tableau 1). Ces fréquences sont indépendantes du numéro de la coupe observée (tableau 2).

TABLEAU 2

^a *Test d'indépendance des stades par rapport aux coupes (5 coupes par animal) chez le Rat (Nombre de sections orthogonales de tubes séminifères)*

Animaux	N1	N2	N3	AK
Somme des nombres de tubes observés.....	1 472	1 513	1 155	1 497
X ²	9	13	15	19
Signification D1 = 28	NS	NS	NS	NS

La comparaison entre les proportions relatives des stades déterminées sur des coupes entières (de 300 à 400 sections orthogonales de tubes séminifères) et sur le 1/3 de la surface de celles-ci (80 à 100 tubes) révèle l'existence de différences parfois significatives suivant la surface de la coupe étudiée et par conséquent selon le nombre de sections de tubes comptées. Les coupes ayant une faible surface montrent tou-

TABLEAU 4

Test d'indépendance des stades par rapport aux coupes (5 coupes par animal), chez le Taureau (Nombre de sections orthogonales de tubes séminifères)

Zones	Pôle apical albuginée	Pôle apical rete testis	Zone équat. albuginée	Zone équat. rete testis	Pôle caudal albuginée	Pôle caudal rete testis
Somme des nombres de tubes observés..	1 507	1 471	1 516	1 494	1 478	1 385
X ²	39,073	32,292	161,883	31,024	54,972	30,774
Signific. D1 = 28 ..	NS	NS	HS	NS	HS	NS

TABLEAU 5

Récapitulation des trois analyses de variance hiérarchique faites chez le Taureau pour chaque stade sur les fréquences relatives après transformation arc sin \sqrt{p}

	INTERACTIONS										Erreur
	A × T	A × Z	A × R. Al.	A × A. E. C.	T × Z	T × R. Al.	T × A. E. C.	A × Z	A × T × R. Al.	A × T × A. E. C.	
DI	20	10	2	4	5	1	2	10	2	4	35
Stades s ²											
1	18,32	10,64	12,00	15,00	2,64	0,08	10,53	10,02	113,12 ⁽²⁾	41,93	22,33
2	30,59	9,08	33,51	13,48	5,42	20,34	3,56	6,34	51,47	18,45	17,31
3	19,37	12,19	21,70	22,70	14,49	21,70	4,00	3,24	60,45 ⁽¹⁾	29,75	17,81
4	29,82	9,97	4,93	19,32	5,30	5,54	1,51	0,62	91,14 ⁽²⁾	25,55	16,61
5	0,47	2,71	2,96	3,93	0,40	2,05	2,55	2,98	32,58 ⁽²⁾	12,53	5,83
6	3,88	3,76	0,45	14,51	1,97	0,41	2,20	7,38	65,27 ⁽¹⁾	22,09	12,59
7	2,33	4,87	5,79	4,65	1,04	1,83	0,01	5,18	149,24 ⁽¹⁾	21,86	13,86
8	56,99	6,46	1,22	5,98	7,22	9,75	10,38	28,52 ⁽²⁾	195,56 ⁽²⁾	92,21 ⁽¹⁾	8,53

s² = Carré moyen

⁽¹⁾ Significatif P = 0,05.

⁽²⁾ Hautement significatif P = 0,01 — zones { localisation = rete testis (R) ; albuginée (Al) }
 région : pôle apical (A) ; zone équatoriale (E) ; pôle caudal (C).

jours une variabilité beaucoup plus grande des fréquences des stades. De plus, étant donné le faible pourcentage des stades 5 et 6, il est nécessaire de compter un assez grand nombre de tubes. Nous avons donc compté 300 sections de tubes par coupe.

L'examen des coupes d'une même zone d'un testicule de Taureau révèle aussi une homogénéité de la fréquence des différents stades (tableau 3) ; cependant, il peut exister des variations importantes pour certains stades quels qu'ils soient : c'est ainsi que par exemple pour le stade 1, deux coupes d'une même zone montrent respectivement des fréquences relatives de 25 et 33 p. 100. L'indépendance entre la proportion des stades et le numéro de la coupe n'est pas alors préservée (tabl. 4). Le calcul des fréquences relatives sur 300 sections de tubes séminifères par coupe n'élimine pas complètement les variations dans la fréquence des stades d'une coupe à l'autre. Il est donc nécessaire de compter plusieurs coupes pour une même zone.

b) Localisation dans le testicule chez le Taureau

L'homogénéité de la variance des proportions des différents stades étant respectée dans l'ensemble, il a été possible de procéder dans cette espèce à une analyse de variance hiérarchique entre les différentes zones pour l'ensemble des testicules. Quelle que soit la région, pôle apical, zone équatoriale, pôle caudal du testicule ou la localisation près du *rete testis* ou sous l'albuginée, les différences observées ne sont pas significatives (tableau 5).

c) Différence entre testicules et entre animaux

L'étude effectuée chez le Taureau met en évidence l'homogénéité des fréquences relatives des stades entre testicules (tableau 5). De même elle n'a pas révélé de différences significatives entre les 3 taureaux sauf pour les stades 5 et 6 (tableau 5) ; cependant ces 2 stades ont une fréquence faible : 1,63 et 5,87 p. 100 respectivement, on ne peut donc conclure à une variation possible entre animaux pour ces seuls stades.

En général, chez le Taureau, les interactions entre deux facteurs quels qu'ils soient (tableau 5) ne sont pas significatives, ce qui prouve l'homogénéité des fréquences relatives d'une zone à l'autre et d'un testicule à l'autre. La seule interaction significative — entre animaux et testicule — n'est trouvée que pour le stade 8 et ne peut donc être généralisée. Parmi les interactions entre trois facteurs, seule se révèle significative pour la majorité des stades celle concernant : animaux \times testicule \times localisation près du *rete testis* ou sous l'albuginée. La localisation près du *rete testis* et sous l'albuginée pourrait donc avoir une action qui ne serait pas la même suivant le testicule et suivant l'animal. Cependant cette interaction met en jeu 3 facteurs et il est difficile de l'interpréter statistiquement. On ne peut donc conclure avec certitude à une signification biologique de cette action.

Chez le Rat, étant donné l'inhomogénéité de la variance nous avons seulement effectué un test de X^2 qui n'a pas révélé de différences significatives entre animaux (tableau 2).

2^o) COMPARAISON ENTRE LES FRÉQUENCES RELATIVES MOYENNES
DES STADES DU CYCLE DE L'ÉPITHÉLIUM SÉMINIFÈRE

Pour l'ensemble des animaux à l'intérieur d'une même espèce, la fréquence relative des différents stades apparaît constante (tableaux 1 et 2) ; la comparaison de l'importance relative du début du cycle spermatogénétique, représenté par les stades 1 à 3 (de la fin de la libération des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères au début des premières divisions de maturation) à celle de la fin de ce cycle : stades 5 à 8 (de la fin de la deuxième division de maturation à la fin de la libération des spermatozoïdes dans la lumière) indique que si chez le Taureau ces deux fractions représentent respectivement 60 et 28 p. 100 environ du cycle de l'épithélium séminifère, chez le Rat ces proportions sont inversées et trouvées égales à 25 et 68 p. 100. Il existe donc des différences dans la fréquence relative des stades du cycle de l'épithélium séminifère entre espèces.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Nos résultats ont mis en évidence une constance dans la fréquence relative des stades du cycle de l'épithélium séminifère dans les deux espèces étudiées : ainsi chez le Rat et chez le Taureau, il existe une très grande homogénéité des fréquences relatives d'une coupe à l'autre et d'un animal à l'autre. En outre chez le Taureau, nous avons pu montrer que cette constance des fréquences relatives se retrouvait quelle que soit la localisation dans le testicule et quel que soit le testicule.

Nos résultats confirment ceux obtenus chez différentes espèces (CLERMONT et *al.*, 1952, 1959, 1961 ; ORTAVANT, 1958, 1959 ; AMMAN, 1962) qui conduisent à la notion de constance des fréquences des différents stades du cycle de l'épithélium séminifère pour une espèce donnée et à l'intérieur d'un même testicule (AMMAN, 1962). Ils s'opposent à ceux de MOREE (1947) chez *Peromyscus* et de KRAMER (1960) chez le Taureau. Des observations de MOREE (1947) on pouvait conclure à l'existence de grandes irrégularités dans les fréquences relatives des différents stades chez *Peromyscus* ; cependant MOREE a confondu le cycle de l'épithélium séminifère avec la vague spermatogénétique et la fréquence relative des stades avec leurs longueurs individuelles, de sorte qu'on ne peut adopter avec certitude sa conclusion.

KRAMER (1960) chez le Taureau conclut à la variabilité des fréquences des différents stades suivant la zone du testicule, le testicule et l'animal considéré. Cette divergence de résultats provient vraisemblablement des méthodes d'échantillonnage.

La taille même des coupes et des zones étudiées par KRAMER, moins de 100 tubes par coupe et de 1 000 tubes par zone et par testicule, nous semble être la cause de la variabilité de ses résultats. En effet les différences d'une coupe à l'autre peuvent s'expliquer par le fait que chez le Taureau, les tubes séminifères présentent un grand nombre de circonvolutions (HOCHEREAU, 1963) ; une portion de tube séminifère se trouvant occupée sur une certaine longueur par un même stade, celui-ci risque d'apparaître plusieurs fois sur une zone restreinte de la coupe histologique (fig. 1).

Mais compte tenu de cette restriction tenant à l'échantillonnage on peut dire que, les longueurs individuelles des segments de tubes séminifères occupés par un stade du cycle de l'épithélium séminifère étant variables, des phénomènes de compensation se produisent même sur des volumes testiculaires assez faibles si on se réfère aux résultats obtenus chez le Taureau. Il est donc possible chez l'animal normal de déterminer avec précision les fréquences relatives des stades du cycle de l'épithélium séminifère quelle que soit la zone testiculaire choisie.



FIG. 1. — Schéma d'une coupe histologique de Taureau : les tubes séminifères, repérés sur des photographies de coupes sériées successives ont été reconstitués et les différentes sections d'un même tube sont représentées avec le même ombrage. Les nombres représentent les numéros de stades (1 à 8) dans la classification adoptée.

Reçu pour publication en avril 1963.

SUMMARY

THE CONSTANCY OF THE RELATIVE FREQUENCIES OF THE STAGES OF THE SEMINIFEROUS EPITHELIAL CYCLE IN THE BULL AND THE RAT

In the bull and the rat, the constancy of the relative frequencies of the stages of the seminiferous epithelial cycle has been studied. In the bull the relative frequency of the stages has been examined and compared, by means of an analysis of hierarchic variants, on sections from the same zone, from different zones following two localisations — under the albuginean and near the *rete testis* — and in three regions — the caudal pole, equatorial zone and apical pole — this for the two testicles of the same animal and for different animals. In the rat, an χ^2 test was made on the relative frequencies of the stages on sections of the testicles of different animals.

Results have shown that in the rat there is a constancy of relative frequencies of the stages between sections from the same testicle and between animals. In the bull, although there are certain variations between sections from one zone and another, from one testis and another and one animal and another, there is no significant difference between the relative frequency of the same stage. Similarly, the interaction between the different factors are not, on the whole, significant.

The seminiferous tubules do not show the same morphology in the two species. Those of the bull reveal a greater number of circumvolutions. In this species a tubule is found to be cut a certain number of times on the same section. Because of this it is necessary to count a great number of sections of seminiferous tubules by histological sections — at least 300 — and sections by zones — at least 5 — to obtain the frequency of a stage with accuracy. However the localisation and the region of the testicle do not seem to have a definite influence.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMMAN R. P., 1961 Reproductive physiology of the male bovine. *Ph. D. Pennsylvania State University*. University Park, 206 p.
- AMMAN R. P., 1962. Reproductive capacity of Dairy bulls. III. The effect of ejaculation frequency, unilateral vasectomy, and age on spermatogenesis. *Amer. J. Anat.*, **110**, 19-62.
- CLERMONT Y., LEBLOND C. P., 1952. Definitions of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the Rat. *Ann. of. N. Y. Acad. Sci.*, **55-64**, 548-573.
- CLERMONT Y., LEBLOND C. P., MESSIER B., 1959. Durée du cycle de l'épithélium séminal du Rat. *Arch. Anat. Micr. Morphol. Exper.*, **48 bis**, 37-65.
- CURTIS G. M., 1918. The morphology of the Mammalian seminiferous tubule. *Amer. J. Anat.*, **24**, 339-394.
- HOCHEREAU M. T., 1963. Étude comparée de la vague spermatogénétique chez le Taureau et chez le Rat. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **3**, 5-20.
- KRAMER M. F., 1960. Spermatogenesis bij de stier. *Dr. Diergeneesk. Rijksuniversiteit te.*, Utrecht. 183 pp.
- MOREE R., 1947. The normal spermatogenesis wave cycle in *Peromyscus*. *Anat. Rec.*, **99**, 163-176.
- ORTAVANT R., 1958. Le cycle spermatogénétique chez le Bélier. *Thèse Doct., Paris*, 127 pp.
- ORTAVANT R., 1959. Spermatogenesis and morphology of the spermatozoon ; in *Reproduction in Domestic animals*. II. *éd. H. H. COLE and P. E. CUPPS Academic Press, New York.*
- PEREY B., CLERMONT. Y., LEBLOND C. P., 1961. The wave of the seminiferous epithelium in the rat. *Amer. J. Anat.*, **108**, 47-48.
- REGAUD B., 1901 Études sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les Mammifères. *Arch. Anat. Microsc.*, **4**, 101-106, 231-380.
- ROOSEN-RUNGE E. C., GIESEL L. O., 1950. Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat. *Amer. J. Anat.*, **87**, 1-30.
- SNEDECOR G. W., 1956. *Statistical methods*. 5^e édition. Iowa State College Press. Ames (U. S. A.).
-