

ORIGINE DES SPERMATOZOÏDES DIPLOÏDES PRÉSENTS DANS L'ÉJACULAT D'UN TAUREAU CHAROLAIS

C. ESNAULT, R. ORTAVANT

avec la collaboration technique de J.-C. NICOLLE

*Laboratoire de Physiologie de la Reproduction,
Centre de Recherches vétérinaires et zootechniques, 37 - Nouzilly*

Différents auteurs (PAREZ, PETEL et VENDRELY, 1960 ; SALISBURY, BIRGE, de la TORRE et LODGE, 1961 ; GLEDHILL, 1964 ; SALISBURY et BAKER, 1966) ont déjà signalé la présence, dans le sperme de taureaux de mauvaise fertilité, de spermatozoïdes dont la teneur en acide désoxyribonucléique (ADN) était double de la normale ; cependant l'origine de ces gamètes diploïdes n'a pu être déterminée avec certitude. Nous avons donc cherché à résoudre ce problème chez un taureau *Charolais* stérile présentant cette anomalie.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Après castration unilatérale, des empreintes furent réalisées par apposition de petits fragments de testicule sur lames de quartz ou de verre, afin d'obtenir des noyaux bien séparés, en couche monocellulaire. La fixation fut pratiquée immédiatement dans un mélange alcool éthylique 95°/acide acétique (3/1, v/v).

Les mesures furent faites à l'aide du microspectrophotomètre Universel Zeiss (UMSP 1) selon la technique de CASPERSSON (1936) :

1. Sur lames de quartz, après traitement par la ribonucléase (RNAase) (AMANO, 1962) et montage dans la glycérine, en lumière monochromatique ultraviolette (longueur d'onde : 260 et 280 m μ avec correction pour la lumière diffuse déterminée à 315 m μ).

2. Sur lames de verre après coloration par la réaction de Feulgen, selon la technique décrite par LEUCHTENBERGER (1958) légèrement modifiée, à une longueur d'onde de 560 m μ .

Des frottis de spermatozoïdes, collectés au vagin artificiel et fixés aux vapeurs de formol, furent aussi mesurés de la même manière.

RÉSULTATS

Les spermatozoïdes, présumés diploïdes, rencontrés dans les éjaculats (tabl. 1), avaient, pour la plupart, la même apparence que ceux décrits par GLEDHILL (1964) mais présentaient assez souvent une pièce intermédiaire ou un flagelle double (fig. 1) ; leur fréquence d'apparition était de 1,73 p. mille.

TABLEAU I

Mesures microspectrophotométriques (extinction totale) des spermatozoïdes d'un taureau charolais stérile (Présence de spermatozoïdes diploïdes)

Technique	Spermatozoïdes normaux	Spermatozoïdes anormaux (diploïdes)	Rapport diploïdes normaux
Feulgen (560 m μ)	7,26 \pm 0,110* (20)	13,94 \pm 0,189 (20)	1,92
UV (260 m μ)	6,88 \pm 0,204 (20)	14,46 \pm 0,210 (20)	2,10
UV (280 m μ)	4,21 \pm 0,133 (20)	8,65 \pm 0,269 (20)	2,05

* Moyenne \pm erreur standard
() Nombre de mesures.

TABLEAU 2

Mesures microspectrophotométriques (extinction totale) des cellules germinales d'un taureau charolais stérile. (Présence de spermatides diploïdes)

Technique	Spermatocytes primaires Pachytène	Spermatocytes de 2 ^e ordre	Spermatides normales	Spermatides anormales
Feulgen (560 m μ)	32,19 \pm 0,390* (20)	16,92 \pm 0,180 (20)	9,29 \pm 0,108 (40)	17,56 \pm 0,505 (10)
UV (260 m μ) après RNAase	35,67 \pm 1,027 (20)	17,42 \pm 0,823 (3)	8,56 \pm 0,250 (20)	15,10 \pm 0,705 (10)
UV (280 m μ) après RNAase	22,90 \pm 0,880 (20)	10,97 \pm 1,369 (3)	6,10 \pm 0,180 (20)	10,01 \pm 0,478 (10)

* Moyenne \pm erreur standard
() Nombre de mesures.

D'après le tableau 2 (empreintes de tissu testiculaire), on peut remarquer la présence de spermatides diploïdes aux stades 3 — 4 — 5 du cycle de l'épithélium séminifère (classification ORTAVANT, 1958) (fig. 2). Par contre, nous n'avons pu trouver de spermatocytes primaires ou secondaires montrant une teneur en ADN double de la valeur normale.

Le fait qu'un examen approfondi de coupes histologiques et d'empreintes ne nous ait pas permis de mettre en évidence de spermatocytes primaires ou secondaires

à teneur en ADN ou protéines nucléaires anormale, laisserait penser que l'existence des spermatozoïdes diploïdes serait due à une transformation directe, sans deuxième division de maturation, des spermatocytes secondaires en spermatides et spermatozoïdes, plutôt qu'à une anomalie de synthèse de l'ADN. D'autres cellules que les spermatides

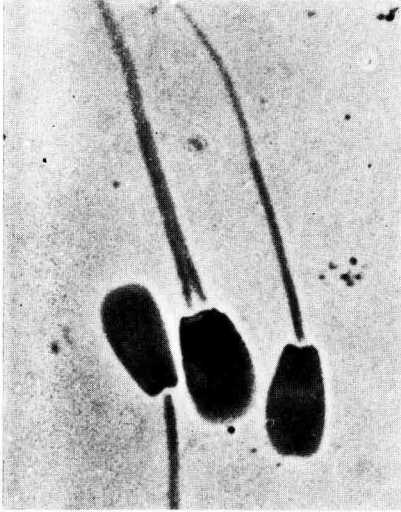


FIG. 1 — Spermatozoïde diploïde encadré de deux spermatozoïdes normaux chez le Taureau. Présence d'une pièce intermédiaire double (Feulgen + Bleu de méthylène ; $G \times 2480$)

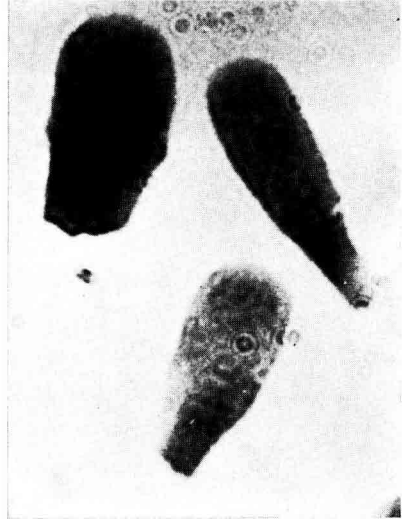


FIG. 2. — Spermatide diploïde et spermatide normale chez le Taureau (Feulgen ; $G \times 3960$)

pourraient donc subir l'évolution spermiogénétique. Cependant cette transformation serait associée à un très mauvais pouvoir fécondant de l'ensemble de la population des spermatozoïdes produits dans ces conditions.

Reçu pour publication en février 1967.

SUMMARY

ORIGIN OF DIPLOID SPERMATOZOA IN THE BULL

The DNA content of primary spermatocytes (pachytene stage), secondary spermatocytes and spermatids of a *Charolais* Bull with diploid spermatozoa (1.73 p. 1000 was studied by UV absorption or feulgen coloration using a universal Zeiss microspectrophotometer (USMP 1).

This chromosome abnormality occurs by suppression of the second meiotic division (table II).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AMANO M., 1962. Improved techniques for the enzymatic extraction of nucleic acids from tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.*, **10**, 204-212.
- CASPERSSON T., 1960. Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes. *Skand. Arch. Physiol.*, **73**, Suppl. n° 8.

- GLEDHILL B. L., 1964. Quantitative ultramicrospectrophotometry of presumed diploid bovine spermatozoa. *V^e Congr. internation. Reprod. anim.*, **3**, 489-494.
- LEUCHTENBERGER C., 1958. Quantitative determination of DNA in cells by Feulgen microspectrophotometry. *General cytochemical methods*, Acad. Press. inc., New York Ed. Danielli, v. 1, 219.
- ORTAVANT R., 1958. *Le cycle spermatogénétique chez le Bélier*. Thèse Doct. Paris, 127 pp.
- PAREZ M., PETEL J. P., VENDRELY C., 1960. Sur la teneur en acide désoxyribonucléique des spermatozoïdes de taureaux présentant différents degrés de fécondité. *C. R. Acad. Sci.*, **251**, 2581-2583.
- SALISBURY G. W., BIRGE W. J., de la TORRE L., LODGE J. R., 1961. Decrease in nuclear Feulgen-positive material (DNA) upon ageing in *in vitro* storage of bovine spermatozoa. *J. biophys. biochem. Cytol.*, **10**, 353-359.
- SALISBURY G. W., BAKER F. N., 1966. Frequency of occurrence of diploid bovine spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, **11**, 477-480.
-