

LA SPERMIOGENÈSE ET LE SPERMATOZOÏDE D'ANGUILLA ANGUILLA L. ÉTUDE ULTRASTRUCTURALE

R. BILLARD et Anna S. GINSBURG*

avec la collaboration technique de Anne-Marie ESCAFFRE et Denise HUNEAU

*Laboratoire de Physiologie des Poissons,
Centre national de Recherches zootechniques, I. N. R. A.,
78350 Jouy en Josas (France)*

** Institut de Biologie du développement,
Académie des Sciences, Moscou, U.R.S.S.*

RÉSUMÉ

Une étude ultrastructurale de la spermiogenèse et du spermatozoïde d'Anguille dont la maturité a été induite expérimentalement par traitement gonadotrope a mis en évidence un certain nombre de particularités :

1° Le spermatozoïde ne comporte pas d'acrosome.

2° Il n'existe pas de pièce intermédiaire et seul un corps mitochondrial de faible importance a été identifié dans la partie antérieure du spermatozoïde.

3° Au cours de la spermiogenèse le centriole proximal se prolonge dans le cytoplasme sous forme de triplets qui s'organisent en 2 faisceaux, lesquels viennent se placer autour du noyau lors de la phase d'élongation de la tête spermatique. Ces associations de microtubules subsistent dans le spermatozoïde émis. D'autres structures temporaires identifiées au cours de la spermiogenèse (structures lamellaires, baguette fibreuse et racines flagellaires) apparaissent au moment des remaniements morphologiques qui accompagnent l'élongation du noyau. D'une façon plus générale il est suggéré que l'ensemble de ces structures temporaires au nombre desquelles on pourrait ajouter les associations microtubulaires de type manchette joueraient un rôle de consolidation et de stabilisation de l'accrochage du complexe centriole-flagelle au noyau lors de l'élongation de la tête spermatique.

Dans le cas plus particulier de l'Anguille, l'existence permanente de triplets pourrait avoir une fonction analogue et assurerait en l'absence de fossette d'implantation, l'attachement définitif du centriole proximal au noyau spermatique.

4° Le flagelle du type 9 + 0 est motile.

5° Le spermatozoïde présente à la fois des caractères « primitifs » (absence de pièce intermédiaire, pas de modification du diplosome, subsistance de cytoplasme dans le spermatozoïde mûr) et des caractères plus élaborés (élongation du noyau, condensation de la chromatine).

INTRODUCTION

Les connaissances sur l'ultrastructure des spermatozoïdes des Poissons Téléostéens ont rapidement progressé au cours des dernières années (PORTE et FOLLENIUS 1960 ; STANLEY, 1969 ; MATTEI, 1970 ; BILLARD, 1970). Tous ces travaux s'accordent pour confirmer l'absence d'acrosome souvent signalée dans les études en microscopie photonique. Cependant, deux auteurs ont soutenu l'existence d'acrosome dans ce groupe de Poissons : TUZET et FONTAINE (1937) chez l'Anguille, et VASISHT (1954) chez les Cyprinodontidae. Plusieurs études ultrastructurales (PORTE et FOLLENIUS 1960 ; BILLARD, 1970) confirmant les travaux de VAUPEL (1929) ont montré qu'il n'y avait pas d'acrosome chez le Guppy, Poisson Cyprinodontidae.

Chez l'Anguille, le présent travail, déjà partiellement publié (GINSBURG et BILLARD, 1972) montre également qu'il n'y a pas d'acrosome et qu'il existe un certain nombre de particularités comme dans le cas d'un autre Poisson du groupe des Elopiformes (*Albula vulpes*) (MATTEI et MATTEI, 1972, 1973).

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

La spermatogenèse de l'Anguille qui ne se produit pas naturellement en laboratoire peut être artificiellement induite après administration d'hormone gonadotrope (FONTAINE, 1936, YAMAMOTO *et al.*, 1972, MESKE, communication personnelle). Dans la présente étude, les observations portent sur des gonades et des spermatozoïdes de 5 pimpaneaux argentés dont la spermatogenèse a été induite par un tel traitement, dans le laboratoire du P^r FONTAINE, et dans les conditions déjà décrites (FONTAINE, 1936 ; OLIVEREAU et HERLANT, 1960).

Les gonades ou le sperme immédiatement prélevés après anesthésie des animaux sont séparés en petits blocs et fixés immédiatement. La fixation est simple : dans une solution d'acide osmique à 2 p. 100, 2 bains de 1 heure à + 4° C dans un tampon phosphate à pH 7,25.

Après inclusion dans l'Épon, les coupes sont colorées successivement à l'acétate d'uranyle et au citrate de plomb puis recouvertes d'un film de carbone et observées à l'Elmiskop I (Siemens) sous 80 kV.

Du fait des difficultés d'interprétation que pose ce spermatozoïde en particulier en ce qui concerne son orientation, les extrémités de la tête spermatique sont définies dans l'exposé des résultats comme proximales (côté d'insertion du flagelle) et distales (côté opposé) sans préjuger des positions antérieure et postérieure de cette tête spermatique.

OBSERVATIONS

Le noyau de la spermatide

Le noyau, d'abord sphérique (pl. I A) s'aplatit à un pôle (pl. I B) et tend à s'allonger (pl. I C) tout en prenant un aspect légèrement indenté (pl. IV A, pl. III). La forme finale de la tête spermatique du spermatozoïde éjaculé affecte la forme d'une banane sur coupe longitudinale (pl. V A).

La chromatine fibrillaire et uniformément répartie au début de la spermiogenèse

tend à se grouper en amas (pl. I B-C) puis se condense (pl. III). Des plages plus claires apparaissent dès les premières étapes de la spermiogenèse (pl. I B-C). Leur surface reste importante dans les spermatides allongées (pl. III C-D) et elles subsistent dans les spermatozoïdes éjaculés (pl. V A).

Les structures cytoplasmiques au cours de la spermiogenèse

Le spermatozoïde d'Anguille est dépourvu d'acrosome. Au cours de la spermiogenèse les spermatides restent en relation entre elles grâce à des ponts intercellulaires. Les mitochondries sont très nombreuses dans les spermatogonies et spermatocytes ; leur nombre diminue fortement dans les spermatocytes secondaires et il ne subsiste généralement qu'un seul corps mitochondrial dans les spermatides. Cependant, dans les jeunes spermatides, il peut exister 2 ou 3 mitochondries. Le corps mitochondrial est associé au complexe centriolaire (pl. I B-C et VI A) et ne s'en sépare qu'au moment de l'élongation de la spermatide (pl. IV B) pour se localiser à l'extrémité opposée dans la partie distale de la tête spermatique.

Le cytoplasme est peu abondant dans les spermatides et il en subsiste dans le spermatozoïde (pl. V A). Il est caractérisé par une pauvreté en réticulum endoplasmique et en ribosomes, lesquels sont isolés ou groupés en rosettes (pl. I C). Le complexe centriolaire comporte 2 centrioles disposés selon un angle de 70° . La longueur du centriole distal est de $0,35 \mu$ et les triplets du centriole proximal restent individualisés sous la forme cylindrique habituelle sur une longueur de l'ordre de $0,7$ à $0,8 \mu$. A ces centrioles sont associées d'autres structures :

I. Des formations fibreuses pericentriolaires.

On peut distinguer plusieurs types de formations en relation avec le complexe centriolaire.

a) *Structures lamellaires alternées* (pl. II A).

Au début de la spermiogenèse des structures constituées par un empilement de bandes sombres et claires régulièrement alternées et épaisses d'environ 150 \AA se développent dans le cytoplasme généralement à proximité du complexe centriolaire avec lequel il n'existe cependant pas de rapport morphologique direct. Ces structures qui peuvent comporter jusqu'à 20 lamelles sont d'extension très variables — quelques centaines à quelques milliers d' \AA — et disparaissent au cours de la spermiogenèse.

b) *Baguette fibreuse cylindrique* (pl. II B ; III A).

Une baguette cylindrique d'aspect fibreux d'un diamètre de l'ordre de $0,170 \mu$ et pouvant atteindre une longueur de 1μ apparaît très tôt au cours de la spermiogenèse. Cette baguette est constituée d'une zone périphérique dense aux électrons et d'un axe, également opaque, de 250 \AA de diamètre. Des sous-structures peuvent également être identifiées entre les zones centrales et périphériques. Les bords du cylindre sont toujours en association étroite avec le corps mitochondrial (pl. III A) et une extrémité est en relation avec des satellites pericentriolaires. Cette structure disparaît à la fin de la spermiogenèse.

c) *Formations du type racine flagellaire.*

Du matériel de nature fibreuse s'organise d'une part en structure striée de type racine flagellaire (pl. II C) et d'autre part en formation intercentriolaire (pl. II D). La formation striée de structure périodique est constituée de stries, denses aux électrons, épaisses de 100 à 150 Å et séparées par des espaces plus clairs de 300 à 350 Å. De ce matériel péricentriolaire se détachent également des prolongements fibreux qui se disposent le long de la membrane plasmique (pl. III B) ou repoussent cette membrane au pôle proximal et se localisent à l'intérieur d'une sorte de diverticule (pl. II D). Cette expansion cytoplasmique subsiste dans le spermatozoïde (fig. 1). Il existe en outre de nombreux microfilaments autour du complexe centriolaire.

2. *Extension des triplets du centriole proximal dans le cytoplasme.*

Dès le début de la spermiogénèse les triplets du centriole proximal se prolongent dans le cytoplasme (pl. I A). Au cours de l'élongation du noyau, les triplets se retrouvent accolés à la membrane nucléaire (pl. III-B, C, D ; pl. IV-B). A la fin de la spermiogénèse ces triplets s'organisent en 2 faisceaux autour du noyau de la spermatide selon une disposition caractéristique qui subsiste dans le spermatozoïde mûr ; le centriole proximal se disloque, perd son individualité et les microtubules qui restent parfaitement organisés en triplets s'organisent alors en 2 groupes qui prennent des orientations différentes (cf. fig. 1 et pl. V).

Dès leur sortie du centriole proximal un groupe de 4 triplets — qualifié de faisceau- α effectue un déplacement latéral de 10 degrés et s'engage dans une gorge ménagée dans le noyau et recouvert par une extension en forme de plis du feuillet externe de l'enveloppe nucléaire (fig. V E). Le faisceau α reste canalisé dans cette gorge jusque dans la zone convexe de la tête spermatique. A ce niveau, la gorge nucléaire perd son individualité et le faisceau de triplets poursuit son mouvement hélicoïdal jusqu'à l'extrémité distale de la tête spermatique où il a effectué un demi-tour.

Un deuxième faisceau de 5 triplets, dit faisceau- β , qui n'est pas dévié comme le faisceau précédent, continue son développement dans l'axe du centriole proximal puis suit la courbure concave de la tête spermatique pour gagner également l'extrémité distale de la tête spermatique où il s'insinue entre le noyau et le corps mitochondrial (pl. V B). Le feuillet externe de la membrane nucléaire qui sépare les faisceaux α et β à leur point de départ, apparaît plus dense au niveau des zones de contact avec les triplets de microtubules lesquels (ceux du faisceau β par exemple) peuvent même s'engager dans des microdépressions ménagées dans ce feuillet (pl. V D, E). Les triplets restent individualisés sur la plus grande longueur de la tête spermatique mais ils tendent à se disloquer dans la partie distale ; le tubule central (sous fibre B) tend généralement à s'ouvrir et il ne subsiste qu'un pont mettant en relation les 2 microtubules externes des triplets (pl. V B).

Le spermatozoïde.

Le spermatozoïde présent dans les lobules testiculaires, le canal déférent ou observé après éjaculation, est caractérisé par une forme en banane. Le corps mitochondrial, constitué par une mitochondrie non modifiée, de faible importance, est localisé dans la partie distale de la tête spermatique sur la face concave. Les faisceaux de triplets identifiés dans les spermatides âgées subsistent dans le spermatozoïde mûr

La position du complexe centriolaire par rapport au noyau n'est pas constante d'un spermatozoïde à l'autre, de sorte que l'angle présenté entre le flagelle et l'axe longitudinal de la tête spermatique peut varier dans des proportions importantes, entre 90 et 160 degrés. Le flagelle qui est mobile est du type 9 + 0. La section du flagelle apparaît plus ou moins ovalisée (pl. III E). Chacun des doublets est relié à la membrane plasmique par un bras qui s'insère entre les 2 microtubules.

DISCUSSION

La spermiogenèse induite expérimentalement chez l'Anguille aboutit à la formation d'un spermatozoïde dont la tête, dépourvue d'acrosome, est très allongée, avec une chromatine fortement condensée. La pièce intermédiaire est inexistante dans ce spermatozoïde dont le corps mitochondrial est situé dans la partie distale de la tête spermatique. C'est vraisemblablement ce corps mitochondrial ou chondriosphère selon MATTEI (1969) qui a été considéré comme acrosome en microscopie photonique (TUZET et FONTAINE, 1937). Les caractéristiques de ce spermatozoïde sont les mêmes que dans d'autres espèces du même groupe ou de groupe voisin (MATTEI 1969, 1970 ; MATTEI et MATTEI, 1972, 1973). Cependant cette étude pose un certain nombre de problèmes :

A. — *L'orientation de la tête spermatique*

La définition du sens de l'orientation de la tête spermatique est rendue difficile par la disposition opposée du complexe centriolaire et du corps mitochondrial. Il est difficile de décider celui de ces organites qui a migré. D'après les études comparées de la spermiogenèse des Poissons, dues à MATTEI (1969), on pourrait considérer que le complexe centriolaire et par conséquent le flagelle, ont migré en position antérieure, le corps mitochondrial restant en position normale, c'est-à-dire postérieure, comme, chez *Ophioblenius atlanticus* (MATTEI, 1970), qui pourrait représenter un cas intermédiaire où la migration du complexe centriolaire vers la partie antérieure du noyau ne serait pas encore achevée. Cependant l'étude morphologique de la spermiogenèse milite en faveur de la migration du corps mitochondrial lequel accompagnerait le noyau au cours des processus d'élongation (cf. pl. IV B). En outre l'association étroite du complexe centriolaire avec la membrane nucléaire et sa localisation dans une dépression ménagée dans le noyau s'organise dès le début de la spermiogenèse et semble permanente. Cela tend à prouver que la localisation du diplosome et par conséquent l'orientation de la spermatide sont définis très tôt au cours de la spermiogenèse. On peut d'autre part fonder l'orientation de ce spermatozoïde sur des critères physiologiques tel que celui du sens de la nage (fig. 1) ce qui aboutirait également à considérer que le corps mitochondrial se trouve dans la partie antérieure du spermatozoïde. Chez *Albula vulpes*, MATTEI et MATTEI (1973) considèrent également que la chondriosphère migre au cours de la spermiogenèse et concluent à la position antérieure de la mitochondrie.

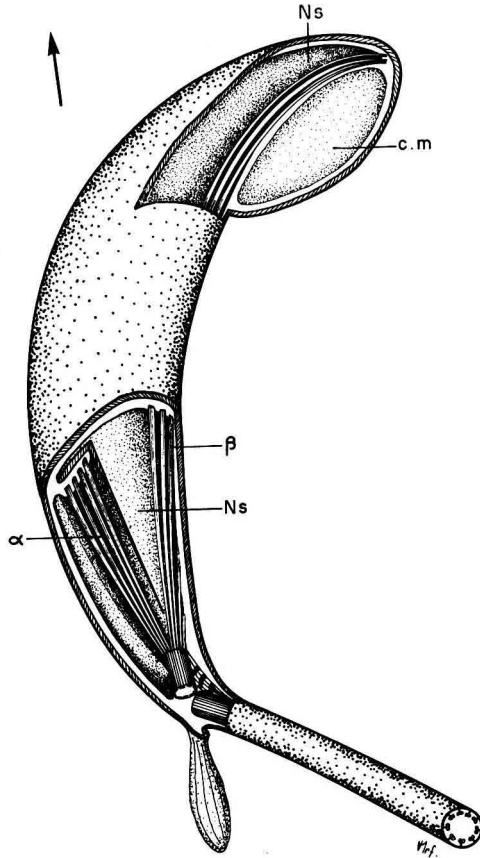


FIG. 1. — Représentation schématique du spermatozoïde d'Anguille
La flèche indique le sens de déplacement du spermatozoïde

B. — Le problème de l'extension des triplets du centriole proximal
dans le cytoplasme

Le prolongement des triplets du centriole proximal dans le cytoplasme a déjà été décrit chez un autre poisson apode : *Lycodontis afer* (BOISSON *et al.*, 1967) et chez *Albula* (MATTEI et MATTEI, 1972-1973). Cette situation semble donc fréquente dans ces groupes de poissons, mais elle pose le problème de la spécialisation fonctionnelle des 2 centrioles. Au contraire du centriole distal qui ne donne naissance qu'à un doublet, le centriole proximal est donc capable au moins dans certains cas d'engendrer des triplets. Dans les spermatides de Mammifères, le centriole proximal peut également élaborer des pseudo-triplets organisés en cylindre (HORSTMANN, 1961 ; FAWCETT et PHILLIPS, 1970). Cependant l'extension de cette structure n'est pas importante et elle est transitoire alors que chez l'Anguille comme chez *Albula Valpes* qui restent parfaitement individualisés sur plusieurs microns, subsistent dans le spermatozoïde définitivement formé.

Dans le cas de la présente étude, il pourrait être objecté que la présence de microtubules dans le spermatozoïde éjaculé résulte en fait de l'émission prématuré de spermatides due au traitement hormonal administré. Cependant, le fait que ces triplets existent également dans les spermatozoïdes d'autres poissons, se reproduisant naturellement, tel qu'*Albula* (MATTEI et MATTEI, 1973) permet de conclure au caractère spécifique des structures observées dans le spermatozoïde d'anguille.

C. — *La signification fonctionnelle des triplets et des structures transitoires au cours de l'allongement du noyau des spermatides*

La présence de microtubules a été souvent mise en relation avec la morphogenèse des noyaux et en particulier leur élongation à la fois dans le cas des spermatides (manchette) et des noyaux somatiques (FULLILOVE et JACOBSON, 1971). L'intervention de la manchette dans les processus de modelage de la forme de la tête spermatique a cependant été remise en question par FAWCETT *et al.* (1971). Il faut se souvenir que l'extension de la manchette dans la spermatide est très variable. Le développement des microtubules peut s'organiser sur toute la longueur du noyau de la spermatide allongée aussi bien chez les Vertébrés (Mc INTOSH et PORTER, 1967 ; CLARKE, 1967) que chez les Invertébrés (KESSEL, 1966, FARRAGUTI et LANZAVECCHIA, 1971). Ce sont en fait ces exemples qui ont servi de base à l'hypothèse d'une intervention des microtubules dans la morphogenèse du noyau. Chez l'Anguille, comme chez *Albula* (MATTEI et MATTEI, 1973) les microtubules se développent sur toute la longueur du noyau comme dans les cas précédents, mais ils subsistent dans le spermatozoïde émis. Le rôle que peuvent jouer ces microtubules reste hypothétique. Chez l'Anguille il n'existe aucune structure d'accrochage entre le complexe centriolaire et le noyau comme chez les vertébrés plus évolués (FAWCETT et PHILLIPS, 1970) ou chez d'autres Téléostéens (BILLARD, 1970) et on peut imaginer que le prolongement des triplets centriolaires autour du noyau réalise un système d'accrochage original. Une autre particularité de ce spermatozoïde, l'éloignement du corps mitochondrial du complexe centriolaire, peut également conduire à l'idée d'un rôle de liaison des microtubules entre ces 2 organites (transport de substances par exemple) l'hypothèse d'une intervention des microtubules dans des processus de transfert a déjà été avancée par de nombreux auteurs (SCHMITT, 1968) y compris pendant la spermiogenèse (PICHERAL, 1972).

Plus généralement, le développement de la manchette est moindre et l'extension des microtubules n'affecte que la partie caudale du noyau (ce qui constitue l'un des arguments majeurs pour nier le rôle de la manchette dans l'élongation du noyau). Chez l'Anguille, il n'existe pas de structures microtubulaires temporaires mais seulement des structures de types racine flagellaire et microfilaments qui s'organisent dans la partie postérieure de la spermatide et en particulier au niveau du complexe centriolaire. A ce type de structure se rattache en outre la baguette fibreuse cylindrique qui a été identifiée également chez *Albula* (MATTEI et MATTEI, 1973).

Il est difficile d'attribuer à ces structures une fonction précise. On doit cependant noter que chez l'Anguille il n'y a pas de transformation poussée du diplosome. Il est donc logique d'imaginer que ces structures soient impliquées dans la consolidation

de la liaison entre les 2 centrioles à un moment où se réalisent des mouvements morphogénétiques importants dans la cellule (élongation du noyau, transformations dans la structure des constituants nucléaires).

Chez les Poissons Téléostéens, ces structures transitoires ne se manifestent pas dans le cas de spermiogénèses extrêmement simplifiées comme chez la Carpe et le Brochet ou *Parapristipoma* (MATTEI, 1970 ; BILLARD, 1970) où le noyau ne subit pas de transformation et où le complexe centriolaire non modifié reste simplement accolé contre le noyau. Dès que la spermiogénèse se complexifie et que se manifestent des transformations au niveau des diplosomes ou de l'accrochage entre le flagelle et le noyau, les structures transitoires apparaissent, qu'il s'agisse de matériel fibreux organisé ou non en racines flagellaires comme chez la Truite (BILLARD, 1972) ou de microtubules comme chez le Guppy (MATTEI et BOISSON, 1966 ; GRONBERG et TELKKA 1968 ; BILLARD, 1970) et *Upeneus prayensis* (BOISSON *et al.*, 1969). Dans le groupe des Téléostéens, ces structures temporaires semblent donc aller de pair avec la complexification de la spermiogénèse. Mais d'une façon plus générale, dans la plupart des espèces animales, leur localisation topographique à un moment où s'élabore l'accrochage flagelle-tête spermatique, appuyerait l'hypothèse d'un rôle de consolidation mécanique de la part de racines flagellaires ou de manchettes à un moment critique de la formation du spermatozoïde.

D. — *Le problème de la motilité d'un flagelle de type 9 + 0*

Le modèle de flagelle 9 + 2 est le plus général aussi bien chez les Végétaux (MANTON, 1952) que chez les Animaux (FAWCETT et PORTER, 1954). Dans les spermatozoïdes, d'autres variantes ont été décrites (cf. AFZELIUS, 1963) : 9 + 9 + 2 chez les Mammifères (FAWCETT, 1958 ; PHILLIPS 1969) ; 9 + 1 chez certains Plathelminthes (SHAPIRO *et al.*, 1961 ; KLIMA, 1961 ; SILVEIRA, 1969) ; 9 + 3 chez les Arachnides (ROSATI *et al.*, 1). Le type 9 + 0 identifié par PORTER, (1957) a été considéré comme non motile d'après INOUE (1959). Cependant des spermatozoïdes de type 9 + 0 se sont révélés mobiles chez *Myzostomum* (AFZELIUS, 1962), chez une diatomée (MANTON et VON STOSCH, 1966) et chez les Poissons *Lycodontis afer* (BOISSON *et al.*, 1967) et *Albula* (MATTEI et MATTEI, 1972). Le flagelle de type 9 + 0 de l'Anguille est également motile. La motilité du flagelle de type 9 + 0 n'est donc pas exceptionnelle.

CONCLUSION

La spermiogénèse et le spermatozoïde de l'Anguille se distinguent par un certain nombre de particularités : corps mitochondrial situé dans la partie antérieure de la tête spermatique, prolongement des triplets du centriole proximal jusque dans la partie antérieure du noyau sous la forme de 2 faisceaux qui subsistent dans le spermatozoïde mûr, flagelle de type 9 + 0.

Il s'agit d'un spermatozoïde qui est élaboré si l'on se réfère à la condensation de la chromatine et la forme allongée du noyau mais qui reste sommaire par d'autres

aspects : absence de pièce intermédiaire, pas de transformation du diplosome dont les 2 centrioles restent individualisés à la fin de la spermiogénèse, subsistance de trace de cytoplasme dans le spermatozoïde éjaculé.

Reçu pour publication en mai 1973.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le professeur FONTAINE qui a bien voulu nous procurer le matériel animal ainsi que le docteur MESKE qui nous a fait parvenir les enregistrements cinématographiques sur la nage des spermatozoïdes.

SUMMARY

SPERMOGENESIS AND SPERMATOZOON OF *ANGUILLA ANGUILLA* L. STUDY OF ULTRASTRUCTURE

Study of ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoon of *Anguilla*, in which maturity was experimentally induced by gonadotropic treatment, has shown the following peculiarities :

- 1° The spermatozoon has no acrosome.
- 2° There is no mid piece and only a small mitochondrial body has been identified in the anterior part of the spermatozoon.
- 3° During spermiogenesis, the proximal centriole extends into cytoplasm in the form of triplets which are organized into 2 clusters. These group around the nucleus during elongation phase of the sperm head. The microtubular associations subsist in the emitted spermatozoon. Other temporary structures identified during spermiogenesis (lamellar structures, fibrous rod and flagella roots) appear at the time of morphological alteration which accompanies nucleus elongation. In a more general way, it is suggested that all these temporary structures, to which may be added microtubular associations of a manchette type, play a consolidating and stabilizing role in joining the centriole-flagella complex to the nucleus during sperm head elongation.
- In the case of *Anguilla*, permanent existence of triplets may have an analogous function and insure definitive attachment of proximal centriole to sperm nucleus in the absence of an implantation cavity.
- 4° Flagella of 9 + 0 type is motile.
- 5° The spermatozoon has both « primitive » characters (absence of intermediary piece, no alteration of diplosome, subsistence of cytoplasm in spermatozoon wall) and more complicated characters (nucleus elongation, chromatin condensation).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFZELIUS B., 1962. The contractile apparatus in some invertebrate muscles and spermatozoa. *5 th Intern. Congr. Electron. Micros. Philadelphia*. Acad. Press.
- AFZELIUS B., 1963. Cilia and flagella that do not conform to the 9 + 2 pattern. I. Aberrant numbers within normal populations. *J. Ultrastruct. Res.*, **9**, 381-392.
- BILLARD R., 1970 a. Ultrastructure comparée de spermatozoïdes de quelques poissons Téléostéens. *Comp. Spermatol.* Baccetti Ed. 71-79.
- BILLARD R., 1970 b. La spermatogénèse de *Poecilia reticulata*. IV. La spermiogénèse. Étude ultrastructurale. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 493-510.

- BILLARD R., 1972. Racines flagellaires transitoires au cours de la spermiogenèse de la Truite (Abstr.). *J. Microscopie*, **14**, 21 a.
- BOISSON C., MATTEI X., MATTEI C., 1967. Le flagelle de type 9 + 0 et la remarquable extension du centriole proximal dans les spermatides de *Lycodontis afer* (BLOCH, 1795) (Poisson Muraenidae). *C. R. Acad. Sci.*, **264**, 2 909-2 912.
- BOISSON C., MATTEI X., MATTEI C., 1969. Mise en place et évolution du complexe centriolaire au cours de la spermiogenèse d'*Upeneus prayensis* C. V. (Poisson Muraenidae). *J. Microscopie*, **8**, 103-112.
- CLARK A. W., 1967. Some aspects of spermiogenesis in a lizard. *Am. J. Anat.*, **121**, 369-400.
- FARRAGUTI M., LANZAVECCHIA G., 1971. Morphogenetic effects of microtubules. I. Spermiogenesis in *Annelida tubificidae*. *J. Submicr. Cytol.*, **3**, 121-137.
- FAWCETT D. W., PORTER K. R., 1954. A study of the fine structure of ciliated epithelia. *J. Morphol.*, **94**, 221-281.
- FAWCETT D. W., 1958. The structure of the mammalian spermatozoa. *Internat. Rev. Cytol.*, **7**, 195-234.
- FAWCETT D. W., PHILLIPS D. M., 1970. Recent observations on the ultrastructure and development of the mammalian spermatozoa. *Comp. Spermatol.*, Baccetti Ed., 13-28.
- FAWCETT D. W., ANDERSON W. A., PHILLIPS D. M., 1971. Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. *Develop. Biol.*, **26**, 220-251.
- FULLILOVE S. L., JACOBSON A. G., 1971. Nuclear elongation and cytokinesis in *Drosophila montana*. *Develop. Biol.*, **26**, 560-577.
- FONTAINE M., 1936. Sur la maturation complète des organes génitaux de l'Anguille mâle et l'émission spontanée de ses produits sexuels. *C. R. Acad. Sci.*, **202**, 1 312-1 314.
- GRONBERG R., TELKKA A., 1968. Juxtannuclear changes during the early spermatogenesis in *Lebistes reticulatus*. *Z. Zellforsch.* **84**, 342-349.
- GINSBURG A. S., BILLARD R., 1972. Ultrastructure du spermatozoïde d'Anguille. *J. microscopie*, **14**, 50-51 a.
- HORSTMANN E., 1961. Elektronen mikroskopische Untersuchungen zur Spermiogonose beim Menschen. *Z. Zellforsch.*, **54**, 68-89.
- INOUE S., 1959. *Motility of cilia an mechanism of mitosis in biophysical science. A study program*. J. L. Oncley Ed. Wiley N. Y., 402-408.
- KESSEL R. G., 1966. The association between microtubules and nuclei during spermiogenesis in the Dragonfly. *J. Ultrastr. Res.*, **16**, 293-304.
- KLIMA J., 1961. Elektron microscopische studien über die Feinstruktur der Tricladen (Tubellaria). *Protoplasma*, **54**, 101-162.
- MCINTOSH J. R., PORTER K. R., 1967. Microtubules on the spermatids of the domestic fowl. *J. Cell Biol.*, **35**, 153-173.
- MANTON I., 1952. The fine structure of plant cilia. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **6**, 306-319.
- MANTON I., VON STOSCH A. A., 1966. Observations on the fine structure of the gamete of a marine centric diatom *Luthodesmium undulatum*. *J. Roy. Microsc. Soc.*, **85**, 119-134.
- MATTEI X., BOISSON C., 1966. Le complexe centriolaire du spermatozoïde de *Lebistes reticulatus*. *C. R. Acad. Sci. Ser. D*, **262**, 2 620-2 622.
- MATTEI X., 1969. *Contribution à l'étude de la spermiogenèse et du spermatozoïde des poissons par les méthodes de la microscopie électronique*. Thèse Doctorat, Montpellier.
- MATTEI X., 1970. Spermiogenèse comparée des poissons. *Comp. Spermatol.*, Baccetti Ed., 57-69.
- MATTEI X., MATTEI C., 1972. L'appareil centriolaire et flagellaire du spermatozoïde d'*Albula vulpes* (Poisson Albulidae). *J. Microscopie*, **6**, 67-68 a.
- MATTEI C., MATTEI X., 1973. La spermiogenèse d'*Albula vulpes* (L. 1758) (Poisson Albulidae). *Z. Zellforsch* (sous presse).
- OLIVEREAU M., HERLAND M., 1960. Étude de l'hypophyse de l'Anguille mâle au cours de la reproduction. *C. R. Soc. Biol.*, **154**, 706-709.
- PHILLIPS D. M., 1969. Exceptions to prevailing pattern of tubules (9 + 9 + 2) in the sperm flagella of certain insects species. *J. Cell Biol.*, **40**, 28-43.
- PICHERAL B., 1972. Les éléments cytoplasmiques au cours de la spermiogenèse du Triton *Pleurodeles wallii* MICHAH. II. La formation du cou et l'évolution des organites cytoplasmiques non intégrés dans le spermatozoïde. *Z. Zellforsch.*, **131**, 371-398.
- PORTE A., FOLLENIUS E., 1960. La spermiogenèse chez *Lebistes reticulatus*. Étude au microscope électronique. *Bull. Soc. Zool.*, **85**, 82-88.
- PORTER K. R., 1957. The submicroscopic morphology of protoplasm. *Harvey Lectures*, Ser. 51, 175-228.
- ROSATI F., BACCETTI B., DALLAI R., 1970. The spermatozoon of arthropoda. X. Araneids and the lowest myriapods. *Comp. Spermatol.*, Baccetti Ed., 247-254.
- SCHMITT F. O., 1968. Fibrous proteins Neuronal organelles. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **60**, 1092-1101
- SHAPIRO J. E., HERSHENOV B. R., TULLOCH G. S., 1961. The fine structure of *Maematoloechus* spermatozoon tail. *J. Biophys. Biophem. Cytol.*, **9**, 211-217.
- SILVEIRA M., 1969. Ultrastructural studies on a « nine plus one » flagellum. *J. Ultrastr. Res.*, **26**, 274-288.

- STANLEY H. P., 1969. An electron microscope study of spermiogenesis in the teleost fish *Oligocottus maculosus*. *J. Ultrastr. Res.* **27**, 230-243.
- TUZET O., FONTAINE M., 1937. Sur la spermatogenèse de l'Anguille argentée (*Anguilla vulgaris* CUV.). *Arch. Zool. exp. Gen.*, **4**, 199-215.
- VASISHT H. S., 1954. Fish spermatogenesis with particular reference to the fate of the cytoplasmic inclusions. III. Spermatogenesis of Actinopterygii (Cyprinodontidae). *Res. Bull. Panjab Univ.*, **62**, 169-175.
- VAUPEL J., 1969. The spermatogenesis of *Lebistes reticulatus*. *J. Morph.*
- YAMAMOTO K., HIRANO T., MORIOKA T., 1971. Artificial maturation of cultivated male Japanese eels by synahorin injection. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **38**, 1083-1090.

PLANCHE I

A. Spermatide ronde au début de la spermiogénèse. La chromatine est répartie uniformément dans le noyau. Le complexe centriolaire et la mitochondrie *m* sont localisés à un pôle qui correspond à la future partie postérieure de la tête spermatique. Les microtubules *mT* dans le cytoplasme sont en continuité avec le centriole proximal *c. p.*

(× 30 000)

B. Jeune spermatide à un stade plus avancé que précédemment. La chromatine tend à se grouper en amas. La mitochondrie *m* reste associée au complexe centriolaire *c. c.* et à la baguette fibreuse cylindrique. (*bf*) (cf. pl. II B et III A).

(× 30 000)

C. Jeune spermatide. Début d'élongation du noyau. Le flagelle sort de la cellule perpendiculairement à l'axe longitudinal de la spermatide.

(× 35 000)

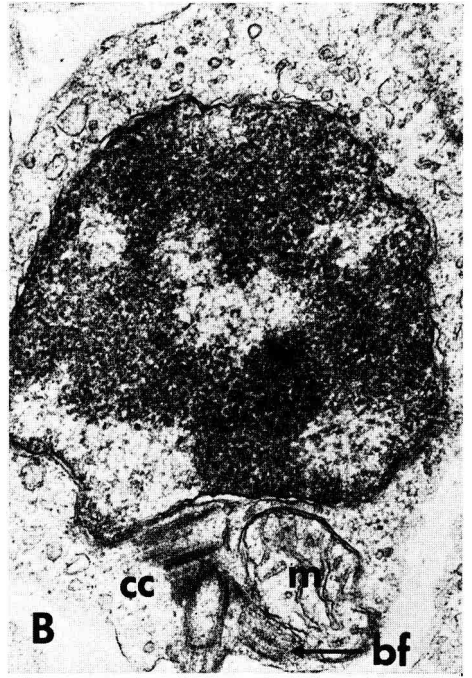
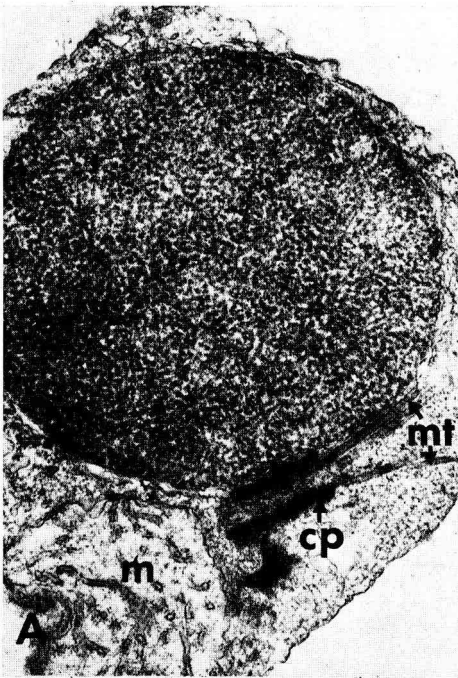


PLANCHE II

A. — Individualisation des structures lamellaires alternées dans une jeune spermatide. × 60.000.

B. — La baguette fibreuse cylindrique se localise entre la mitochondrie *m* et la membrane plasmique. × 60.000.

C. — Du matériel fibreux s'organise en racine flagellaire *rf* qui se trouve reliée au centriole distal *cd*. *cp* centriole proximal. × 60.000

D. — Morphologie de la partie postérieure de la tête de la spermatide à un stade plus avancé de la spermiogénèse. × 37.500.

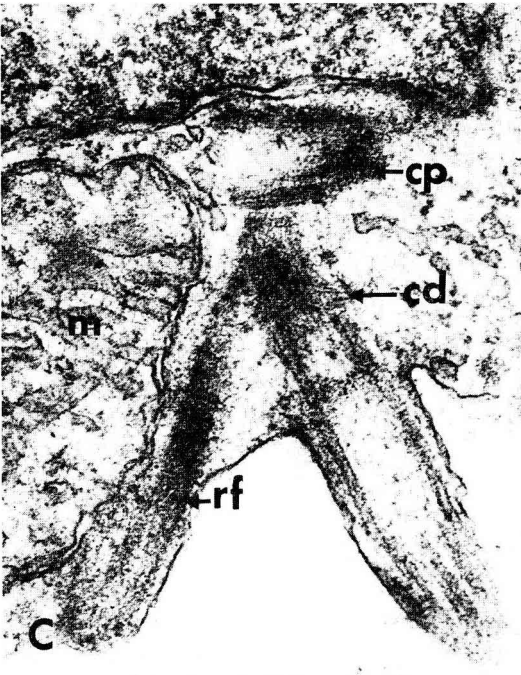


PLANCHE III

A. — Coupe transversale de la baguette fibreuse cylindrique *bf*
N = noyau — m = corps mitochondrial. $\times 67.500$.

B. — Morphologie de la partie postérieure de la tête spermatique d'un spermatozoïde éjaculé. Du matériel fibreux originaire du centriole distal *cd* se dispose le long de la membrane plasmique. $\times 40.000$.

C. — Jeune spermatide en cours d'élongation. Début de la condensation de la chromatine. Les microtubules *mt* dérivant du centriole proximal *cp* ne sont pas encore organisés en faisceaux autour du noyau. $\times 25.000$.

D. — Elongation du noyau autour duquel les microtubules *mt* se sont disposés. $\times 30.000$.

E. — Coupe transversale d'un flagelle (type 9 + 0). $\times 60.000$.

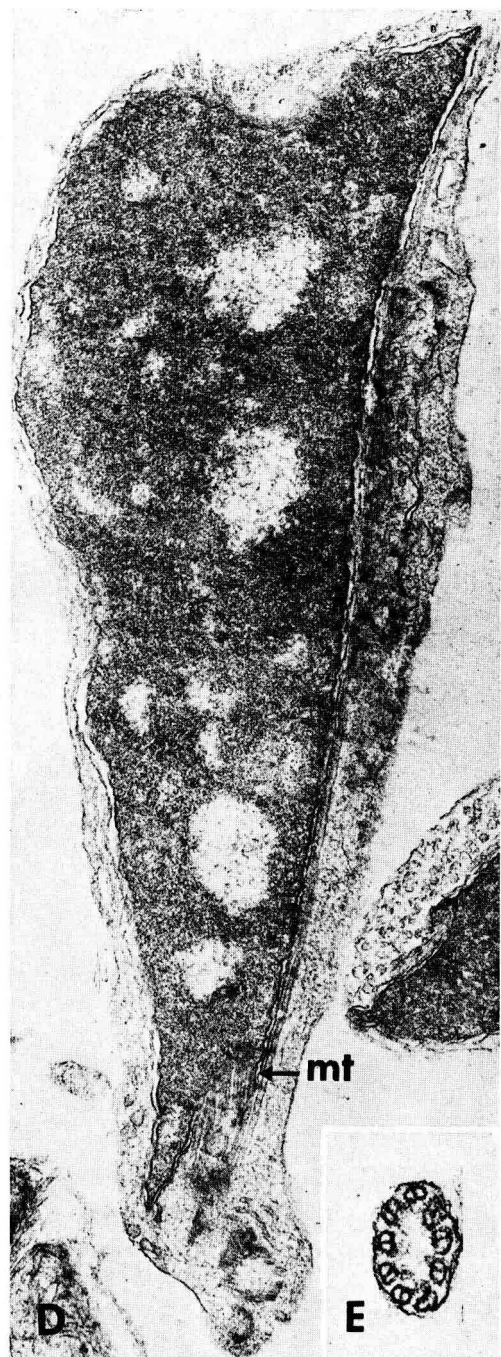
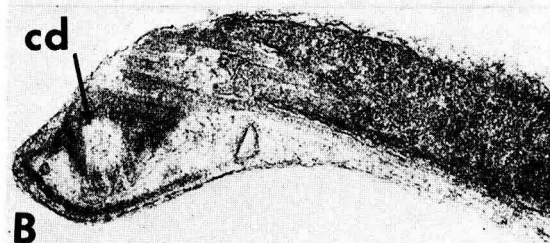
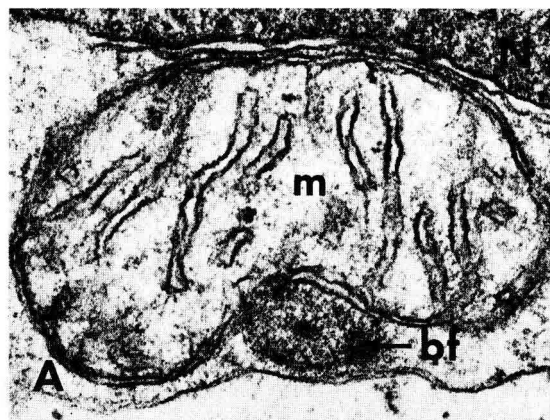
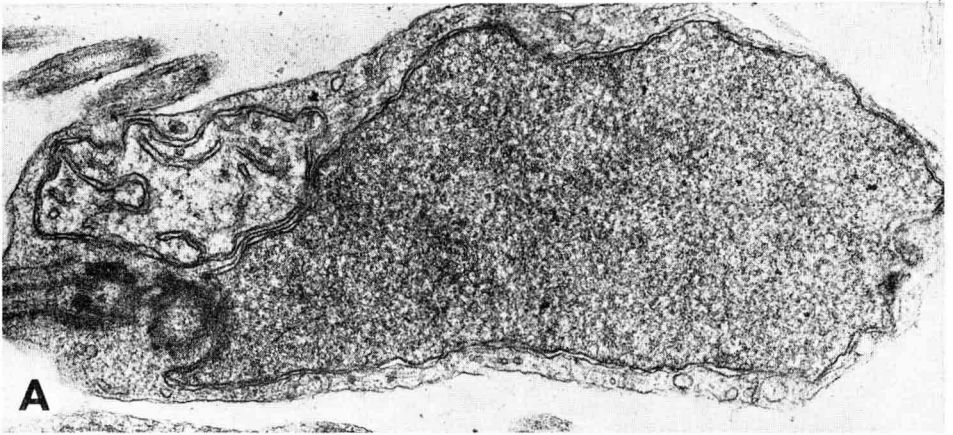


PLANCHE IV

A. — Début d'élongation du noyau avant la condensation de la chromatine. Le noyau présente un aspect légèrement lobé et la mitochondrie occupe encore une position postérieure. $\times 30.200$.

B. — Migration de la mitochondrie vers la partie antérieure de la tête spermatique au cours de l'élongation du noyau. $\times 35.500$.



A



B

PLANCHE V

A. — Coupe longitudinale d'un spermatozoïde éjaculé. La mitochondrie *m* occupe une position antérieure. Les deux faisceaux de microtubules apparaissent dans la partie postérieure de la tête spermatique :

α) Le faisceau de 4 triplets localisé dans une dépression de la membrane nucléaire, effectue un demi-tour autour du noyau : la partie inférieure du faisceau est visible de droite à gauche.

β) Le faisceau de 5 triplets qui effectue un trajet directement antéro-postérieur et dont plusieurs microtubules sont visibles sur la partie concave du noyau. $\times 24.000$.

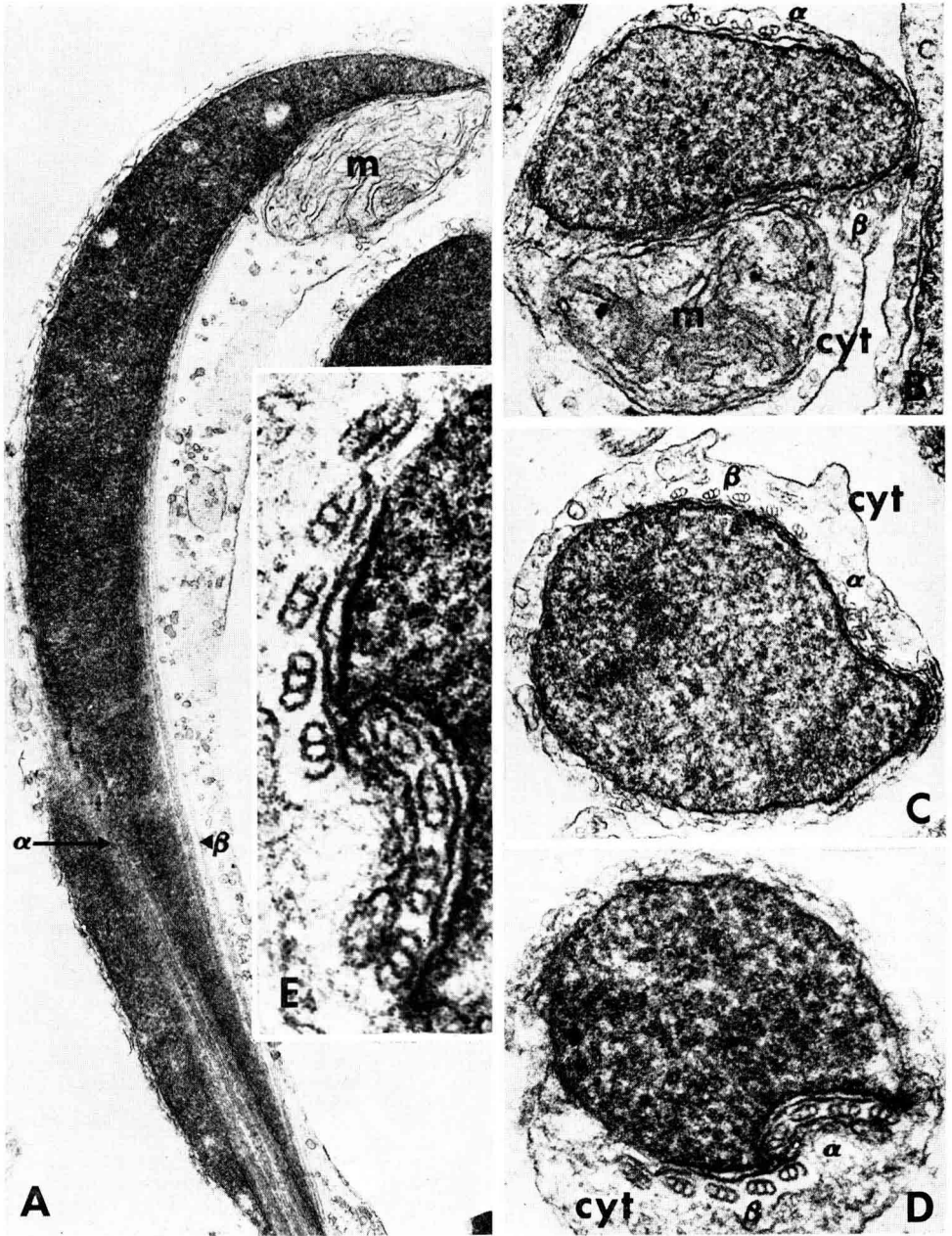
B. C. D. — Coupes transversales de spermatides âgées passant par les régions antérieure (B), médiane (C) et postérieure (D).

B. — La mitochondrie *m* est localisée sur un côté de la spermatide, l'autre côté étant occupé par le faisceau β de microtubules ; à l'opposé les triplets du faisceau α tendent à se disloquer. $\times 30.000$.

C. — Les triplets du faisceau α sont coupés tangentiellement, alors que ceux du faisceau β le sont perpendiculairement. Ces triplets sont entourés par une zone plus claire et s'appuient sur un épaissement du feuillet externe de la membrane nucléaire. $\times 25.000$.

D. — La dépression nucléaire dans laquelle est disposé le faisceau α apparaît nettement ici. Ce dernier apparaît engagé dans une structure membranaire et se trouve complètement séparé du faisceau β (cf. agrandissement en E). $\times 67.500$.

cyt. restes cytoplasmiques.



R. BILLARD et A. S. GINSBURG