

LE CYCLE SPERMATOGÉNÉTIQUE CHEZ *NEROPHIS LUMBRICIFORMIS* (TÉLÉOSTÉENS SYNGNATHIDÉS).

par

J.-P. Guyomarc'h

Laboratoire de Biologie animale, Faculté des Sciences de Brest.

Résumé

L'activité sexuelle mâle chez *Nerophis* est étudiée au cours d'une année. Elle peut être rattachée à deux périodes distinctes :

a) une période de forte activité spermatogénétique caractérisée par des incubations souvent répétées, une continuité certaine dans la production spermatogoniale, une spermatogenèse accélérée si l'on admet le déroulement rapide de la spermiogenèse, une production permanente de spermatozoïdes en quantités variables et par vagues successives ;

b) une période de faible activité spermatogénétique marquant une phase de repos dans le cycle sexuel et caractérisée par un faible développement de l'épithélium germinatif et l'absence de spermatozoïdes.

La spermatogenèse semble continue pendant une grande partie de l'année, mais cette continuité est tempérée par des variations dans la production des différents types de cellules germinales.

Introduction

Le cycle reproducteur mâle est bien connu chez de nombreux Téléostéens. Il est très souvent annuel, spermatogenèse et frai s'effectuant à des périodes privilégiées de l'année. La périodicité annuelle dans le cycle n'est cependant pas la règle et la spermatogenèse peut être continue dans des conditions de lumière et de température optimales comme chez les Cyprinodontiformes (Vaupel, 1929 ; Billard, 1969). Elle peut être pluri-annuelle chez le Silure indien (Ghosh et Kar, 1952), s'établir sur plusieurs années (Esturgeon) ou se produire une seule fois dans la vie du Poisson (Saumon, Anguille). Le cycle spermatogénétique chez les Syngnathidés est mal connu et, à ma connaissance, la seule étude a été menée chez l'Hippocampe (Boisseau, 1967) où le cycle, justement, est différent de ceux des autres Téléostéens étudiés. Le présent travail, réalisé chez *Nerophis lumbriciformis*, est le complément à l'étude descriptive de la spermatogenèse chez ce même Poisson (Guyomarc'h, 1971). Il m'a paru important d'aborder le cycle sperma-

togénétique en relation avec l'incubation car, au début de chaque incubation, correspond une émission de spermatozoïdes.

I. — Répartition des mâles en incubation au cours d'une année.

On trouve des mâles incubants dans la nature pendant la presque totalité de l'année, en nombre variable selon les périodes considérées. Il apparaît cependant que, pendant la première période de janvier à septembre, de nombreux mâles sont en incubation, alors qu'en fin d'année, de septembre à décembre, il y en a très peu ou même pas du tout (Fig. 1). On peut distinguer deux périodes : une période de faible intensité incubatoire, courte, qui correspond à une phase de

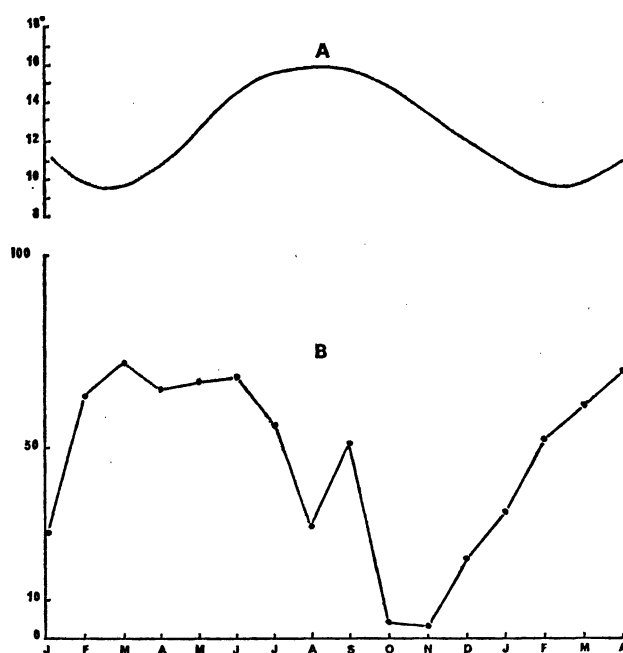


FIG. 1

Evolution de l'incubation chez *Nerophis lumbriciformis* au cours de l'année. A, variation annuelle de la température de l'eau de mer en surface à Roscoff ; B, variation du nombre de mâles en incubation au cours de l'année (en pourcentages).

repos sexuel des individus. La période de forte intensité incubatoire semble se réaliser lorsque la température de l'eau croît, alors que la période de repos se réaliserait en températures décroissantes (Fig. 1).

Au laboratoire, l'observation me confirme qu'un même mâle peut réaliser plusieurs incubations successives : ainsi, un même individu en mena à terme trois en trois mois et demi. La durée de l'incubation varie apparemment de 30 à 45 jours selon la température. A la lumière de ces faits, l'évolution spermatogénétique au cours du cycle d'incubation chez les mâles a pu être suivie en établissant la concordance avec des stades déterminés du développement embryonnaire.

II. — Évolution de l'activité spermatogénétique au cours de l'année.

L'évolution de la spermatogenèse au cours de l'année a été établie chez des mâles, incubants ou non, après détermination du nombre moyen de cellules germinales (spermatogonies et spermatocytes I) par section orthogonale de lobule une fois par mois pendant une année. Les résultats résumés dans la figure 2, sont remarquables par plusieurs points :

- le nombre de spermatogonies et de spermatocytes I reste à peu près constant pendant la période d'intense activité sexuelle, de janvier à septembre ;
- en octobre et novembre, le nombre de cellules germinales baisse considérablement pendant la période de repos sexuel ;
- en décembre, l'activité spermatogénétique augmente d'une manière intensive ; le nombre de cellules germinales par lobule est élevé jusqu'en janvier où il se stabilise ensuite ;

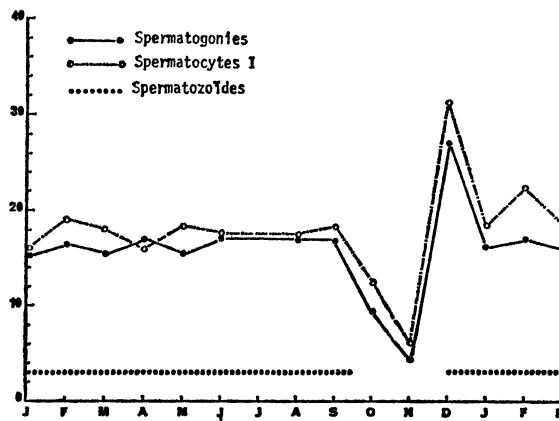


FIG. 2

Evolution de la spermatogenèse au cours de l'année. En ordonnées : nombre de cellules par coupe orthogonale de lobule.

- spermatides et spermatozoïdes sont présents dans la gonade pendant toute la période d'intense activité sexuelle. Ils sont absents pendant la période de faible activité sexuelle.

III. — Évolution de la spermatogenèse au cours d'un cycle incubatoire.

L'observation d'incubations successives laisse supposer que le cycle spermatogénétique est, sinon continu, du moins d'une périodicité rapide.

L'étude du cycle spermatogénétique a été abordée grâce au radio-marquage des cellules germinales (1). L'évolution de l'index de mar-

(1) Pour le marquage isotopique des cellules sexuelles, le précurseur utilisé est la thymidine ³H provenant du C.E.A. de Saclay. Les injections ont été réalisées par voie intrapéritonéale et de façon à ce que la dose de radio-élément par animal soit de 1 microcurie (Gude, 1968).

quage des cellules germinales, après injection de thymidine ^3H , permet de connaître la durée des différentes phases de la spermatogenèse (Planche I, 1). Les cellules radiomarquées sont, après des périodes d'évolution plus ou moins longues, repérées par les techniques autoradiographiques classiques (Pelc, 1956).

A) *Etude de l'index de marquage.*

Le cycle d'une cellule est caractérisé par une phase de synthèse, dite phase « S », pendant laquelle la thymidine ^3H est incorporée. Toutes les cellules, en phase « S » lors de l'injection, incorporent le précurseur tritié. Les cellules qui apparaîtront radiomarquées étaient donc en phase « S » au moment de l'injection ; la proportion de cellules radiomarquées, par rapport à l'ensemble des cellules d'une catégorie, représente l'index de marquage.

Cette valeur est formulée comme suit :

$$IM = \frac{A \text{ (Cellules marquées)} \times 100}{B \text{ (Cellules non marquées)} + A \text{ (Cellules marquées)}}$$

Nous avons considéré comme marquées, les cellules ayant cinq grains d'argent et plus, au-dessus de leur noyau. Cela pour éliminer l'influence du bruit de fond, qui se traduit par une dispersion des grains d'argent au-dessus d'une préparation autoradiographique d'une gonade non-marquée (deux à trois grains d'argent par noyau pour environ 20 à 30 p. 100 de cellules germinales).

Un jour après l'injection, de nombreuses spermatogonies et quelques spermatocytes au stade leptotène-bouquet seront marqués. Les spermatocytes-zygotène le seront 6 jours après l'injection et les spermatides à partir de 10 jours, 53 jours après l'injection, 55,5 p. 100 des spermatides seront marquées chez un individu. Après deux mois, aucune cellule germinale n'apparaîtra marquée ; seules quelques cellules épithéliales le seront (Tableau 1). Par ailleurs, il n'a jamais été possible d'observer de spermatozoïdes marqués.

On peut donc penser que tous les individus radiomarqués qui étaient en début de spermatogenèse au moment de l'injection ont terminé leur cycle spermatogénétique.

Les animaux n'ont jamais, au même moment, le même état sexuel. C'est donc un nombre plus ou moins important de spermatogonies, en relation avec l'intensité de la spermatogoniogenèse, qui est marqué au moment de l'injection. Le résultat montre, après des périodes d'incubation de la thymidine ^3H identiques, des variations importantes dans le pourcentage de stades marqués, recensés d'un individu à un autre (animaux n° 8 et 9) ; il serait intéressant de connaître l'état sexuel de chaque individu au moment de l'injection du traceur, mais cela est malheureusement impossible.

Cependant, deux faits importants, quant à l'établissement du cycle spermatogénétique, se dégagent de cette expérience :

— la durée de la spermatogenèse peut certainement être courte car, chez un des individus examinés, les spermatides sont marquées après 10 jours d'incubation. Dans certains cas, cependant, de nombreuses cellules germinales le sont encore deux mois après l'injection (animal n° 12) ;

— l'évolution spermatogénétique des individus n'est pas simultanée.

B) Variation de l'index mitotique au cours du cycle incubatoire.

L'inhibiteur mitotique choisi est la colcémide CIBA et la quantité injectée est de 1 microlitre par animal d'une solution à 0,025 p. 1000, diluée dans du liquide physiologique de Ringer. Les gonades ont été fixées 8 heures après l'injection.

TABLEAU 1
Evolution de l'index de marquage après injection de thymidine ^3H

Jours après l'injection du précurseur	Index de marquage					
	Animal n°	Spermatogonies	Spc I leptotène	Spc I zygotène	Spc I pachytène diplotène	Spermatides
1	1	32,5	13,2	—	—	—
3	2	28,4	26,7	—	—	—
6	3	16,1	7,1	—	—	—
	4	14,0	22,8	4,10	—	—
10	5	6,8	32,2	—	—	—
	6	5,4	18,4	—	—	100 p. 100
	7	5,0	19,5	—	—	
15	8	6,2	28,2	—	—	—
	9	54	81	36	100	19,5
30	10	1,3	—	—	—	—
45	11	5,2	33,4	—	—	—
53	12	14,7	35,9	21,7	—	55,5

L'activité mitotique d'un ensemble de cellules peut s'exprimer par le rapport du nombre de mitoses au nombre total de cellules dénombrées (Roosen-Runge et Giesel, 1950). L'index mitotique représente cette activité :

$$\text{index mitotique} = \frac{\text{nombre de mitoses (prophase + métaphase + anaphase)}}{\text{nombre de cellules (interphase + mitose)}}$$

L'étude de l'index mitotique a été réalisée dans le but de déterminer les variations de l'activité mitotique des spermatogonies au cours d'un cycle incubatoire. Nous avons appliqué cette formule globalement à l'ensemble des spermatogonies, sans discrimination de catégories.

Le nombre de spermatogonies en mitose après blocage par la colcémide a été recensé ; en effet, la durée de la mitose est courte et peu de stades sont dénombrés sans l'utilisation d'un bloqueur. Cette expérience a été réalisée en mars, c'est-à-dire à une période où les animaux présentent une forte activité spermatogénétique. La courbe de l'évolution de l'index mitotique des spermatogonies rapportée aux stades de l'embryogenèse montre (Fig. 2), pour des individus incu-

bants, une forte activité mitotique spermatogoniale en début d'incubation. L'index mitotique est minimal 20 jours après le départ de l'incubation et progresse ensuite jusqu'à la fin de l'incubation. L'intérêt de cette expérience est en définitive de montrer, pour les animaux incubants en période de forte activité reproductrice :

— d'une part, la valeur toujours relativement élevée de l'index mitotique, même pour l'activité mitotique minimale (au stade 20 jours par exemple), ce qui indique une activité mitotique spermatogoniale permanente ;

— d'autre part, la présence d'une forte activité mitotique au début de l'incubation qui coïncide avec la mise en place du stock spermatogonial, en prélude à une nouvelle spermatogenèse.

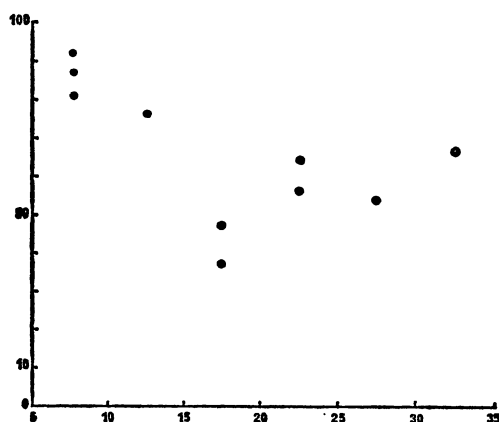


FIG. 3

Evolution de l'index mitotique des spermatogonies, en fonction du nombre de jours d'incubation, pour 10 individus.

C) La spermatogenèse.

L'évolution de la gonade de 22 mâles incubants a été étudiée de janvier à avril, après leur accouplement en aquarium. Ils ont été sacrifiés à des époques variables, depuis l'oviposition jusqu'à l'éclosion des œufs et l'état sexuel de leur gonade a été déterminé. Une étude statistique des stades spermatogénétiques rencontrés a permis d'en suivre, avec précision, l'importance relative pendant le déroulement de l'incubation (Tableau 2 ; Fig. 4).

Il est intéressant de noter, au cours d'un cycle incubatoire, la variation en épaisseur de l'épithélium germinatif des lobules. Son importance s'accroît progressivement, au début de l'incubation, pour masquer totalement les lumières lobulaires quand la production de spermatocytes est maximale. Par la suite, les lumières lobulaires s'agrandissent jusqu'à la fin du cycle, parallèlement à l'apparition des spermatides et de la spermiogenèse.

Au moment de l'accouplement, les spermatogonies sont en division ; de nombreux flots de cystes apparaissent dans la zone germinative. Leur importance est maximale dès le début de l'incubation, vers le cinquième jour. Leur nombre décroît ensuite régulièrement jusqu'au vingtième jour, alors qu'elles évoluent progressivement en spermato-

cytes. Aussi, n'y a-t-il jamais d'arrêt absolu dans la multiplication spermatogoniale au cours d'un cycle et l'intensité de la division est-elle maximale en début de cycle (Fig. 4, A).

Les spermatocytes primaires, également, sont toujours présents dans le testicule ; leur nombre est relativement très important entre les quinzième et vingtième jours de l'incubation. Les stades leptotène-bouquet et zygotène représentent toujours la majeure partie des spermatocytes présents. Leur durée de vie est probablement longue,

TABLEAU 2
Rapport (exprimé en pourcentage) des types de cellules germinales au cours de l'incubation.

Période de l'incubation	SPERMATOGONIES		SPERMATOCYTES I		SPERMATIDES		SPERMATOZOÏDES
	pourcentage mesuré par individu	moyenne	pourcentage mesuré par individu	moyenne	pourcentage mesuré par individu	moyenne	Nombre mesuré par individu
Animaux en copulation	56,0 58,0	57,0	43,8 42,0	42,9	0,5 0,5	0,5	
de 1 à 5 jours	67,4 62,0 60,5 58,8	62,1	32,6 38,0 38,5 40,6	37,4	0 0 0,8 0,8	0,1	670
de 6 à 10 jours	45,5 47,3 46,3	46,3	54,5 52,7 53,7	53,6	3,8 0,5 0,5	1,6	1.340
de 11 à 15 jours	49,9 45,4 42,1	44,1	55,1 54,6 57,1	55,6	2,9 1,0 0,8	1,23	670
de 16 à 20 jours	35,0 33,3	34,15	65,0 66,6	65,8	0 0,4	0,2	1.340
de 21 à 25 jours	49,3 48,7 46,9	48,3	50,0 44,8 51,2	48,6	4,4 1,3 1,9	2,5	1.340
de 26 à 30 jours	43,8 40,4	42,1	50,8 59,2	55,0	5,4 0,4	2,9	7.370
de 31 à 35 jours	43,7 41,2 41,3	42,0	54,5 57,2 56,5	56,0	1,8 1,6 2,2	1,8	8.050

relativement aux autres stades de la méiose, et on peut penser qu'il y a accumulation de ces deux stades dans le testicule avant la spermiogenèse, car les stades suivants : pachytène, diplotène, diacinèse et les stades de fin de mitose apparaissent de manière fugace ; leur présence indique que le spermiogenèse est imminente (Fig. 4, A). Les spermatides apparaissent pendant la presque totalité du cycle mais leur importance est toujours relativement faible. Leur présence, dans la première moitié du cycle, pourrait correspondre à l'évolution des

spermatocytes résiduels depuis la spermatogenèse précédente. Leur présence, en quantité relativement plus importante en fin de cycle, précède la formation du stock de spermatozoïdes pour le frai à venir (Fig. 4, A).

Les spermatozoïdes sont très rarement observables dans le testicule, mais sont toujours présents dans le canal déférent. Leur nombre est faible jusqu'au vingt-cinquième jour de l'incubation. Pendant les vingt premiers jours, ils sont intensément phagocytés par les cellules épithéliales. Par la suite, ils apparaissent en amas importants, regroupés autour des débris des cellules épithéliales, quelques jours avant l'éclosion des œufs (Fig. 4, B). Des comptages à l'hématimètre « Thoma » ont été réalisés dans le but de connaître avec précision le

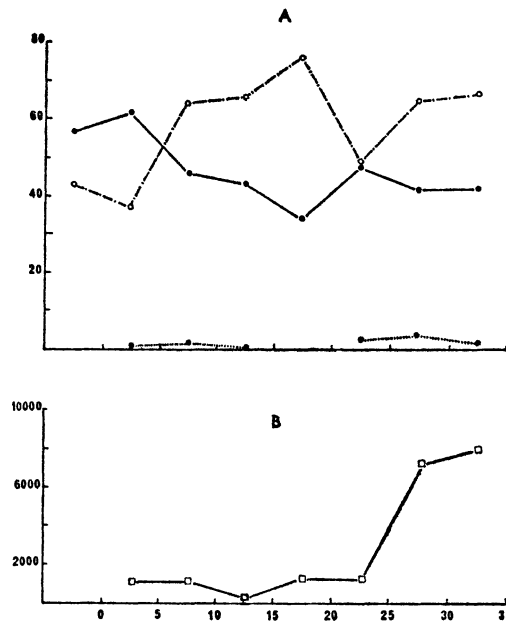


FIG. 4

Evolution de la spermatogenèse au cours d'une incubation. A : pourcentages relatifs des spermatogonies —•—, spermatocytes —○—, spermatozoïdes * * ; B : variation du nombre de spermatozoïdes dans le canal déférent. En abscisses : nombre de jours d'incubation.

nombre de spermatozoïdes dans le canal déférent, au cours des différentes phases de la spermatogenèse. Les résultats sont présentés dans le tableau 1. On observe que le nombre de spermatozoïdes présents dans le canal déférent est faible pendant la première partie de l'incubation, jusqu'à 20-25 jours ; il croît rapidement vers un maximum, vers 30 jours d'incubation, c'est-à-dire quelques jours avant l'oviposition et l'émission du sperme. Il est à remarquer que la quantité de spermatozoïdes produits (maximum 8.050 pour un animal en fin de cycle) est relativement peu importante en comparaison des quantités produites par la plupart des Téléostéens, qui est de l'ordre de plusieurs millions. Cela est très certainement en relation avec le mode de reproduction de ce Poisson.

D) *Les cellules épithéliales somatiques.*

En début d'incubation, les cellules somatiques épithéliales apparaissent, en nombre très important, dans les lumières testiculaires. Puis, après quelques jours, elles tombent dans le canal déférent ; c'est à ce moment que semble commencer la prolifération dans le canal déférent, à partir de l'assise de cellules souches, situées en bordure de la lumière. Le phénomène de phagocytose se déroule alors jusqu'aux vingtième à trentième jours d'incubation. Puis, les cellules dégénèrent sur place en laissant de nombreux débris, regroupés en amas, tandis que la prolifération à partir des parois est arrêtée. Ces débris serviront de support aux spermatozoïdes (Planche I, 2).

Les sécrétions de cellules épithéliales se manifestent sous deux aspects différents, dès le moment où ces cellules s'isolent de l'assise génératrice. Les colorations histochimiques de polysaccharides permettent, en effet, de localiser de grandes vacuoles MV2, bleu Alcian positives et de petites vacuoles mV, A.P.S. positives (Guyomarc'h, 1971).

Les microvacuoles, ou granules mV, commencent à apparaître avec les premières poussées spermatogoniales, au stade I. Ces granules s'isolent d'abord dans le testicule, dans la partie de la cellule orientée vers la lumière ; par la suite, les granules seront libérés à l'extérieur de la cellule et se regrouperont dans la lumière, en amas très chromophiles. En même temps, de nombreux granules, morphologiquement identiques et A.P.S. positifs, apparaissent au niveau des parois lobulaires, en bordure de l'épithélium séminifère et dans les parois du canal déférent bordant l'assise génératrice.

Au fur et à mesure que les cellules s'isolent à partir de la membrane basale, s'individualisent également dans la paroi, les macrovacuoles MV 2, colorables au bleu Alcian. Leur contenu vacuolaire va rejoindre, dans les espaces intercellulaires de la lumière du canal déférent, les granules A.P.S. positifs et les débris cytoplasmiques provenant des cellules en dégénérescence. Les granules A.P.S. positifs ne subsistent que peu de temps après leur sortie des cellules, alors que le contenu des grandes vacuoles MV2 est colorable par le bleu Alcian, jusqu'à l'émission des spermatozoïdes et même au-delà. Ces colorations positives signalent la présence de polysaccharides dans les cellules épithéliales, puis dans le canal déférent pendant la spermiogenèse. Les polysaccharides A.P.S. positifs sont basiques, ils correspondent probablement à du glycogène pour les granules mV. Les polysaccharides bleu Alcian positifs sont acides.

En résumé, les phénomènes sécrétoires s'observent, dans les cellules épithéliales, avant la phagocytose. Les sécrétions sont importantes au moment où la spermatogoniogenèse est active, alors que les lumières lobulaires diminuent d'importance du fait de l'extension de l'épithélium séminifère. Les sécrétions subsistent dans le canal déférent jusqu'à l'éjaculation et il est raisonnable de penser qu'elles contribuent à la formation du liquide séminal, en l'absence de vésicule séminale morphologiquement différenciée.

E) *Chronologie relative du cycle spermatogénétique.*

Quelques caractères importants de l'évolution de la gonade ont été retenus pour déterminer les stades de son évolution au cours d'un cycle incubatoire :

- la variation en importance de l'épithélium germinatif des lobules ;
- l'importance relative des ensembles de spermatogonies, spermatocytes, spermatides et des spermatozoïdes ;
- la présence des cellules épithéliales en différentes régions du tractus génital qui conditionne les variations en étendue de la lumière testiculaire et de la lumière du canal déférent ;
- l'intensité des poussées de ces cellules à partir des parois du canal déférent ;
- l'importance du phénomène phagocytaire.

Les différentes phases de la maturation des gonades ont été classées en stades théoriques, en tenant compte, non seulement des variations de l'activité testiculaire, mais aussi des variations de l'activité du canal déférent. Il convient de préciser que les dimensions des gonades, de même que celles des lobules, ne sont pas affectées apparemment par les variations qui accompagnent l'activité testiculaire.

Stade I. — Au début de l'incubation, pendant les cinq premiers jours qui suivent l'oviposition, la lumière des lobules se réduit progressivement, alors que l'épithélium germinatif se développe. Quelques îlots de spermatogonies regroupant des paquets de cystes sont en multiplication entre des groupes de spermatocytes et de rares spermatides. Les cellules épithéliales apparaissent en grand nombre et colmatent peu à peu la lumière centrale du testicule (Planche I, 3a).

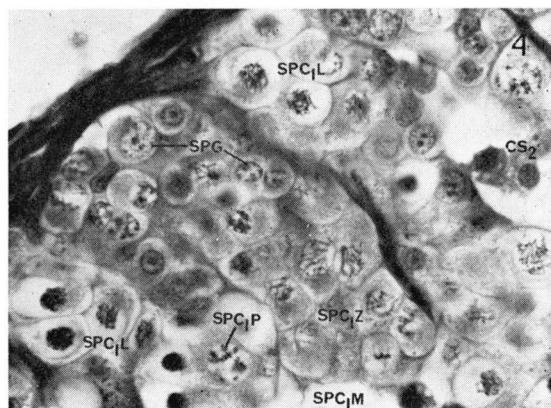
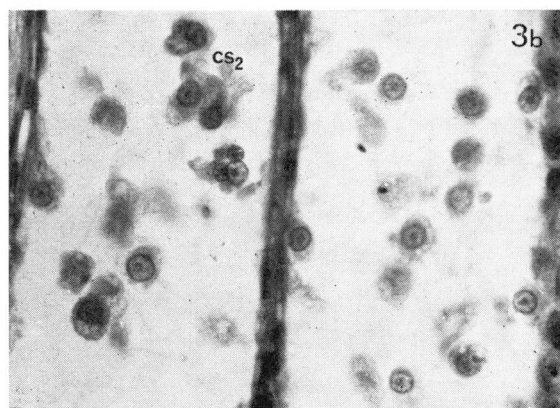
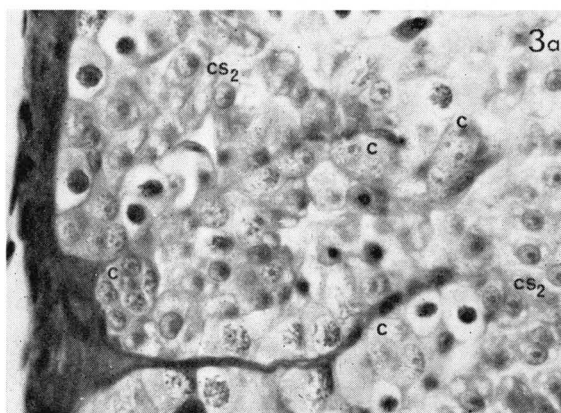
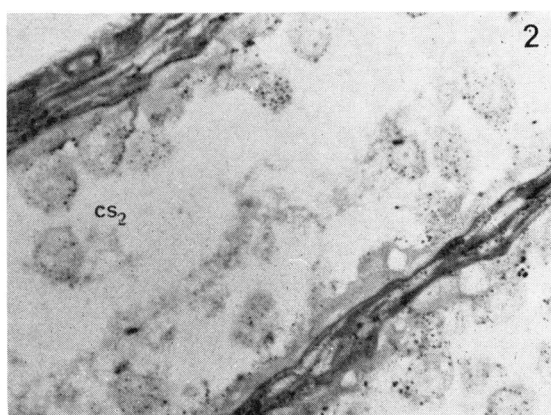
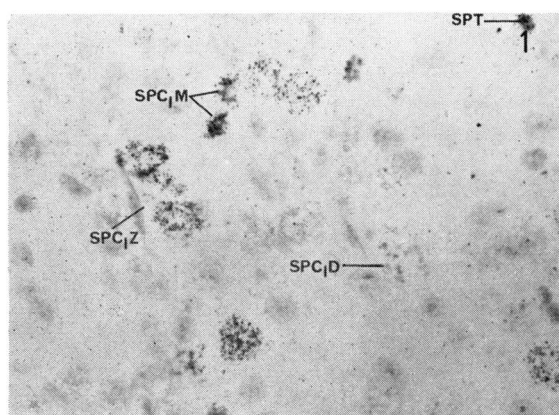
La paroi du canal déférent est mince. Seule, une assise de cellules épithéliales-souches la tapisse intérieurement. La lumière est presque vide et, seuls, quelques cellules épithéliales et quelques spermatozoïdes épars y sont présents (Planche I, 3b).

Stade II. — Après 10 à 15 jours d'incubation, l'épithélium germinatif est très étendu et masque totalement la lumière lobulaire, le nombre des spermatocytes a augmenté relativement au nombre des spermatogonies. Il y a très peu de spermatides. La lumière centrale du testicule est réduite et ne contient que de rares cellules épithéliales (Planche I, 4). Le canal déférent est entièrement colmaté par les cellules épithéliales et les parois en produisent abondamment. Le phénomène de phagocytose est très important et les spermatozoïdes présents sont tous phagocytés.

Stade III. — Du 20^e au 25^e jour d'incubation, les spermatides apparaissent en quantité relativement importante, de même que les stades pachytène, diplotène-diacinèse de la prophase méiotique et de nombreuses métaphases précédant la formation des spermatocytes II (Planche II, 1). Le canal déférent contient assez peu de cellules épithéliales entières et celles qui subsistent sont en dégénérescence. Les spermatozoïdes apparaissent groupés dans le canal déférent.

Stade IV. — Vers les 30^e à 35^e jours d'incubation, c'est-à-dire à quelques heures ou au moment même de l'éclosion, l'épithélium germinatif des lobules est étroit, la lumière est redevenue importante. Elle occupe, sur une section orthogonale d'un lobule, environ le tiers à la moitié de la surface. Elle contient quelques cellules épithéliales (Planche II, 2 a). Dans le canal déférent, subsistent quelques rares cellules épithéliales, rattachées à l'assise de cellules-souches. La lumière est occupée par des amas importants de spermatozoïdes, regroupés autour de débris des cellules épithéliales qui se sont pulvérisées au cours de leur dégénérescence (Planche II, 2b).

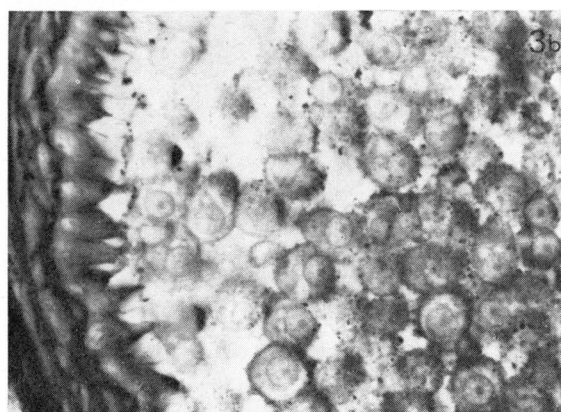
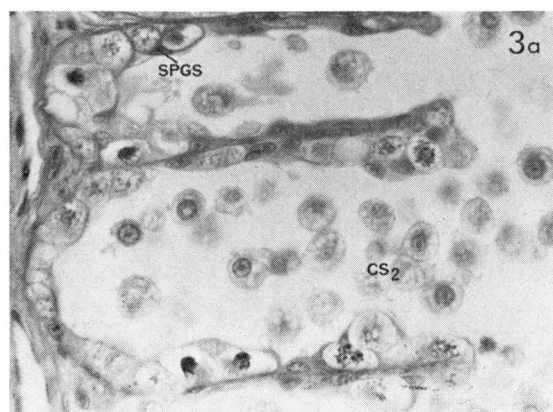
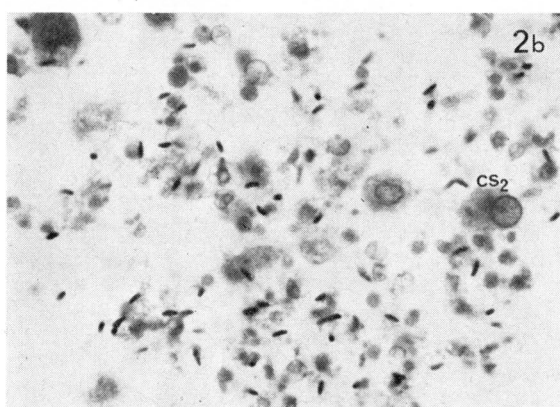
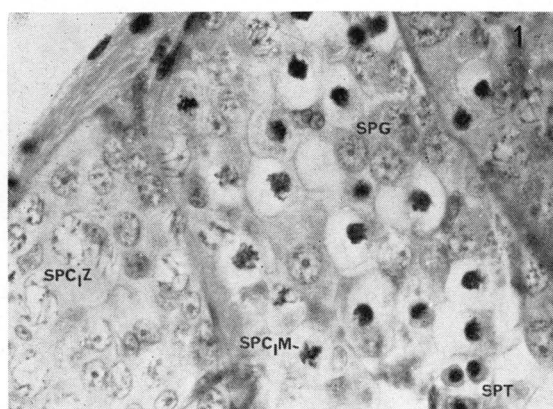
En conclusion, le cycle spermatogénétique de *Nerophis* semble donc pouvoir se réaliser au cours d'une incubation. On observe, en effet, une émission importante de spermatozoïdes dans le canal déférent, à la fin de l'incubation. Cette spermatogenèse est néanmoins



JEAN-PAUL GUYOMARC'H

PLANCHE I
Nerophis lumbriciformis

1. Autoradiographie d'un testicule ayant reçu une injection de thymidine ^3H et prélevé 10 jours après l'injection (animal n° 6).
 2. Coupe longitudinale dans le canal déférent.
 3. Spermatogenèse. Stade I, a : testicule ; b : canal déférent.
 4. Testicule au stade II.
- C : cyste de spermatogonies ; CS₂ : cellules épithéliales somatiques ; SPC₁L : spermatocyte I leptotène ; SPC₁M : spermatocyte I en division ; SPC₁P : spermatocyte I pachytène ; SPC₁Z : spermatocyte I zygotène ; SPG : spermatogonies.



JEAN-PAUL GUYOMARCH

PLANCHE II
Nerophis lumbriciformis

Spermatogenèse (suite). 1. Stade III ; 2. Stade IV, a : testicule, b : canal déférent.

3. Période de repos sexuel a : testicule au stade IV ; b : canal déférent rempli de cellules épithéliales somatiques.

CS₂ : cellules épithéliales somatiques ; SPC_IM : spermatocytes I en division ; SPC_IZ : spermatocytes I au zygotène ; SPG : spermatogonies ; SPGS : spermatogonies-souches ; SPT : spermatides.

complexe, car elle ne présente ni continuité, ni périodicité franche. Quelques faits, cependant, plaident en faveur d'un phénomène continu. Ce sont :

- la valeur toujours importante de l'index mitotique, quelle que soit la période du cycle considérée ;
- la présence, à des taux relativement importants, de spermatogonies et de spermatocytes I, pendant toute la durée de l'incubation ;
- la présence à peu près continue de spermatides et de spermatozoïdes, indiquant qu'il n'y a vraisemblablement pas d'arrêt dans la spermiogenèse.

Le seul phénomène cyclique bien marqué intéresse les cellules somatiques de la gonade. Elles apparaissent en grand nombre au cours de la première moitié du cycle spermatogénétique, sécrètent des éléments glucidiques (Tableau 3) phagocytent les spermatozoïdes présents, puis se résolvent en nombreux débris avant le frai. Par ailleurs, les variations numériques relatives des différents stades de cellules germinales indiqueraient une légère périodicité dans la spermatogenèse.

TABLEAU 3
Résultat des colorations à l'A.P.S. - bleu Alcian
effectuées aux différents stades du cycle spermatogénétique.

Stades		I	II	III	IV
Réaction de l'A.P.S.	Testicule mV intra-cellulaires	++	—	—	+
	Testicule mV extra-cellulaires	+	—	—	+
	Canal déférent mV intra-cellulaires	—	++	—	+
	Canal déférent mV extra-cellulaires	—	+	+—	+
	Parois lobulaires	+	+	+	+
Réaction du bleu Alcian	Testicule débris extra-cellulaires	+—	—	—	—
	MV2 canal déférent	abs.	+	abs.	abs.
	Canal déférent débris extra-cellulaires	+—	+	++	+

IV. — La spermatogenèse pendant la période de repos sexuel.

Cette période dure environ deux à trois mois, de septembre à décembre, et correspond à la mise au repos des testicules. Elle ne débute pas au même moment pour tous, si bien que les gonades d'animaux différents ne présentent jamais, en même temps, le même aspect. Il a cependant été possible d'établir une chronologie relative

des phénomènes qui s'y déroulent, par l'examen systématique de 46 individus. Voici, regroupés, les quelques points de l'évolution de la gonade au cours de cette période de l'année.

1. — Après la dernière incubation de l'année, et sans qu'il y ait eu de poussée goniale importante pendant cette incubation, le testicule est pauvrement pourvu en cellules germinales ; il n'y a pas de poussées spermatogoniales décelables et, seules, quelques spermatogonies éparses ou par groupes de deux ou de trois, subsistent dans la zone germinative des lobules en compagnie de quelques spermatocytes (stades leptotène et zygotène) et de rares spermatides. Les lumières lobulaires sont importantes et pleines de cellules épithéliales. L'assise de cellules-souches du canal déférent se met à produire également de grandes quantités de cellules-filles (Planche II, 3 b).

2. — La zone germinative est au même stade de développement ; elle est très réduite et la lumière, maintenant à peu près vide, occupe la plus grande partie des lobules. Les cellules épithéliales emplissent totalement le canal déférent. Elles proviennent de la prolifération sur place, à partir des parois, et aussi du testicule. Les spermatozoïdes apparaissent en nombre relativement important parmi les cellules épithéliales.

3. — Testicule et canal déférent ont exactement le même aspect ; un seul fait nouveau est intervenu : la presque totalité des cellules épithéliales phagocytent les spermatozoïdes présents dans le canal déférent.

4. — La zone germinative est réduite à une fine bandelette très étroite contenant quelques spermatogonies-souches isolées et quelques spermatocytes I (Planche II, 3a). La lumière des lobules est donc très importante et quelques cellules épithéliales y sont disséminées, de même que dans le canal déférent. Une telle gonade donne l'impression qu'elle s'est vidée entièrement, à l'exception toutefois de ses cellules-souches, épithéliales et spermatogoniales, avant de recommencer de nouveaux cycles cellulaires.

5. — Les spermatogonies-souches commencent à se diviser et de nombreux cystes, parfois regroupés en îlots, s'organisent. Les premiers spermatocytes I apparaissent également ; si bien que la lumière des lobules se réduit. Les cellules épithéliales emplissent ces lumières. De même, dans le canal déférent, l'assise de cellules-souches commence à en produire.

6. — La zone germinative est très développée et la lumière est très réduite ou absente. Le canal déférent est plein de cellules épithéliales.

7. — Le testicule est identique mais, dans le canal déférent, commencent à apparaître les spermatozoïdes, alors que les cellules épithéliales se pulvérisent en nombreux débris.

8. — On retrouve l'aspect décrit pour le stade IV chez un mâle incubant. La spermiogenèse a eu lieu. Les spermatozoïdes sont présents en amas importants dans le canal déférent et le testicule amorce une nouvelle division spermatogoniale qui annonce la spermatogenèse suivante.

Après la dernière incubation de l'année, le testicule et le canal déférent produisent de grandes quantités de cellules épithéliales dont l'activité sécrétoire est très marquée pendant la prolifération. Le processus sécrétoire de ces cellules est le même que celui décrit pendant la période de forte activité reproductrice. Cependant, l'intensité du phénomène est plus forte et sa durée semble être beaucoup plus longue. On peut noter également que les polysaccharides sécrétés au cours de cette première poussée cellulaire sont éliminés sans qu'intervienne de spermiogenèse. Le testicule et le canal déférent se vident alors de leur contenu. Au cours de cette période de très faible activité incubatoire, l'évolution de la gonade passe donc par une phase de repos caractérisée par quelques faits importants :

— la dernière poussée spermatogénétique qui précède cette période de repos avorterait et les spermatozoïdes produits, en quantité insuffisante pour assurer une fécondation, seraient phagocytés par les cellules épithéliales ;

— pendant la période de repos sexuel, la prolifération des cellules épithéliales continue, alors que la production de cellules germinales est arrêtée pour une durée indéterminée ;

— la dernière prolifération de cellules épithéliales dégénère dans le canal déférent sans que soit intervenu de phénomène phagocytaire ;

— les spermatozoïdes sont stockés dans le canal déférent pendant quelques jours (une à deux semaines) avant que ne débute la période de forte activité reproductrice, à partir de la deuxième quinzaine de décembre.

V. — Conclusions générales et discussion.

L'activité sexuelle de *Nerophis lumbriciformis* a pu être établie par l'examen systématique des gonades de mâles en incubation, par l'emploi simultané de techniques histologiques et histochimiques et de méthodes quantitatives. On peut ainsi distinguer deux périodes différentes.

1° L'activité sexuelle est intense de janvier à septembre. Elle se traduit par les faits suivants :

— *succession d'incubations* qui se répètent, avec une fréquence parfois rapide, sans période de repos. Le nombre d'incubations réalisées par chaque individu reste indéterminé, mais il est cependant acquis que l'incubation est de courte durée, en moyenne 35 jours, et qu'elle peut se reproduire, au moins trois fois, mais probablement plus sans qu'intervienne de repos sexuel ;

— *cycle spermatogénétique court*, qui peut se réaliser au cours d'une incubation et durer par conséquent le même temps ; mais l'activité sexuelle est longue et permet le déroulement de plusieurs cycles spermatogénétiques (trois en élevage). On peut en envisager un plus grand nombre, dans des conditions optimales d'élevage (lumière, température, nourriture, effets de groupe avec les femelles, etc.) ;

— *production permanente de spermatozoïdes*, traduisant une continuité certaine dans la spermatogenèse. Cependant, cette production n'est relativement importante qu'au cours des derniers jours de l'incubation ; elle suffit alors à assurer une fécondation ;

— *blocage probable au niveau de certains stades du cycle spermatogénétique (leptotène-zygotène)*. Ces stades représentent toujours une importante proportion du stock de cellules germinales, alors que les stades suivants apparaissent périodiquement, en petites quantités, ou de manière fugace. Une expérience de marquages successifs par deux radioéléments (double-marquage) serait cependant nécessaire pour le confirmer ;

— *faible production de spermatozoïdes*, du fait de la structure même de la gonade et du nombre relativement peu élevé des cellules germinales présentes. Cette production doit être certainement rattachée aux particularités de la reproduction chez ce Poisson.

2° De septembre à décembre, la spermatogenèse s'arrête ; cette période de repos sexuel est de un à deux mois. Il est difficile de définir exactement sa durée, car l'arrêt de la spermatogenèse n'intervient pas simultanément chez tous les animaux. Si bien que c'est en novembre seulement que le nombre de mâles en incubation est pratiquement nul.

On peut remarquer que la période annuelle de l'activité sexuelle

mâle de *Nerophis lumbriciformis* coïncide tout à fait avec celle de la femelle, comme le montre une étude récente de l'ovogenèse chez ce même Poisson (Lahaye, 1971). A la période de forte activité du mâle correspond, chez la femelle, une période de production d'ovocytes mûrs par vagues successives. De même, l'arrêt de la production des œufs est exactement superposable à la période de repos testiculaire.

Pendant un cycle spermatogénétique, les cellules épithéliales évoluent parallèlement aux cellules germinales. Leur évolution peut être résumée en quatre phases :

- *multiplication intense*, d'abord dans le testicule, puis dans le canal déférent ;
- *sécrétion de polysaccharides* acides et basiques ;
- *phagocytose de spermatozoïdes* dans le canal déférent ;
- *dégénérescence* : pycnose nucléaire et morcellement cytoplasmique.

En résumé, la spermatogenèse chez *Nerophis lumbriciformis* semble différer par quelques points de celle de la plupart des autres Téléostéens. La durée du cycle spermatogénétique est ici courte et ce cycle peut se répéter annuellement plusieurs fois, au cours d'une période déterminée. Par ailleurs, on peut souligner la présence de cellules épithéliales évoluant en parallèle avec les cellules germinales ; elles sont d'un type morphologique particulier, si l'on considère leur rôle nourricier et phagocytaire. Une étude en microscopie électronique précisera ultérieurement la physiologie de ces cellules.

Summary

Sexual activity in *Nerophis lumbriciformis* was studied along the year. It may be connected with distinct periods:

a/ a high-activity spermatogenetic period with repeating incubations, a continuity in spermatogonial production, an accelerated spermatogenesis, a permanent production of spermatozoon in variable quantities and according to successive waves ;

b/ a low-activity spermatogenetic period showing a resting phase in the annual cycle and characterized by a slight development of germinative epithelia and absence of spermatozoon.

Spermatogenesis seems to be continue during a great part of the year but that continuity is moderated by some variations in the production of germ cells of different types.

Zusammenfassung

Die Sexuelle Aktivität bei den Männchen der *Nerophis lumbriciformis* wird im Laufe des Jahres untersucht. Sie kann mit zwei deutlich voneinander getrennten Perioden in Zusammenhang gebracht werden.

a/ einer Periodeistarker spermatogenetischer Aktivität, die gekennzeichnet wird durch: häufig wiederholte Inkubationen, eine gewisse Stetigkeit was die Spermatogonien Produktion betrifft, eine beschleunigte Spermatogenese, wenn man die Schnelle entwicklung der Spermio-genese unterstellt, eine dauernde Spermiumproduktion von unterschiedlicher Menge und in aufeinanderfolgenden Schüben.

b/ einer periode Schwacher Spermatogenetischer Aktivität, die Ruhephase im Jahreszyklus anzeigt und die durch eine Schwache Entwicklung des Keimepithels und Abwesenheit des Spermiums charakterisiert wird.

Die Spermatogenese scheint während eines grossen Teil des Jahres ununterbrochen zu sein, aber diese Stetigkeit wird durch Variationen in der Produktion der verschiedenen Typen der Keimzellen gemässigt.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BILLARD, R., 1969a. — La spermatogenèse de *Poecilia reticula*. I. Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogenèse. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 9, pp. 951-971.
- BOISSEAU, J.-P., 1967. — Les régulations hormonales chez un Vertébré mâle. Recherches sur la reproduction de l'Hippocampe. *Thèse Doct. Sc. Nat., Fac. Sc. Bordeaux*, 374 pp.
- GHOSH, A. and KAR, A.B., 1952. — Seasonal changes in the gonads of the common indian Catfish *Heteropneustes fossilis* Bloch. *Proc. Zool. Soc. Beng.*, 5, pp. 29-50.
- GUDE, W.D., 1968. — Autoradiographic techniques. Localisation of radioisotopes in biological material. *Prentice hall Inc., Englewood Cliffs, N.J., U.S.A.*, 113 pp.
- GUYOMARC'H J.-P., 1971. — Etude préliminaire, morphologique et histologique, de l'appareil génital mâle de *Nerophis lumbriciformis* (Téléostéen, Syngnathidé). *Cah. Biol. Mar.*, 12, pp. 471-480.
- LAHAYE, J., 1971. — L'ovogenèse chez *Nerophis lumbriciformis*. Le cycle sexuel. *Cah. Biol. Mar.*, 12, pp. 239-254.
- PELC, S.R., 1956. — The stripping-film technique of autoradiography. *Internat. J. Appl. Radiobiol. Isotopes*, 1, p. 172.
- VAUPEL, J., 1929. — The spermatogenesis of *Lebistes reticulatus*, *J. Morphol.*, 47, pp. 555-585.