



Title	ETUDE MORPHOLOGIQUE SUR LE SPERMATOZOIDE ANORMAL DE TAUREAU AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE
Author(s)	KOJIMA, Yoshio; ISHIKAWA, Tsune; MIFUNE, Yoshikatsu
Citation	Japanese Journal of Veterinary Research, 17(4), 97-104
Issue Date	1969-12
DOI	https://doi.org/10.14943/jjvr.17.4.97
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/1935
Type	departmental bulletin paper
File Information	KJ00002369778.pdf



ETUDE MORPHOLOGIQUE SUR LE SPERMATOZOÏDE ANORMAL DE TAUREAU AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE

Yoshio KOJIMA^{*1}, Tsune ISHIKAWA et Yoshikatsu MIFUNE^{*2}

*Département d'Obstétrique
Faculté de Médecine Vétérinaire
Université du Hokkaido, Sapporo, Japon*

(Reçu le 12 août, 1969)

Depuis que RETZIUS avait étudié énergiquement la structure des spermatozoïdes d'animaux domestiques, beaucoup de rapports ont été publiés sur les structures normales et anormales des spermatozoïdes. Avec la généralisation de l'insémination artificielle et avec l'amélioration du microscope électronique, la structure du spermatozoïde bovin a été observée plus minutieusement que la structure des spermatozoïdes d'autres animaux. Les résultats des recherches sur la structure ultrafine du spermatozoïde bovin ont été déjà présentés par des auteurs^{7,9,11,26,30,34,36,37}) dans quelques pays. De plus, l'étude comparative^{3,21,22}) sur les structures des spermatozoïdes des mammifères a été faite et la plupart de la structure élémentaire s'était mise au jour.

En ce qui concerne la structure interne des spermatozoïdes anormaux, très peu d'études ont été publiées jusqu'à présent et il n'y a que cinq rapports: spermatozoïde bossu¹⁰) (knobbed sperm), aplasie de l'ensemble fibrillaire axial¹²) (défaut de Dag), défaut d'acrosome²) (acrosome defect), formation d'un bouton réfrigérant¹) (pouch formation) et anomalie de la mitochondrie¹⁷).

Heureusement nous avons rencontré des spermatozoïdes anormaux au cours de nos études morphologiques^{26,27}) des spermatozoïdes normaux et prématurés de taureau. Il s'agit ici des observations que nous en avons faites.

MATÉRIAUX ET MÉTHODES

Les spermatozoïdes anormaux s'étaient trouvés chez six spermes obtenus pendant la période du mois de novembre 1960 au mois de février 1961, à l'aide d'un vagin artificiel chez un taureau sain de race hollandaise que l'on utilise régulièrement pour le service au centre de l'insémination artificielle.

Adresse présente: *1 Laboratoire de Physiologie Reproductive, Faculté d'Agriculture, Université de Shizuoka, Iwata, *2 Laboratoire de Microscopie Electronique, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université du Hokkaido

La plus grande partie du rapport a été présentée à la 66^e séance de la Société Japonaise de Science Vétérinaire, le 26 août 1968 à Sapporo.

Les matériaux pour l'examen ont été remportés au laboratoire au plus vite après la récolte. Après avoir été lavés avec de l'eau, fixés dans du O_2S_4 à 2 p. 100 pendant 60 minutes, déshydratés avec le système d'alcool éthylique, les matériaux ont été inclus dans de la méthacrylate. Les coupes ultrafines ont été observées au moyen d'un microscope électronique du type JEM-4CHD sous le grossissement direct de 30.000~50.000. (Pour plus de détails sur les méthodes, voir les rapports antérieurs^{26,27}.)

RÉSULTATS OBTENUS

Anomalie de la tête observée à la coupe perpendiculaire (feuille I; figs. 1 et 2, feuille II; fig. 3)

Dans ces figures, on voit bien deux têtes qui se trouvent parallèlement l'une à l'autre enveloppées par une membrane cellulaire. Si une tête est pliée à la ligne perpendiculaire de la tête, on pourrait avoir la figure pareille, mais dans ce cas la pièce postérieure du col ne serait pas si large que celle qu'on voit dans ces photographies. Le nombre des hélix mitochondriaux et leur distribution au col et à la pièce intermédiaire montrent que ce serait composé de deux têtes. La figure postérieure de la pièce intermédiaire n'est pas observée dans cette coupe et on ne peut constater si le spermatozoïde a deux queues. A la condition pareille de grossissement, le parenchyme de la tête paraît être constitué par une substance homogène et opaque qui est comparable à celle de la tête du spermatozoïde normal. Le fourreau post-nucléaire (nuclear sheath) présente une structure bien formée, tandis que la formation de la coiffe céphalique est encore incomplète, des substances semblables à l'appareil de Golgi remplissant l'espace entre les deux têtes voisines.

Anomalie de la tête observée à la coupe transversale (feuille II; fig. 4)

Dans cette figure, on voit bien deux têtes coupées transversalement et entourées d'une membrane cellulaire. De telles observations semblent être obtenues si les anomalies qu'on voit dans les figures 1~3 où la tête pliée en double sont coupées transversalement. Dans l'espace entre les deux têtes coupées, il y a aussi des substances semblables à l'appareil de Golgi comme en cas des précédentes. Nous pensons que cette anomalie comme les précédentes pourraient être classifiées en agénésie des têtes au cours de la spermiogénèse.

Anomalie de la tête observée à la coupe para-perpendiculaire (feuille II; fig. 5)

La tête enroule en spiral son extrémité et l'ensemble fibrillaire axial s'enroule maintes fois autour de la tête.

Anomalie de la pièce intermédiaire observée à la coupe perpendiculaire (feuille II; fig. 6, feuille III; fig. 7)

Ce sont les agénésies des hélix mitochondriaux de la pièce intermédiaire et leur caractéristique est la représentation de l'ensemble fibrillaire axial sans hélix. Ces anomalies seraient causées plutôt par l'arrangement désordonné des mitochondries que par le manque de celle-ci. Le cou et l'anneau de Jansen sont visibles entre la pièce intermédiaire et la pièce principale, mais les hélix mitochondriaux ne se trouvent pas au milieu de la pièce intermédiaire, et aussi ils couvrent à plusieurs couches le cou et la partie proximale de la pièce intermédiaire. Il y a une tendance que non seulement les hélix mitochondriaux sont plus

petits et minces que les hélix normaux, mais aussi la connexion entre les mitochondries est moins relâchée.

Queue recourbée observée à la coupe para-perpendiculaire (feuille III ; fig. 8)

Nous estimons que la queue recourbée est un type des spermatozoïdes anormaux qui se trouve au microscope ordinaire comme ayant une micro-tête ou qu'elle est de spermatozoïde hypoplastique. Elle a toutes les constituants, mais la queue enroule la tête en tourbillonnant et dans les espaces se trouvent des débris et des vacuoles qui sont constitués par beaucoup de membranes. Ces débris sont très semblables à l'appareil de Golgi qui apparaît au cours de la spermatogénèse, mais la structure ultrafine de la pièce céphalique n'est pas claire dans ces conditions d'observation.

Queue recourbée observée à la coupe para-perpendiculaire (feuille IV ; figs. 9 et 10)

Dans ces deux figures on ne peut pas constater le spermatozoïde entier, mais nous pensons que les figures montrent les parties des anomalies qui s'observent au microscope ordinaire comme le spermatozoïde avec la queue recourbée. La membrane cellulaire enveloppe la pièce intermédiaire et la pièce principale, formant ainsi un envoulage. Au centre du cercle de la membrane cellulaire se trouvent des vacuoles qui montrent la structure membraneuse.

Queue recourbée observée à la coupe para-perpendiculaire (feuille V ; fig. 11)

La pièce intermédiaire constitue les trois quarts du cercle et la pièce principale s'en échappe, étant enveloppée par la membrane cellulaire. La tête ne se trouve pas au même champ.

Queue recourbée observée à la coupe transversale (feuille V ; fig. 12)

On voit bien dix coupes transversales des pièces enveloppées par la membrane cellulaire. On peut obtenir de pareilles figures, si la queue recourbée est coupée transversalement, comme on le voit dans les figures 9~11. Autant qu'on voit dans la figure 12, la disposition des fibrilles axiales est normale.

DISCUSSION

En ce qui concerne les anomalies morphologiques des spermatozoïdes d'animaux domestiques, RETZIUS les avait déjà montrées dans son rapport. L'étude morphologique des spermatozoïdes de bovins au microscope ordinaire a été faite par beaucoup d'auteurs depuis WILLIAMS & SAVAGE jusque LAGERLÖF et BLOM, et ils ont établi la classification des spermatozoïdes anormaux. De plus, BRETSCHNEIDER a montré les structures des spermatozoïdes anormaux au microscope électronique.

Parmi les anomalies qui se trouvent assez souvent dans le sperme éjaculé, le spermatozoïde avec la gouttelette protoplasmique est le plus fréquent, et beaucoup de chercheurs l'ont constaté aussi bien au microscope ordinaire^{4,5,19,20,29,35,40)} qu'au microscope électronique^{14~16,27)}. De plus, la structure interne^{13,27,42)} de la gouttelette est aussi clarifiée. Le spermatozoïde avec la gouttelette protoplasmique, considéré

comme spermatozoïde larvaire, serait un produit normal physiologique et sa structure interne fondamentale est semblable à celle du spermatozoïde normal.

D'autre part, les anomalies provenant des troubles au cours de la spermatogénèse, qui causent la stérilité et la fertilité inférieure attirent de plus en plus l'importante attention. Un exemple typique est le défaut acrosomique. Sur ce défaut, beaucoup d'auteurs avaient déjà rapporté les résultats obtenus au microscope ordinaire^{31~33,35,39)} et aussi les cas héréditairement importants^{20,25,41)}. Après avoir étudié cette anomalie à l'aide du microscope électronique, HANCOCK a fait rapport sur le bouton refrigeant trouvé dans le sperme d'un taureau stérile. BLOM & BIRCH-ANDERSEN et BANE & NICANDER ont étudié sa structure interne à la coupe ultrafine. Les derniers auteurs, qui avaient cherché l'origine de cette anomalie, ont constaté que cette anomalie s'observe déjà au stade de spermatide sphérique et qu'elle a à faire avec beaucoup de types du défaut acrosomique comme bouton refrigeant.

Dans cette étude nous n'avons pas pu trouver le défaut acrosomique, mais nous avons rencontré quelques spermes anormales dont les têtes s'étaient pliées l'une sur l'autre. Beaucoup de vacuoles, petites ou grandes, entre les deux têtes coupées ont la structure semblable tant à l'appareil de Golgi dans les cellules somatiques et qu'au cytoplasme invaginé qui s'observe à l'anomalie acrosomique de la spermatide de verrat stérile d'après BANE & NICANDER²⁾. Même si les têtes spermatiques se trouvent fortement pliées l'une sur l'autre, on peut constater à l'aide du microscope électronique la membrane cellulaire qui enveloppe toutes les têtes ou chaque tête séparément. Dans les figures ci-jointes, les têtes se sont trouvées entourées d'une même membrane cellulaire. Ce qui indiquerait la venue d'une sorte de désordre au premier stade de division cellulaire.

Ce qui nous intéresse, c'est la tête enroulée en spirale qu'on voit dans la figure 5. Au microscope ordinaire, on voit souvent le spermatozoïde à queue recourbée et parfois le spermatozoïde à tête pointue. Au microscope électronique on pourrait avoir des constatations plus nettes de cet aspect-ci.

Comme un troisième exemple, nous avons observé la structure interne nette des hélix mitochondriaux du spermatozoïde agénésique. Les anomalies de la pièce intermédiaire se sont citées^{4,16,29,35,40)} souvent dans la classification des spermatozoïdes anormaux. BLOM, ISHIKAWA et al. et SMIDT ont observé les spermatozoïdes-tire-bouchon chez des taureaux stériles. De plus, BLOM & BIRCH-ANDERSEN¹²⁾ ont rapporté l'aplasie de l'ensemble fibrillaire axial (défaut de Dag) ayant pour cause, d'après eux, la disposition héréditaire, mais dans le cas présent nous n'avons pas observé la pareille aplasie. Sur l'anomalie des hélix mitochondriaux presque rien n'a été présenté jusqu'à présent sauf le rapport de RETZIUS. Nous avons aussi obtenu dans cette étude l'aspect pareil dans la suspension des spermes prélevés

sur le même taureau. Dans beaucoup de cas, ces anomalies sont aptes à être considérées comme provenant de la décomposition ou de l'écroulement de l'ensemble fibrillaire axial par suite du déliement des hélix mitochondriaux, c'est-à-dire comme les produits artificiels au cours de la préparation des matériaux à être examinés. S'il s'agit des produits artificiels, les hélix mitochondriaux ne présenteraient pas un aspect de superposition aussi ferme que nous voyons dans les figures (figs. 6 & 7). Nous avons même constaté cette anomalie dans les suspensions spermatiques qui ont été traitées si doucement que la décomposition des spermatozoïdes est presque impossible. Par conséquent, nous pensons que les anomalies telles qu'on voit dans les figures ne sont pas dues à la production artificielle. COUBROUGH & BAKER ont fait l'observation d'un cas de l'irrégularité des hélix mitochondriaux de la pièce intermédiaire, lequel est semblable au nôtre. D'après eux, de telles anomalies de la pièce intermédiaire augmenteraient avec l'âge des animaux.

Le quatrième exemple concerne le spermatozoïde de la queue recourbée qu'on voit souvent au cours de l'examen des spermes. BLOM a constaté, chez deux taureaux stériles, que le défaut de Dag est héréditaire, alors qu'ISHIKAWA et al. ont fait l'observation de l'arrêt de spermiogénèse. Nous pensons que l'anomalie telle qu'on voit dans la figure 8 serait due au trouble au stade précoce de la spermiogénèse, parce que la structure interne du sperme anormal est semblable à l'appareil de Golgi ou à la structure du cytoplasme ordinaire. Tant qu'on voit dans cette figure, l'arrangement des hélix mitochondriaux est imparfait, tandis que celui de l'ensemble fibrillaire axial est presque normal. Puisque le parenchyme de la tête (au milieu de la figure 8) a presque la même densité que celle de la tête normale (la coupe longitudinale dans la partie gauche en haut), nous pensons que l'édification de la tête du sperme anormal est bien complète.

Les figures 9~12 montrent chacune une anomalie typique, qui se tient à la queue recourbée. Les parties inférieures de la pièce intermédiaire forment des cercles concentriques et sont enveloppées par une membrane cellulaire. Tant qu'on peut constater dans les coupes, ces spermatozoïdes anormaux ont les structures fondamentales de spermatozoïdes mûrs. Cette figure montrerait que la queue manquait d'atteindre le prolongement normal au cours de la spermatogénèse.

Nous avons discuté les anomalies qui se trouvent dans les spermes éjaculés de taureau normal, mais les causes de ces anomalies et les stades de spermatogénèse où ces anomalies prennent leur apparition nous échappent encore. Nous ne connaissons presque rien, non plus, du mécanisme ou du facteur causatif de ces anomalies spermatiques.

RÉSUMÉ

Au cours de nos investigations sur l'ultrastructure interne du spermatozoïde de taureau normal, nous avons rencontré des spermatozoïdes anormaux.

Les matériaux étaient six échantillons de spermes récoltés, pendant la période entre le mois de novembre 1960 et le mois de février 1961, d'un taureau de race hollandaise que l'on utilise régulièrement pour le service au centre de l'insémination artificielle près de Sapporo.

Les anomalies de spermatozoïdes trouvées sont les quatre suivantes :

- 1) Spermatozoïde à double tête avec une membrane cellulaire commune,
- 2) Spermatozoïde à queue recourbée entourant la tête,
- 3) Spermatozoïde à pièce intermédiaire anormale dont les hélix mitochondriaux sont hypoplastiques ou mal arrangés,
- 4) Spermatozoïde à queue recourbée et en forme de guitare.

Electron-microscopic Study of abnormal Spermatozoa of a Bull

For the purpose of morphological investigation of bull spermatozoa, some abnormalities sometimes observed at the routine examination of semen were studied electron-microscopically with ultra-thin sections.

Materials used were derived from six ejaculates collected from a healthy Holstein bull in an artificial insemination center from November, 1960 through February, 1961. The following four types of ultrastructural abnormalities were found :

- 1) Double heads spermatozoon with a common cell membrane (figs. 1~4),
- 2) Spermatozoon with a coiled tail surrounding its head (fig. 5),
- 3) Spermatozoon with an abnormal middle piece of which the mitochondrial helix was hypoplastic or of irregular arrangement (figs. 6 & 7),
- 4) Guitar-shaped spermatozoon with a coiled tail (figs. 8~12).

BIBLIOGRAPHIE

- 1) BANE, A. & NICANDER, L. (1965): *Nord. VetMed.*, **17**, 628
- 2) BANE, A. & NICANDER, L. (1966): *J. Reprod. Fert.*, **11**, 133
- 3) BISHOP, M. W. H. & WALTON, A. (1960): "Spermatogenesis and the structure of mammalian spermatozoa" Marshall's physiology of reproduction, Ed. PARKES, A. S. 3 ed., London: Longmans
- 4) BLOM, E. (1950): *Fert. & Steril.*, **1**, 223
- 5) BLOM, E. (1950): On the evaluation of bull semen with special reference to its employment for artificial insemination, Copenhagen: A/S Carl Fr. Mortensen (en danois avec sommaire en anglais)
- 6) BLOM, E. (1959): *Nature, Lond.*, **183**, 1280

- 7) BLOM, E. (1964): "Spermatic ultra-structure bovine" Sterility, Ed. WILLIAMS, W. W. 3 ed., Springfield: Editor
- 8) BLOM, E. (1966): *Nature, Lond.*, **209**, 739
- 9) BLOM, E. & BIRCH-ANDERSEN, A. (1960): *Nord. VetMed.*, **12**, 261
- 10) BLOM, E. & BIRCH-ANDERSEN, A. (1962): *Nature, Lond.*, **194**, 989
- 11) BLOM, E. & BIRCH-ANDERSEN, A. (1965): *Nord. VetMed.*, **17**, 193
- 12) BLOM, E. & BIRCH-ANDERSEN, A. (1966): The ultrastructure of a new hereditary sterilizing defect (the Dag defect) in the bull sperm tail, Excerpta Med. Int. Congr. (133) 602, Proc. of 5th Wld Congr. on Fert. & Steril., Stockholm, June 16~22
- 13) BLOOM, G. & NICANDER, L. (1961): *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, **55**, 833
- 14) BONADONNA, T. (1955): *Riv. Biol.*, **47**, 297
- 15) BONADONNA, T. & CURTO, G. M.: (1960) *Zuchthyg. FortpflStör. Besam. Haustiere*, **4**, 31
- 16) BRETSCHNEIDER, L. H. (1955): *Proc. K. ned. Akad. Wet.*, Ser. C **58**, 495
- 17) COUBROUGH, R. I. & BAKER, C. A. V. (1964): Spermatozoa: An unusual middle-piece abnormality associated with sterility in bulls, 5th Int. Congr. Anim. Reprod., 5, Sect. 4, 219
- 18) HANCOCK, J. L. (1953): *J. exp. Biol.*, **30**, 50
- 19) HANCOCK, J. L. (1955): *Vet. Rec.*, **67**, 825
- 20) HANCOCK, J. L. (1959): *Int. J. Fert.*, **4**, 347
- 21) HANCOCK, J. L. (1966): "The ultra-structure of mammalian spermatozoa" Advances in reproductive physiology, Ed. McLAREN, A., London: Logos Press
- 22) FAWCETT, D. W. (1958): *Int. Rev. Cytol.*, **7**, 195
- 23) ISHIKAWA, T., KOJIMA, Y., TIBA, T., KAWATA, K., KANAGAWA, H. & SATO, K. (1964): *Jap. J. vet. Res.*, **12**, 13
- 24) KARRAS, W. (1965): *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, **78**, 402
- 25) KARRAS, W. (1966): *Ibid.*, **79**, 312
- 26) KOJIMA, Y. (1966): *Jap. J. vet. Res.*, **14**, 1
- 27) KOJIMA, Y. & ISHIKAWA, T. (1963): *Ibid.*, **11**, 152
- 28) KOJIMA, Y. & ISHIKAWA, T.: (données non publiées)
- 29) LAGERLÖF, N. (1936): *Vet. Rec.*, **48**, 1159
- 30) NICANDER, L. & BANE, A. (1962): *Int. J. Fert.*, **7**, 339
- 31) ONUMA, H. (1963): *Bull. natn. Inst. Anim. Ind.*, (3) 105 (en japonais avec sommaire en anglais)
- 32) ONUMA, H. (1964): *Jap. J. Anim. Reprod.*, **9**, 127 (en japonais)
- 33) ONUMA, H. & OTSUKI, K. (1966): *Ibid.*, **12**, 95 (en japonais avec sommaire en anglais)
- 34) RAHLMAN, D. F. (1961): *J. Dairy Sci.*, **44**, 915
- 35) RETZIUS, G. (1909): *Biol. Unters.*, **14**, 163
- 36) SAACKKE, R. G. & ALMQUIST, J. O. (1964): *Am. J. Anat.*, **115**, 143
- 37) SAACKKE, R. G. & ALMQUIST, J. O. (1964): *Ibid.*, **115**, 163
- 38) SMIDT, W. J. (1965): *Tijdschr. Diergeneesk.*, **23**, 1613
- 39) TIBA, T. (1964): *Jap. J. vet. Res.*, **12**, 25

- 40) WILLIAMS, W. W. & SAVAGE, A. (1925): *Cornell Vet.*, **15**, 353
- 41) WOHLFARTH, E. (1961): *Zuchthyg. FortpflStör. Besam. Haustiere*, **5**, 268
- 42) WU, S. H. & NEWSTEAD, J. D. (1966): *J. Anim. Sci.*, **25**, 1186

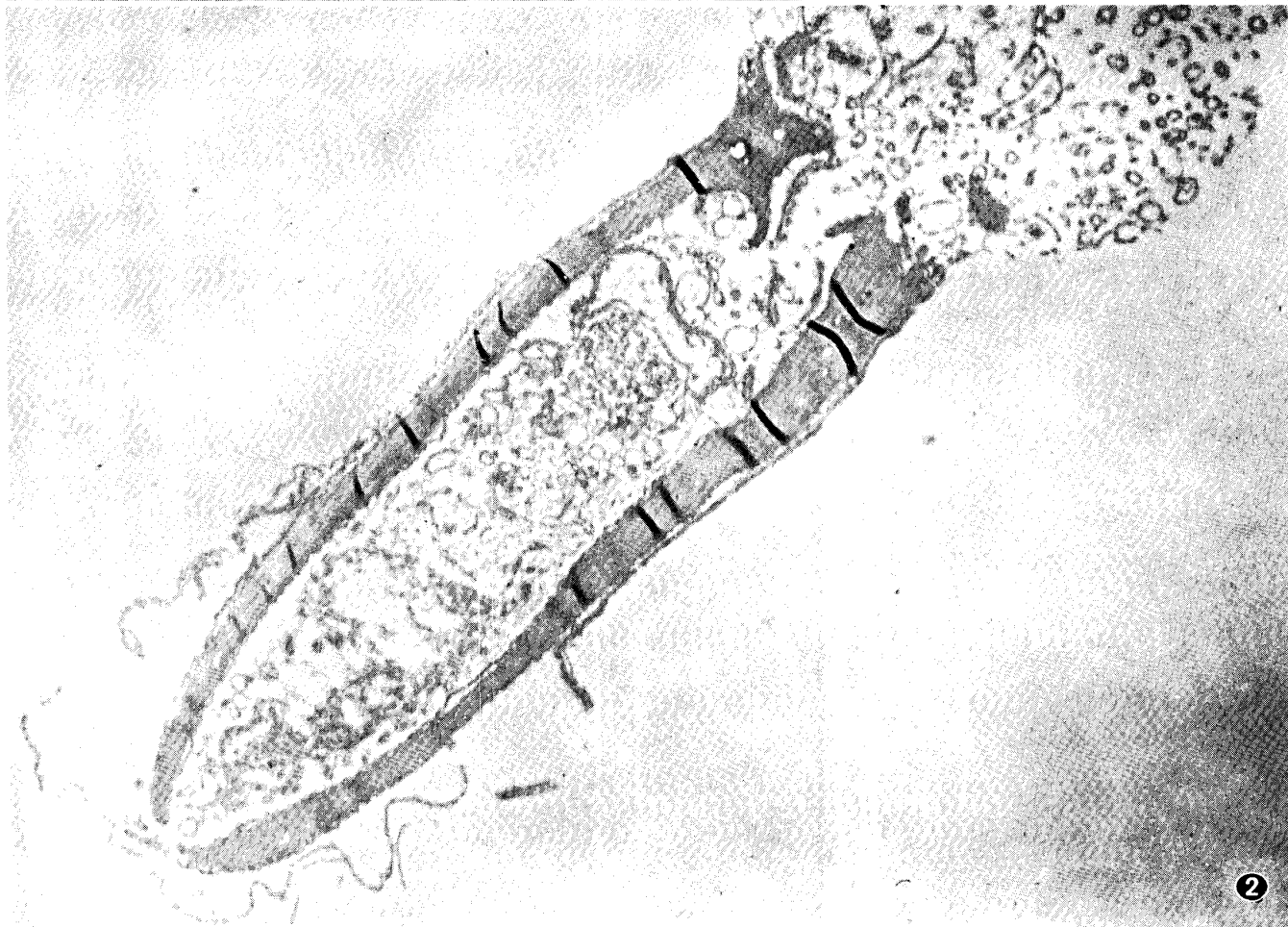
EXPLICATIONS DES FEUILLES

Toutes les figures étaient prises sous le grossissement de 15.000.

FEUILLE I

Figs. 1 et 2

Spermatozoïde à double tête avec une membrane cellulaire commune



FEUILLE II

Figs. 3 et 4

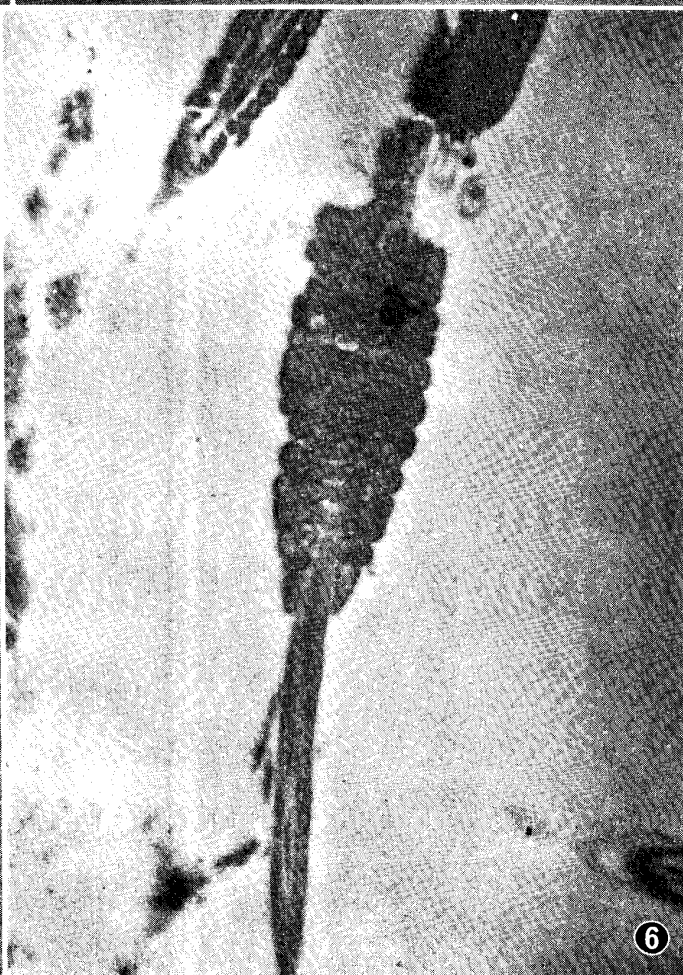
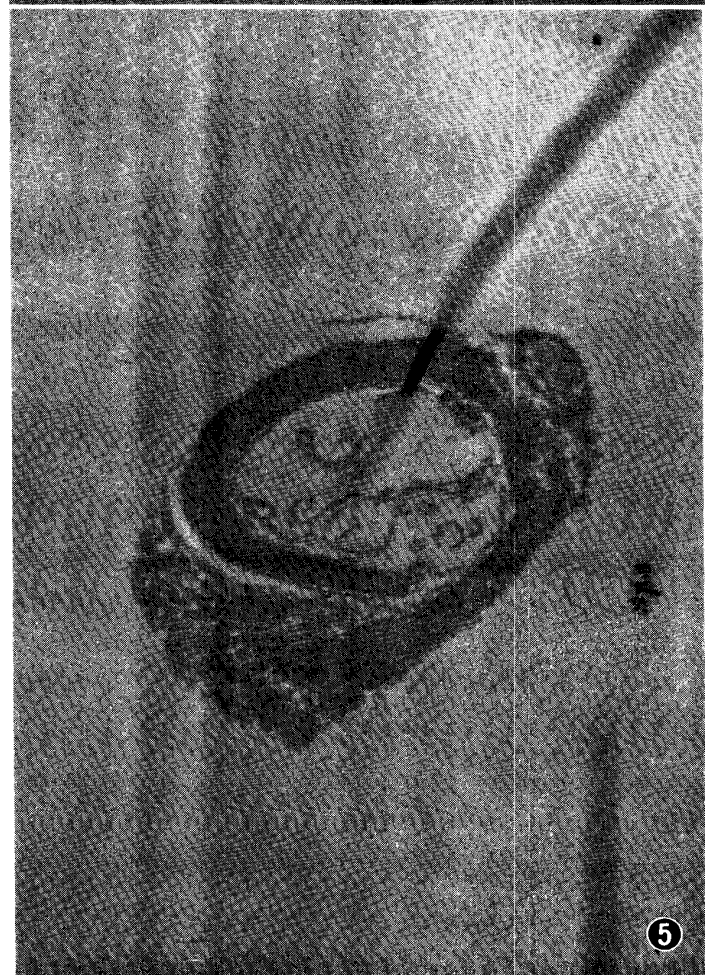
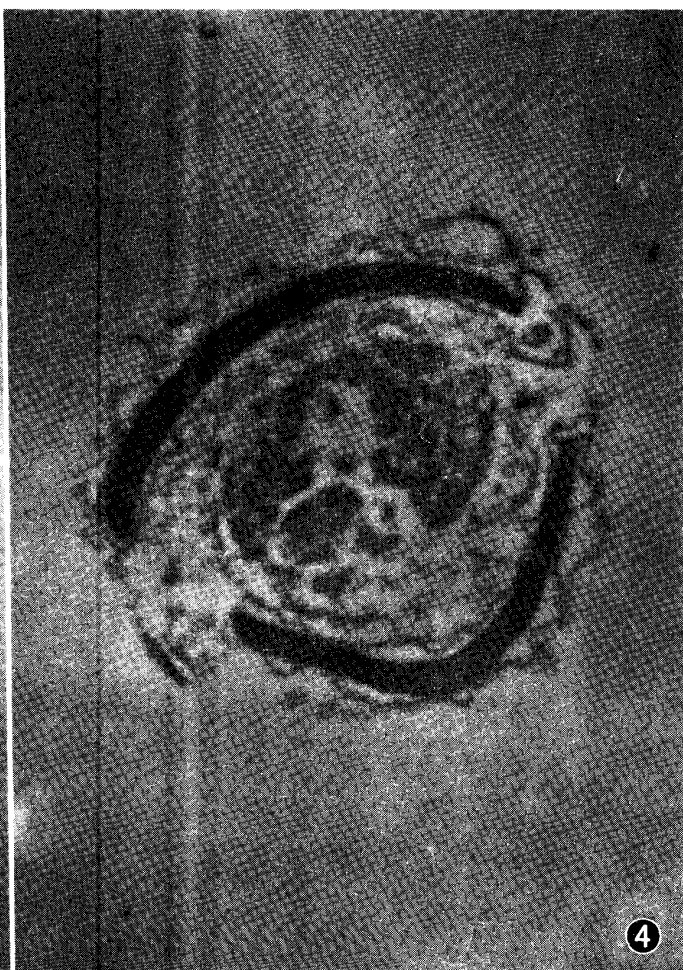
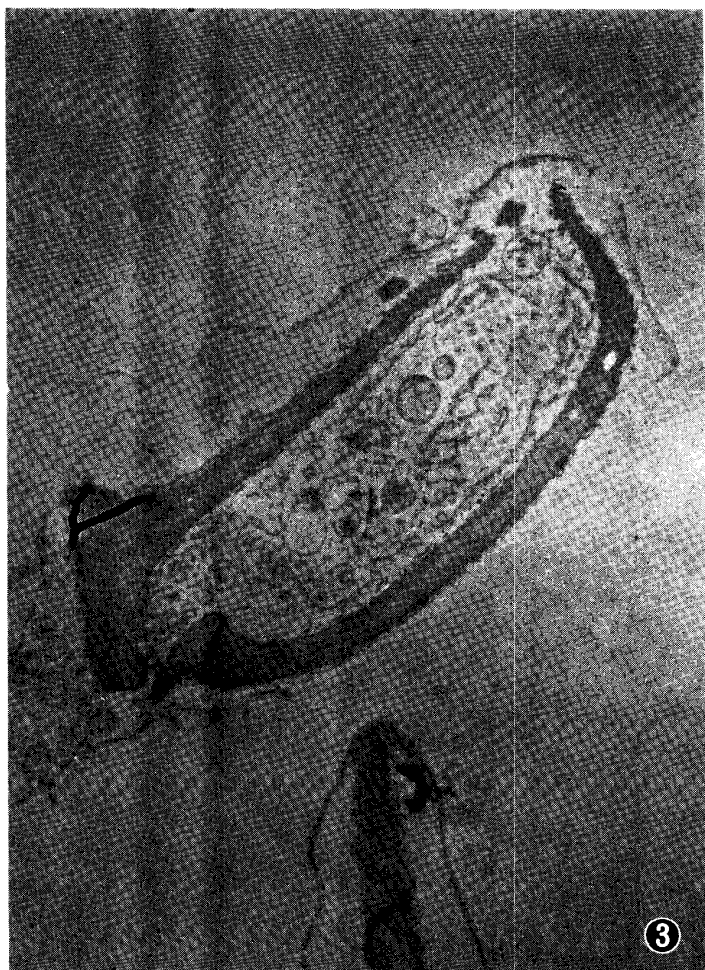
Spermatozoïde à double tête avec une membrane cellulaire commune

Fig. 5

Spermatozoïde à queue recourbée entourant la tête

Fig. 6

Spermatozoïde à pièce intermédiaire anormale dont les hélix mitochondriaux sont hypoplastiques ou mal arrangés



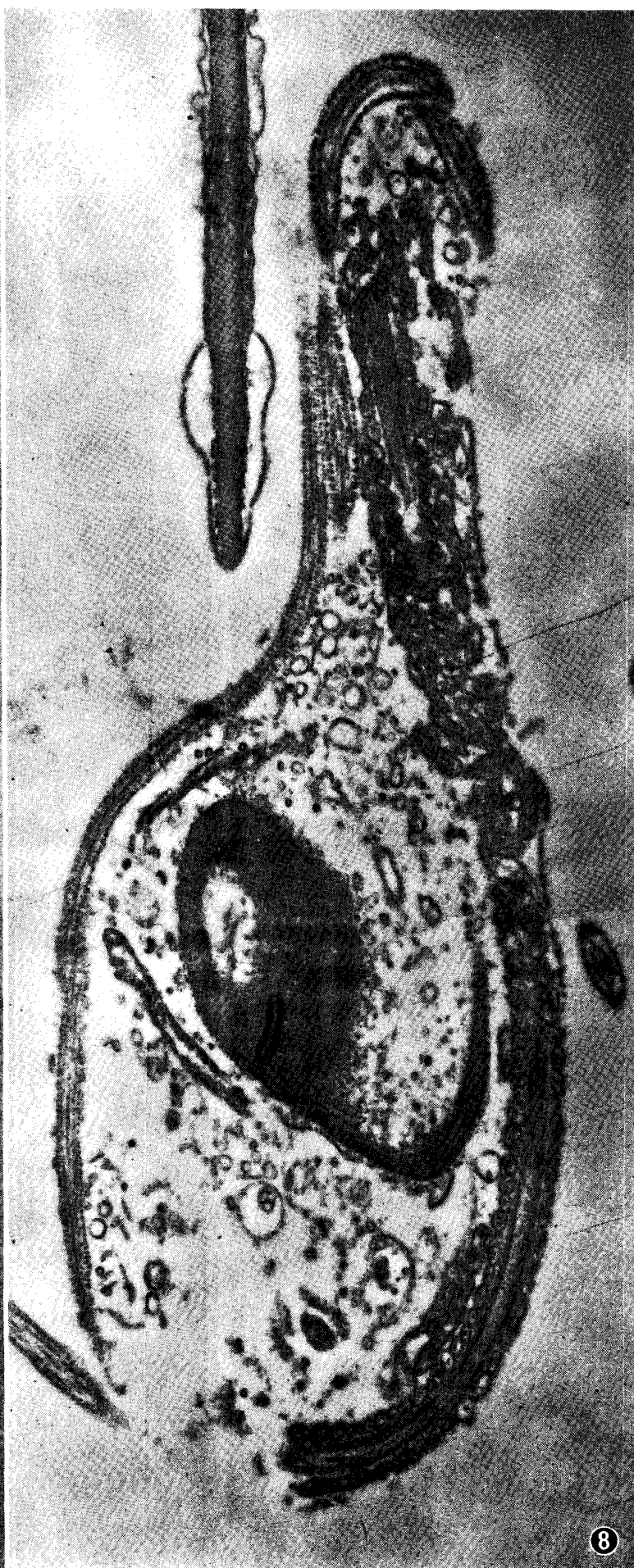
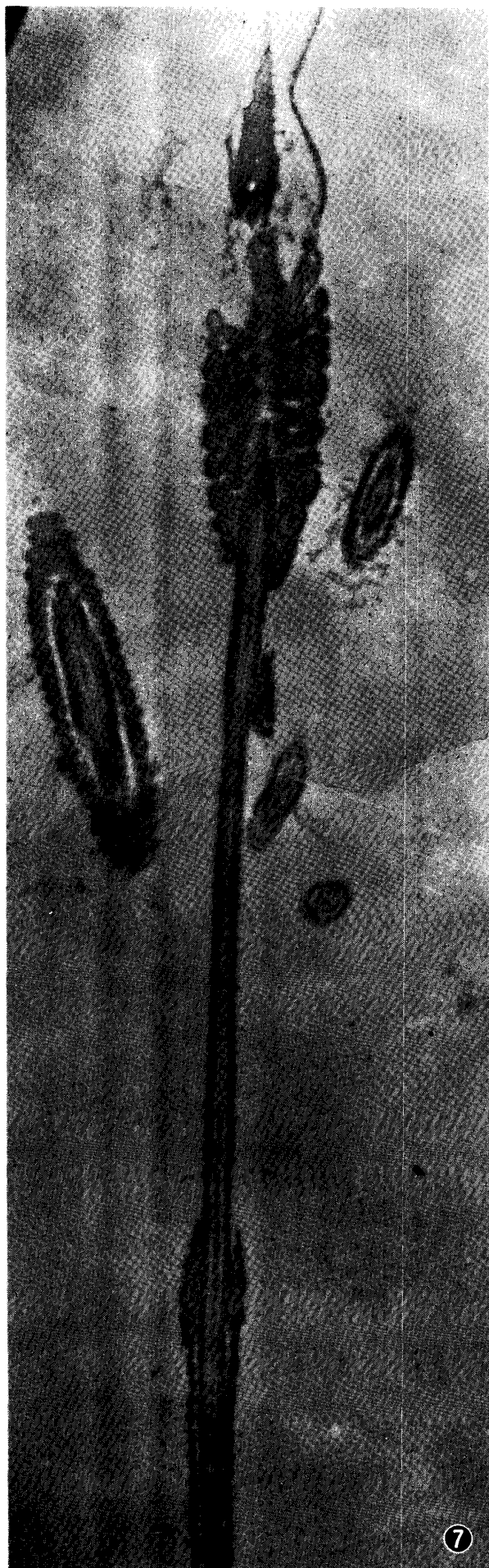
FEUILLE III

Fig. 7

Spermatozoïde à pièce intermédiaire anormale dont les hélix mitochondriaux sont hypoplastiques ou mal arrangés

Fig. 8

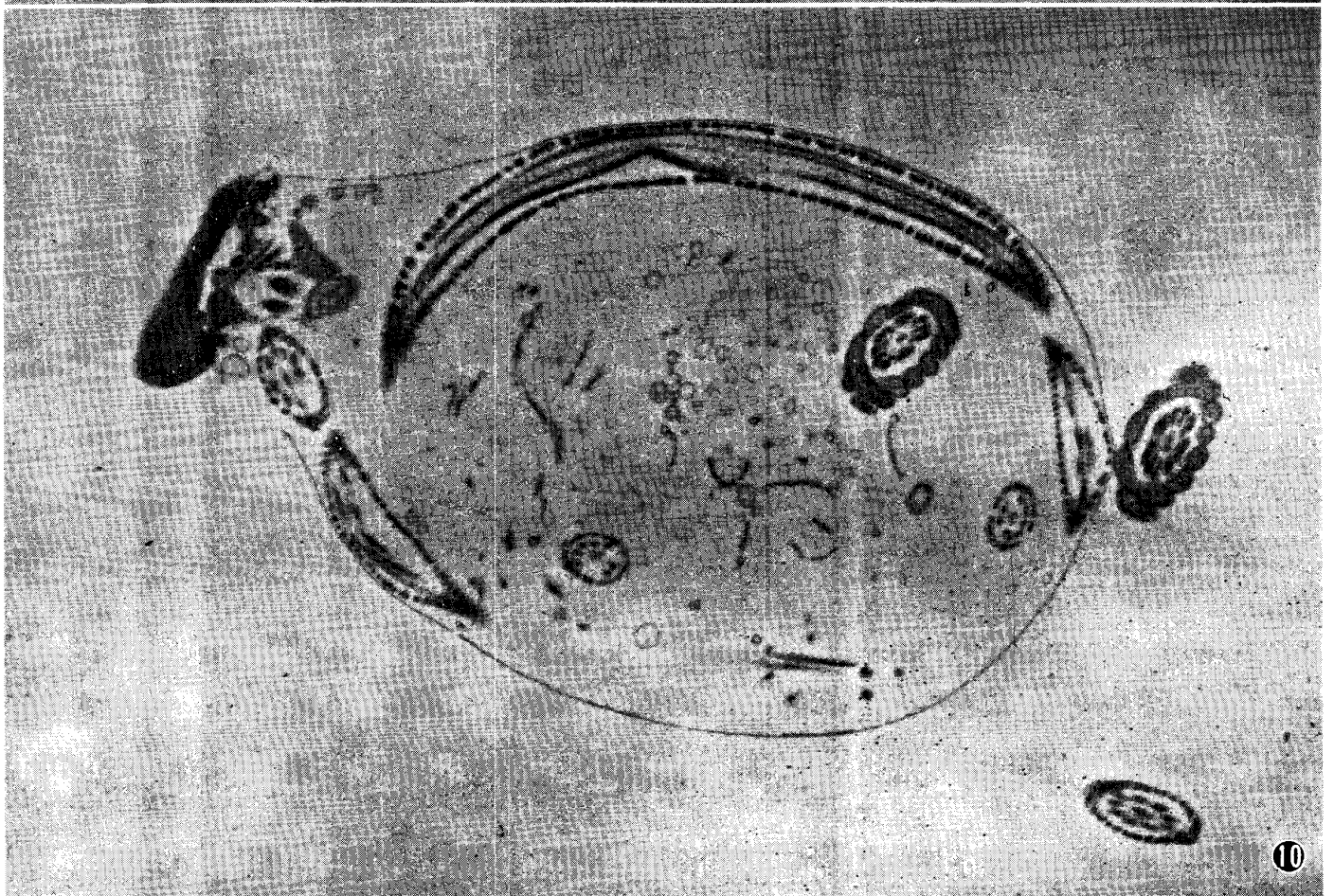
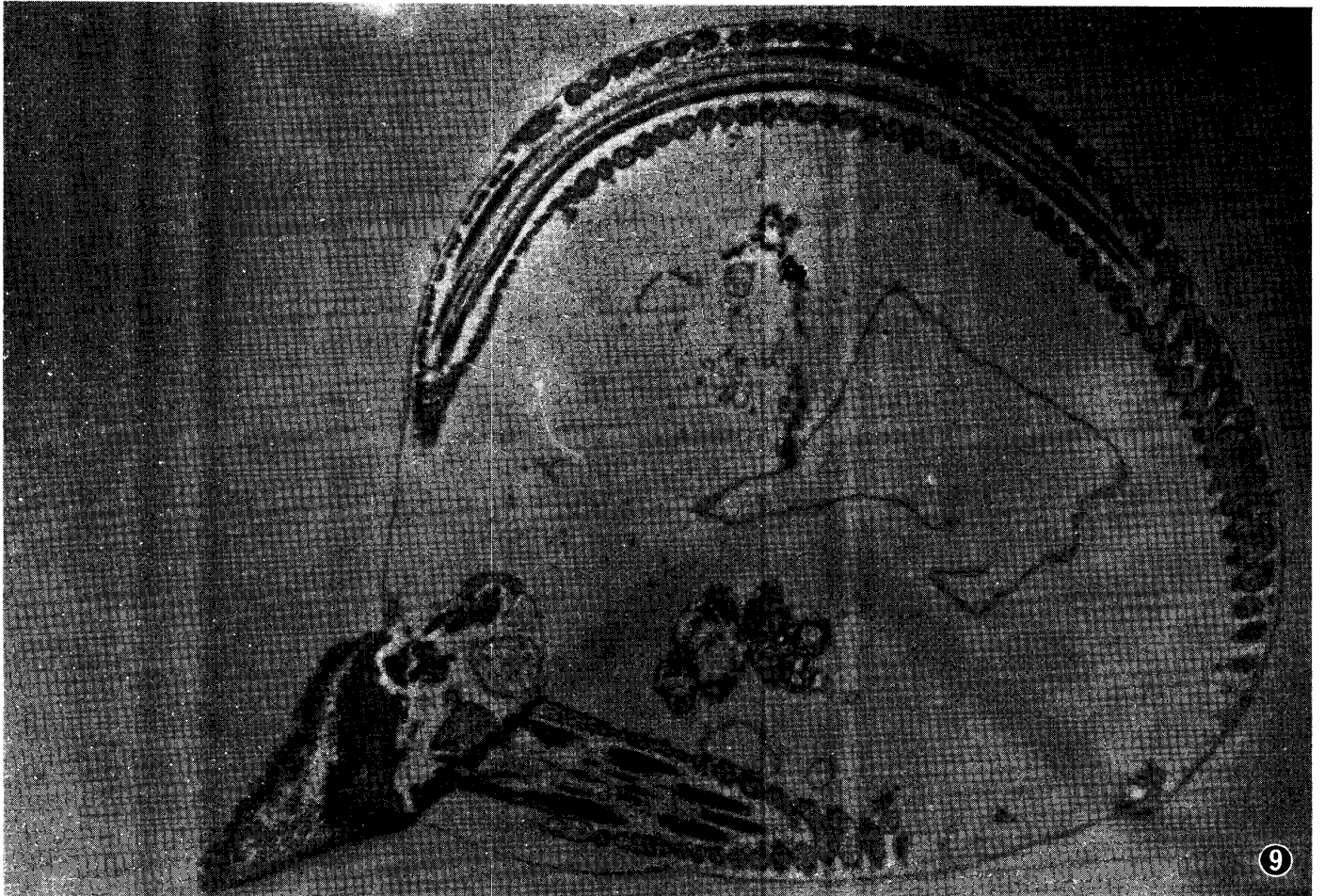
Spermatozoïde à queue recourbée et en forme de guitare



FEUILLE IV

Figs. 9 et 10

Spermatozoïde à queue recourbée



FEUILLE V

Figs. 11 et 12

Spermatozoïde à queue recourbée

