

LES CHROMOSOMES MÉIOTIQUES DU BŒUF (*BOS TAURUS* L.) (*)

C.P. POPESCU

Laboratoire de Génétique factorielle,
Centre national de Recherches zootechniques, I.N.R.A.,
78 - Jouy-en-Josas

RÉSUMÉ

L'étude porte sur le comportement des chromosomes durant les différentes étapes de la spermatogenèse du taureau. Deux types principaux de spermatogonies ont été mis en évidence ainsi que les types de divisions correspondants. On a remarqué l'existence d'un pourcentage relativement important de spermatogonies hyperdiploïdes. Les stades méiotiques suivent le déroulement normalement rencontré chez les autres Mammifères. Les chromosomes acrocentriques du taureau présentent, au stade diplotène et à la diacinèse, tous les types connus de chiasmas. La liaison bout-à-bout des chromosomes sexuels a été généralement observée à la diacinèse. On a cependant remarqué dans certaines cellules, un mode d'association différent. La morphologie de la vésicule sexuelle et le comportement du bivalent sexuel sont amplement discutés.

INTRODUCTION

La première numération correcte des chromosomes de *Bos taurus* L. est due à KRALLINGER (1931) qui, en utilisant le fixateur BOUIN-ALLEN et la méthode des coupes histologiques, trouve le nombre de 60 chromosomes. Du fait du nombre relativement important et de la grande similitude morphologique des chromosomes de cette espèce, toutes les recherches antérieures aboutissaient à des résultats contradictoires et ne gardent plus aujourd'hui qu'une valeur historique. Malgré le chiffre exact qu'il obtient pour le nombre de chromosomes, KRALLINGER n'a pu identifier que le chromosome X des bovins; il supposait l'existence chez cette espèce d'un déterminisme sexuel de type XO-XX. MAKINO (1944), étudiant

(*) Cet article fait partie d'une thèse de Doctorat d'État présentée à l'Université de Paris, centre d'Orsay.

les chromosomes méiotiques en coupes histologiques, identifie le chromosome Y et donne la première description du bivalent sexuel du bœuf, sans toutefois pouvoir apporter des détails sur la morphologie des hétérochromosomes.

Les nouvelles techniques acquises dans la cytogénétique humaine au début des années cinquante ont été appliquées progressivement dans les études des chromosomes des bovidés. MELANDER et KNUDSEN (1953) introduisent la technique de l'écrasement (« squash ») dans une étude des chromosomes méiotiques et POSTIGLIONI-GRIMALDI (1956) applique, pour la première fois chez le bœuf, le traitement hypotonique des cellules en division.

Plusieurs auteurs ont traité depuis de l'aspect normal des chromosomes méiotiques du bœuf; quelques anomalies ont même été décelées.

L'étude des chromosomes méiotiques chez les bovins s'avère importante aussi bien du point de vue théorique que pratique. De nombreuses anomalies chromosomiques peuvent être présentes dans la lignée germinale et toute modification structurale des chromosomes somatiques devrait être vérifiée dans les chromosomes méiotiques pour la certitude de l'interprétation (C.E. FORD, 1969).

Chez l'homme, les connaissances sur le comportement des chromosomes méiotiques sont beaucoup plus avancées et un bon nombre d'anomalies de la méiose se sont trouvées liées à des troubles de la fertilité masculine.

En ce qui concerne les animaux domestiques, et plus particulièrement les bovins, les études des aspects normaux et pathologiques sont d'autant plus nécessaires aujourd'hui que par l'insémination artificielle, une anomalie risque d'être transmise à un grand nombre de descendants.

Nous avons entrepris l'étude des chromosomes méiotiques du bœuf afin de mieux comprendre leur comportement pendant les différentes phases de la méiose et d'établir leurs paramètres normaux pour avoir un étalon indispensable à l'étude des anomalies.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'étude porte sur 6 taureaux de la race frisonne âgés de 2,5 mois à 2 ans, phénotypiquement normaux et ayant une fertilité normale. Les préparations ont été réalisées à partir de fragments testiculaires prélevés quelques minutes après la mort des animaux, selon la technique d'EVANS *et al.* (1964).

Les fragments de testicule ont été délacérés à l'aide des aiguilles et des pinces et soumis au traitement hypotonique dans une solution 0,85 % de citrate de Na. Après une fixation prolongée (fixateur Carnoy) les préparations ont été séchées à l'air, hydrolisées et colorées au Giemsa. Les observations au microscope ont été faites en lumière directe ou en contraste de phase et le nombre le plus grand possible de cellules de tous les stades ont été photographiés à l'immersion.

RÉSULTATS

1. — *Les stades préméiotiques*

Chez le taureau, comme chez la plupart des mammifères, on trouve plusieurs types de cellules spermatogoniales. Un premier type, les spermatogonies A, est non différencié, avec très peu de chromatine dispersée dans le noyau, d'où

le nom de spermatogonies « poussiéreuses » (CLERMONT, 1966). Les spermatogonies B, au contraire, riches en chromatine, celle-ci ayant la forme de « croutelles », sont appelées « spermatogonies croutelleuses ». Un troisième type, les « spermatogonies intermédiaires », selon l'aspect et la quantité de leur chromatine, se situent entre les deux types précédents.

Les spermatogonies A subissent des divisions mitotiques et produisent d'une

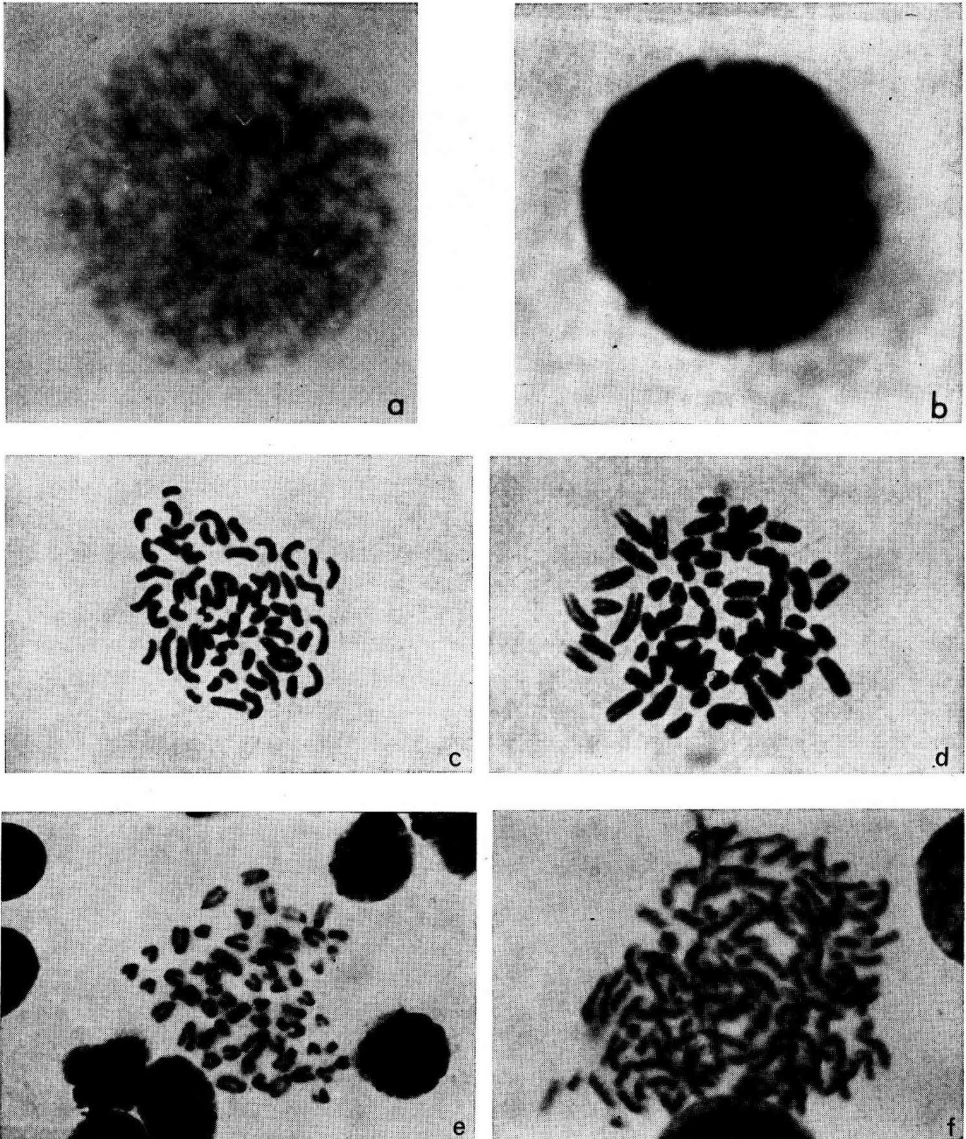


FIG. 1. — Chromosomes des spermatogonies. a) Spermatogonie A ; b) Spermatogonie B ; c) Métaphase spermatogonale A ; d) Métaphase spermatogonale B ; e) Métaphase spermatogonale A, noter l'état hétérochromatique des régions centromériques ; f) Métaphase spermatogonale polypléide.

part des spermatogonies A « souche » et, d'autre part, des spermatogonies intermédiaires. Ces dernières donnent naissance à des spermatogonies B. Celles-ci vont produire, toujours par divisions mitotiques, les spermatocytes primaires qui iront subir la méiose. Ce mécanisme assure une réserve de spermatogonies A « souche » et, en même temps, le matériel nécessaire au processus de spermatogénèse.

KNUDSEN (1953) est le premier qui ait mis en évidence l'existence des spermatogonies B chez le taureau, confirmée depuis par POSTIGLIONI-GRIMALDI (1957), BATTAGLIA et CENNI (1959) et ORTAVANT (1959).

Dans nos préparations, nous avons observé les deux types de spermatogonies A et B (fig. 1 à 6), ainsi que deux types différents de divisions spermatogoniales : des plaques métaphasiques contiennent des chromosomes aisément identifiables, déspiralisés, sans structure chromomérique visible (fig. 1c) pourraient être considérées comme des spermatogonies A; d'autres cellules avec des chromosomes plus contractés peuvent être identifiées à des spermatogonies B (fig. 1d). Dans le premier cas, les chromosomes présentent souvent des zones à hétérochromatie positive situées dans la région du centromère (fig. 1e).

Toutefois, nous avons noté la présence de plusieurs images de divisions spermatogoniales représentant des métaphases avancés et il serait difficile de les attribuer à un certain type de spermatogonies.

Le nombre de chromosomes dans les images de divisions spermatogoniales étudiées a été, dans la plupart des cas, le nombre modal de 60. Nous avons trouvé un nombre réduit de cellules spermatogoniales hypodiploïdes dues probablement à des fautes techniques. On note toutefois la présence de métaphases spermatogoniales à un nombre hyperdiploïde de chromosomes (tabl. 1), tétraploïdes en majorité (fig. 1f).

TABLEAU I

La fréquence des métaphases spermatogoniales normales et hyperdiploïdes chez 4 animaux âgés de 4 à 18 mois

Exemplaire	Age en mois	Métaphases spermatogoniales normales (60 chr).	Mét. spermat. hyper-diploïdes
1	3	5	—
2	3	44	2
3	4	15	2
4	18	29	3
TOTAL		93	7 (7,5 %)

Les chromosomes métaphasiques des spermatogonies sont aisément identifiables et peuvent être arrangés en caryotype. L'unique critère utilisable pour la constitution du caryotype serait, comme pour les chromosomes des cellules somatiques bovines, leur taille décroissante.

Chez l'homme, SASAKI et MAKINO (1965) ont remarqué un état hétérotypique du chromosome Y dans les divisions spermatogoniales, infirmé par les études ultérieures de LUCIANI (1970). Dans les divisions spermatogoniales étudiées, nous avons toujours trouvé les chromosomes sexuels dans le même état de coloration que les autosomes.

2. — *Les spermatocytes primaires*

Les spermatocytes primaires interphasiques du taureau présentent, contrairement à la majorité des mammifères, des chromosomes très contractés. Peu avant le début de la prophase méiotique, les chromatides se relaxent, la spiralisation décroît et les chromosomes prennent l'aspect filiforme leptoténique.

MELANDER et KNUDSEN (1953) et KNUDSEN et BRYNE (1960), utilisant la technique des « squash » et les coupes histologiques, trouvent une disposition en « bouquet » des chromosomes leptoténiques. Cet état de polarisation faciliterait, selon SWANSON (1957), l'appariement des chromosomes homologues dans le stade suivant. Nous avons rarement observé cette disposition qui pourrait être troublée par l'effet du traitement hypotonique. La plus grande partie des cellules leptoténiques présentaient des chromosomes répandus au hasard, filamenteux, avec des contours flous et une faible affinité pour le colorant (fig. 2a). Dès les stades leptoténiques les plus précoces, les chromosomes sexuels ont un caractère hétéro-

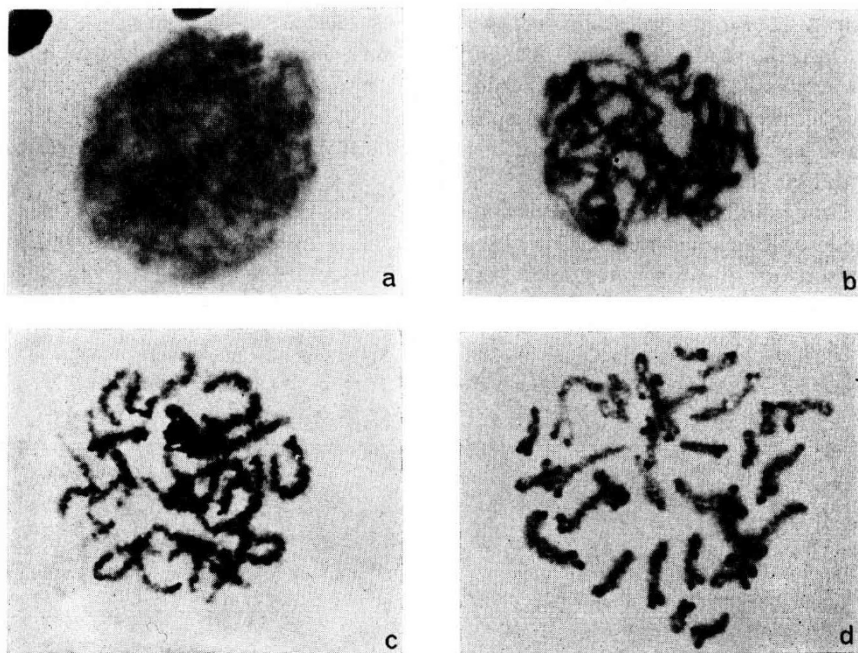


FIG. 2. — Stades méiotiques. a) Leptotène. b) Zygotène. c) Pachytène; noter la présence de la vésicule sexuelle et son état hétérochromatique. d) Pachytène tardif.

pyncotique se présentant sous la forme d'un corpuscule situé presque toujours à la périphérie du noyau (fig. 2a, b). Ils constituent d'ailleurs les seuls chromosomes identifiables au leptotène.

Au stade zygotène les chromosomes sont plus contractés, avec des contours plus nets et une colorabilité plus marquée qu'au stade précédent. Le synapsis est accompli et on peut observer, dans certaines cellules, la double structure des bivalents et la disposition juxtaposée des chromomères. Les chromosomes sexuels sont toujours à l'intérieur de la vésicule sexuelle qui garde son caractère hétérochromatique (fig. 2b). Le stade pachytène semble avoir une durée assez longue, vu la fréquence des cellules pachyténiques par rapport aux autres stades de la méiose. Les chromosomes sont complètement appariés et la structure double des bivalents n'est plus visible. Dans les phases précoces, les bivalents ont un aspect plumeux avec une zone hétérochromatique dans la région du centromère (fig. 2c). Dans une phase plus avancée, les régions centromériques commencent à s'écarter et les centromères deviennent intensément hétérochromatiques (fig. 2d). La séparation entre les deux chromosomes de chaque bivalent avance et marque le passage au diplotène.

Les cellules pachyténiques précoces ne se prêtent pas à l'obtention des caryotypes mais, dans les phases tardives, nous avons pu cependant dresser les caryotypes de plusieurs cellules. Le nombre des bivalents a été toujours de 30. Parmi une centaine de cellules pachyténiques étudiées, nous n'en avons rencontré qu'une seule aberrante à $2n$ bivalents.

Pendant le pachytène précoce la vésicule sexuelle est visible mais elle disparaît à la fin de ce stade.

Dans le stade diplotène les chromosomes homologues de chaque bivalent sont écartés et restent attachés uniquement par les chiasmas. Le bivalent sexuel est devenu visible grâce à la disparition de la vésicule sexuelle. Son caractère hétérochromatique et sa liaison typique bout-à-bout le rendent parfaitement reconnaissable.

Une cellule au diplotène dont nous avons pu réaliser le caryotype (fig. 3a, b) possède 62 chiasmas répartis par bivalent comme suit (tabl. 2). Dans ce chiffre, la liaison des chromosomes sexuels n'a pas été comptée et l'on a remarqué deux chiasmas unilatéraux dans les plus petits autosomes.

TABLEAU 2

La répartition par bivalents des chiasmas dans une cellule au diplotène

Bivalents à 1 chiasmata	7
Bivalents à 2 chiasmas	14
Bivalents à 3 chiasmas	6
Bivalents à 4 chiasmas	1
Bivalents à 5 chiasmas	1

La fréquence de cellules au stade du biplotène est très faible; malgré ce nombre réduit, on remarque la présence de quelques cellules à $2n$ bivalents (fig. 3e).

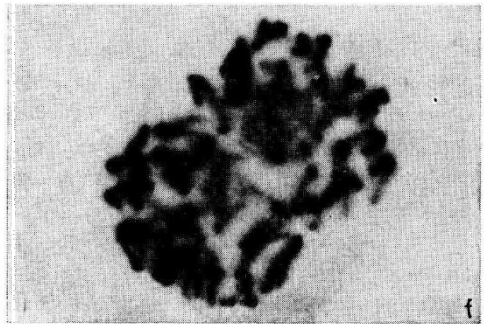
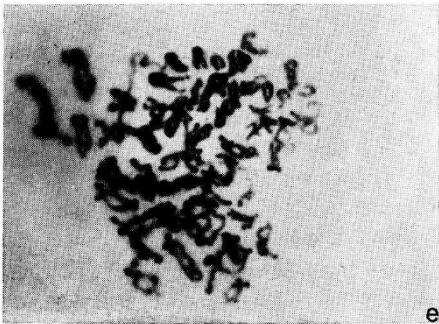
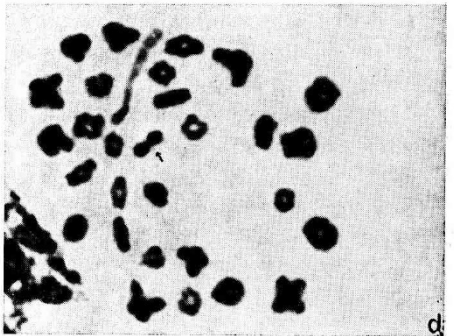
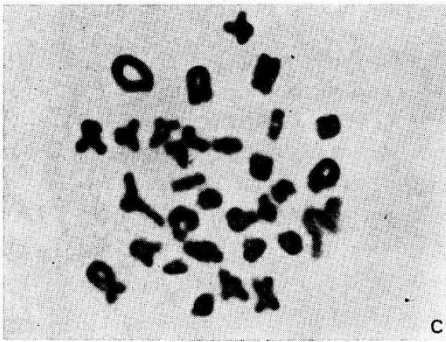
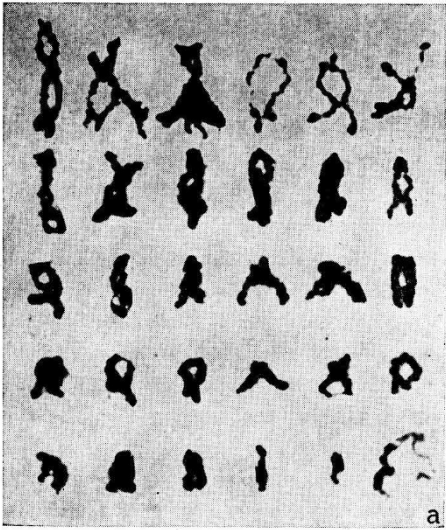


FIG. 3. — a et b) Cellule et caryotype diploténique. c, d) Diacinèse; noter l'hétérochromatie au bivalent sexuel; un chiasma unilatéral est marqué par une flèche. e) Cellule au diplotène à 2n bivalents. f) Anaphase I.

A mesure que les chromosomes avancent vers la diacénèse et la métaphase I ils se raccourcissent et les chiasmas suivent le processus de terminalisation. A la diacénèse et à la métaphase I les bivalents sont aisément identifiables et pratiquement toutes les cellules se trouvant dans ces stades se prêtent à l'obtention et à l'analyse du caryotype.

A la diacénèse et à la métaphase I, le bivalent sexuel, contrairement aux stades précédents où il avait une hétérochromatie positive, a l'aspect hétérochromatique négatif, montrant une coloration plus faible que les autosomes (fig. 3 *c, d*). Dans la majorité des cellules il se trouve à la périphérie du noyau. Dans une proportion assez importante des cas (33,3 %) les deux chromosomes sexuels étaient déjà séparés et se présentaient à l'état d'univalents.

Nous avons rencontré à la diacénèse et à la métaphase I plusieurs types de chiasmas (tabl. 3).

Pour calculer le coefficient de terminalisation, nous avons compté séparément le nombre moyen de chiasmas par cellule et le nombre moyen de chiasmas terminaux. Nous avons remarqué la présence de chiasmas unilatéraux (1,55 par cellule) rencontrés toujours sur les plus petits chromosomes (fig. 3*d*). Nous considérons ce type de chiasmas comme l'achèvement du processus de terminalisation et le début de la séparation des univalents. Nous avons considéré séparément les bivalents ouverts d'un côté avec une fréquence moyenne par cellule plus faible que les chiasmas unilatéraux (tabl. 3).

Le nombre total moyen par cellule de chiasmas, dans ces stades, est plus petit qu'au diplotène, ceci étant dû au processus de terminalisation. Le coefficient de terminalisation moyen pour l'ensemble de cellules étudiées est de 0,61 % et l'index de recombinaison, calculé selon la formule de FORD (1969), est de 82,73.

A l'anaphase I les chromosomes se séparent et se dirigent vers les pôles opposés (fig. 3*f*). Ces deux derniers stades semblent avoir des durées courtes. Dans nos préparations, nous avons trouvé très peu de cellules à l'anaphase I et aucune cellule à la télophase I.

3. — *La vésicule sexuelle et le bivalent sexuel*

Dès le début du stade leptotène et jusqu'à la fin du pachytène, les deux chromosomes sexuels se trouvent enveloppés dans une structure hétérochromatique située presque toujours à la périphérie du noyau et appelée vésicule sexuelle. A cause de cette situation, l'étude des chromosomes sexuels durant ces stades est extrêmement difficile et leurs détails morphologiques échappent à l'observation.

La vésicule sexuelle se présente sous une forme ronde ou ovale et à l'intérieur on peut distinguer des taches sombres fortement hétérochromatiques qui représenteraient les deux chromosomes sexuels contractés (fig. 4*a, b*). Vers la fin du pachytène, avant sa disparition, les formes diffuses visibles à l'intérieur de la vésicule deviennent plus précises et on peut souvent observer des structures rappelant les chromatides (fig. 4*b*).

TABLEAU 3
Nombre et types de chiasmas rencontrés à la diacinèse et à la métaphase I

Nombre de bivalents analysés	Nombre total de cellules analysées	Nombre total de chiasmas	Nombre moyen de chiasmas par cellule	Index de recombinaison	Nombre total de chiasmas terminaux	Nombre moyen de chiasmas terminaux par cellule	Coefficient de terminaison %	Nombres total et moyen de chiasmas unilatéraux	Nombres total et moyen de chiasmas ouverts d'un côté
1 140	38	2 042	53,73	82,73	12,54	33	0,61	59 1,55	44 1,26

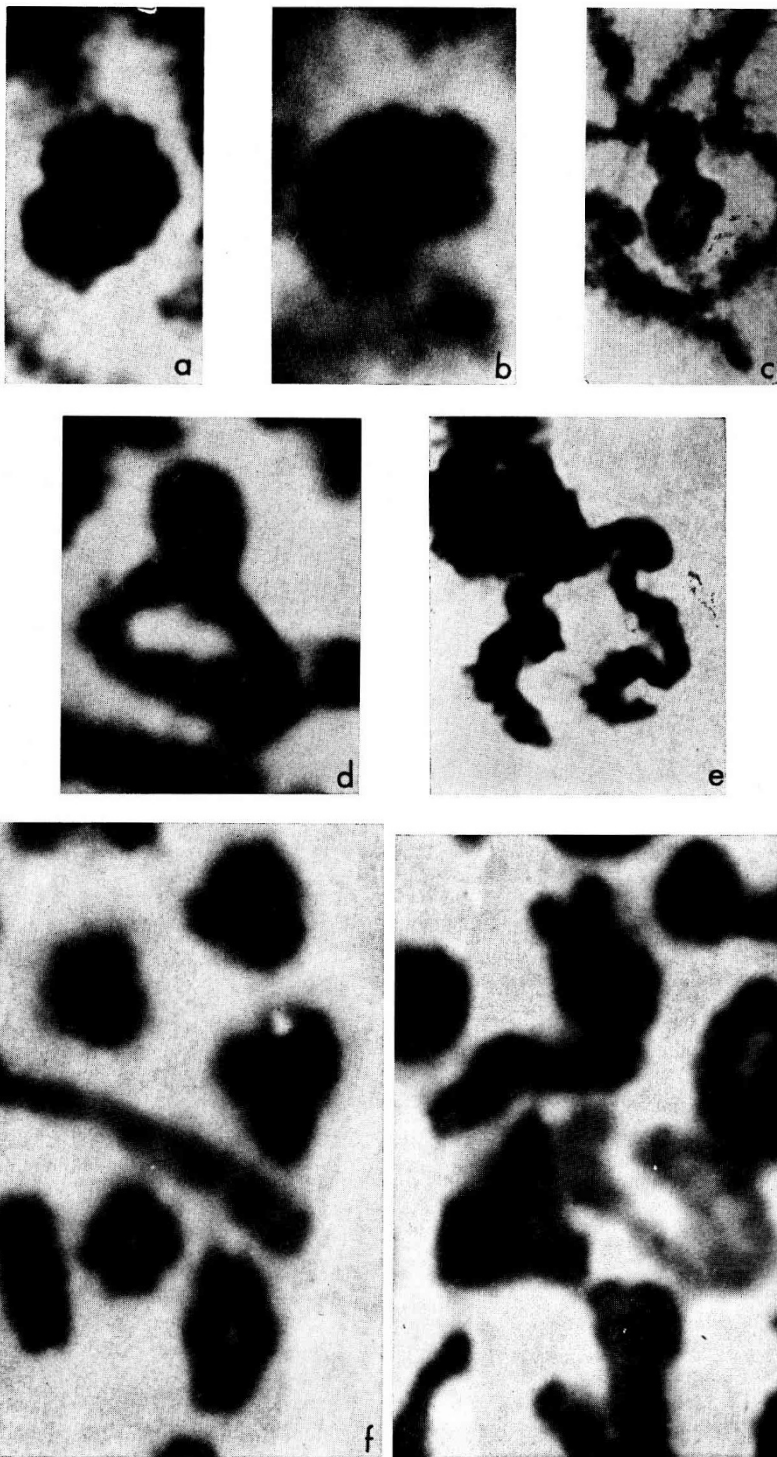


FIG. 4. — La vésicule sexuelle et le bivalent sexuel. a) La vésicule sexuelle dans un stade précoce. b) Un stade plus avancé; noter à l'intérieur une structure rappelant les chromatides. c, d) Le bivalent sexuel dans un moment juste après la disparition de la vésicule sexuelle. e) Le bivalent sexuel dans une cellule diplo-ténique. f, g) Le bivalent sexuel à la diakinèse. Noter l'association bout-à-bout et l'hétérochromatie des chromosomes sexuels.

Deux cellules surprises juste après la disparition de la vésicule montrent les deux chromosomes sexuels associés sous la forme du chiffre huit (fig. 4c, d). L'un d'eux le plus petit pourrait être considéré comme le chromosome Y et le plus grand comme le chromosome X. Le fait remarquable est que, même dans l'image 4d, qui représente un stade plus avancé vers le diplotène, les deux chromosomes ne sont pas disposés bout-à-bout. De plus, on peut faire une comparaison entre ces deux images et l'aspect du bivalent dans le diplotène, à un moment un peu plus avancé (fig. 4e).

A la diacinèse et à la métaphase I, dans les cellules où les chromosomes sexuels ne se trouvent pas à l'état univalent, le bivalent sexuel a un aspect différent montrant une disposition bout-à-bout (fig. 4f, g). Dans certains cas, on peut distinguer la limite entre les deux chromosomes, une succession de zones plus claires et de zones plus foncées et l'emplacement présomptif des deux centromères (fig. 4f, g).

4. — *Les spermatocytes secondaires*

Les spermatocytes secondaires issus de la première division méiotique vont subir la deuxième division qui, elle, ressemble parfaitement à une mitose normale.

Parmi les stades de cette deuxième division, nous avons rencontré surtout des métaphases II. Elles contiennent le nombre haploïde de chromosomes autosomiaux et l'un des deux chromosomes sexuels. Les cellules analysées présentaient généralement le nombre normal de 30 chromosomes (fig. 5a, b, c). Nous avons noté toutefois la présence de quelques cellules anormales, à 31 chromosomes (fig. 5d).

Dans les métaphases II étudiées, nous avons trouvé deux types : d'une part des cellules aux chromosomes relaxés avec la structure chromomérique visible (fig. 5a) et d'autre part des cellules avec des chromosomes fortement contractés (fig. 5b). Nous avons considéré les premières comme des prophases II et les dernières étant des métaphases II. Dans nos préparations, nous n'avons pas trouvé de cellule à l'anaphase II et à la télophase II.

DISCUSSION

Etudiant les spermatogonies de taureau, KNUDSEN et BRYNE (1960) ont trouvé une différence nette entre l'aspect des chromosomes des deux types de spermatogonies. Selon ces auteurs, les spermatogonies A auraient des chromosomes filiformes, déspiralisés et les spermatogonies B des chromosomes contractés et présentant une bosse à la partie distale (« knob chromosomes »). Nous avons trouvé deux types différents de divisions spermatogoniales correspondant aux deux types principaux de spermatogonies. Ces différences concernent surtout le degré de spiralisation et la colorabilité des chromosomes. Nous n'avons pas remarqué la présence des « knob chromosomes » dans les spermatogonies B, mais seulement, dans certains cas, une région hétérochromatique positive autour des centromères dans les spermatogonies A (fig. 1e).

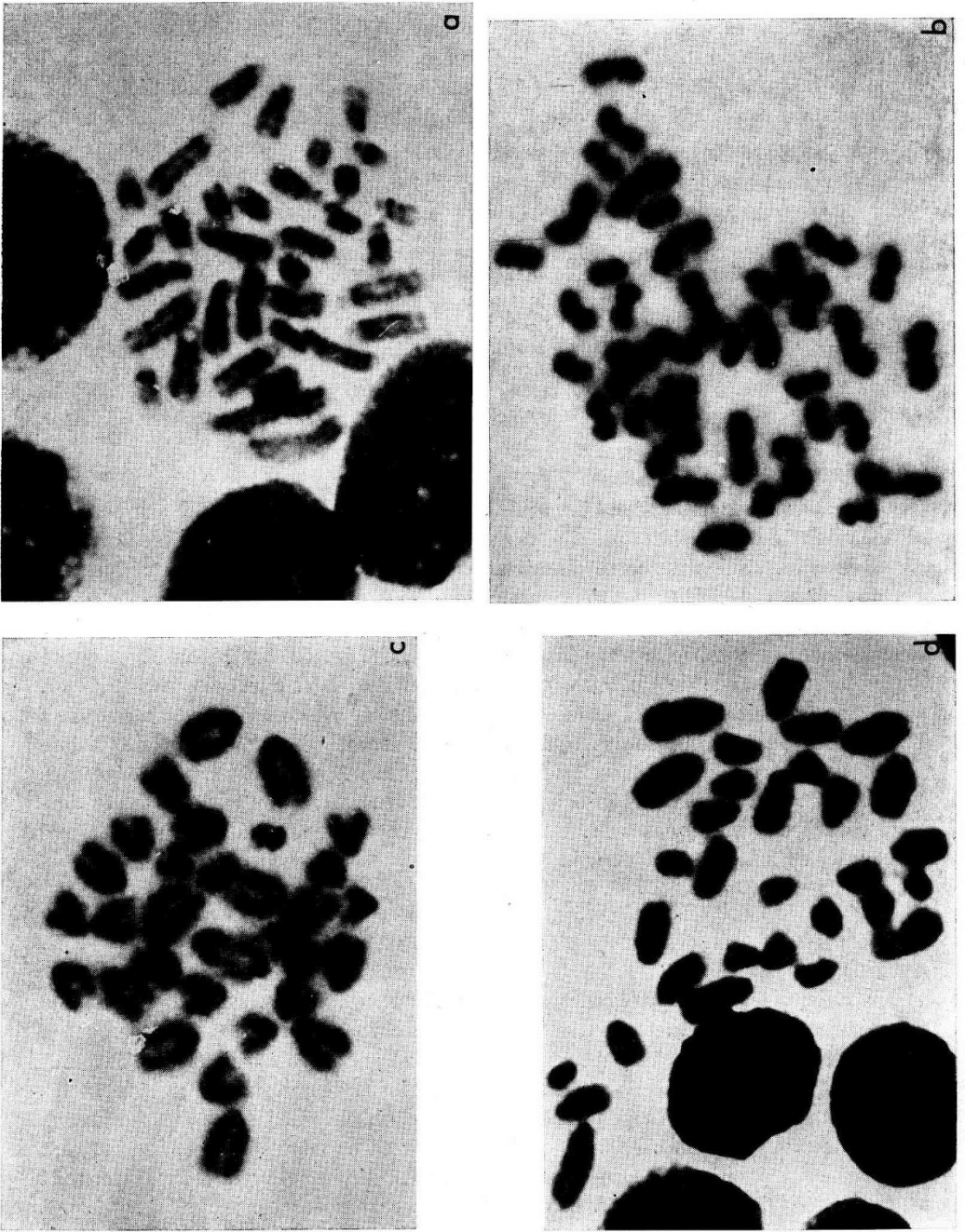


FIG. 5. — *Métaphases II*
a, b, c) *métaphases normales à 30 chromosomes.* d) *Métaphase à 31 chromosomes.*

LAVAPPA et YERGANIAN (1970) décrivent chez le hamster arménien (*Cricetulus migratorius*) la présence des deux types de métaphases spermatogoniales : celles des spermatogonies A, avec des chromosomes décontractés fortement colorés et celles des spermatogonies B où les chromosomes sont plus contractés et la structure chromomérique visible. Ils appellent le premier type « dark type » et le deuxième « light type » selon la coloration plus ou moins forte. Contrairement à ce que nous avons noté chez le taureau, l'image d'une spermatogonie A présentée par ces auteurs montre des zones hétérochromatiques négatives dans les régions centromériques, situation typique pour une constriction primaire.

En accord avec LAVAPPA et YERGANIAN (1970), nous considérons que les différences concernant le degré de spiralisation et la morphologie des chromosomes des spermatogonies A et B sont dues au fait que les deux types de cellules se trouvent dans des étapes différentes de la synthèse d'ADN.

Nous avons remarqué un taux assez important de cellules spermatogoniales polyploïdes (7,5 %). Ces cellules anormales représentaient des spermatogonies A et des spermatogonies B. L'existence d'un taux plus ou moins important de cellules spermatogoniales, possédant un nombre hypo-ou hyper-diploïde de chromosomes a été déjà observé chez plusieurs espèces. BOMSEL-HELMREICH (1959) trouve dans les spermatogonies du bélier seulement 65 % de cellules avec le nombre modal de chromosomes. FECHHEIMER (1961) observe chez la souris 18 % de spermatogonies s'écartant du nombre chromosomique normal. Chez l'homme, SASAKI et MAKINO (1965) ont décrit, dans les spermatogonies, 7,1 % de cellules polyploïdes. LUCIANI (1970), toujours chez l'homme, note, lui aussi, la présence de spermatogonies polyploïdes, sans toutefois donner des résultats quantitatifs. THIBAUT et BOMSEL-HELMREICH (1963), dans une revue bibliographique sur la variation des chromosomes chez les mammifères, posent le problème des anomalies qui pourraient découler si ces cellules anormales arrivent à donner naissance à des spermatozoïdes et de leur influence sur le rendement de la spermatogenèse. En effet, si le nombre élevé de spermatogonies reste difficilement explicable, leur rôle pourrait être important dans la production de spermatozoïdes anormaux.

La disposition en « bouquet » des chromosomes mise en évidence par MELANDER et KNUDSEN (1953) et BATAGLIA et CENNI (1959) dans les premiers stades de la méiose n'est pas souvent visible dans nos préparations, probablement à cause du traitement hypotonique. Pourtant, il est généralement admis que les chromosomes méiotiques présentent une certaine polarisation dans le noyau, disposition qui, selon SWANSON (1957), faciliterait l'appariement des homologues. Toujours à cause du choc hypotonique, nous avons rarement observé le nucléole qui est particulièrement visible au pachytène. La même observation a été faite par GUSTAVSSON (1969) dans les cellules méiotiques du taureau.

MELANDER et KNUDSEN (1953) ont décrit chez le taureau, dans les spermatogonies interphasiques et les premiers stades de la méiose, un type spécial de chromomère, les chromomères distaux (« end-chromomeres ») ayant une coloration plus forte par rapport au reste du chromosome. Nous avons observé, surtout dans les chromosomes pachyténiques, une zone à hétérochromatie positive située probablement dans la région du centromère. Nous n'avons pas remarqué l'existence d'un type différent de chromomère.

A cause de la présence de cette vésicule, le comportement des chromosomes sexuels à l'intérieur de celle-ci est difficilement observable. La grande majorité des mammifères présentent, après la disparition de la vésicule, une association bout-à-bout des chromosomes sexuels. Mais certains auteurs pensent que leur comportement serait différent durant les stades où ils se trouvent à l'intérieur de cette structure. En raison des dimensions de la vésicule sexuelle et des limites de la microscopie optique, plusieurs études ont été entreprises à l'aide de la microscopie électronique. SOLARI (1964) et FORD et WOOLLAM (1966) ont étudié au microscope électronique la vésicule sexuelle chez la souris et, respectivement chez la souris et deux espèces de hamster, FORD et WOOLLAM (1966) trouvent chez la souris et le hamster doré (*Mesocricetus auratus*) des images montrant sans aucun doute une association côte-à-côte des chromosomes sexuels à l'intérieur de la vésicule, situation tout à fait contraire à l'association bout-à-bout visible à la diacinèse, chez ces deux mêmes espèces. En plus, chez le hamster doré, ils mettent en évidence un élément du complexe synaptinémal, épreuve majeure de l'existence du synapsis entre les chromosomes méiotiques. Les auteurs affirment même que la disposition ultérieure bout-à-bout serait provoquée par une action mécanique de la membrane nucléaire à laquelle les chromosomes sexuels sont attachés durant les stades où ils se trouvent à l'intérieur de la vésicule.

Chez le taureau, la première observation sur la vésicule sexuelle est due à GUSTAVSSON (1969) qui note sa présence au début du leptotène jusqu'à la fin du pachytène et à l'intérieur de laquelle les chromosomes sexuels deviennent visibles avant sa disparition. Dans les travaux antérieurs portant sur les chromosomes méiotiques du taureau (MAKINO, 1944a; MELANDER et KNUDSEN, 1953; POSTIGLIONI-GRIMALDI, 1957; BATTAGLIA et CENNI, 1959; KNUDSEN et BRYNE, 1960), bien que les chromosomes sexuels soient décrits, la vésicule sexuelle n'est pas mentionnée.

Nous avons décrit cette vésicule avec le même manque de détails en raison des difficultés d'observation. Dans certaines cellules, nous avons observé des structures rappelant les chromatides fortement contractées dans les stades précoces et relativement relaxées dans le pachytène tardif. Dans les cellules observées juste après la disparition de la vésicule, nous avons remarqué une association qui n'était pas bout-à-bout et qui paraissait assez forte entre les deux chromosomes sexuels. Elle pourrait représenter la disposition des chromosomes existant à l'intérieur de la vésicule.

Si le comportement des chromosomes dans la vésicule sexuelle est mal connu, l'association du bivalent sexuel dans la diacinèse et métaphase I, pourtant aisément observable, constitue, elle aussi, l'objet d'interprétations différentes, ainsi que la présence ou l'absence des chiasmas. KOLLER (1937) cité par HULTEN et coll. (1966) trouve des arguments en faveur de l'existence des chiasmas entre les chromosomes sexuels humains. SACHS (1964) affirme, au contraire, qu'il n'y aurait pas de segments homologues sur les deux chromosomes humains. FORD et HAMERTON (1956), en utilisant des techniques cytogénétiques, remarquent que parmi plusieurs types d'associations terminales rencontrées dans le bivalent sexuel humain, certains pourraient être interprétés comme des chiasmas terminaux.

Un des problèmes les plus controversés de la cytogénétique actuelle est le comportement des chromosomes sexuels pendant la division méiotique. En fait il s'agit d'un problème plus général : l'existence d'un « sex-linkage » total ou au contraire partiel chez l'homme et chez les mammifères. Un sex-linkage partiel supposerait l'existence d'un crossing-over entre les chromosomes X et Y, donc l'existence des chiasmata qui en constituent l'expression cytologique. Les opinions sont différentes sur ce sujet qui a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs.

DARLINGTON (1931) postulait qu'une ségrégation normale pendant la méiose ne peut avoir lieu que s'il y a eu au moins un chiasmata entre les deux chromosomes homologues. Pour expliquer le cas particulier des chromosomes sexuels, DARLINGTON admettait l'existence sur les deux chromosomes de segments homologues entre lesquels il y aurait des chiasmata et des segments non-homologues entre lesquels il n'y en aurait pas.

HALDANE (1936) admettait, lui aussi, l'existence d'un sex-linkage partiel chez l'homme sans apporter des preuves concluantes.

Au contraire, OHNO (1965) exclut toute éventualité d'un échange de matériel génétique entre les chromosomes X et Y. Il affirme que les deux chromosomes sexuels des mammifères proviennent d'une paire d'autosomes. Ils ont subi une évolution différente : les gènes sexuels mâles se sont groupés sur un court segment du chromosome Y pendant que le chromosome X gardait ses gènes avec leur linkage original sur toute sa longueur. Ainsi, le chromosome Y pouvait perdre par élimination la majorité des gènes autosomaux, contrairement au chromosome X, ce qui aboutissait à un mécanisme de compensation de dose par inactivation génétique de ce dernier (lyonisation). Cette évolution différente ne pouvait avoir lieu que si les deux chromosomes étaient parfaitement isolés l'un de l'autre et aussi bien de tout contact avec les autosomes pendant la division méiotique. Ce rôle de protection serait assuré par la vésicule sexuelle et l'état hétéropycnotique dans lequel se trouvent les deux chromosomes durant les premières phases de la prophase méiotique. Mais la découverte de quelques gènes autosomaux placés sur le chromosome Y et la mise en évidence chez quelques espèces de mammifères des crossing-over entre le X et le Y ont remis en actualité ce problème.

Cette contradiction pourrait être résolue à l'aide des preuves génétiques et cytologiques. Sur le plan cytologique, la présence ou l'absence d'un crossing-over entre les chromosomes sexuels pose plusieurs questions : le comportement des deux chromosomes dans la vésicule sexuelle pendant les premiers stades de la méiose, la façon dont ils sont associés dans le bivalent sexuel et la raison pour laquelle dans un certain nombre de cellules à la diacinèse et métaphase I, ces deux chromosomes se trouvent à l'état d'univalents.

La vésicule sexuelle a été étudiée par plusieurs chercheurs (MAKINO, 1941; SACHS, 1954; TJIO et LEVAN, 1956; MITTWOCH, 1967) chez l'homme et chez quelques espèces de rongeurs. Bien que son aspect soit différent d'une espèce à l'autre, elle se présente, en général, sous la forme d'un corpuscule hétérochromatique contenant à l'intérieur les deux chromosomes sexuels. La composition chimique est constituée de RNA selon EBERLE (1963), cité par FORD et WOOLLAM (1966) et du DNA, selon SACHS (1955).

FORD (1962), en tenant compte des résultats acquis chez différentes espèces de mammifères, affirme que l'existence des segments homologues entre l'X et l'Y peut être supposée mais non prouvée. SASAKI et MAKINO (1965) arrivent à la même conclusion. HULTEN *et al.* (1966) observent dans le point de liaison du bivalent sexuel des filaments fins, rencontrés normalement dans les chiasmas terminaux. MITTWOCH (1967) pense qu'un seul chiasma, après la terminalisation, pourrait être considéré comme une liaison bout-à-bout, comme on en trouve souvent parmi les plus petits chromosomes chez l'homme et la souris.

Récemment, REITALU (1970), dans une étude sur le comportement du bivalent sexuel humain, affirme que la liaison entre X et Y ne serait pas une liaison ponctuelle, mais qu'elle aurait lieu entre segments chromosomiques et, par conséquent, l'existence des segments homologues serait plausible.

Quant au bivalent sexuel du taureau, les données sont moins nombreuses, mais aussi controversées. MAKINO (1944a) a décrit chez le taureau une association bout-à-bout des chromosomes sexuels sans admettre l'existence d'une homologie. Au contraire, MELANDER et KNUDSEN (1953) donnent un schéma du bivalent sexuel dans lequel les deux chromosomes ont des segments homologues disposés côte à côte et des segments non homologues. Ils affirment avec certitude la formation des chiasmas entre les segments homologues. BATTAGLIA et CENNI (1959) notent une association bout-à-bout avec la formation d'un chiasma distal.

Dans toutes les diacinèses et métaphases I étudiées, nous avons toujours observé une liaison bout-à-bout des chromosomes sexuels, mais qui ressemblait beaucoup à un chiasma terminal. Sans avoir jamais vu une image semblable au schéma présenté par MELANDER et KNUDSEN (1953), nous pensons toutefois, comme RETTALU (1970), que la liaison entre l'X et l'Y du taureau n'entraîne pas seulement deux points de contact et qu'elle pourrait être considérée comme un chiasma terminal.

Dans un nombre élevé de métaphases étudiées (13 sur 29, soit 33,3 %) les chromosomes sexuels se trouvaient à l'état univalent. Cette situation a été déjà observée chez l'homme et chez d'autres espèces et interprétée différemment. FORD et HAMERTON (1956) trouvent les chromosomes sexuels séparés dans 14 % de cellules et expliquent ce phénomène par une terminalisation ou par une disjonction précoce. HAMERTON (1961) pense que cette séparation serait tout simplement provoquée par un manque d'association. FORD et EVANS (1964), dans une étude de la méiose chez la souris, affirment que la séparation du bivalent serait due, en partie, aux manipulations techniques. SASAKI et MAKINO (1965) trouvent chez l'homme, dans 27 % de cellules le bivalent séparé; ils admettent comme seule explication possible les manipulations techniques. HULTEN *et coll.* (1966) observent des pourcentages variables, de 18 à 28 %, et expliquent la séparation par une disjonction précoce plutôt que par un manque d'appariement. LUCIANI (1970) invoque les manipulations techniques à l'origine de la séparation mais s'associe, lui aussi, à l'hypothèse d'une disjonction précoce.

Nous pensons que l'interprétation donnée à ce phénomène est dépendante de la façon dont on considère l'association des chromosomes sexuels dans la méiose mâle. Si l'on admet la formation d'un chiasma entre les deux chromosomes, sans

écarter complètement le rôle des manipulations techniques, on peut considérer cette séparation comme une disjonction précoce des deux chromosomes ayant accompli le processus de terminalisation. Dans la majorité des cellules étudiées, nous avons remarqué l'existence d'un ou plusieurs petits autosomes (1,55 en moyenne, par cellule, tabl. 3) qui présentaient des chiasmas unilatéraux et, dans certaines cellules, se trouvaient déjà en voie de séparation.

Avec les techniques cytologiques actuelles, nous pensons que l'observation directe des chromosomes méiotiques n'est pas suffisante et que pour résoudre le problème du bivalent sexuel mâle et, implicitement, l'existence d'un sex-linkage total ou partiel, il faudrait apporter des preuves génétiques.

Pour faciliter le comptage des chiasmas, nous avons établi le caryotype de plusieurs cellules en diacinèse et métaphase I, mais la disposition des bivalents dans la série décroissante reste incertaine. A cause de leur morphologie irrégulière les mesures à l'aide des méthodes utilisées pour les chromosomes somatiques sont ici impraticables. En raison des difficultés d'identifications, nous n'avons pas pu établir si un certain nombre de chiasmas est caractéristique d'un certain bivalent. La seule constatation valable est que le nombre de chiasmas augmente avec la taille du bivalent.

Nous avons trouvé une fréquence moyenne de 53,73 chiasmas par cellule et un coefficient de terminalisation de 0,61 (tabl. 3). En absence de données semblables pour cette espèce, nous ne pouvons pas faire une analyse comparative. Chez l'homme, les fréquences trouvées par différents auteurs varient considérablement : de 44 (EBERLE, 1966 cité par LUCIANI, 1970) à 55,9 (FORD et HAMERTON, 1956) chiasmas par cellule.

La fréquence moyenne de 53,73 chiasmas par cellule donne une moyenne de 1,78 chiasmas par bivalent. Selon FORD (1962) chaque chiasma représenterait 50 unités de cross-over, ce qui donnerait pour cette espèce presque 100 unités de cross-over par bivalent. FORD (1962) trouve chez l'homme, d'après les comptages de FORD et HAMERTON (1956), une moyenne de 125 unités de cross-over par bivalent. Mais le nombre de chiasmas étant en fonction de la taille du chromosome, chez l'homme aussi bien que chez le taureau et les autres espèces, le nombre d'unités de cross-over varie d'un bivalent à l'autre.

Nous avons déterminé, avec une certaine approximation due à la subjectivité de l'interprétation, le nombre moyen de chiasmas ouverts d'un côté, par cellule (1,26, tableau 3). LUCIANI (1970), en accord avec les conclusions d'EBERLE (1966) cité par LUCIANI (1970), affirme que ce type de chiasma serait caractéristique des chromosomes acrocentriques. Il donne comme argument la coïncidence parfaite entre la fréquence moyenne par cellule de ce type de chiasma et le nombre de chromosomes acrocentriques humains. Nous pensons qu'au moins pour *Bos taurus* cette hypothèse n'est pas valable car le caryotype de cette espèce compte 58 autosomes, tous acrocentriques, tandis que la fréquence des chiasmas ouverts d'un côté est de 1,26 par cellule. En plus, nous avons trouvé dans les bivalents de taureau tous les types de chiasmas rencontrés chez des espèces qui ont des caryotypes plus variés.

Plusieurs travaux ont mis en évidence, chez l'homme, des anomalies de la

méiose associées à des troubles de la fertilité (MACILREE et coll., 1966b; DE GROUCHY et LUMBROSO, 1969; HULTEN et coll., 1970). Chez les animaux domestiques et particulièrement chez le taureau, les données sont peu nombreuses. Quelques études portent sur la présence des chromosomes anormaux (KNUDSEN, 1961) ou sur des modifications de la durée des stades méiotiques (HENRICSON et BACKSTROM, 1964) chez des animaux atteints des troubles de fertilité. Une meilleure connaissance du comportement et des paramètres normaux des chromosomes méiotiques pourrait fournir des éléments de référence dans les études de l'aspect pathologique.

Reçu pour publication en mars 1971

REMERCIEMENTS

Nous remercions la direction de l'I.N.R.A. pour la bourse accordée, qui nous a permis d'achever cette thèse.

SUMMARY

MEIOTIC CHROMOSOMES OF CATTLE

This study was carried out on the behavior of chromosomes during different stages of bull spermatogenesis. Two principal types of spermatogonia were shown to exist as well as their corresponding types of division. A relatively important percentage of hyperdiploid spermatogonia was noticed. The meiotic stages follow the process normally found in other mammals. The acrocentric chromosomes of the bull present all of the known types of chiasmata at the diplotene stage and at diakinesis. The end to end association of sexual chromosomes was observed generally at diakinesis, however, a different form of association was noticed in certain cells. The morphology of the sexual vesicle and the behavior of the sexual bivalent were described in detail.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BATTAGLIA E., CENNI B., 1959. Contributo alla carilogia di *Bos taurus* L. *Caryologia*, **12**, 162-172.
- BOMSEL-HELMREICH, 1959. Méthode d'analyse du nombre de chromosomes dans les cellules germinales du bélier. *Ann. Zootech.*, **8**, 327-347.
- CLERMONT Y., 1968. Cinétique de la spermatogénèse chez les mammifères. In « La physiologie de reproduction chez les mammifères », Colloque C.N.R.S. n° 168, Paris, 16-19 nov. 1966, Paris, p. 7-60.
- EVANS E.P., BRECTION G., FORD C.E., 1964. An air drying method for meiotic preparations from mammalian testis. *Cytogenetics*, **3**, 289-294.
- FECHHEIMER N.S., 1961. Poikiloploidy among spermatogenetic cells of *Mus musculus*. *J. Reprod. Fertil.*, **2**, 68-79.
- FORD C.E., HAMERTON J.L., 1956. The chromosomes of man. *Nature* (Lond.), **177**, 140-141.
- FORD C.E., 1962. Human chromosomes, in « Chromosomes in Medicine, Little club clinic. Dev. Méd. 5 », National Spastics Society and Heinemann Medical Books, London, 48-59.
- FORD C.E., EVANS E.P., 1964. A reciprocal translocation in the mouse between the X chromosome and a short autosome. *Cytogenetics*, **3**, 295.
- FORD C.E., 1969. Meiosis in Mammals in K. BENIRSCHKE, Comparative Mammalian Cytogenetics, Springer-Verlag, Berlin.
- FORD E.H.R., WOOLLAM D.H.M., 1966. The fine structure of the sex vesicle and sex chromosome association in spermatocytes of mouse, golden hamster and field vole. *J. Anat.*, **100**, 4, 787-799.
- GROUCHY J. de, LUMBROSO P., 1969. Fréquence élevée de spermatocytes primaires avec 2N tétrades dans une biopsie testiculaire. *Annals Génét.*, **12**, 65-66.
- GUSTAVSSON I., 1969. Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. *Heredia*, **63**, 68-169.
- HALDANE J.S.B., 1936. A search for incomplete sex-linkage in man. *Ann. Eugen.*, **7**, 28-54.

- HAMERTON J.L., 1961. Sex chromatin and human chromosomes. *Int. Rev. Cytol.*, **12**, 1.
- HENRICSON E., BACKSTROM L., 1964. A systematic study of the meiotic divisions in normal and subfertile or sterile boars and bulls. *J. Reprod. Fertil.*, **7**, 53-64.
- HULTEN M., LINDSTEN J., MING R.M.L., FRACCARO M., 1966. The XY bivalent in human male meiosis. *Ann. Hum. Genet.*, **30**, 191-121.
- HULTEN M., ELIASSON R., TILLENGER K.G., 1970. Low chiasma count and other meiotic irregularities in two infertile 46 XY men with spermatogenic arrest. *Hereditas*, **65**, 285-290.
- KNUDSEN O., 1953. A karyological study of spermiogenesis in bulls. *XV Int. Vet. Congr.*, **5**, 159.
- KNUDSEN O., BRYNE N., 1960. The spermiocytogenesis of the bull. *Acta Vet. Scand.*, **1**, 140-160.
- KNUDSEN O., 1961. Sticky chromosomes as a cause of testicular hypoplasia in bulls. *Acta Vet. Scand.*, **2**, 1-14.
- KRALLINGER H.F., 1931. Cytologische Studien an einigen Haussaugetieren. *Arch. Tierernahr. Tierzucht. Abt. B.*-5.
- LAVAPPA K.S., YERGANIAN G., 1970. Spermatogonial and meiotic chromosomes of the Armenian hamster *Cricetulus migratorius*. *Expt. Cell. Research*, **61**, 159-172.
- LUCIANI J.M., 1970. Les chromosomes méiotiques de l'homme. I. La méiose normale. *Annls. Génét.*, **13**, 101-111.
- LUCIANI J.M., 1970. Les chromosomes méiotiques de l'homme. II. Le nucléole. Les chiasmas. III. La stérilité masculine. *Annls. Génét.*, **13**, 169-182.
- MACLEEE M.E., PRICE W.H., COURT-BROWN W.N., TULLOCK W.S., NEWSAM J.E., MAC LEAN M., 1966. Chromosomes studies on testicular cells from 50 subfertile men. *Lancet*, **2**, 69-71.
- MAKINO S., 1941. Cytological investigations of mice included in the genus *Mus*. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.*, Ser. VI, **7**, 305-380.
- MAKINO S., 1944. Karyotypes of domestic cattle, zebu and domestic water buffalo (chromosomes studies in domestic mammals IV). *Cytologia* (Tokyo), **13**, 247-264.
- MELANDER Y., KNUDSEN O., 1953. The spermiogenesis of the bull from karyological point of view. *Hereditas*, **34**, 505-517.
- MITTWOCH U., 1967. Sex chromosomes. Academic Press, N.Y., London.
- OHNO S., 1965. A phylogenetic view of the X chromosome in man. *Annls. Génét.*, **8**, 3-8.
- ORTAVANT R., 1959. Spermatogenesis and Morphology of the Spermatozoon in Reproduction in Domestic Animals, vol. II. Academic Press, N.Y., London, p. 146.
- POSTIGLIONI-GRIMALDI J., 1956. Pretratamiento con soluciones hipotonicas y reaccion nuclear de Feulgen. Ressenbeck para el estudio de los cromosomas en el toro (*Bos taurus*). *An. Fac. Vet. Urug.*, **6**, (4), 31-47.
- POSTIGLIONI-GRIMALDI J., 1967. Cromosomas del toro. Antecedentes y estado actual de su conocimiento. *Congr. Nac. Vet. Urug.*, **1**, 659-689.
- REITALU J., 1970. Observations on the behavioural pattern of the sex chromosome complex during spermatogenesis in man. *Hereditas*, **64**, 283-290.
- SACHS L., 1954. Sex-linkage and the sex chromosomes in man. *Ann. Eugenics*, **18**, 255-261.
- SACHS L., 1955. The possibilities of crossing-over between the sex chromosomes of the house mouse. *Genetica*, **27**, 309-322.
- SASAKI M., MAKINO S., 1965. The meiotic chromosomes of man. *Chromosoma* (Berl.), **16**, 637-651.
- SOLARI A.J., 1964. The morphology and ultrastructure of the sex vesicle in the mouse. *Expt. Cells. Res.*, **36**, 160-168.
- SWANSON P.K., 1957. Cytology and cytogenetics. Prentice Hall, New York.
- THIBAUT C., BOMSEL-HELMREICH O., 1963. Variation naturelle ou provoquée du nombre de chromosomes chez les mammifères (Poikiloploïdie et hétéroploïdie). *Z. Tierz. Zucht. Biog.*, **76**, 364-387.
- TJIO J.H., LEVAN A., 1956. Note on the sex chromosomes of the rat during male meiosis. *Anales Estac. Exptl. Aula Dei*, **4**, 173-184.
-