

# Relation entre la précocité de l'établissement de la spermatogenèse et de la stéroïdogénèse et la production de spermatozoïdes chez des porcs Large White ou Meishan

Marie-Thérèse HOCHEREAU-DE REVIERS, Christine PERREAU, E. VENTURI, P. DESPRÉS.

Institut National de la Recherche Agronomique  
Laboratoire de Physiologie de la Reproduction des Mammifères Domestiques - 37380 Nouzilly

## Relation entre la précocité de l'établissement de la spermatogenèse et de la stéroïdogénèse et la production de spermatozoïdes chez des porcs Large White ou Meishan

Nous avons comparé le développement testiculaire chez des porcelets Large White (LW) ou Meishan (MS). Jusqu'à l'âge de 20 jours, le poids testiculaire ne diffère pas entre races. Avant la naissance, les MS ont beaucoup moins (-80%) de cellules de Leydig stéroïdogènes que les LW et à la naissance, ces nombres sont plus faibles chez les MS mais les stocks de cellules de Sertoli sont équivalents. Entre la naissance et l'âge adulte, les stocks de Leydig augmentent moins et ceux de Sertoli plus chez les LW que chez les MS ; il en résulte que les adultes MS ont un poids testiculaire (-50%) un stock de Sertoli (-72%) et une production de spermatozoïdes (-40%) beaucoup plus faibles que les LW mais un stock égal de Leydig. Dans la période périnatale, la concentration plasmatique en testostérone et la taille individuelle des cellules de Leydig diffèrent peu entre LW et MS mais entre les âges de 1 - 4 mois, ces paramètres chutent chez les LW alors qu'ils sont maintenus chez les MS. Chez les MS il y a d'abord démarrage de la spermatogenèse et chez les LW la longueur des tubes séminifères augmente d'abord puis quand démarre la spermatogenèse le diamètre s'accroît. Les spermatocytes et les spermatides rondes sont observés respectivement vers l'âge de 20 et 45 jours chez les MS et seulement à l'âge de 3 mois ou plus chez les LW. Chez les verrats adultes LW le rendement des divisions spermatogoniales est plus faible qu'en race MS alors que ceux de la méiose et de la spermiogenèse ne diffèrent pas.

## Relationships between age at onset of spermatogenesis and steroidogenesis and sperm production in Large White or Meishan boars

The testis development was compared in Large White (LW) and Meishan (MS) piglets. Until 20 days of age, the testis weight did not differ between breeds. Before birth, the MS males had significantly lower total numbers of Leydig steroidogenic cells per testis than LW ones; at birth these numbers were lower in MS than in LW but the stocks of Sertoli cells per testis did not differ significantly between breeds. Leydig cell populations increased more between birth and adulthood in MS than in LW piglets contrary to the Sertoli cell stocks. At adulthood, MS boars had lower testis weight (-50%), lower Sertoli cell stock (-72%) and lower production of spermatozoa (-40%) but equal numbers of Leydig cells per testis than LW boars. In both breeds, testosterone mean plasma levels were high during perinatal period, but they dropped in 1-4 month-old LW piglets when individual Leydig cell size decreased while both parameters were maintained high in MS ones. In MS piglets, seminiferous tubules increased firstly in diameter concomitantly with onset of spermatogenesis and later they increased in length. In LW piglets, an increase in length occurred first and later on, an increase in diameter and the onset of spermatogenesis. Primary spermatocytes and round spermatids were observed respectively in 20 and 45 day-old MS testes while they were firstly observed in 3 month-old LW piglets. The yield of spermatogonial divisions, the first step of spermatogenesis was significantly higher in MS than in LW adult testes while those of meiosis or of spermiogenesis did not differ.

## INTRODUCTION.

La formation des premiers spermatozoïdes a lieu deux mois plus tôt chez les porcelets Meishan, vers l'âge de 2,5-3 mois (HARAYAMA et al, 1991) que dans les animaux de races européennes chez lesquels on observe des spermatozoïdes à partir de 150 jours d'âge (LUNSTRA et al, 1997). De même la présence de spermatozoïdes mobiles et fléchants est repérée dans l'épididyme dès 90-105 jours chez les verrats Meishan alors que chez les Large White, ils n'apparaissent que vers 135-150 j (PAQUIGNON, 1989). Cette différence peut provenir soit après un démarrage simultané d'une très mauvaise efficacité des processus spermatogénétiques dans les races européennes liée à une sécrétion de testostérone faible par rapport à la race Meishan soit d'un démarrage plus précoce de la spermatogenèse chez les porcelets Meishan que chez ceux de races européennes. OKWUN et al (1996) avaient montré que les stocks de cellules de Sertoli étaient beaucoup plus faibles dans la race Meishan que dans les races européennes et que de ceci découlait un poids testiculaire et une production de sperme adultes beaucoup plus faibles. LUNSTRA et al (1997) ont par ailleurs affirmé que les verrats de race Meishan étaient caractérisés par des teneurs en hormones gonadotropes et en testostérone beaucoup plus élevées que les verrats de races européennes. Le but de ce travail est de comparer l'évolution des concentrations de testostérone, la composition du testicule, l'établissement de la spermatogenèse et la production de cellules germinales et de spermatozoïdes dans les races Large White et Meishan.

Qu'est ce qui explique la taille testiculaire plus faible des verrats Meishan par rapport aux verrats de races européennes ? Ces différences sont elles dues à une efficacité de la spermatogenèse différente entre races ou bien la composition des testicules diffère-t-elle ? Cette situation découle-t-elle d'événements qui ont eu lieu au cours de la vie foetale ?

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1. Matériel animal

Des testicules de porcelets mâles de race Large White et Meishan ont été prélevés depuis le milieu de la gestation (42 jours de vie foetale) jusqu'à l'âge adulte, au moins chaque mois jusqu'à la puberté, à raison de 3 animaux/race et par âge, dans chacune des deux races. Les testicules ont été disséqués et pesés ; le testicule entier ou un morceau de 1-3 cm<sup>3</sup> ont été fixés dans le Bouin-Hollande, puis déshydratés, inclus en paraffine et nous avons confectionné des coupes histologiques. L'analyse histologique a été faite selon HOCHEREAU-DE REVIERS et al (1995).

### 2.2. Dosages

Pour évaluer la concentration plasmatique de testostérone des prélèvements de sang dans la veine jugulaire ou après abattage ont été effectués depuis la période périnatale jusqu'à la puberté dans les deux races. Enfin du sang a été prélevé dans la veine jugulaire sur des verrats adultes reproducteurs de races Large White et Piértrain (INRA-SEIA,

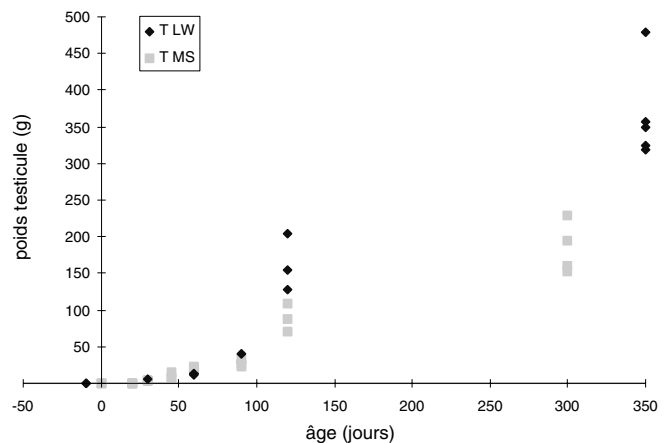
Rouillé) et de race Meishan (INRA-Le Magneraud). La concentration en testostérone a été déterminée après extraction par dosage radioimmunologique ; le seuil de détection est de 0,11 ng.ml<sup>-1</sup> et les coefficients de variation sont respectivement égaux 7,4% et 16,5% pour des valeurs de 1 et 8 ng.ml<sup>-1</sup> (HOCHEREAU-DE REVIERS et al, 1990). Les comparaisons entre races ont été analysées par un test-t de Student ou par covariance en prenant l'âge postconceptionnel comme covariable (Systat).

## 3. RÉSULTATS

### 3.1 Poids testiculaire

De la mi-gestation jusqu'à l'âge d'un mois le poids testiculaire ne varie pas entre races (figure 1). Au cours de la période 1-3 mois, les porcelets MS ont des testicules plus développés que les porcelets LW. Ensuite les porcelets LW continuent leur croissance testiculaire rapide, tandis que celle des porcelets MS s'infléchit rapidement. A l'âge d'un an environ, le poids testiculaire moyen des verrats de race LW (366 ± 65 g) est deux fois plus lourd que celui des MS (184 ± 35 g).

**Figure 1** - Poids testiculaire en fonction de l'âge et de la race



### 3.2. Cellules de Leydig et sécrétion de testostérone

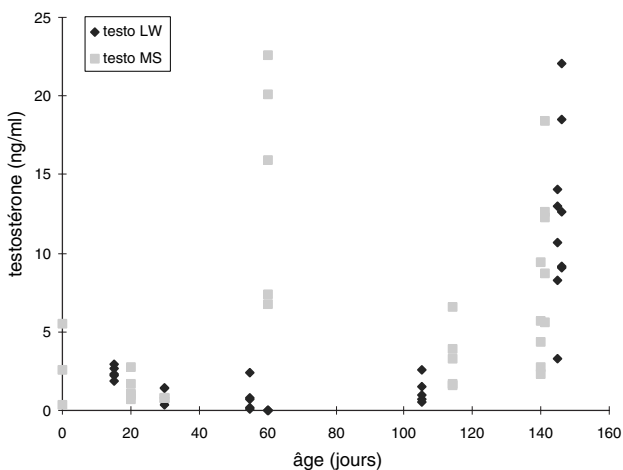
Durant le début de la vie foetale, les porcelets MS ont moins de cellules de Leydig sécrétrices de la testostérone (-80%, P<0,001) par testicule que les LW (tableau 1). A la naissance les stocks de cellules de Leydig sont plus faibles en race MS qu'en race LW. La croissance postnatale de la population de cellules de Leydig est beaucoup plus rapide dans la race MS de sorte que, à l'âge adulte, ces nombres ne varient plus significativement entre races (tableau 1). La taille des cellules de Leydig ne diffère pas selon la race au cours de la vie foetale et elle augmente dans les deux races dans la période périnatale. Elle reste assez constante jusqu'à l'âge adulte en race MS tandis qu'elle présente une chute très importante entre les âges de 1 et 2 mois chez les LW. A l'âge adulte la taille des cellules de Leydig est significativement plus faible (-24%, P=0,02%) chez les LW que chez les verrats MS.

**Tableau 1** - Nombre de cellules de Leydig et de Sertoli et de cellules germinales souches par testicule entre la fin de la gestation et l'âge adulte chez des mâles Large White ou Meishan ( $m \pm sd$ ).

Âge	Leydig $\times 10^6$		Sertoli $\times 10^6$		gonocytes/spgnies souches $\times 10^6$	
	LW	MS	LW	MS	LW	MS
<b>85 j de gestation</b>	2,8 $\pm$ 1,1	0,6 $\pm$ 0,2	24 $\pm$ 9	8 $\pm$ 1	3 $\pm$ 0,4	1,3 $\pm$ 0,4
<b>Naissance</b>	5,8 $\pm$ 1,4	2,9 $\pm$ 2,5	49 $\pm$ 7	48 $\pm$ 7	3,6 $\pm$ 0,1	5,8 $\pm$ 0,9
<b>1 mois</b>	16 $\pm$ 3	18 $\pm$ 11	564 $\pm$ 148	424 $\pm$ 171	41 $\pm$ 17	45 $\pm$ 15
<b>Adulte</b>	1400 $\pm$ 411	1324 $\pm$ 483	3060 $\pm$ 1050	844 $\pm$ 224	514 $\pm$ 157	131 $\pm$ 65

Durant la période périnatale (0-25 jours) la concentration de testostérone dans le plasma sanguin ne diffère pas entre races (figure 2). C'est entre les âges de 1 à 3 mois que les différences seront très importantes car chez les porcelets LW, on observe des niveaux de testostérone très faibles ( $< 2 \text{ ng.ml}^{-1}$ ) puis vers le 5ème mois, ces concentrations atteignent  $12 \pm 4 \text{ ng.ml}^{-1}$ . Chez les porcelets MS, à 2 mois, les concentrations plasmatiques de testostérone sont très élevées et supérieures à  $5 \text{ ng.ml}^{-1}$  et elles baissent légèrement ensuite. Chez des verrats adultes en automne, les concentrations plasmatiques de testostérone sont plus élevées chez les verrats de races européennes que chez les verrats MS (LW =  $8 \pm 6$ ; MS =  $3 \pm 2$ ; Piétrain =  $6 \pm 6 \text{ ng.ml}^{-1}$ ).

**Figure 2** - Concentration de testostérone plasmatique en fonction de l'âge et de la race



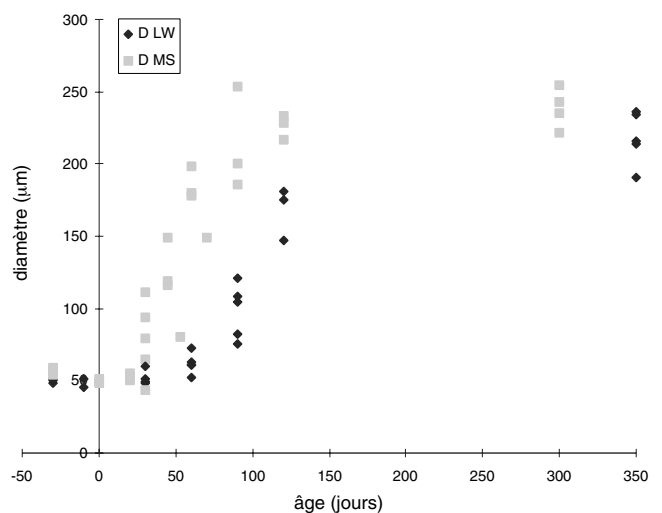
### 3.3. Démarrage de la spermatogenèse et fonctionnement adulte

Les nombres totaux de cellules nourricières de Sertoli par testicule sont trois fois plus faibles au cours de la gestation chez les foetus MS que chez les LW ; durant la période périnatale, ils sont peu différents entre MS et LW. Chez les verrats adultes, ces nombres sont très inférieurs chez les MS par rapport aux LW (tableau 1).

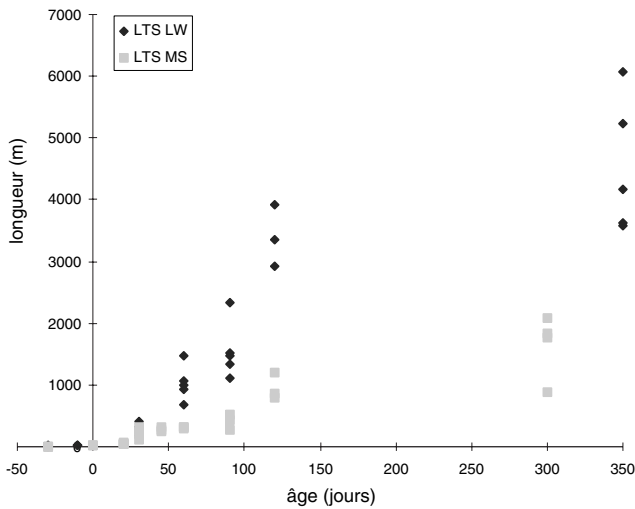
La proportion de parenchyme testiculaire occupé par les tubes séminifères est assez constante au cours de la vie foetale et postnatale chez les porcelets MS (50-60%) alors que chez les porcelets LW, cette proportion augmente de 30 à 70%. Jusqu'au démarrage de la spermatogenèse, ni le diamètre des tubes séminifères ( $50 \mu\text{m}$ ; figure 3) ni la longueur totale de tubes séminifères ne diffèrent entre race (figure 4) ; à l'état adulte le diamètre des tubes est identique entre races alors que les verrats LW adultes ont des tubes séminifères trois fois plus longs (4530 m) que les verrats MS (1650 m). Les stratégies de croissance des tubes séminifères diffèrent profondément entre les deux races: on observe soit d'abord une croissance en diamètre des tubes suivie d'une croissance en longueur (MS) soit l'inverse (LW).

L'accroissement du diamètre des tubes séminifères commence dès l'âge de 20 jours ( $90 \mu\text{m}$ ) chez les porcelets MS (figure 3). A la naissance, chez les MS, les cellules germinales les plus avancées sont des spermatogonies différenciées dans moins de 10% des tubes. Dès l'âge de 20 jours, on observe des spermatocytes chez 3 des 5 porcelets examinés. Des spermatides rondes sont observées à l'âge de

**Figure 3** - Diamètre des tubes séminifères en fonction de l'âge et de la race



**Figure 4** - Longueur des tubes séminifères en fonction de l'âge et de la race



**Tableau 2** - Démarrage de la spermatogenèse chez des porcelets Large White ou Meishan.

Race	Meishan	Large White
<b>Âge 1ers spermatoocytes</b>	20j (3/5 anx)	60j (3/5)
<b>Âge 1 ères spermatides</b>	45j (3/3)	90j (4/5)
<b>Âge 1ers spermatozoïdes</b>	45j (1/3)	120j (3/3)

1,5 mois chez les trois porcelets analysés et des spermatozoïdes sont présents dans l'un (1/3 ; tableau 2). À l'âge de 2 mois tous les animaux présentent des spermatozoïdes. L'accroissement en diamètre des tubes séminifères (60 µm) ne commence qu'à l'âge de 2 mois chez les porcelets LW alors que les tubes s'accroissent déjà en longueur. Durant cette période sont présents dans les tubes séminifères des gonocytes et les premières spermatogonies apparaissent entre les âges de 1,5 et 2 mois. Les spermatoocytes et quelques rares spermatides rondes sont observées à l'âge de 3 mois et quelques spermatozoïdes à l'âge de 3 mois chez un animal ; des spermatozoïdes seront réellement produits vers l'âge de 4 mois (tableau 2).

Le rendement des étapes de méiose et de spermiogenèse qui contrôlent la formation et la différenciation des gamètes est peu différent entre les deux races ; en revanche la première étape qui concerne les multiplications spermatogoniales et le renouvellement des cellules germinales a une efficacité doublée ( $\times 2,2$  ;  $P=0,03\%$ ) en race MS par rapport aux verrats de race LW. Les productions quotidiennes de spermatides par testicule sont respectivement de  $4,7 \pm 1,8$  et  $2 \pm 0,6 \times 10^9$  en races LW et MS ( $P=0,02$ ); les nombres de spermatides par cellule de Sertoli sont respectivement de  $13,7 \pm 4,03$  et  $19,9 \pm 1,8$  en races LW et MS.

## 4. DISCUSSION

Nos observations mettent en évidence que les poids testiculaires beaucoup plus faibles des verrats Meishan par rapport à ceux des verrats de races européennes sont dus à un défaut de croissance en longueur des tubes séminifères qui est lié à un nombre de cellules nourricières de Sertoli plus faible. Ceci confirme les résultats d'OKWUN et al, (1996) et de LUNSTRA et al (1997) et montre l'importance de la formation des cellules de Sertoli durant la période impubère pour la production de sperme adulte (HOCHEREAU-de REVIERS & COUROT, 1978). Par contre les cellules de Leydig sécrétrices de testostérone qui diffèrent considérablement avant la naissance entre MS et LW, sont relativement peu différentes chez les verrats adultes, contrairement aux résultats de LUNSTRA et al (1997). Donc la variation entre race n'affecte pas les deux compartiments du testicule adulte de façon identique ; ce n'est donc pas un retard ou un arrêt de croissance testiculaire qui est en cause. Le démarrage de la spermatogenèse n'a pas lieu en même temps dans les deux races. La situation observée pour les deux compartiments testiculaires chez les verrats adultes diffère de celle présente à la naissance.

Chez les porcelets LW, les concentrations plasmatiques de testostérone que nous avons rapportées, correspondent aux observations faites par MEUSY-DESOLLE (1975) et leur évolution correspond à celle de nombres et tailles des cellules de Leydig (VAN STRAATEN & WENSING, 1977 ; PEYRAT et al, 1981). On peut en effet se demander si le développement numérique important des cellules de Leydig durant la période périnatale dans la race LW n'entraîne pas une modification des rétrocontrôles, paracrine existant entre les deux compartiments testiculaires et endocrine au niveau hypothalamo-hypophysaire, entraînant une diminution de la sécrétion de testostérone. Ces phénomènes de rétrocontrôles négatifs peuvent empêcher chez les porcelets LW le démarrage précoce de la spermatogenèse mais permettre la multiplication des cellules de Sertoli et la croissance en longueur des tubes séminifères. Dans la race MS qui possède moins de cellules de Leydig, les rétrocontrôles seraient probablement moins importants, laissant la spermatogenèse s'établir tôt mais de ce fait limitant les multiplications des cellules de Sertoli et la croissance en longueur des tubes séminifères. Les conséquences de ces différences de composition du testicule sont une production de spermatozoïdes moins précoce mais plus abondante en race LW qu'en race MS. Cependant le rendement de l'étape des divisions spermatogoniales étant meilleur en race MS qu'en race LW la différence est moindre que celle qu'on aurait pu attendre du déficit de longueur des tubes séminifères.

Quels sont les éléments manquants dans cette comparaison des deux races ? l'évolution des sécrétions de FSH, d'inhibine/activine et d'oestrogènes et de leurs récepteurs testiculaires au cours de la puberté. Dans la race MS, les verrats adultes auraient plus de FSH (ZANELLA et al, 1996) et une sécrétion très précoce dans l'hypophyse d'Activine (LI et al, 1997) par rapport aux races européennes.

Afin de dégager des pistes de réflexion avant de conclure nous comparerons les résultats obtenus chez les porcins à

ce qui est observé dans l'espèce ovine par analyse de race " précoce " Romanov, " intermédiaire " Ile de France et " tardive " Mérinos d'Arles (HOCHEREAU-DE REVIERS & SECK, 1990). Si on compare les compositions testiculaires dans la période périnatale (140-150 jours ) chez les ovins il n'y a pas de différence dans leur composition à la naissance. Donc la précocité n'est pas toujours liée à des événements qui ont eu lieu au cours de la vie foetale. La mise en charge fonctionnelle de l'axe hypothalamo-hypophysaire précoce chez les porcins Large White entre la naissance et l'âge d'un mois ou chez les ovins Mérinos, entre 0,5 et 3 mois n'est pas suivie par le démarrage précoce de la spermatogenèse. Dans tous les cas, le démarrage précoce de la spermatogenèse est accompagné par une augmentation de la synthèse des androgènes ; il y a donc simultanéité entre le démarrage de l'activité stéroïdogène et de l'activité spermatogénétique mais cette synthèse précoce de testostérone ne suffit pas à provoquer le démarrage de la spermatogenèse; c'est une condition nécessaire mais non suffisante de la précocité, comme le prouvent les profils de sécrétions de testostérone dans la race LW. Un retard de précocité ne se traduit pas toujours par une

croissance en longueur plus importante des tubes séminifères et une production spermatique plus élevée à l'âge adulte: les béliers Ile de France et Mérinos n'ont pas des productions spermatiques très différentes malgré leur différence de précocité.

Peut-on espérer avoir des animaux précoces et producteurs d'un grand nombre de spermatozoïdes ? Peut-on, doit-on rechercher des marqueurs génétiques de cette précocité ? C'est l'enjeu ultime du choix des reproducteurs dans les espèces animales de " rente " : détecter tôt dans leur vie ceux qui seront les meilleurs.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions, le personnel du Domaine du Magneraud, de la Station expérimentale de Rouillé et de l'Unité expérimentale de Nouzilly ainsi que P.O. HARMAND pour les prélèvements sanguins, P.O. HARMAND et le Laboratoire de Dosages Hormonaux de Nouzilly pour les dosages de testostérone et le personnel de l'abattoir pour la collecte rapide et efficace des tractus génitaux.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- HARAYAMA H, NANJO I, KANDA S, KATO S., 1991., *Theriogenology*. 36, 637-643.
- HOCHEREAU-DE REVIERS M.T., COUROT M., 1978. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.* 18, 573-583.
- HOCHEREAU-DE REVIERS M.T., SECK M., 1990. In " Major Genes for Reproduction in Sheep ", Elsen & Bodin Eds. Colloque INRA, 177-196.
- HOCHEREAU-DE REVIERS M.T., PERREAU C., PISSELET C., LOCATELLI A., BOSCH M., 1995. *J. Reprod. Fert.* 103, 41-46.
- LI M.D., MACDONALD G.J., FORD J.J., 1997. *Endocrinology* 138, 712-718.
- LUNSTRA D.D., FORD J.J., KLINDT J., WISE T.H., 1997. *J. Reprod. Fert. Supp.* 52, 181-193.
- MEUSY-DESSOLLE N., 1975. *C.R. Acad. Sci. Hebd. Seances Acad. Sci. D.* 1975, 281, 1875-1878
- OKWUN O.E., IGBOELI G., LUNSTRA D.D., FORD J.J., JOHNSON L., 1996. *J. Androl* 17, 301-309.
- PAQUIGNON M., 1989. Thèse Dr Montpellier. II, 243 pp.
- PEYRAT J.P., MEUSY-DESSOLLE N., GARNIER J., 1981. *Endocrinology* 108, 625-631.
- VAN STRAATEN H.W.M., WENSING C.J.G., 1977. *Biol. Reprod.* 17, 467-472.
- ZANELLA E.L., FORD J.J., WISE T., HAMERNIK D.L., 1996. *Biol. Reprod.* 54, 154-159.