

Embryologie

LES URODÈLES CHIMÈRES

II. TRACTUS URO-GÉNITAL

par

Charles HOUILLON

La greffe embryonnaire en chimère chez les Amphibiens Urodèles consiste à associer la partie antérieure d'un embryon avec la partie postérieure d'un autre embryon. Selon l'importance de chaque partie, on réalise des animaux à corps double ou des animaux à corps simple pour les quatre combinaisons sexuelles. Les interventions ont été réalisées entre les embryons de la même espèce (chimères allogéniques) et entre les embryons d'espèces différentes : *Pleurodeles waltl*, *P. poireti*, *Triturus alpestris*, *T. cristatus*, *T. helveticus*, *T. vulgaris* et *Ambystoma mexicanum* (chimères xénogéniques).

L'analyse a surtout concerné les chimères allogéniques à corps double dont 115 pour *P. waltl*, 50 pour *T. alpestris* et 77 pour *A. mexicanum*. Les chimères à corps double pour les combinaisons homosexuées femelle-femelle et mâle-mâle ont en général deux paires de glandes génitales du même sexe et d'aspect normal. Pour les combinaisons hétérosexuées, l'effet free-martin dépend de la position relative des gonades : dans la combinaison femelle-mâle, l'inhibition des ovaires antérieurs est profonde avec souvent une inversion ovarienne alors que les testicules postérieurs ont un aspect normal ; dans la combinaison mâle-femelle, les testicules antérieurs gardent un aspect normal mais les ovaires postérieurs sont souvent peu inhibés, ce qui peut conduire à des animaux adultes hermaphrodites.

Les mêmes phénomènes se retrouvent d'une manière encore plus nette pour l'ensemble des 203 chimères allogéniques à corps simple analysées notamment pour l'inversion de la partie ovarienne dans les combinaisons hétérosexuées. Les chimères allogéniques atteignent la maturité sexuelle vers l'âge de deux ans comme les animaux témoins ; les combinaisons homosexuées adultes peuvent émettre en même temps les gamètes de chacune des deux parties (chimères germinales).

Les chimères xénogéniques à corps double (123 animaux) présentent également le même effet free-martin selon la position des ovaires, cependant il n'y a pas d'inversion ovarienne. Sur 268 chimères xénogéniques à corps simple prises en compte, près de 20% atteignent la maturité sexuelle. Certaines de ces chimères xénogéniques mâles adultes ont manifesté le comportement sexuel mâle de la partie antérieure en présence d'une femelle de

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

la même espèce que cette partie antérieure, puis le comportement sexuel mâle de la partie postérieure en présence d'une femelle de la même espèce que cette partie postérieure.

La survie des Urodèles chimères, l'effet free-martin selon la position des gonades, le double comportement sexuel des associations xénogéniques sont autant de phénomènes nouveaux dont l'interprétation est encore énigmatique.

Urodeles chimeras. II. Urogenital tract

Chimeras were produced with different species of Urodeles Amphibians including *Pleurodeles waltl*, *P. poireti*, *Triturus alpestris*, *T. cristatus*, *T. helveticus*, *T. vulgaris* and *Ambystoma mexicanum*. They were composed of the anterior part of an embryo and the posterior part of another embryo, from the same species (allogenic chimeras) or from two different species (xenogenic chimeras). Depending up on the length of each part, « double body » animals or « simple body » animals were obtained with the four possible anterior-posterior sex combinations : female-female, male-male, female-male and male-female. The structure and the fate of the genital system, together with the sexual behaviour of these animals, were followed up to the adult age. This study was carried out on 242 double body allogenic (115 *P. waltl*, 50 *T. alpestris*, 77 *A. mexicanum*), 203 simple body allogenic, 123 double body xenogenic and 268 simple body xenogenic chimeras.

In double body allogenic chimeras, homosexual combinations, female-female or male-male, generally yield two pairs of apparently normal ovaries or testes. Heterosexual combinations yield different results depending up on the respective position of the gonads. In the female-male combinations, a free-martin effect was always observed : testes (posterior) were normal whereas ovaries (anterior) were inhibited or sex-reversed. In the male-female combinations, a slight free-martin effect was sometimes observed, but in many cases testes (anterior) and ovaries (posterior) were equally developed leading to adult hermaphrodite animals.

The same phenomena were observed in simple body allogenic chimeras exhibiting two pairs of gonads. In particular, sex-reversal of the ovaries frequently occurred in the female-male combination.

Allogenic chimeras reached sexual maturity at approximately two years of age as did the controls ; in homosexual combinations, they produced gametes originating from each embryonic part (« germinal chimeras »).

In double body xenogenic chimeras with heterosexual combinations, a free-martin effect was also observed depending up on the position of the gonads, although it did not result in sex-reversal of the ovaries. Many simple body xenogenic chimeras reached sexual maturity. Some adult males had a particular behaviour, the anterior part and the posterior part being respectively and independently stimulated by the presence of a female of the corresponding species. The mechanisms involved in the phenomena revealed by this study, i.e., the survival of Urodeles chimeras, the free-martin effect depending up on the position of the gonads, and the independent response of each part of a male xenogenic chimera to a female stimulus, are unknown.

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

Introduction

L'effet free-martin des Mammifères (LILLIE, 1916 ; JOST *et al.* 1975) selon lequel la différenciation testiculaire inhibe la différenciation ovarienne, s'observe également chez les Amphibiens dans le cas de la parabiose et des greffes embryonnaires (revue in FOOTE, 1964 ; GALLIEN, 1973 ; COLLENOT *et al.*, 1977). La technique originale de greffe en chimère (HOUILLON, 1999) est une nouvelle approche pour l'analyse des interactions entre glandes génitales de sexe différent avec deux avantages supplémentaires par rapport à la parabiose : d'une part, les chimères entre embryons de la même espèce (chimères allogéniques) ont un développement comparable aux animaux témoins et atteignent la maturité sexuelle dans les mêmes délais, d'autre part, les connexions anatomiques du tractus uro-génital permettent l'émission des gamètes. Malgré le nombre important de chimères entre embryons d'espèces différentes (chimères xénogéniques) l'analyse plus délicate par suite des retards de développement et d'une plus faible longévité, ne concerne que les animaux à corps double.

La présente analyse porte surtout sur les chimères allogéniques chez *Pleurodeles waltl* (HOUILLON *et al.*, 1971, 1973, 1986), chez *Triturus alpestris* (HOUILLON, 1977) et chez l'Axolotl (DOURNON, 1978). L'un des résultats essentiels est l'inhibition totale des ovaires (effet free-martin) lorsqu'ils sont situés en position antérieure par rapport aux testicules alors que la différenciation ovarienne est peu affectée (pas d'effet free-martin) lorsque les ovaires sont situés en position postérieure.

Matériel et Méthodes

Une chimère est obtenue après la section de deux embryons d'Amphibiens Urodèles puis l'association de la partie antérieure de l'un avec la partie postérieure de l'autre (CHARLEMAGNE et HOUILLON, 1974). La chimère est à « corps double » lorsque la partie antérieure d'un embryon dont on a éliminé le bourgeon de queue, est associée avec la partie postérieure d'un autre embryon dont on a éliminé la tête. La chimère est à « corps simple » lorsque la partie antérieure d'un embryon est associée avec la partie postérieure complémentaire d'un autre embryon. Toutes les associations intermédiaires sont possibles entre les « chimères à corps double » et les « chimères à corps simple ».

Les chimères à corps double réalisent l'association en apparence la plus complète entre les territoires gonadiques de deux embryons différents. Et pourtant, le nombre total de cellules germinales primordiales d'une jeune larve à corps double P.w - P.w est peu différent du nombre de cellules germinales primordiales d'une larve témoin (DOURNON, 1977). Cette régulation du nombre de cellules germinales est un phénomène énigmatique qui a une certaine analogie avec la croissance harmonieuse des chimères xénogéniques. Néanmoins, une fois adulte, l'animal possède un double système de glandes génitales.

Les chimères à corps simple analysables pour les interactions entre gonades de sexe différent proviennent de l'association entre embryons sectionnés au niveau moyen

de leurs territoires génitaux présomptifs. Ces animaux possèdent une partie antérieure d'un territoire gonadique associée avec une partie postérieure complémentaire d'un autre territoire gonadique (fig. 1). Cependant certaines chimères xénogéniques à corps simple sans territoire gonadique antérieur et dont les glandes génitales proviennent seulement de la partie postérieure, présentent un intérêt pour l'étude du comportement sexuel lorsqu'elles peuvent atteindre l'état adulte.

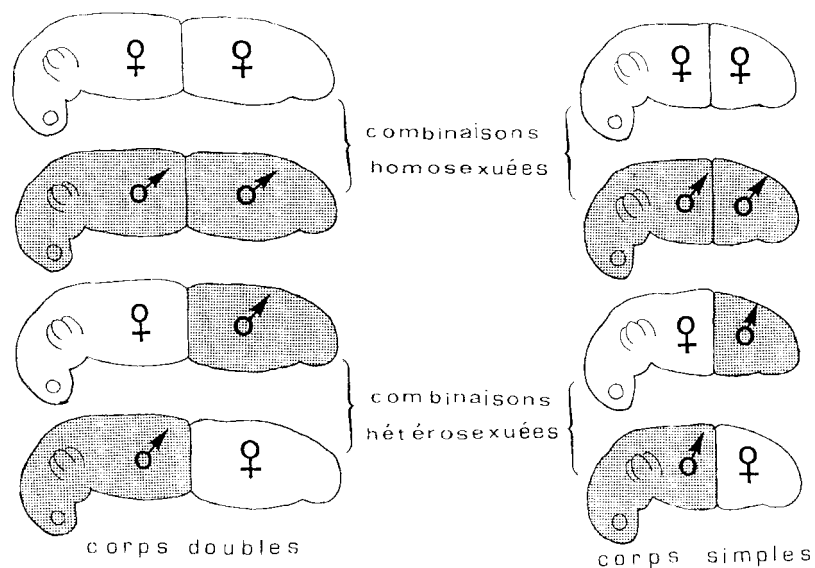


Figure 1

Embryons chimères allogéniques P.w - P.w à corps double et à corps simple ; femelle-femelle et mâle-mâle : combinaisons homosexuées ; femelle-mâle : combinaison hétérosexuée femelle antérieur - mâle postérieur; mâle-femelle : combinaison hétérosexuée mâle antérieur - femelle postérieur. Les mêmes combinaisons sexuelles sont réalisées pour les chimères xénogéniques à corps double. Mais pour les chimères xénogéniques à corps simple, la section des embryons se faisant toujours en avant de la région génitale présomptive, ces chimères n'ont jamais de gonades dans la partie antérieure, leurs gonades sont uniquement celles de la partie postérieure.

Le sexe des embryons étant inconnu au moment de l'opération, il y a quatre combinaisons sexuelles possibles aussi bien pour les chimères à corps double que pour les chimères à corps simple :

- deux combinaisons à partir d'embryons du même sexe : combinaison homosexuée partie antérieure femelle - partie postérieure femelle (chimère femelle-femelle) et combinaison homosexuée partie antérieure mâle - partie postérieure mâle (chimère mâle-mâle) ;
- deux combinaisons à partir d'embryons de sexe différent : combinaison hétérosexuée partie antérieure femelle - partie postérieure mâle (chimère femelle-mâle) et combinaison hétérosexuée partie antérieure mâle - partie postérieure femelle (chimère mâle-femelle).

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

Chimères allogéniques à corps double

Les quatre combinaisons sexuelles pour l'ensemble des 242 chimères allogéniques à corps double P.w - P.w, alp - alp et Ax - Ax prises en compte, sont indiquées dans le tableau 1.

Tableau 1

Combinaisons sexuelles des chimères allogéniques à corps double. Une chimère est désignée par l'abréviation du nom de l'espèce à laquelle appartient la partie antérieure suivie de l'abréviation du nom de l'espèce à laquelle appartient la partie postérieure : « P.w - P.w » désigne une chimère allogénique avec une partie antérieure et une partie postérieure *Pleurodeles waltl* ; « alp - alp » est une chimère allogénique partie antérieure et partie postérieure *Triturus alpestris* ; « Ax - Ax » est une chimère allogénique partie antérieure et partie postérieure Axolotl. La désignation des chimères xénogéniques est basée sur le même principe ; par exemple « P.w - alp » désigne une chimère xénogénique partie antérieure *Pleurodeles waltl* - partie postérieure *Triturus alpestris* ; « alp - P.w » est une chimère xénogénique partie antérieure *Triturus alpestris* - partie postérieure *Pleurodeles waltl*.

Combinaisons sexuelles	♀ - ♀	♂ - ♂	♀ - ♂	♂ - ♀	Total
P.w. - P.w	26	47	13	29	115
alp - alp	12	20	8	10	50
Ax - Ax	23	33	10	11	77
Total	61	100	31	50	242
%	25,2%	41,3%	12,8%	20,6%	

1. Chimères homosexuées femelle-femelle

Les chimères à corps double femelle-femelle ont en général quatre ovaires de volume équivalent (fig. 2). On observe parfois un seul ovaire antérieur mais toujours deux ovaires postérieurs bien développés. Tous les ovaires sont dans le même état d'évolution : la vitellogenèse débute en même temps et la maturité sexuelle est atteinte comme pour les femelles témoins, vers l'âge de deux ans (Pl. I, fig. 8). Les canaux de Müller sont continus de chaque côté. De la sorte, une chimère allogénique à corps double femelle-femelle peut pondre en même temps les ovocytes de ses ovaires antérieurs et les ovocytes de ses ovaires postérieurs (chimère germinale). Cependant chez les chimères qui ont une ceinture pectorale et des membres surnuméraires à mi-corps, les canaux de Müller antérieurs peuvent être bloqués en avant de la ceinture. Si cette

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

chimère pond, l'émission des œufs ne peut être assurée que par les canaux de Müller de la partie postérieure.

Le nombre total de chimères homosexuées femelle-femelle (61 animaux) est remarquablement conforme à la prévision théorique pour l'ensemble des 242 chimères allogéniques à corps double prises en compte. Une telle conformité s'observe aussi bien pour les chimères P.w - P.w que pour les chimères alp - alp ou Ax - Ax. Il en va tout autrement pour les autres combinaisons sexuelles notamment pour la combinaison homosexuée mâle-mâle.

2. Chimères homosexuées mâle-mâle

Les chimères à corps double mâle-mâle ont toujours deux testicules postérieurs bien développés (fig. 2). Les testicules sont également toujours présents dans la partie antérieure des chimères alp - alp mais il est fréquent de n'observer qu'un seul testicule antérieur chez les chimères P.w - P.w. L'autre testicule souvent très réduit, évolue en testicule d'aspect normal après ablation des trois testicules bien développés (Pl. I, fig. 11).

Les caractères externes de la maturité sexuelle mâle apparaissent vers l'âge d'un an pour les chimères doubles P.w - P.w ou Ax - Ax et vers l'âge de deux ans pour les chimères doubles alp - alp.

Comme pour les canaux de Müller, les canaux de Wolff qui servent de guide pour la croissance des oviductes (HOUILLOIN, 1959), sont hypertrophiés et continus de chaque côté sauf si un obstacle anatomique s'interpose au niveau de la soudure entre la partie antérieure et la partie postérieure. Une chimère allogénique double mâle-mâle peut émettre en même temps les spermatozoïdes de ses testicules antérieurs et les spermatozoïdes de ses testicules postérieurs pourvu que les canaux de Wolff de la partie antérieure soient bien raccordés avec les canaux de Wolff de la partie postérieure (chimère germinale).

Le nombre de chimères doubles mâle-mâle (100, soit 41%) est nettement supérieur à la prévision théorique (25%). L'interprétation sera donnée en même temps que l'interprétation du faible nombre de chimères doubles femelle-mâle (31 animaux, soit à peine 13%).

3. Chimères hétérosexuées femelle-mâle

Les chimères à corps double femelle-mâle ont toujours deux testicules postérieurs d'aspect normal (fig. 2). Par contre, les gonades antérieures sont toujours réduites à de minces bandelettes blanchâtres, sans ovocyte quel que soit l'âge de l'animal sauf parfois chez les chimères Ax - Ax. Cette réduction des ovaires correspond à l'effet free-martin classique, c'est-à-dire à l'inhibition des ovaires en présence des testicules. La maturité sexuelle mâle des chimères femelle-mâle se manifeste dans les mêmes délais que pour les chimères mâle-mâle. Ces animaux peuvent se reproduire mais leurs gamètes ne proviennent que des testicules postérieurs (Pl. I, fig. 10).

L'ablation des testicules postérieurs fut pratiquée entre l'âge de 10 mois et l'âge de 44 mois chez 22 chimères P.w - P.w qui pouvaient être considérées femelle-mâle en raison de l'inhibition des gonades antérieures. Au cours des années suivantes, 18 mois à

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

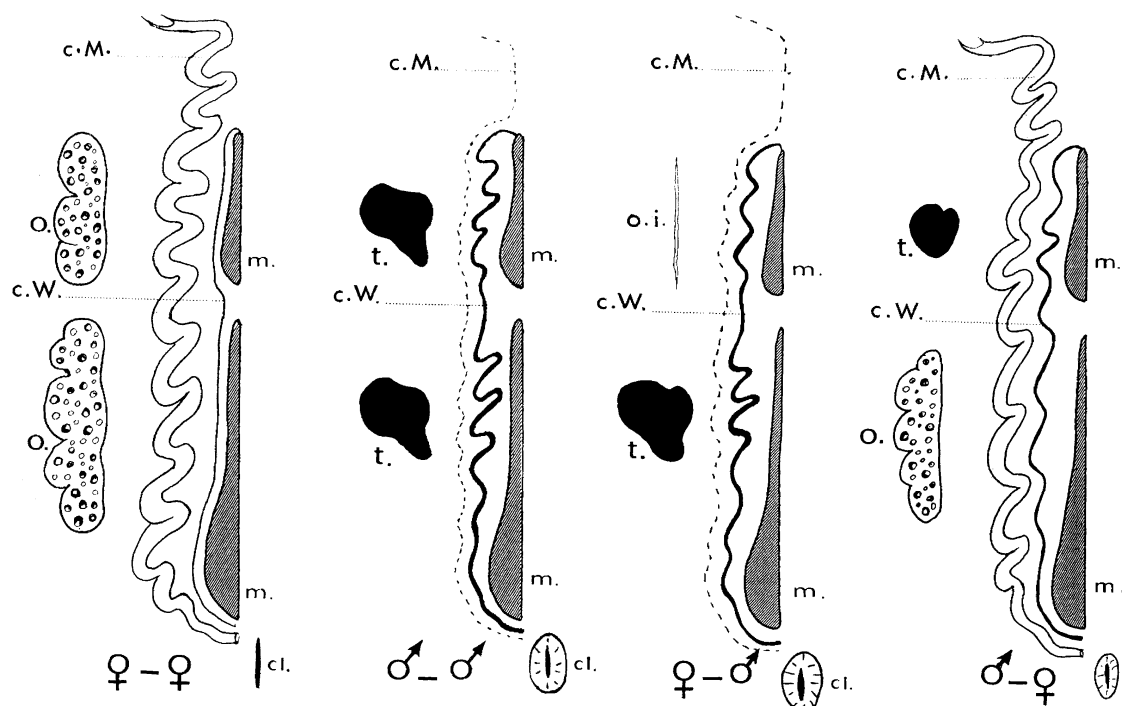


Figure 2

Représentation schématique unilatérale du tractus uro-génital des chimères adultes à corps double P.w - P.w (cas les plus fréquents). cl. : cloaque; c.M. : canal de Müller; c.W. : canal de Wolff; m. : mésonephros; o. : ovaire; o.i. : ovaire inhibé; t. : testicule ; femelle-femelle : combinaison homosexuée femelle antérieur - femelle postérieur; mâle-mâle : combinaison homosexuée mâle antérieur - mâle postérieur; femelle-mâle : combinaison hétérosexuée femelle antérieur - mâle postérieur; mâle-femelle : combinaison hétérosexuée mâle antérieur - femelle postérieur.

plus de 10 ans après la castration postérieure, les gonades antérieures se répartissaient en trois groupes (HOUILLOON et DOURNON, 1986) :

- groupe 1 : ovaires à maturité sexuelle (3 cas),
- groupe 2 : absence de gonades (4 cas),
- groupe 3 : testicules à maturité sexuelle (15 cas).

Pour les animaux du premier groupe, l'effet free-martin n'était que partiel, les gonades antérieures inhibées ont pu évoluer en ovaires, conformément à leur constitution initiale, après la suppression de l'action inhibitrice des testicules postérieurs. Pour les animaux du deuxième groupe, l'effet free-martin était total et les gonades antérieures sont définitivement stériles. Enfin pour les animaux du troisième groupe, les plus nombreux, les gonades qui étaient embryologiquement des ovaires se sont différenciées en testicules fonctionnels sous l'action des testicules postérieurs.

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

Tableau 2

Preuve statistique de l'inversion ovarienne antérieure dans la combinaison hétérosexuée femelle-mâle chez les chimères allogéniques à corps double. Les nombres indiqués pour chaque type de chimères (P.w - P.w, alp - alp et Ax - Ax) correspondent aux diverses combinaisons sexuelles d'après le tableau 1.

Combinaisons sexuelles	♂ - ♂	♀ - ♂	Total	
			♂ - ♂ ; ♀ - ♂	♀ - ♀ ; ♂ - ♂ ♀ - ♂ ; ♂ - ♀
P.w - P.w	47	13	60 (52%)	115
alp - alp	20	8	28 (56%)	50
Ax - Ax	33	10	43 (54%)	77
Total	100 (41,3%)	31 (12,8%)	131 (54,1%)	242

Le nombre total de chimères pour la combinaison homosexuée mâle-mâle (100 animaux) et pour la combinaison hétérosexuée femelle-mâle (31 animaux) correspond à 54% des chimères à corps double prises en compte (131 animaux sur 242). Le pourcentage observé est assez proche, bien que légèrement supérieur, à la valeur théorique 50%. Ainsi du point de vue statistique, le déficit en chimères femelle-mâle (12%) est en grande partie compensé par l'excès en chimères mâle-mâle. La conclusion s'impose que chez un certain nombre de chimères qui appartenaient embryologiquement à la combinaison hétérosexuée femelle-mâle, les gonades antérieures qui auraient dû normalement évoluer en ovaires, ont été inversées et se sont différenciées en testicules (inversion ovarienne).

4. Chimères hétérosexuées mâle-femelle

Les chimères à corps double mâle-femelle ont toujours des testicules antérieurs bien développés mais les ovaires postérieurs présentent des aspects très divers. Selon l'importance de l'effet free-martin, les ovaires des 50 chimères mâle-femelle peuvent se répartir en trois groupes :

- groupe 1 : pas d'ovocytes (15 cas),
- groupe 2 : quelques ovocytes (12 cas),
- groupe 3 : ovaires avec de nombreux ovocytes mûrs (23 cas).

Pour les 15 animaux du groupe 1, l'effet free-martin est net bien que partiel. Les ovaires sont réduits à de minces bandelettes sans ovocytes discernables (Pl. I, fig. 9). Cependant après l'ablation des testicules antérieurs, les gonades inhibées évoluent en ovaires qui atteignent la maturité sexuelle un à trois ans après la castration antérieure.

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

Pour les 12 animaux du groupe 2, les ovaires postérieurs sont moins inhibés et présentent quelques ovocytes en début de vitellogenèse vers l'âge d'un an. Par la suite, ces ovaires restent dans le même état ou régressent complètement (Pl. I, fig. 13).

Enfin pour les 23 animaux du groupe 3 qui correspondent à la moitié des combinaisons mâle-femelle, les ovaires postérieurs moins volumineux que chez les femelles témoins, renferment de nombreux ovocytes en cours de vitellogenèse dès l'âge d'un an. Il s'agit alors de véritables animaux hermaphrodites qui présentent les caractères externes de la maturité sexuelle mâle avec des testicules antérieurs mais également des ovaires postérieurs à maturité sexuelle. Cependant ces gonades n'ont jamais un volume comparable à celui des animaux témoins (Pl. I, fig. 12).

Les canaux de Wolff et les canaux de Müller de ces chimères hermaphrodites sont hypertrophiés. Certaines pourraient ainsi émettre les spermatozoïdes des testicules antérieurs grâce aux canaux de Wolff et les ovocytes des ovaires postérieurs grâce aux canaux de Müller.

Le nombre total de chimères doubles hétérosexuées mâle-femelle (50 animaux soit un peu moins de 21%) est assez proche, bien que légèrement inférieur, de la prévision théorique (60 animaux, soit 25%). Cette observation renforce la notion selon laquelle l'effet free-martin chez les chimères doubles hétérosexuées dépend de la position relative des gonades : contrairement à la combinaison femelle-mâle, l'inhibition ovarienne est faible dans la combinaison mâle-femelle. Néanmoins l'inversion du phénotype sexuel des ovaires postérieurs est quelquefois possible comme le suggère l'important excès de chimères mâle-mâle qui n'est pas entièrement compensé par le déficit de chimères femelle-mâle. Une première preuve réside dans le nombre de chimères mâle-femelle obtenues (21%) qui est inférieur à la prévision théorique (25%). Une seconde preuve est apportée ci-après.

5. Preuve de l'inversion du sexe chez une chimère à corps double

L'inversion du phénotype sexuel de la partie postérieure femelle, bien que peu fréquente, a été prouvée expérimentalement pour un Axolotl chimère à corps double appartenant à la combinaison hétérosexuée mâle-femelle (fig. 3). À l'âge de 16 mois, cette chimère avait des testicules antérieurs bien développés, ses gonades postérieures étaient des ovotestis avec quelques petits ovocytes au niveau d'un nodule testiculaire. Après l'ablation des testicules antérieurs, les ovocytes ont disparu et les ovotestis ont évolué en testicules fonctionnels quelques mois plus tard. Dès l'âge de 23 mois, cet Axolotl chimère devenu un mâle fonctionnel (néo-mâle ZW) a été croisé avec une femelle standard (fig. 3). La descendance issue de ce croisement comportait 18 mâles et 54 femelles, ce qui correspond exactement à la descendance théorique (un mâle pour trois femelles) lors du croisement d'un néo-mâle ZW, ici l'Axolotl chimère, avec une femelle normale ZW.

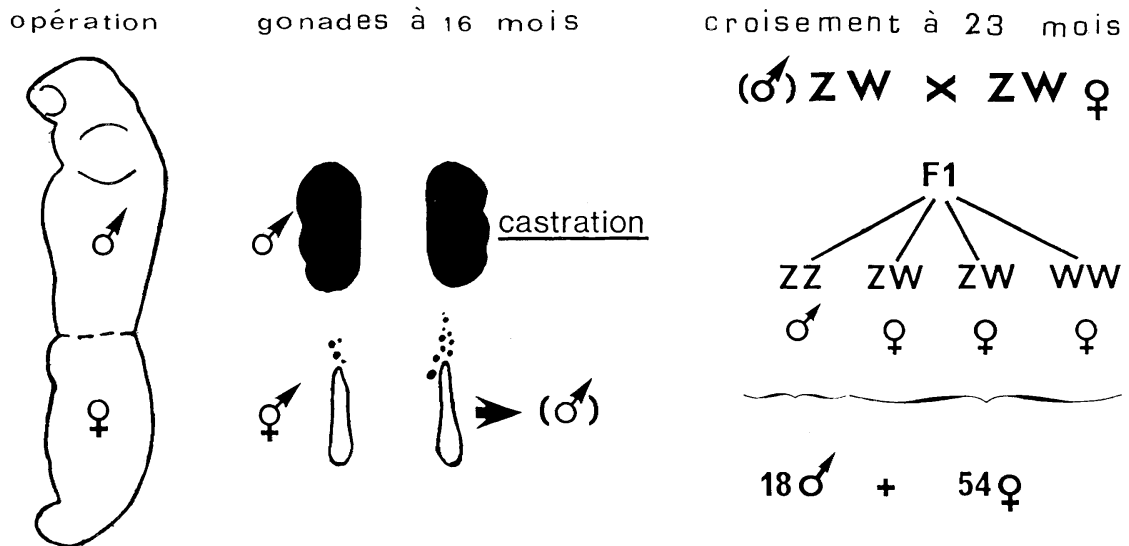


Figure 3

Preuve de l'inversion ovarienne postérieure chez une chimère à corps double Ax - Ax. **Opération** : embryon chimère âgé de 5 jours mâle antérieur - femelle postérieur; **gonades à 16 mois** : testicules antérieurs et ovotestis postérieurs. Après la castration des testicules antérieurs à 16 mois, les ovotestis postérieurs ont évolué en testicules fonctionnels (néo-mâle). **Croisement à 23 mois** : le croisement de cet animal (néo-mâle ZW) avec un Axolotl femelle standard (ZW) a donné une descendance composée de 18 mâles et de 54 femelles (sex-ratio 1/3).

6. Cas des trichimères

Les trichimères obtenues chez l'Axolotl avec trois parties d'embryons différents (chimères Ax - Ax - Ax) ne donnent pas lieu à des combinaisons sexuelles triples (HOUILLOIN, 1984).

La partie antérieure d'une trichimère provient toujours d'un embryon sectionné en avant de la région génitale présomptive. De la sorte, une chimère Ax - Ax - Ax ne peut pas avoir de glandes génitales dans sa partie antérieure et les combinaisons sexuelles des trichimères correspondent aux quatre combinaisons sexuelles classiques comme pour les bichimères.

Chimères allogéniques à corps simple

1. Chimères *P.w* - *P.w*, *alp-alp* et Ax - Ax

La localisation des ébauches gonadiques présomptives n'est connue avec précision que chez *P. waltl* (CAPURON, 1972). Cependant la réalisation de nombreuses chimères à corps double ayant deux paires de glandes génitales a permis d'avoir une assez bonne approximation de la localisation de la région gonadique présomptive chez le Triton alpestris et chez l'Axolotl de façon à pouvoir sectionner des embryons au niveau moyen

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

de leur région génitale présomptive pour obtenir des chimères hétérosexuées à corps simple. La présente analyse porte sur 203 chimères allogéniques à corps simple P.w - P.w, alp - alp et Ax - Ax qui peuvent être réparties selon les quatre combinaisons sexuelles (tableau 3).

Tableau 3

Combinaisons sexuelles des chimères allogéniques à corps simple.

Chimères simples	♀	♂	♀ - ♂	♂ - ♀	Total
P.w - P.w	40	97	1	15	153
alp - alp	15	19	-	2	36
Ax - Ax	3	9	1	1	14
Total	58	125	2	18	203
%	28,5%	61,5%	10%		

Comme pour les chimères allogéniques à corps double femelle-femelle, le nombre de chimères femelles à corps simple qui correspondent à la combinaison homosexuée femelle-femelle est assez proche de la prévision théorique bien que légèrement supérieure (58 animaux, soit un peu plus de 28% au lieu de 25%). En revanche, et d'une façon encore plus marquée que pour les chimères allogéniques à corps double mâle-mâle, le nombre de chimères mâles à corps simple qui correspondent à la combinaison homosexuée mâle-mâle, est anormalement élevé (125 animaux, soit un peu plus de 61% au lieu de 25%). Il faut donc admettre que plus de la moitié de ces chimères proviennent en réalité des combinaisons hétérosexuées. Chez ces dernières, la partie ovarienne, antérieure ou postérieure, a été totalement inhibée (effet free-martin) ou bien, s'étant intégrée à la partie testiculaire contiguë, la partie ovarienne s'est différenciée en testicule (inversion sexuelle de la partie embryologiquement femelle).

Cependant certaines chimères à corps simple (à peine 10%) ont des gonades intersexuées qui proviennent sans conteste de combinaisons hétérosexuées. L'élément ovarien d'une gonade intersexuée est rarement antérieur, seulement deux cas ont été observés qui correspondent à la combinaison hétérosexuée femelle-mâle. Dans tous les autres cas, les gonades intersexuées présentent une partie antérieure testiculaire et une

partie postérieure ovarienne (18 cas observés qui correspondent à la combinaison hétérosexuée mâle-femelle).

D'après l'aspect des gonades intersexuées et le nombre d'animaux en cause, l'inversion ovarienne est bien plus fréquente dans la combinaison femelle-mâle que dans la combinaison mâle-femelle. On retrouve chez les chimères allogéniques à corps simple des phénomènes comparables et même bien plus marqués que pour les combinaisons hétérosexuées chez les chimères allogéniques à corps double : pour la combinaison femelle-mâle la partie antérieure ovarienne est totalement inhibée ou se différencie en testicule (inversion sexuelle sauf dans 2 cas) alors que pour la combinaison mâle-femelle, la partie postérieure ovarienne peut se différencier (effet free-martin peu important dans 18 cas) ou fréquente inversion sexuelle.

2. Cas des chimères réciproques P.w - P.w

À la suite d'un échange réciproque entre deux embryons sectionnés au niveau moyen de la région génitale présomptive, on peut obtenir deux animaux viables qui constituent une « paire de chimères réciproques ». Les phénomènes observés à propos des chimères à corps simple sont remarquablement confirmés par l'étude des paires de Pleurodèles chimères réciproques. La plupart des 62 paires réciproques P.w - P.w qui ont dépassé le stade de la métamorphose, ont atteint l'âge adulte, certaines paires ont survécu 8 années.

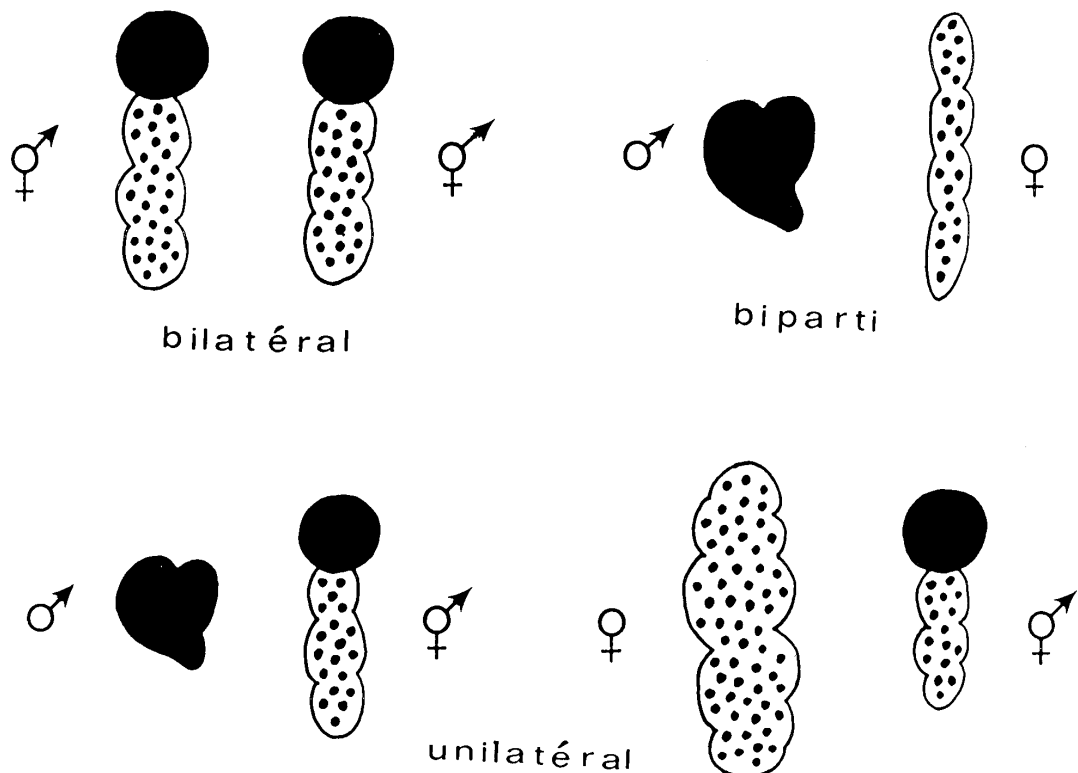


Figure 4

Gonades hermaphrodites chez les chimères adultes à corps simple pour la combinaison hétérosexuée mâle-femelle. L'hermaphroditisme bilatéral est le plus fréquent

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

Lorsque les deux embryons utilisés sont du même sexe, on obtient une paire de Pleurodèles mâles ou une paire de Pleurodèles femelles qui ne diffèrent pas des animaux témoins. Seule, la radiographie qui révèle des anomalies vertébrales au niveau de la suture entre les deux parties, permet de reconnaître l'aspect chimère. Lorsque les deux embryons utilisés ne sont pas du même sexe, on devrait obtenir une paire réciproque hétérosexuée. En réalité, l'une des chimères d'une telle paire est toujours un mâle avec des testicules d'aspect normal ; elle doit correspondre à la combinaison hétérosexuée femelle-mâle. L'autre chimère de la paire a des gonades intersexuées, parfois hermaphrodites à l'âge adulte, constituées le plus souvent d'une partie antérieure testiculaire et d'une partie postérieure ovarienne, ce qui correspond à la combinaison hétérosexuée mâle-femelle dans laquelle l'effet free-martin peu marqué, n'a pas entraîné l'inversion de la partie femelle.

L'aspect de l'hermaphroditisme est différent d'un animal à l'autre (fig. 4). Il peut être souvent « bilatéral » lorsque les deux gonades ont la même disposition anatomique : partie antérieure testiculaire - partie postérieure ovarienne (Pl. II, fig. 18), ou bien « unilatéral » lorsque seulement une gonade est hermaphrodite, l'autre étant le plus souvent un testicule, plus rarement un ovaire, ou encore « biparti » lorsque la chimère possède un testicule d'un côté et un ovaire de l'autre. Tous ces animaux qui manifestent les caractères externes de la maturité sexuelle mâle, callosités aux membres antérieurs pour les chimères P.w - P.w et cloaque turgescent, ont des canaux de Müller comparables à ceux d'une femelle témoin adulte.

3. Preuves de l'inversion du sexe chez une chimère à corps simple

Une double preuve, immunologique et génétique, de l'inversion du sexe de la partie femelle dans la combinaison hétérosexuée mâle-femelle a pu être apportée grâce à l'étude de la descendance d'une chimère P.w - P.w à corps simple qui provenait de l'association entre deux embryons appartenant à deux lignées histocompatibles différentes (HOUILLON et DOURNON, 1980). Il existe chez le Pleurodèle deux lignées désignées AA et BB chez lesquelles A et B sont les allèles d'un même gène d'histocompatibilité qui s'expriment d'une façon co-dominante (CHARLEMAGNE et TOURNEFIER, 1974). Les animaux AA tolèrent les allogreffes de peau en provenance de la lignée AA mais rejettent les allogreffes de peau en provenance de BB ; inversement les animaux BB tolèrent les allogreffes BB mais rejettent les allogreffes AA ; les animaux AB tolèrent les allogreffes en provenance de AA et de BB.

Une paire de chimères réciproques âgées d'un an issue de l'association entre un embryon mâle AA et un embryon femelle BB comprenait un animal d'aspect neutre et un animal d'aspect mâle avec les caractères externes de la maturité sexuelle. La chimère neutre s'est révélée de constitution antérieure femelle BB - postérieure mâle AA d'après l'analyse des allogreffes de peau prélevées sur chacune de ses parties. Cette chimère BB - AA avait un ovaire du côté gauche et une gonade intersexuée du côté droit constituée d'un élément antérieur ovarien BB et d'un nodule postérieur testiculaire AA (fig. 5). Il s'agissait de l'un des deux seuls cas de gonade intersexuée pour la combinaison hétérosexuée femelle-mâle. La chimère réciproque à maturité sexuelle mâle s'est révélée de constitution antérieure AA - postérieure BB d'après l'analyse des allogreffes de peau

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

prélevées sur chacune de ses parties. La chimère AA-BB qui aurait dû avoir des gonades intersexuées (testicules pour la partie antérieure - ovaires pour la partie postérieure) avait en réalité un petit testicule à gauche et un testicule d'aspect normal à droite (fig. 5). La partie postérieure ovarienne était soit totalement inhibée (effet free-martin), soit différenciée en testicule (inversion sexuelle). La seconde éventualité a pu être prouvée à la suite du croisement de cette chimère AA - BB avec une femelle standard AA.

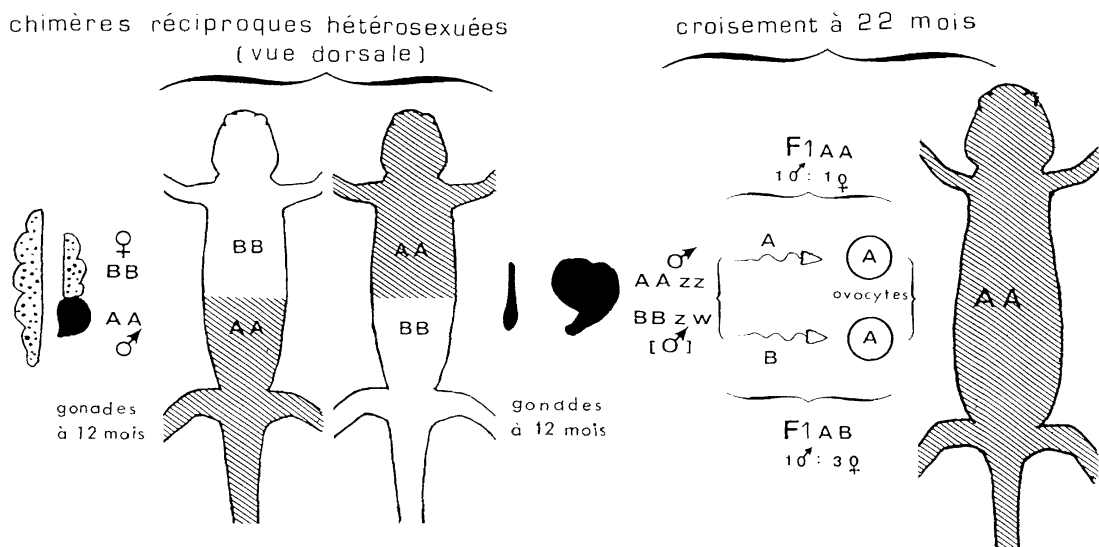


Figure 5

Preuves immunologique et génétique de l'inversion ovarienne chez une chimère à corps simple P.w - P.w. "A" et "B" sont des gènes d'histocompatibilité co-dominants chez le Pleurodèle. A l'âge d'un an, la chimère "BB - AA" qui était une combinaison femelle-mâle, possédait un ovaire du côté gauche et une gonade hermaphrodite du côté droit (vue dorsale). La chimère réciproque "AA - BB" qui devait être la combinaison mâle-femelle, ne possédait que des testicules. A l'âge de 22 mois, la chimère mâle "AA - BB" a été croisée avec une femelle standard "AA". Cette chimère mâle a émis des spermatozoïdes "A" et des spermatozoïdes "B" puisque la descendance issue de ce croisement comprenait des animaux "AA" (sex-ratio 1/1) et des animaux "AB" (sex-ratio 1/3) comme dans le croisement entre un néo-mâle ZW et une femelle standard ZW).

Les animaux F 1 issus de ce croisement furent testés avec des allogreffes de peau AA et BB. Certains animaux ont toléré toutes les allogreffes AA mais ils ont rejeté toutes les allogreffes BB. Il s'agissait par conséquent de Pleurodèles AA qui provenaient de la fécondation des ovocytes A de la femelle standard par les spermatozoïdes A qui provenaient de la partie antérieure AA du testicule de la chimère. Les autres animaux de cette même descendance ont toléré à la fois les allogreffes AA et les allogreffes BB. Il s'agissait donc de Pleurodèles AB qui provenaient de la fécondation des ovocytes A de la femelle standard par les spermatozoïdes B issus de la partie postérieure BB du testicule de la chimère.

La présence d'animaux AB est une première preuve d'ordre immunologique qui implique une inversion sexuelle puisqu'il y a eu formation de spermatozoïdes B dans la partie postérieure BB du testicule qui était embryologiquement femelle. De plus, la sex-ratio des 29 animaux AB, dont 6 mâles et 23 femelles soit approximativement un mâle

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

pour trois femelles, est une seconde preuve d'ordre génétique d'une inversion sexuelle. Une telle sex-ratio s'observe dans la descendance issue du croisement entre un Pleurodèle femelle standard ZW et un Pleurodèle néo-mâle ZW (DOURNON et HOUILLON, 1984). Dans le cas présent d'une combinaison sexuelle mâle-femelle chez la chimère AA - BB, au contact de la partie antérieure mâle AA, la partie postérieure femelle BB s'est différenciée en testicule fonctionnel (néo-mâle ZW).

Chimères xénogéniques à corps souple

La survie nettement plus faible des chimères xénogéniques comparativement aux chimères allogéniques rend difficile l'analyse des interactions entre glandes génitales de sexe différent. Il est toujours délicat en présence d'une inhibition ovarienne, de faire la part entre un effet free-martin et un retard de développement gonadique. Chez les chimères xénogéniques à corps simple, aucune combinaison sexuelle ne se trouve réalisée ; ces animaux proviennent de l'association entre la partie antérieure d'un embryon sectionné en avant de la région génitale présomptive et la partie postérieure complémentaire d'un autre embryon qui renferme la totalité de la région génitale présomptive. De la sorte, une chimère xénogénique à corps simple ne possède que les gonades de sa partie postérieure.

En revanche pour les chimères xénogéniques à corps double, les quatre combinaisons sexuelles classiques sont réalisées comme pour les chimères allogéniques à corps double. Sur les 139 associations xénogéniques à corps double prises en compte pour l'analyse morphologique (HOUILLON, 1999) certaines n'ont pas été retenues par suite de leur état cachectique. La présente analyse porte sur 122 animaux répartis selon les quatre combinaisons sexuelles indiquées dans le tableau 4.

Pour les chimères allogéniques à corps double, on observait une remarquable similitude dans les pourcentages des diverses combinaisons sexuelles quel que soit le type d'association (tableau 1 : P.w - P.w, alp - alp, Ax - Ax). De plus, l'excès d'animaux pour une combinaison (mâle-mâle) s'expliquait facilement par le déficit d'animaux pour une autre combinaison (femelle-mâle) consécutive à l'inversion de la partie antérieure femelle. Mais pour les chimères xénogéniques à corps double, les pourcentages des diverses combinaisons sexuelles diffèrent fortement d'une association à l'autre, par exemple entre P.w - alp et alp - Ax et même parfois selon le sens de l'association, par exemple entre alp - palm et palm - alp.

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

Tableau 4

Combinaisons sexuelles des chimères xénogéniques à corps double. Ax : Axolotl ; P.w : *Pleurodeles waltl* ; P.p : *Pleurodeles poireti* ; alp : *Triturus alpestris* ; cr : *Triturus cristatus* ; palm : *Triturus helveticus* ; vulg : *Triturus vulgaris*. Les chimères xénogéniques entre deux espèces différentes sont réalisées sensiblement en même nombre dans un sens ou dans l'autre. Néanmoins la viabilité des animaux dépend du sens de l'association : par exemple seulement 11 chimères P.w - alp mais 28 chimères alp - P.w ou 4 chimères Ax - alp mais 35 chimères alp - Ax.

	♀ - ♀	♂ - ♂	♀ - ♂	♂ - ♀	Total
P.w - alp	3	1	2	5	11
alp - P.w	8	6	4	10	28
P.w - palm	3	2	-	1	6
palm - P.w	1	-	-	-	1
alp - palm	8	8	5	4	25
palm - alp	1	-	-	-	1
Ax - alp	1	1	-	2	4
alp - Ax	4	3	11	17	35
Ax - P.w	2	-	1	1	4
cr - Ax	1	-	-	-	1
alp - cr	2	-	-	1	3
P.w - P.p	-	-	-	2	2
vulg - palm	1	-	-	-	1
Total	35	21	23	43	122
%	28,7%	17,2%	18,8%	35,3%	

Aucune explication basée sur l'inversion du sexe ne peut rendre compte de l'excès d'animaux pour une combinaison sexuelle (mâle-femelle) par rapport au déficit d'animaux pour une autre combinaison (mâle-mâle ou femelle-mâle). D'après les pourcentages indiqués dans le tableau 4, il ne semble pas y avoir d'inversion sexuelle chez les chimères xénogéniques à corps double.

Pour les combinaisons homosexuées femelle-femelle à corps double, on peut reconnaître les ovaires antérieurs juvéniles d'une espèce et les ovaires postérieurs également juvéniles d'une autre espèce au niveau desquels on observe parfois un début de

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

vitellogénèse. De même pour les combinaisons homosexuées mâle-mâle à corps double, on peut reconnaître des testicules antérieurs et des testicules postérieurs qui n'atteignent qu'exceptionnellement la maturité sexuelle.

Pour les combinaisons hétérosexuées, on retrouve encore un effet free-martin selon la position des gonades. Ainsi pour la combinaison femelle-mâle, les ovaires antérieurs toujours totalement inhibés, sont réduits à l'état de minces tractus blanchâtres sans cellules germinales alors que les testicules postérieurs peuvent parfois atteindre la maturité sexuelle. Pour les quelques animaux de la combinaison mâle-femelle qui ont pu atteindre l'état adulte, l'effet free-martin est pratiquement nul. Les testicules antérieurs sont plus ou moins importants et les ovaires postérieurs ont des ovocytes en cours de vitellogénèse (fig. 19). Les canaux de Müller débutent par un ostium au niveau de la partie antérieure et se poursuivent dans la partie postérieure. Ainsi une chimère P.w - alp de la combinaison mâle-femelle peut présenter les caractères externes de la maturité sexuelle mâle, elle a cependant des oviductes hypertrophiés qui débutent dans la partie antérieure *P. waltl* et se poursuivent jusqu'au cloaque dans la partie postérieure *T. alpestris*. Le net excès de chimères xénogéniques à corps double pour la combinaison hétérosexuée mâle-femelle demeure énigmatique.

Chimères germinales allogéniques

Une chimère est dite « germinale » quand elle est capable d'émettre des gamètes en provenance de chacune de ses deux parties. Seules ont été « germinales » des chimères allogéniques à corps double qui correspondaient aux combinaisons homosexuées. Compte tenu des interactions entre glandes génitales de sexe différent dans les combinaisons hétérosexuées, les chimères femelle-mâle et mâle-femelle qui atteignent la maturité sexuelle ne peuvent, en pratique, qu'émettre les gamètes en provenance de la partie mâle même si certaines chimères mâle-femelle ont des ovaires avec des ovocytes mûrs. Par contre, pour les combinaisons homosexuées, les gamètes peuvent être produits dans chaque partie, il est alors nécessaire que les canaux de Müller soient correctement raccordés chez les chimères femelle-femelle (Pl. I, fig. 8) et que les canaux de Wolff soient bien raccordés chez les chimères mâle-mâle (Pl. I, fig. 11).

Les chimères allogéniques à corps simple et à corps double atteignent la maturité sexuelle dans les mêmes délais que les animaux témoins de l'espèce considérée. Chez les animaux femelle-femelle à corps double, les ovocytes des ovaires antérieurs sont le plus souvent dans le même état de vitellogénèse que les ovocytes des ovaires postérieurs. Chez les animaux mâle-mâle à corps double, les testicules antérieurs renferment des spermatozoïdes tout comme les testicules postérieurs.

L'état fonctionnel simultané des gonades antérieures et postérieures dans les combinaisons allogéniques homosexuées a pu être prouvé en utilisant les marqueurs de pigmentation chez l'*Axolotl*. Les chimères sont réalisées entre des embryons de la souche albinos (génotype aa) dont les œufs sont dépigmentés et des embryons de la souche sauvage ou de la souche blanche (génotype AA) dont les œufs sont pigmentés.

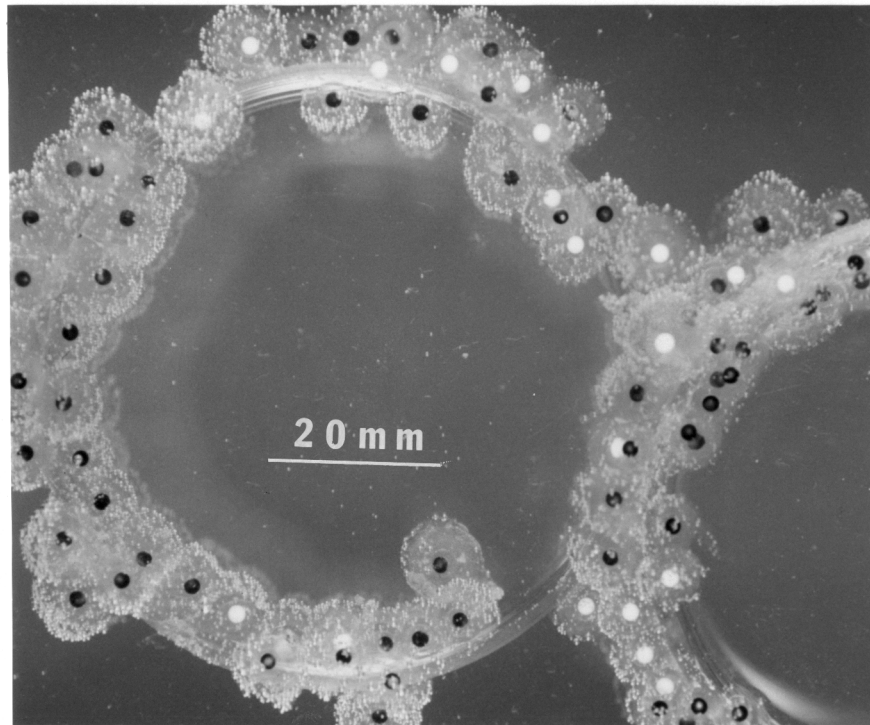


Figure 6

Ponte émise par un Axolotl femelle à corps double (femelle-femelle). Cette chimère est "germinale" puisqu'elle pond en même temps des oeufs dépigmentés issus de sa partie "albinos" et des oeufs pigmentés issus de sa partie "sauvage".

Des Axolotls chimères à corps double aa - AA et AA - aa de la combinaison homo-sexuée femelle-femelle, ont émis en même temps des œufs dépigmentés (ovocytes « a ») issus de la partie albinos et des œufs pigmentés (ovocytes « A ») issus de la partie sauvage (fig. 6) ; ce qui rend compte de la maturité sexuelle simultanée aussi bien des ovaires antérieurs que des ovaires postérieurs (HOUILLOIN, 1992).

L'émission de deux catégories de spermatozoïdes par les chimères mâles Ax - Ax à corps double a été prouvée à la suite de croisements appropriés. Par exemple, une femelle albinos standard (génotype aa) fut accouplée avec une chimère mâle-mâle à corps double qui correspondait à l'association partie antérieure albinos (aa) - partie postérieure blanche (AA) (fig. 7). Tous les œufs émis par la femelle standard puis tous les embryons étaient albinos. Par la suite, une partie des jeunes larves sont restées albinos alors que chez les autres, des mélanophores sont apparus vers l'âge de 10 jours puis ces jeunes larves se sont progressivement pigmentées pour acquérir le phénotype sauvage. Il faut donc admettre l'émission simultanée de deux catégories de spermatozoïdes par la chimère mâle-mâle : des spermatozoïdes « a » pour la partie antérieure albinos (larves qui sont restées albinos, génotype aa et phénotype albinos) et des spermatozoïdes A pour la partie postérieure (larves qui se sont pigmentées, génotype aA mais phénotype sauvage).

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

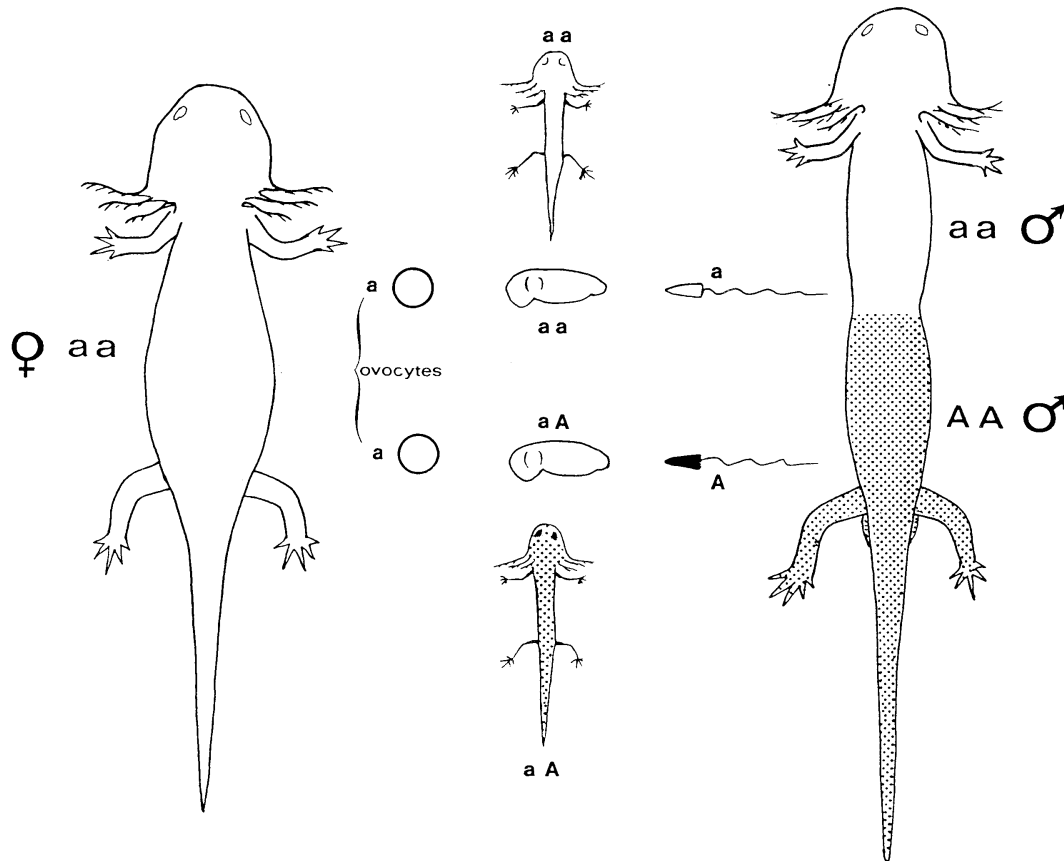


Figure 7

Preuve de l'émission de deux catégories de spermatozoïdes par une chimère germinale à corps double Ax - Ax de la combinaison mâle-mâle. Femelle aa : Axolotl femelle albinos qui pond uniquement des ovocytes albinos "a" ; mâle aa : Axolotl mâle albinos qui émet des spermatozoïdes "a" ; mâle AA : Axolotl mâle sauvage qui émet des spermatozoïdes "A". La chimère est un animal à corps double partie antérieure albinos aa - partie postérieure sauvage AA. Cette chimère a émis simultanément des spermatozoïdes "a" pour sa partie antérieure et des spermatozoïdes "A" pour sa partie postérieure. En effet, la fécondation des ovocytes "a" par les spermatozoïdes "a" a donné des embryons albinos qui ont évolué en larves albinos "aa" (génotype homozygote, phénotype albinos). La fécondation des ovocytes "a" par les spermatozoïdes "A" a donné des embryons albinos mais qui ont évolué en larves pigmentées "aA" (génotype hétérozygote, phénotype sauvage).

Maturité et comportement sexuels des chimères xénogéniques

1. Maturité sexuelle

La réalisation délicate et le faible rendement opératoire des chimères xénogéniques n'ont pas encore permis d'obtenir des chimères germinales à partir de l'association entre deux embryons qui appartiendraient à des espèces différentes. Cependant de telles chimères sont concevables puisque certaines associations xénogéniques atteignent l'état adulte ainsi qu'il est indiqué dans le tableau 5. Mais il s'agit exclusivement de chimères dont la partie antérieure provient d'un embryon sectionné en avant de la région génitale présomptive et par conséquent toujours de chimères à corps simple. Les glandes

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

génitales de ces chimères sont uniquement celles de sa partie postérieure. On peut remarquer que la sex-ratio des chimères est conforme à la normale (136 mâles / 132 femelles) et que la maturité sexuelle est atteinte dans les mêmes proportions pour les mâles que pour les femelles (25 animaux pour la maturité sexuelle mâle et 26 animaux pour la maturité sexuelle femelle). Les diverses associations xénogéniques parmi lesquelles aucune chimère n'a atteint la maturité sexuelle, en particulier toutes celles avec l'Axolotl, ne sont pas prises en considération dans le tableau 5.

Tableau 5

Chimères xénogéniques à corps simple ayant atteint la maturité sexuelle. Mêmes abréviations que pour le tableau 4. Les « chimères viables » pour chaque association correspondent aux animaux pris en compte à partir de l'âge de trois mois. Sur un total de 268 chimères xénogéniques à corps simple, 25 mâles sur 136 ont atteint la maturité sexuelle mâle et 26 femelles sur 132 ont atteint la maturité sexuelle femelle. Ainsi, près de 20% des chimères xénogéniques peuvent atteindre la maturité sexuelle.

chimères à corps simple	P.w alp	P.w palm	palm P.w	P.w vulg	vulg P.w	P.w P.p	P.p P.w	alp palm	palm alp	alp cr	cr alp	alp P.p
mat.sexuelle mâle (25)	10	6	1	3	1	-	-	1	1	1	1	-
mat.sexuelle femelle (26)	6	8	1	2	-	1	2	3	-	1	1	1
total de mat. sexuelle (51)	16	14	2	5	1	1	2	4	1	2	2	1
chimères viables	♂ (136) 57	38	25	4	5	-	-	1	3	2	1	-
	♀ (132) 43	35	29	5	5	1	2	4	3	2	1	2
	total (268) 100	73	54	9	10	1	2	5	6	4	2	2

La présence de caractères sexuels secondaires rend compte de la maturité sexuelle mâle : turgescence du cloaque dans tous les cas, callosités aux membres antérieurs lorsque ces derniers sont de type *Pleurodeles* (Pl. II, fig. 14), coloration plus vive de la partie *T. alpestris*, de la partie *T. vulgaris* (Pl. II, fig. 15) ou de la partie *T. cristatus*, extrémité de la queue très fine lorsque la partie postérieure est de type *T. helveticus* (Pl. II, fig. 16).

La maturité sexuelle femelle se reconnaît parfois extérieurement par la distension de l'abdomen mais plus communément à la suite d'une laparotomie qui permet d'observer des ovocytes en fin de vitellogenèse (Pl. II, fig. 17) et parfois même, à la suite de l'émission spontanée d'ovocytes sans accouplement préalable. Dans ce dernier cas, il s'agit uniquement des ovocytes issus des ovaires situés dans la partie postérieure.

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

2. Comportement sexuel

La comportement sexuel a été suivi dans le cas d'un couple de chimères P.w - alp (chimères xénogéniques partie antérieure *P. waltl* - partie postérieure *T. alpestris*) (HOUILLON, 1992). Chez *Pleurodeles* on observe un amplexus au moment de la reproduction : le mâle qui se place sous la femelle, maintient fortement les membres antérieurs de sa partenaire en se servant des callosités apparues sur ses propres membres antérieurs. Cet amplexus peut persister durant plusieurs heures au cours desquelles le mâle dépose ses spermatophores. Chez *Triturus alpestris*, comme chez la plupart des espèces du genre *Triturus*, il n'y a pas d'amplexus. À l'époque de la reproduction, le mâle qui revêt une belle coloration dorsale bleu-acier et une coloration ventrale orangée, effectue une parade en flairant la femelle notamment au niveau du cloaque. Puis, tout en demeurant au voisinage de sa partenaire, il replie la queue le long de son flanc, celle-ci étant animée de rapides ondulations.

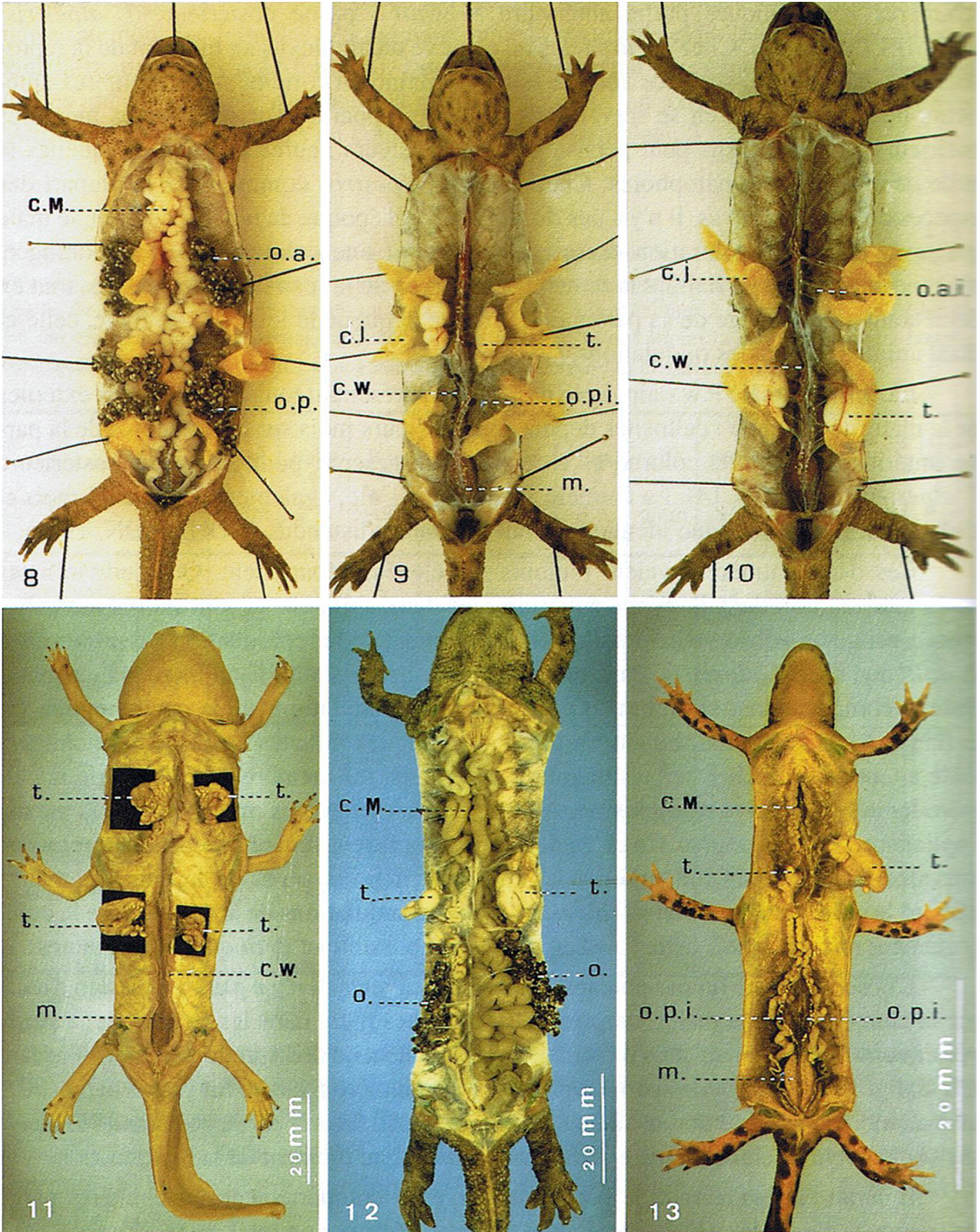
La chimère mâle P.w - alp, âgée de 21 mois, présentait tous les caractères externes de la maturité sexuelle : callosités depuis déjà plusieurs mois sur les membres de la partie antérieure *P. waltl*, coloration et cloaque turgescent pour la partie postérieure *T. alpestris* (Pl. II, fig. 14). La chimère femelle P.w - alp, également âgée de 21 mois et d'un aspect morphologique identique, avait les flancs distendus (HOUILLON, 1992).

Ces deux chimères avaient toujours été élevées séparément. Quelques minutes après leur réunion dans le même aquarium, les deux animaux se sont flairés mutuellement ainsi qu'on l'observe habituellement au moment de la reproduction aussi bien chez *P. waltl* que chez *T. alpestris*. Puis, environ une heure plus tard, la chimère mâle a manifesté le comportement sexuel mâle de *T. alpestris* (ondulations de la queue repliée sur le flanc). Mais ce comportement n'a duré que quelques minutes après quoi, la chimère mâle a tenté d'accrocher par ses membres antérieurs, les membres antérieurs de la chimère femelle (tentative d'amplexus). Après plusieurs tentatives infructueuses, la parade nuptiale ne s'est pas poursuivie et les deux animaux furent séparés. Cependant, remis en présence le lendemain, on observa les mêmes comportements de la chimère mâle : d'abord le comportement mâle *T. alpestris* avec les ondulations de la queue, puis le comportement mâle *P. waltl*, cette fois l'amplexus fut possible et dura quelques minutes.

L'observation ne fut pas poursuivie les jours suivants. Il n'y a pas eu émission d'œufs par la chimère femelle malgré la présence d'ovocytes mûrs dans les ovaires de la partie postérieure *T. alpestris* ainsi qu'il fut observé au moment de la dissection un mois plus tard (Pl. II, fig. 17). Le dépôt de spermatophores par la chimère mâle ne fut pas recherché. Cet animal, mort à l'âge de 3 ans, avait un tractus uro-génital dans la partie postérieure *T. alpestris* comparable à celui d'un mâle *T. alpestris* standard au moment de la reproduction.

Il aurait été intéressant de pouvoir observer le comportement des chimères partie antérieure *T. alpestris* – partie postérieure *P. waltl*. Mais sur un total de 86 chimères alp - P.w, à corps simple et à corps double, aucune n'a pu atteindre la maturité sexuelle même chez les quatre animaux (un mâle et trois femelles) qui ont dépassé l'âge de quatre ans.

Les deux comportements sexuels manifestés par la chimère mâle P.w - alp sont également possibles pour les chimères partie antérieure *P. waltl* - partie postérieure *T. helveticus* (chimères P.w - palm) et pour les chimères partie antérieure *P. waltl* - partie postérieure *T. vulgaris* (chimères P.w - vulo). À plusieurs reprises il a été observé



Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

chez de telles chimères, âgées au moins de deux ans et isolées, la présence de callosités sur les membres de la partie antérieure *P. waltl* alors que la queue de la partie postérieure *T. helveticus* (Pl. II, fig. 16) ou *T. vulgaris* était repliée sur le flanc et animée d'ondulations rapides malgré l'absence de femelles dans le voisinage.

Discussion

Le présent travail est basé sur la greffe embryonnaire en chimère chez les Amphibiens Urodèles en vue de réaliser des associations entre des ébauches gonadiques qui proviennent de deux embryons différents. Ceux-ci peuvent être du même sexe (combinaisons homosexuées femelle-femelle et mâle-mâle) ou de sexe différent (combinaisons hétérosexuées femelle-mâle et mâle-femelle). L'originalité de cette technique et son avantage par rapport à la parabiose ou à la greffe d'ébauches gonadiques présomptives sont d'obtenir des animaux viables dont le développement est comparable à celui des animaux témoins puisque certains peuvent se reproduire.

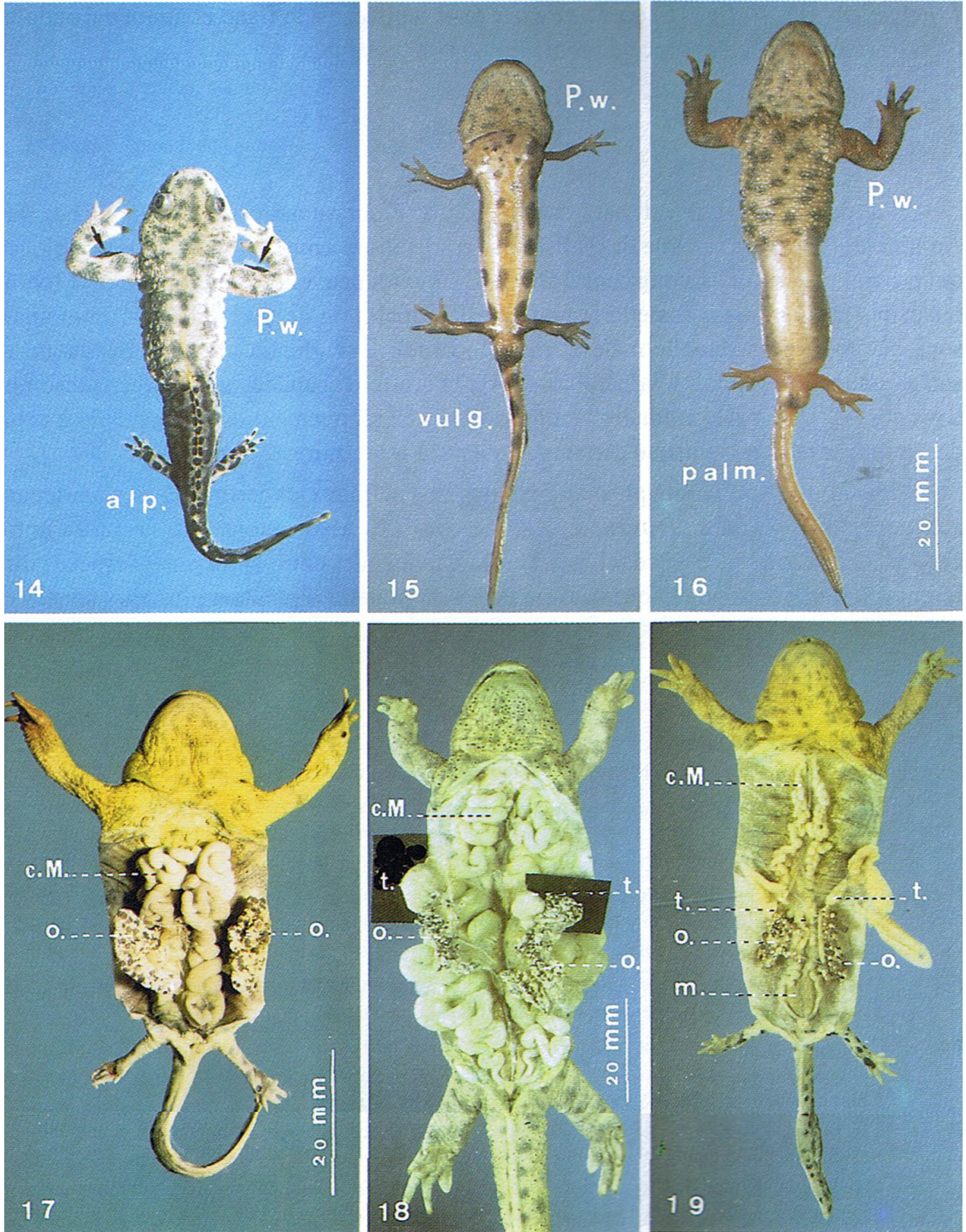
L'analyse a porté sur plusieurs centaines d'animaux expérimentaux appartenant aux genres *Pleurodeles*, *Triturus* et *Ambystoma*. Les associations ont été faites entre embryons de la même espèce (chimères allogéniques) et entre embryons d'espèces différentes (chimères xénogéniques). L'élevage s'est poursuivi pendant plusieurs années et

Planche 1

- Fig. 8 Combinaison homosexuée femelle antérieur - femelle postérieur (femelle-femelle) chez une chimère adulte à corps double P.w - P.w : quatre ovaires à maturité sexuelle. 32 mois, 200 mm.
- Fig. 9 Combinaison hétérosexuée mâle antérieur - femelle postérieur (mâle-femelle) chez une chimère adulte à corps double P.w - P.w : testicules antérieurs normaux - inhibition totale des ovaires postérieurs. 32 mois, 210 mm.
- Fig. 10 Combinaison hétérosexuée femelle antérieur - mâle postérieur (femelle-mâle) chez une chimère adulte à corps double P.w - P.w : inhibition totale des ovaires antérieurs - testicules postérieurs normaux. 32 mois, 220 mm.
- Fig. 11 Combinaison homosexuée mâle antérieur - mâle postérieur (mâle-mâle) chez une chimère adulte à corps double Ax - Ax : quatre testicules d'aspect normal. 54 mois, 170 mm.
- Fig. 12 Combinaison hétérosexuée mâle antérieur - femelle postérieur (mâle-femelle) chez une chimère adulte à corps double P.w - P.w : testicules antérieurs normaux - ovaires postérieurs peu inhibés à maturité sexuelle (animal hermaphrodite). 34 mois, 210 mm.
- Fig. 13 Combinaison hétérosexuée mâle antérieur - femelle postérieur (mâle-femelle) chez une chimère adulte à corps double alp - alp : testicules antérieurs normaux - ovaires postérieurs inhibés mais avec quelques ovocytes en cours de vitellogenèse; présence de membres surnuméraires qui sont les membres antérieurs de la partie postérieure. 36 mois, 85 mm.

8, 9 et 10 : photographies de dissections avant la fixation, les corps adipeux jaunes n'ont pas été enlevés. 11, 12 et 13 : photographies de dissections après la fixation, les corps jaunes adipeux sont enlevés. Même échelle pour les figures 8, 9, 10 et 11.

c.j. : corps jaune adipeux ; c.M. : canal de Müller ; c.W. : canal de Wolff ; m. : mésonéphros ; o. : ovaire ; o.a. : ovaire antérieur ; o.a.i. : ovaire antérieur inhibé ; o.p. : ovaire postérieur ; o.p.i. : ovaire postérieur inhibé ; t. : testicule



Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

même jusqu'à 15 ans pour certaines chimères allogéniques. Enfin la pratique systématique des laparotomies pour observer le tractus uro-génital a permis de suivre l'évolution d'une même combinaison sexuelle chez un animal donné depuis l'état juvénile à l'âge de quelques mois, puis à l'état adulte vers deux à trois ans jusqu'à l'observation finale au moment de la dissection parfois plus de dix ans après la première observation. Lors d'une laparotomie, l'ablation des testicules a été faite pour suivre ensuite le devenir des gonades femelles dont la différenciation avait subi l'influence inhibitrice ou masculinisante des gonades mâles (effet free-martin).

Résultats généraux

Le grand nombre de chimères réalisées pour chaque combinaison sexuelle permet de dégager les résultats généraux suivants valables surtout pour les associations allogéniques :

– les chimères à corps double pour la combinaison homosexuée femelle-femelle ont toujours des ovaires antérieurs et des ovaires postérieurs bien développés ; les chimères à corps simple pour cette combinaison ont des ovaires comparables à ceux des femelles témoins ;

Planche 2

- Fig. 14 Chimère xénogénique à corps simple P.w - alp. Maturité sexuelle mâle attestée par la présence de callosités aux membres antérieurs *P. waltl* (flèches) et la coloration de la partie postérieure *T. alpestris*. Cette chimère a manifesté le comportement sexuel mâle *P. waltl* et le comportement sexuel mâle *T. alpestris*. 22 mois, 85 mm.
- Fig. 15 Chimère xénogénique à corps simple P.w - vulg (tête *P. waltl* - corps *T. vulgaris*). Maturité sexuelle mâle attestée par la coloration du corps *T. vulgaris* et la turgescence du cloaque. 24 mois, 85 mm.
- Fig; 16 Chimère xénogénique à corps presque double P.w - palm. Maturité sexuelle mâle attestée par la turgescence du cloaque et l'extrémité effilée de la queue *T. helveticus*. 32 mois, 95 mm.
- Fig. 17 Chimère xénogénique à corps simple P.w - alp : ovaires *T. alpestris* à maturité sexuelle. Noter la continuité des canaux de Müller entre la partie antérieure *P. waltl* et la partie postérieure *T. alpestris*. 22 mois, 85 mm.
- Fig. 18 Chimère allogénique à corps simple P.w - P.w : hermaphrodisme bilatéral (testicules antérieurs et ovaires postérieurs à maturité sexuelle). Noter les canaux de Müller hypertrophiés. 55 mois, 160 mm.
- Fig. 19 Chimère xénogénique à corps presque double P.w - alp : petits testicules antérieurs *P. waltl* - ovaires postérieurs *T. alpestris* peu inhibés avec des ovocytes en cours de vitellogenèse. Noter la continuité des canaux de Müller entre la partie antérieure *P. waltl* et la partie postérieure *T. alpestris*. 35 mois, 75 mm.

alp. : *Triturus alpestris* ; palm. : *Triturus helveticus* ; P.w. : *Pleurodeles waltl* ; vulg. : *Triturus vulgaris*. Même échelle pour les figures 14, 15 et 16; même échelle pour les figures 18 et 19. c.j. : corps jaune ; c.M. : canal de Müller ; c.W. : canal de Wolff ; m. : mésonéphros ; o. : ovaire ; o.a.i. : ovaire antérieur inhibé ; o.p. : ovaire postérieur ; o.p.i. : ovaire postérieur inhibé ; t. : testicule

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

- les chimères à corps double pour la combinaison homosexuée mâle-mâle ont des testicules antérieurs dont l'un reste parfois à l'état vestigial et des testicules postérieurs toujours bien développés ; les chimères à corps simple pour cette combinaison ont des testicules comparables à ceux des mâles témoins ;
- les chimères à corps double pour la combinaison hétérosexuée mâle-femelle ont toujours des ovaires antérieurs profondément inhibés ou inversés en testicules alors que les testicules postérieurs sont toujours bien développés ; les chimères à corps simple pour cette combinaison hétérosexuée ont uniquement des testicules qui sont comparables le plus souvent à ceux des mâles témoins ;
- les chimères à corps double pour la combinaison hétérosexuée mâle-femelle ont toujours des testicules antérieurs bien développés et des ovaires postérieurs qui présentent les aspects les plus divers depuis l'inhibition sub-totale jusqu'au développement presque normal (animaux hermaphrodites) ; les chimères à corps simple pour cette combinaison hétérosexuée ont soit des testicules normaux soit des ovotestis (gonades hermaphrodites chez l'adulte).

D'une manière générale, l'effet free-martin (inhibition ovarienne) chez les chimères pour les combinaisons hétérosexuées dépend de la position relative des gonades : l'inhibition ovarienne est importante avec parfois même une inversion ovarienne lorsque les ovaires sont antérieurs par rapport aux testicules, en revanche, l'inhibition ovarienne est faible et même parfois nulle lorsque les ovaires sont postérieurs par rapport aux testicules.

Chez les chimères à corps double femelle-femelle, les ovaires antérieurs atteignent la maturité sexuelle en même temps que les ovaires postérieurs, ce qui permet d'avoir l'émission simultanée des ovocytes en provenance des quatre ovaires dans la mesure où les canaux de Müller antérieurs et postérieurs sont correctement raccordés. Si le mésovarium de l'ovaire antérieur est en continuité avec celui de l'ovaire postérieur situé du même côté, il y a continuité entre les deux ovaires situés de ce côté.

L'observation macroscopique attentive des ovaires chez les chimères à corps double femelle-femelle permet d'affirmer qu'il n'y a pas de migration des cellules germinales primordiales dès le début du jeune bourgeon caudal dans le cas des Amphibiens Urodèles. En effet, les chimères sont réalisables dès la fin du stade neurula et lorsqu'il s'agit d'une chimère Ax - Ax entre un embryon dépigmenté de la souche albinos et un embryon pigmenté de la souche sauvage ou de la souche blanche, on n'observe jamais chez l'animal adulte, des ovocytes pigmentés dans les ovaires « albinos » ou des ovocytes dépigmentés dans les ovaires « sauvages » ou les ovaires « blancs ». Et même dans le cas d'une chimère à corps simple, on reconnaît nettement la démarcation entre la partie « albinos » qui renferme des ovocytes dépigmentés et la partie « sauvage » ou « blanche » qui renferment des ovocytes pigmentés.

Chez les chimères à corps double mâle-mâle, l'un des testicules antérieurs peut être très réduit, cependant il suffit de pratiquer l'ablation des trois testicules normaux pour que le testicule vestigial se développe rapidement et devienne fonctionnel quelques mois plus tard.

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

Appareil excréteur

Dans sa partie antérieure, une chimère à corps double a toujours de chaque côté un pronéphros normal et un mésonéphros plus ou moins complet. Pour sa partie postérieure, le pronéphros est présent si l'animal possède une ceinture scapulaire avec éventuellement des membres surnuméraires et le mésonéphros est toujours complet. Dans le cas d'une chimère à corps simple, le pronéphros est normal de chaque côté tandis que le mésonéphros provient à la fois de la partie antérieure et de la partie postérieure. Quelle que soit la chimère considérée, sa survie nécessite une physiologie rénale normale et par conséquent la présence d'uretères primaires, au moins d'un côté, correctement raccordés entre la partie antérieure et la partie postérieure pour assurer l'excrétion. De la sorte, une chimère mâle possède nécessairement, au moins d'un côté, un canal de Wolff fonctionnel qui, lorsqu'il s'agit d'un mâle adulte à corps double, assure l'émission des spermatozoïdes antérieurs et postérieurs des testicules situés du même côté.

Freemartinisme des chimères allogéniques à corps double

Les chimères à corps double femelle-mâle ont toujours des testicules postérieurs bien développés alors que les ovaires antérieurs sont toujours profondément inhibés. À l'exception de certaines chimères Ax - Ax qui peuvent posséder à l'état adulte quelques ovocytes antérieurs en cours de vitellogenèse, les gonades antérieures ne renferment qu'un faible nombre de gonies indifférenciées et sont même parfois totalement stériles. L'effet free-martin (inhibition ovarienne) est toujours très important dans la combinaison hétérosexuée femelle-mâle. Et même, sous l'influence des testicules postérieurs, les gonades antérieures génétiquement femelles, peuvent se différencier en testicules (inversion ovarienne).

Une première preuve de cette inversion est le déficit en chimères à corps double femelle-mâle (13% au lieu de 25%) compensé par l'excès de chimères mâle-mâle (41% au lieu de 25%, tableau 1). Le phénomène est encore plus évident pour les chimères à corps simple chez lesquelles on observe seulement un total de 10% d'animaux pour les deux combinaisons hétérosexuées et 61% de chimères mâles (tableau 3).

Une deuxième preuve de l'inversion est apportée à la suite de l'ablation des testicules postérieurs qui fut pratiquée chez les chimères à corps double P.w - P.w de la combinaison femelle-mâle. Sur 22 de ces chimères castrées postérieurement, le développement de testicules à partir des gonades antérieures très inhibées fut observé chez 15 animaux (HOUILLON et DOURNON, 1986).

Enfin une troisième preuve de l'inversion ovarienne antérieure est le cas des chimères à corps double P.w - P.w dont le génotype sexuel est connu avec certitude au moment de l'intervention embryonnaire, ce qui permet de réaliser à coup sûr la combinaison hétérosexuée femelle-mâle (COLLENOT *et al.*, 1977). L'ablation des testicules postérieurs fut tentée chez cinq de ces chimères. Pour quatre d'entre elles, la castration postérieure était incomplète, les gonades antérieures qui n'ont pas évolué, ont gardé l'aspect inhibé. Mais pour la cinquième chimère la castration postérieure étant totale, les gonades antérieures dont le génotype sexuel femelle était connu, ont évolué en testicules.

Chez les chimères à corps double mâle-femelle, les testicules antérieurs ont toujours un aspect normal cependant ils ne provoquent jamais la stérilité des ovaires

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

postérieurs et très exceptionnellement leur inversion. Il suffit de pratiquer l'ablation des testicules antérieurs pour que les ovaires postérieurs, même très inhibés, se développent rapidement en ovaires fonctionnels. Dans la majorité des cas chez les animaux adultes, les ovaires postérieurs possèdent des ovocytes en fin de vitellogenèse surtout chez les chimères à corps double alp - alp et Ax - Ax.

La faible inhibition des ovaires postérieurs fut plus particulièrement observée chez 18 chimères à corps double P.w - P.w lors d'une laparotomie vers l'âge d'un an. Parmi celles-ci, certaines n'avaient plus que des ovaires réduits avec seulement quelques ovocytes à l'âge de 3 à 4 ans (6 cas). Chez ces chimères, l'inhibition ovarienne qui était faible à un an, s'est accentuée tardivement ; seuls les canaux de Müller qui restent hypertrophiés, attestent l'existence d'ovaires bien développés quelques années auparavant. Pour la plupart des autres chimères, l'aspect du tractus uro-génital observé à un an, ne s'est pas modifié au cours des années suivantes (10 cas). Il s'établit un équilibre permanent entre les testicules antérieurs et les ovaires postérieurs qui n'empêche pas la maturité sexuelle de s'établir aussi bien pour les testicules que pour les ovaires. Ces chimères mâle-femelle sont de véritables animaux hermaphrodites chez lesquels les caractères externes de la maturité sexuelle mâle étaient bien visibles vers l'âge de deux ans malgré la présence d'ovaires avec des ovocytes mûrs et des canaux de Müller hypertrophiés. Enfin chez deux autres chimères P.w - P.w, mâle-femelle, les nodules testiculaires antérieurs observés à l'âge de huit mois n'ont pas évolué par la suite et ils avaient même disparu chez un animal âgé de quatre ans, en revanche les ovaires postérieurs avaient pris de plus en plus d'importance. Ces deux cas de prévalence ovarienne chez les chimères, constituent une exception à la prévalence mâle dans les combinaisons hétérosexuées. Un tel phénomène a déjà été signalé à propos de la parabiose entre espèces différentes dans le genre *Ambystoma* (BURNS, 1935).

Freemartinisme des chimères allogéniques à corps simple

Chez les chimères à corps simple de la combinaison hétérosexuée femelle-mâle, l'inversion de la partie antérieure ovarienne semble la règle plutôt que l'inhibition observée chez les chimères à corps double pour la même combinaison. Seulement deux cas de chimères à corps simple femelle-mâle ont été observés avec certitude ; ces animaux possédaient des ovotestis constitués d'un élément ovarien antérieur et d'un nodule testiculaire postérieur. Pour la combinaison hétérosexuée mâle-femelle, il est bien plus fréquent d'observer des gonades intersexuées constituées cette fois d'une partie testiculaire antérieure et d'une partie ovarienne postérieure.

D'après le tableau 3, le pourcentage de chimères allogéniques femelles à corps simple (28,5%) n'est que légèrement supérieur à la prévision théorique mais le pourcentage de chimères allogéniques mâles à corps simple (61,5%) est anormalement élevé par rapport à la prévision théorique (25%). L'excès de chimères mâles (36,5%) doit correspondre à des combinaisons hétérosexuées chez lesquelles une inversion de la partie ovarienne s'est produite. Parmi ces chimères, 24% appartiendraient à la combinaison femelle-mâle (puisque seulement 1% de chimères femelle-mâle observées) et 16% appartiendraient à la combinaison mâle-femelle (puisque 9% de chimères mâle-femelle observées).

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

Tableau 6

Résumé des interactions gonadiques dans les combinaisons hétérosexuées chez les Urodèles chimères allogéniques. Combinaison femelle-mâle : inhibition totale ou inversion ovarienne antérieure chez les chimères à corps double, pratiquement toujours inversion de la partie antérieure ovarienne chez les chimères à corps simple. Combinaison mâle-femelle : faible inhibition ou rare inversion de la partie ovarienne postérieure chez les chimères à corps double, inhibition plus ou moins faible et même fréquente inversion ovarienne postérieure chez les chimères à corps simple. Pour l'une et l'autre combinaisons hétérosexuées, présence de testicules antérieurs ou de testicules postérieurs d'aspect normal chez les chimères à corps double, testicules normaux chez les chimères à corps simple ou testicules légèrement réduits chez les animaux hermaphrodites.

Combinaison sexuelle	Type de chimère	Partie antérieure	Partie postérieure
♀ - ♂	corps double	forte inhibition ovarienne ou inversion ovarienne	testicules normaux
	corps simple	inversion ovarienne	testicules normaux
♂ - ♀	corps double	testicules normaux	inhibition ovarienne ± faible ou rare inversion
	corps simple	testicules normaux ou légère réduction	inhibition ovarienne ± faible ou fréquente inversion

Cette interprétation implique d'une part que chez presque toutes les chimères allogéniques à corps simple femelle-mâle, la partie antérieure ovarienne est inversée en testicule (sauf dans deux cas). Ce point de vue est attesté par l'observation des chimères d'une paire réciproque hétérosexuée. Ainsi lorsque l'un des deux animaux possède des gonades intersexuées correspondant à la combinaison mâle-femelle, l'animal réciproque qui devrait avoir des gonades intersexuées selon la combinaison femelle-mâle, ne possède en réalité que des testicules d'aspect normal. D'autre part, la présence de seulement 9% de chimères allogéniques à corps simple mâle-femelle implique que chez plus de la moitié des chimères appartenant à cette combinaison, il s'est produit une inversion de la partie postérieure ovarienne. Si une telle inversion postérieure ne semblait pas intervenir pour les chimères à corps double P.w - P.w et alp - alp (tableau 1), elle a cependant été prouvée par une chimère à corps double Ax - Ax (fig. 3).

Cependant, on ne peut pas exclure un effet free-martin important chez les chimères allogéniques à corps simple. Un ovaire free-martin très inhibé n'est qu'un mince tractus avec des gonies indifférenciées noyées dans un stroma conjonctif. Or une structure comparable s'observe toujours à l'extrémité antérieure et parfois aussi à l'extrémité

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

postérieure des testicules normaux. De sorte qu'au niveau du testicule d'une chimère mâle à corps simple, il n'est pas possible de faire une différence entre la structure qui correspondrait à une partie ovarienne très inhibée et une structure testiculaire normale.

Lorsque l'effet free-martin est faible chez les chimères allogéniques à corps simple mâle-femelle, on observe des gonades hermaphrodites chez les animaux adultes avec le plus souvent une partie antérieure testiculaire et une partie postérieure ovarienne. La même disposition anatomique s'observait déjà chez les chimères allogéniques à corps double mâle-femelle qui avaient des testicules antérieurs et des ovaires postérieurs. En définitive, les interactions entre glandes génitales de sexe différent au cours de leur différenciation conduisent aux mêmes phénomènes mais avec des degrés différents selon qu'il s'agit de chimères à corps double ou de chimères à corps simple ainsi qu'il est résumé dans le tableau 6.

Les observations ci-dessus doivent être modulées en fonction des espèces considérées. L'inhibition ovarienne est plus importante et l'inversion ovarienne est plus fréquente chez les chimères P.w - P.w hétérosexuées que chez les chimères alp - alp, et par rapport à ces dernières, que chez les chimères Ax - Ax. Des phénomènes du même ordre sont observés pour les paires parabiontiques hétérosexuées : les ovaires du parabionte femelle sont bien plus inhibés chez *Pleurodeles* que chez *Triturus* et par rapport à ce dernier genre, que chez *Ambystoma*. Mais la différence essentielle est que si l'inversion ovarienne est fréquente chez les chimères, elle est quasi inexistante dans la parabiose.

Deux ordres de phénomènes méritent une attention particulière : l'effet free-martin différent selon la position relative des ovaires par rapport aux testicules et la disposition anatomique avec des testicules ou des éléments testiculaires situés toujours en avant des ovaires ou des éléments ovariens.

Interprétation de l'inhibition ovarienne

La profonde inhibition des ovaires antérieurs alors que les ovaires postérieurs sont souvent peu inhibés dans les combinaisons hétérosexuées, pourrait s'interpréter par une quantité moindre de matériel gonadique organo-formateur dans la partie antérieure consécutivement à l'intervention embryonnaire. La partie antérieure d'une chimère est obtenue en éliminant la région embryonnaire postérieure où pourrait se trouver une partie des ébauches génitales présomptives, il en résulterait un déficit en matériel gonadique pour cette partie antérieure. La partie postérieure d'une chimère, surtout pour les animaux à corps double, est obtenue en éliminant une région embryonnaire antérieure dépourvue d'ébauches génitales présomptives, de sorte que le matériel gonadique organo-formateur se trouve en totalité dans cette partie postérieure. Le déficit en matériel gonadique antérieur pourrait rendre compte de la forte réduction des ovaires antérieurs qui en plus, sont soumis à l'action inhibitrice des testicules postérieurs dans la combinaison femelle-mâle. Mais si un tel déficit existait effectivement, on devrait observer aussi une réduction plus ou moins importante des ovaires antérieurs dans la combinaison femelle-femelle, ce qui est rarement le cas. De plus, si dans la combinaison mâle-femelle les testicules antérieurs étaient déficients en matériel organo-formateur, ils devraient être moins volumineux que les testicules postérieurs dans la combinaison femelle-mâle qui possèdent la totalité de ce matériel. Or qu'ils soient anté-

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

rieurs ou postérieurs, les testicules des chimères hétérosexuées à corps double ont le même volume.

Une autre interprétation pour rendre compte de l'inhibition ovarienne plus ou moins importante selon la position des ovaires serait de concevoir la présence d'une substance testiculaire inhibitrice, parfois masculinisante, qui serait produite en plus ou moins grande quantité ou bien qui diffuserait plus ou moins selon la position des testicules. Lorsque les gonades mâles sont postérieures, la substance serait produite en grande quantité ou elle diffuserait facilement vers l'avant et lorsque les testicules sont antérieurs, la substance serait produite en faible quantité ou elle diffuserait difficilement vers l'arrière. On pourrait concevoir également une plus grande sensibilité des ovaires à la substance en cause quand ils sont antérieurs et une plus faible sensibilité quand ils sont situés postérieurement. Mais aucune base anatomique ou physiologique ne peuvent rendre compte de ces considérations, d'autant plus qu'il y a toujours une continuité parfaite entre les organes de la partie antérieure et ceux de la partie postérieure (appareils circulatoire et digestif, systèmes nerveux et excréteur).

Néanmoins la présence d'une substance mâle diffusible chez les chimères est aussi évidente que dans le freemartinisme chez les Bovidés et dans la parabiose chez les Amphibiens. L'intensité de son action est d'autant plus forte, inhibition ovarienne et encore davantage inversion ovarienne, que les testicules sont plus proches des ovaires. Ainsi pour la combinaison hétérosexuée femelle-mâle lorsque les gonades sont relativement éloignées comme chez les chimères à corps double, l'inversion ovarienne antérieure n'est pas plus fréquente que l'inhibition alors que lorsque les gonades sont en contact comme chez les chimères à corps simple, l'inversion ovarienne antérieure est pratiquement la règle. Le même degré d'intensité d'action s'observe également pour la combinaison hétérosexuée mâle-femelle lorsque les gonades sont assez éloignées chez les chimères à corps double, l'inversion ovarienne postérieure est exceptionnelle et l'inhibition faible alors que lorsque les gonades sont en contact chez les chimères à corps simple, l'inversion ovarienne postérieure est aussi fréquente que l'inhibition. L'effet masculinisant des gonades mâles sur les gonades femelles au cours de la différenciation dépend de leur proximité.

Comparaison avec les autres interventions embryonnaires

Dans les associations parabiontiques hétérosexuées chez lesquelles les gonades de sexe opposé sont encore plus éloignées que dans les chimères, on n'observe jamais l'inversion ovarienne, seule se manifeste l'inhibition plus marquée chez les Urodèles que chez les Anoures (revue in GALLIEN, 1973). D'ailleurs, l'absence d'inversion est confirmée statistiquement par le nombre de paires parabiontiques qui est conforme à la prévision théorique pour chaque combinaison sexuelle. Dans nos propres expériences relatives à 137 parabioses entre différentes espèces d'Urodèles nous avons observé 35 combinaisons femelle-femelle, 37 combinaisons mâle-mâle et 65 combinaisons hétérosexuées.

L'action inhibitrice du facteur testiculaire qui fait place à une action masculinisante lorsque les gonades sont proches dans le cas des chimères, se manifeste selon les mêmes modalités dans le cas des greffes d'ébauches génitales présomptives. La greffe unilatérale d'une ébauche testiculaire présomptive sur un embryon femelle évolue en

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

testicule d'aspect normal qui inhibe la gonade située du côté non-opéré (inhibition ovarienne). Mais l'ablation du testicule greffé entraîne la différenciation testiculaire d'une gonade qui était génétiquement un ovaire (l'inversion ovarienne conduit à un néo-mâle ZW fonctionnel). Ce type d'expérience a permis d'obtenir la descendance à la suite du croisement entre une femelle standard ZW et un néo-mâle ZW chez *Ambystoma* (HUMPHREY, 1928, 1931, 1945) et chez *Pleurodeles* (COLLENOT, 1973).

Un protocole expérimental comparable à celui des greffes de Humphrey a été appliqué aux chimères à corps double P.w - P.w de la combinaison femelle-mâle. L'ablation des testicules postérieurs a entraîné le développement de testicules à partir des ovaires antérieurs inhibés. Le même protocole fut appliqué aux chimères à corps double P.w - P.w de la combinaison mâle-femelle mais ici, l'ablation des testicules antérieurs n'a entraîné qu'un développement normal des ovaires postérieurs qui étaient plus ou moins réduits. Ces expériences d'ablation testiculaire renforcent l'énigmatique effet de position dans les interactions gonadiques déjà signalé chez les chimères hétérosexuées (tableau 6). On peut également remarquer qu'aucune interprétation ne rend compte du non-développement d'une gonade vestigiale à potentialités mâles qui reste inhibée en présence d'un testicule normal aussi bien dans le cas des chimères que dans le cas des greffes de gonades présomptives.

Les chimères adultes hermaphrodites, à corps double et à corps simple, ont presque toujours des gonades ayant la même disposition anatomique : testicules ou éléments testiculaires antérieurs et ovaires ou éléments ovariens postérieurs. La disposition anatomique inverse est exceptionnelle. Cette même disposition se rencontre chez les *Pleurodeles* qui ont des gonades intersexuées à la suite d'un traitement par l'hormone femelle en vue d'inverser le phénotype sexuel mâle (GALLIEN, 1962) de même qu'à la suite de l'élevage à une température anormalement élevée pour inverser le phénotype sexuel femelle (DOURNON et HOUILLON, 1984). Une telle similitude de l'aspect intersexué, quelles que soient les interventions qui perturbent la différenciation sexuelle (hormones, température, greffe en chimère), doit être en relation avec l'organogenèse du tractus uro-génital. La médulla de la gonade indifférenciée à potentialités mâles, provient du blastème mésonéphrétique qui se différencie de l'avant vers l'arrière (HOUILLON, 1956). Il existerait un gradient antéro-postérieur pour la différenciation sexuelle mâle qui dépend du gradient antéro-postérieur de la différenciation du mésonéphros. Le gradient mâle se matérialiserait par la présence de testicules ou d'éléments testiculaires seulement à l'occasion d'une perturbation de la différenciation sexuelle.

Cas des souris chimères tétraparentales

L'excès de mâles et la présence fréquente d'animaux hermaphrodites chez les Urodèles chimères ne peuvent pas être comparés avec l'excès de mâles parfois observé et la présence exceptionnelle d'animaux hermaphrodites chez les Souris chimères tétraparentales (MYSTKOWSKA et TARKOWSKI, 1968, 1970 ; MINTZ, 1969 ; MULLEN et WHITTEN, 1971 ; McLAREN *et al.*, 1972). Il y a une différence fondamentale dans la technique opératoire entre les Urodèles chimères et les Souris chimères. Chez les Urodèles chimères, on associe deux parties d'embryons qui restent toujours bien distinctes, de sorte que chaque gonade indifférenciée est constituée de cellules somatiques

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

et de cellules germinales qui appartiennent au même génotype. Le phénotype définitif des gonades chez les chimères hétérosexuées dépend des interactions après le stade indifférencié. Chez les Souris allophéniques, on fait fusionner deux blastocystes de sorte que chaque gonade indifférenciée est un mélange intime de cellules somatiques et de cellules germinales qui appartiennent à des génotypes différents ; le phénotype définitif dépend des proportions relatives entre les cellules somatiques et les cellules germinales au stade indifférencié. Finalement les phénomènes qui interviennent au cours de l'organogenèse sexuelle des combinaisons hétérosexuées chez les Urodèles chimères, sont de nature différente et surtout plus tardifs que les phénomènes qui interviennent précocement dans l'édification des gonades chez les Souris chimères issues de l'association de deux blastocystes de sexe opposé.

Freemartinisme des chimères xénogéniques

Toutes les considérations précédentes concernent les chimères allogéniques à corps double et à corps simple. Elles sont également valables pour les chimères xénogéniques à corps double sauf peut-être pour l'inversion du sexe que ne suggèrent pas les pourcentages des combinaisons sexuelles (tableau 4). Bien que difficile à prouver, ces pourcentages si différents de ceux observés pour les chimères allogéniques, pourraient relever d'une survie plus ou moins favorable selon les combinaisons sexuelles. Il a déjà été signalé les difficultés d'analyse par suite des retards de croissance, de la faible longévité et du degré d'histocompatibilité entre chacune des deux parties. De même doivent être pris en considération des aspects quantitatifs liés aux gonades en présence selon qu'il s'agit d'une espèce de grande taille associée avec une espèce de petite taille. Également, doit intervenir la chronologie de la différenciation sexuelle de chacune des espèces en présence.

L'influence de tels paramètres a été bien mise en évidence dans le cas de la parabiose. Alors que la prévalence mâle est la règle dans la parabiose homospécifique lorsque les parabiontes sont de taille équivalente, on observe parfois une prévalence femelle lorsque les parabiontes sont de taille ou de ploïdie différentes (GALLIEN, 1967). La prévalence femelle s'observe également dans la parabiose hétérospécifique lorsque les parabiontes ont une taille ou une vitesse de croissance différentes (BURNS, 1935 ; WITSCHI, 1937).

La taille des espèces en présence chez les chimères xénogéniques a son importance ainsi que le sens de l'association. Par exemple chez les chimères entre le Pleurodèle, espèce de grande taille et le Triton alpestre, espèce de petite taille, les interactions gonadiques ne sont certainement pas les mêmes sur le plan quantitatif pour les chimères P.w - alp que pour les chimères alp - P.w. L'histocompatibilité dont dépend la survie des xénogreffes embryonnaires (HOUILLOIN *et al.*, 1969) doit intervenir selon qu'il s'agit de chimères entre espèces du même genre ou de chimères entre espèces de genres différents. La chronologie de la différenciation sexuelle varie d'une espèce à l'autre aussi bien pour la période au cours de laquelle la différenciation ovarienne serait sensible à l'action masculinisante que pour la période au cours de laquelle est émise la substance masculinisante. Aussi les interactions gonadiques pourraient différer en fonction des diverses associations xénogéniques. Dès lors, l'effet free-martin qui doit déjà

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

tenir compte de la position relative des gonades chez les chimères allogéniques, devient d'une analyse complexe chez les chimères xénogéniques lorsqu'interviennent les divers autres paramètres.

Maturité sexuelle

La complexité ci-dessus est illustrée par l'étude de la maturité sexuelle. Les chimères allogéniques à corps double ou à corps simple, atteignent la maturité sexuelle dans les mêmes délais que les animaux témoins. Les chimères xénogéniques, et seulement pour les animaux à corps simple, ont une maturité sexuelle qui dépend à la fois de leur longévité, c'est-à-dire du degré d'histocompatibilité entre chaque partie, et du sens de l'association. La maturité sexuelle a été observée pour toutes les chimères allogéniques P.w - P.w, alp - alp et Ax - Ax quelle que soit la combinaison sexuelle. Dans le cas de la combinaison femelle-mâle, il ne s'agit que de la maturité sexuelle mâle (testicules postérieurs) et dans le cas de la combinaison mâle-femelle, il s'agit aussi bien de la maturité sexuelle des testicules antérieurs que de la maturité sexuelle des ovaires postérieurs (animaux hermaphrodites).

En revanche, pour les chimères xénogéniques, la maturité sexuelle n'a été observée que chez les animaux à corps simple dont les gonades n'appartiennent qu'à la partie postérieure. Pour les chimères xénogéniques avec le Pleurodèle et les différentes espèces de Tritons entre lesquelles il existe une relative histocompatibilité, la maturité sexuelle dépend avant tout du sens de l'association. Sur 182 chimères viables partie antérieure *P. waltl* - partie postérieure *Triturus* (100 P.w - alp, 73 P.w - palm, 9 P.w - vulg), 35 animaux (tableau 5) ont atteint la maturité sexuelle, soit 19%. Mais pour les associations dans le sens inverse, sur 121 chimères viables partie antérieure *Triturus* - partie postérieure *P. waltl* ou *P. poireti* (55 alp - P.w, 2 alp - P.p, 54 palm - P.w, 10 vulg - P.w) seulement 4 animaux (tableau 5) ont atteint la maturité sexuelle, soit à peine plus de 3%. Ce phénomène dépend de l'importance de la sécrétion hypophysaire de la partie antérieure. Les chimères entre le Pleurodèle et le Triton alpestre illustrent bien cette dépendance. Les chimères P.w - alp peuvent atteindre la maturité sexuelle car la sécrétion hypophysaire « Pleurodèle », espèce de grande taille, est amplement suffisante pour assurer la maturité sexuelle des gonades « Triton alpestre », espèce de petite taille, c'est ainsi que sur 100 chimères P.w-alp à corps simple, 16 animaux ont pu atteindre la maturité sexuelle. Mais pour l'association inverse, les chimères alp - P.w n'atteignent jamais la maturité sexuelle car la sécrétion hypophysaire « Triton alpestre » est insuffisante pour assurer la maturité des volumineuses gonades « Pleurodèle » même lorsque ces chimères alp - P.w survivent plus de quatre ans ; c'est ainsi que sur 55 chimères alp - P.w à corps simple, aucune n'a pu atteindre la maturité sexuelle. Seule une chimère partie antérieure *T. alpestris* - partie postérieure *P. poireti* âgée de 7 ans renfermait des ovocytes en cours de vitellogénèse.

On ne peut guère concevoir l'intervention de phénomènes hormonaux d'ordre qualitatif, et non quantitatif, pour rendre compte de l'absence de maturité sexuelle chez certaines chimères xénogéniques. En effet, dans la pratique courante du laboratoire, on utilise les mêmes substances hypophysaires ou hypothalamiques pour provoquer artificiellement la ponte aussi bien chez le Pleurodèle que chez les Tritons ou l'Axolotl

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

L'histocompatibilité entre les différentes espèces du genre *Triturus* étant de même ordre et les animaux ayant une taille sensiblement équivalente, la maturité sexuelle des chimères xénogéniques peut s'établir quel que soit le sens des associations. Sur 17 chimères viables (5 alp - palm et 6 palm - alp, 2 cr - alp et 4 alp - cr), 9 animaux ont atteint la maturité sexuelle, soit pratiquement une chimère sur deux (tableau 5).

Parmi les chimères allogéniques qui ont atteint l'âge adulte, certaines ont pu se reproduire et ont émis simultanément les gamètes de la partie antérieure et les gamètes de la partie postérieure (chimères germinales). Aucune chimère xénogénique ne peut être « chimère germinale » puisque seuls les animaux à corps simple atteignent la maturité sexuelle mais ils ne possèdent que les gonades de la partie postérieure. À signaler l'émission spontanée d'une trentaine d'ovocytes « *Triturus vulgaris* », sans accouplement préalable, par une chimère P.w - vulg âgée de 24 mois. Cet animal est mort rapidement deux semaines plus tard à la suite d'une crise de rejet aigu.

La greffe en chimère chez les Amphibiens Urodèles qui est une technique originale pour l'étude des phénomènes immunitaires dans les greffes embryonnaires, est également une nouvelle approche expérimentale pour étudier les interactions entre glandes génitales de sexe différent au cours de leur organogenèse. La possibilité de mettre en compétition des territoires gonadiques plus ou moins complets ainsi que le grand nombre d'animaux réalisés et suivis pendant plusieurs années pour chaque combinaison sexuelle aussi bien allogénique que xénogénique ont révélé un aspect encore inconnu de l'effet free-martin chez les Amphibiens. Ni la parabiose ni la greffe d'ébauches gonadiques présomptives n'avaient permis de mettre en évidence des interactions différentes selon la position des ovaires par rapport aux testicules.

Remerciements

Ce travail a bénéficié de l'assistance technique de Madame GUIMONNEAU pour la dactylographie et de la bienveillance du Conseil de la Société zoologique de France pour la publication. Je suis reconnaissant au Professeur Alain DUBOIS et à Madame OHLER du laboratoire des Reptiles et Amphibiens du Muséum National d'Histoire Naturelle de m'avoir offert la conservation et le classement en zoothèque des animaux expérimentaux qui font l'objet de la présente publication.

Adresse de l'auteur :
179, boulevard Voltaire, 75011 Paris.

RÉFÉRENCES

- BURNS, R.K. (1935).- The process of sex transformation in parabiotic *Amblystoma*. III - Conversion of testis to ovary in heteroplastic pairs of *A. trigrinum* and *A. punctatum*. *Anat. Rec.*, **63**, 101-129.
- CAPURON, A. (1972).- Mise en évidence de gonocytes dans divers territoires isolés du bourgeon caudal et cultivés *in vitro* chez *Pleurodeles waltlii* Michah. (Amphibien Urodèle). *C. R. Acad. Sci. Paris*, **274**, série D, 277-279.
- CHARLEMAGNE, J. & HOUILLON, Ch. (1974).- Analyse morphologique des chimères obtenues par greffes embryonnaires chez les Amphibiens Urodèles. *J. Embryol. exp. Morph.*, **31**, 263-286.
- CHARLEMAGNE, J. & TOURNEFIER, A. (1974).- Obtention of histocompatible strains in the Urodele Amphibian *Pleurodeles waltlii* Michah. (*Salamandridae*). *J. Immunogenetics*, **1**, 125-129.
- COLLENOT, A. (1973).- Obtention, par la méthode des greffes embryonnaires, d'une femelle à descendance unisexuée femelle, chez le Triton *Pleurodeles waltlii* Michah. *Experientia*, **29**, 885-887.
- COLLENOT, A., GOUNON, P. & COLLENOT, G. (1977).- Aspects récents de l'étude de la différenciation sexuelle des Amphibiens. Étude de l'effet free-martin chez le Triton Pleurodèle. *Mém. Soc. zool. France*, **41**, Symp. L. Gallien, 31-42.
- DOURNON, C. (1977).- Régulation du nombre de cellules germinales primordiales dans les larves chimères à corps double chez *Pleurodeles waltlii* Michah. (Amphibien Urodèle). *Mém. Soc. zool. France*, **41**, Symp. L. Gallien, 61-70.
- DOURNON, C. (1978).- Tractus uro-génital des chimères chez l'Axolotl. *Ann. Soc. Franç. Biol. Dévelop.*, (Aubière), 3.
- DOURNON, C. & HOUILLON, Ch. (1984).- Démonstration génétique de l'inversion fonctionnelle du phénotype sexuel femelle sous l'action de la température d'élevage chez l'Amphibien Urodèle *Pleurodeles waltlii* Michah. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **24** (4), 371-378.
- FOOTE, C.L. (1964).- Intersexuality in Amphibians, 233-279. In *Intersexuality in Vertebrates including man* (AMSTRONG and MARSHALL, édit.). Acad. Press.
- GALLIEN, L. (1962).- Évolution chez le Triton *Pleurodeles waltlii* des intersexués obtenus après traitement par l'hormone femelle. *Bull. Biol. France et Belgique*, **96**, 249-280.
- GALLIEN, L. (1967).- Développement d'individus haploïdes adultes élevés en parabiose chez le Triton *Pleurodeles waltlii* Michah. Syndrome de l'haploïdie et différenciation sexuelle. *J. Embryol. exp. Morph.*, **18**, 401-426.
- GALLIEN, L. (1973).- Différenciation et organogénèse sexuelle des métazoaires. Paris, Masson et Cie, édit.
- HOUILLON, Ch. (1956).- Recherches expérimentales sur la dissociation médullo-corticale dans l'organogénèse des gonades chez le Triton *Pleurodeles waltlii* Michah. *Bull. Biol. France et Belgique*, **90**, 359-445.
- HOUILLON, Ch. (1959).- Analyse expérimentale des relations entre le canal de Wolff et le canal de Müller chez le Triton *Pleurodeles waltlii* Michah. *Bull. Biol. France et Belgique*, **93**, 299-314.
- HOUILLON, Ch. (1977).- Tractus uro-génital des chimères chez l'Amphibien Urodèle, *Triturus alpestris* Laur. *J. Embryol. exp. Morph.*, **42**, 15-28.
- HOUILLON, Ch. (1984).- Chimères viables obtenues à partir de trois tronçons provenant de trois embryons différents chez l'Amphibien Urodèle, *Ambystoma mexicanum* Shaw. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **299**, série III, 25-30.
- HOUILLON, Ch. (1992).- Reproduction et comportement sexuel chez les Urodèles chimères. *Bull. Soc. zool. France*, **117** (2), 179-187.
- HOUILLON, Ch. (1999).- Urodèles chimères. I. Aspect morphologique. *Bull. Soc. zool. France*, **124** (1),

Les urodèles chimères. II. Tractus uro-génital

- HOUILLON, Ch. & CHARLEMAGNE, J. (1971).- Développement d'un double système de glandes génitales dans les chimères homoplastiques à corps double chez l'Amphibien Urodèle, *Pleurodeles waltlii* Michah. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **272**, série D, 1546-1549.
- HOUILLON, Ch., CHARLEMAGNE, J. & GOUJON, P. (1973).- Hermaphrodisme des chimères allogéniques chez l'Amphibien Urodèle, *Pleurodeles waltlii* Michah. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **273**, série D, 1617-1620.
- HOUILLON, Ch. & DOURNON, C. (1980).- Preuves génétique et immunologique de l'inversion du sexe dans les chimères hétérosexuées chez les Urodèles. *Colloque SFBD (Bordeaux). Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, **69**, 320.
- HOUILLON, Ch. & DOURNON, C. (1986).- Évolution du tractus uro-génital chez les Urodèles chimères à corps double. Effet de position dans les interactions entre glandes génitales de sexe différent. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **26** (5A), 1115-1135.
- HOUILLON, Ch., TOURNEFIER, A. & CHARLEMAGNE, J. (1969).- Antigénicité relative des hétéro-greffes embryonnaires de tégument chez les Amphibiens Urodèles : *Ambystoma mexicanum* Shaw, *Triturus helveticus* Raz., *Triturus alpestris* Laur. et *Pleurodeles waltlii* Michah. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **268**, série D, 2982-2985.
- HUMPHREY, R.R. (1928).- Sex differentiation in gonads developed from transplants of intermediate mesoderm of *Amblystoma*. *Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole*, **55**, 317-339.
- HUMPHREY, R.R. (1931).- Studies on sex reversal in *Amblystoma*. IV. The developmental potencies exhibited by the modified (free-martin) ovary of *Amblystoma tigrinum* following removal of the testis which had induced its modification. *J. Exptl. Zool.*, **58**, 367-399.
- HUMPHREY, R.R. (1945).- Sex determination in *Amblystomid* Salamanders : a study of the progeny of females experimentally converted into males. *Am. J. Anat.*, **76**, 33-66.
- JOST, A., PERCHELET, J.P., PREPIN, J. & VIGIER, B. (1975).- The prenatal development of bovine freemartins, 392-406. In REINBOTH, R., *Intersexuality in the animal kingdom*, Springer Verlag.
- LILLIE, F.R. (1916).- The theory of the free-martin. *Science*, **43**, 611-613.
- McLAREN, A., CHANDLEY, A.C. & KOFMAN-ALFARO, S. (1972).- A study of meiotic germ cells in the gonads of foetal mouse chimaeras. *J. Embryol. exp. Morph.*, **27**, 515-524.
- MINTZ, B. (1969).- Developmental mechanisms found in allophenic mice with sex chromosomal and pigmentary mosaicism. Birth defects : original Article Series 5, 11-22. In *First Conference on the Clinical Delineation of Birth Defects*, edit. D. BERGSMAN and V. McKUSICK. New York : National Foundation.
- MULLEN, R.J. & WHITTEN, W.K. (1971).- Relationships of genotype and degree of chimerism in coat colour to sex ratios and gametogenesis in chimeric mice. *J. Exptl. Zool.*, **178**, 165-176.
- MYSTKOWSKA, E.T. & TARKOWSKI, A.K. (1968).- Observations on CBA - p / CBA - T6T6 mouse chimaeras. *J. Embryol. exp. Morph.*, **20**, 33-52.
- MYSTKOWSKA, E.T. & TARKOWSKI, A.K. (1970).- Behavior of germ cells and sexual differentiation in late embryonic and early postnatal mouse chimaeras. *J. Embryol. exp. Morph.*, **23**, 395-405.
- WITSCHI, E. (1937).- Studies of sex differentiation and sex determination in Amphibians. IX. Quantitative relationships in the induction of differentiation and the problem of sex reversal in parabiotic salamanders. *J. Exptl. Zool.*, **75**, 313-373.

ERRATUM

Les tableaux ci-après sont à substituer à ceux portant les mêmes numéros dans l'article de C. HOULLON « Les Urodèles chimères. I. Étude morphologique » publié dans le *Bulletin de la Société zoologique de France*, 1999, 124(1) : 3-37.

Les urodèles chimères. I. Étude morphologique

Tableau 3

Survie des chimères *P.waltl-T.alpestris*

P.w-alp	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	100 $\begin{cases} 57 \text{ ♂} \\ 43 \text{ ♀} \end{cases}$	58 $\begin{cases} 35 \text{ ♂} \\ 23 \text{ ♀} \end{cases}$	23 $\begin{cases} 14 \text{ ♂} \\ 9 \text{ ♀} \end{cases}$	13 $\begin{cases} 9 \text{ ♂} \\ 4 \text{ ♀} \end{cases}$	2 ♂
corps double	13	5	3	3	1
total	113	63 (56%)	26 (23%)	16 (14%)	3 (2,6%)

longévité

moyenne: 15,7 mois
maximum: 55 mois

maturité sexuelle

mâle: 14 mois
femelle: 21 mois

longueur

moyenne (simple à 1 an): 56 mm
maximum (double): 110 mm

Tableau 4

Survie des chimères *T.alpestris-P.waltl*

alp-P.w	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	55 $\begin{cases} 26 \text{ ♂} \\ 29 \text{ ♀} \end{cases}$	30 $\begin{cases} 11 \text{ ♂} \\ 19 \text{ ♀} \end{cases}$	14 $\begin{cases} 4 \text{ ♂} \\ 10 \text{ ♀} \end{cases}$	9 $\begin{cases} 2 \text{ ♂} \\ 7 \text{ ♀} \end{cases}$	4 $\begin{cases} 1 \text{ ♂} \\ 3 \text{ ♀} \end{cases}$
corps double	31	8	2	-	-
total	86	38 (44%)	16 (19%)	9 (10%)	4 (4,6%)

longévité

moyenne: 13,9 mois
maximum: 77 mois

maturité sexuelle

mâle: non
femelle: non

longueur

moyenne (simple à 1 an): 60 mm
maximum (double): 120 mm

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

Tableau 5

Survie des chimères *P.waltl-T.helveticus*

P.w-palm	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	73 $\left\{ \begin{array}{l} 38 \text{ ♂} \\ 35 \text{ ♀} \end{array} \right.$	21 $\left\{ \begin{array}{l} 10 \text{ ♂} \\ 11 \text{ ♀} \end{array} \right.$	11 $\left\{ \begin{array}{l} 5 \text{ ♂} \\ 6 \text{ ♀} \end{array} \right.$	6 $\left\{ \begin{array}{l} 3 \text{ ♂} \\ 3 \text{ ♀} \end{array} \right.$	2 ♂
corps double	6	3	3	3	2
total	79	24 (30%)	14 (18%)	9 (11%)	4 (5%)

longévité

moyenne: 13,5 mois
maximum: 66 mois

maturité sexuelle

mâle: 20 mois
femelle: 22 mois

longueur

moyenne (simple à 1 an): 50 mm
maximum (double): 90 mm

Tableau 6

Survie des chimères *T.helveticus-P.waltl*

palm-P.w	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	54 $\left\{ \begin{array}{l} 25 \text{ ♂} \\ 29 \text{ ♀} \end{array} \right.$	8 $\left\{ \begin{array}{l} 3 \text{ ♂} \\ 5 \text{ ♀} \end{array} \right.$	2 ♀	1 ♀	-
corps double	1	1	1	-	-
total	55	9 (16%)	3 (5%)	1	-

longévité

moyenne: 7,2 mois
maximum: 40 mois

maturité sexuelle

mâle: 26 mois
femelle: 36 mois

longueur

moyenne (simple à 1 an): 46 mm
maximum (double): 100 mm

Les urodèles chimères. I. Étude morphologique

Tableau 7

Survie des chimères *P.waltl-T.vulgaris*

P.w-vulg	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	9 $\begin{cases} 4 \sigma^{\rightarrow} \\ 5 \text{♀} \end{cases}$	5 $\begin{cases} 3 \sigma^{\rightarrow} \\ 2 \text{♀} \end{cases}$	5 $\begin{cases} 3 \sigma^{\rightarrow} \\ 2 \text{♀} \end{cases}$	4 $\begin{cases} 3 \sigma^{\rightarrow} \\ 1 \text{♀} \end{cases}$	1 ♀

longévité

moyenne: 16,8 mois
maximum: 60 mois

maturité sexuelle

mâle: 10 mois
femelle: 22 mois

longueur

moyenne (simple à 1 an): 50 mm
maximum (double): 90mm

Tableau 8

Survie des chimères *T.vulgaris-P.waltl*

vulg-P.w	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	10 $\begin{cases} 5 \sigma^{\rightarrow} \\ 5 \text{♀} \end{cases}$	2 ♂	2 ♂	1 ♂	-

longévité

moyenne: 8,7 mois
maximum: 40 mois

maturité sexuelle

mâle: 36 mois
femelle: non

longueur

moyenne (simple à 1 an): 48 mm
maximum (double): 92mm

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

Tableau 9

Survie des chimères *T.alpestris*-*T.helveticus*

alp-palm	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	5 $\begin{cases} 1 \sigma^{\rightarrow} \\ 4 \text{♀} \end{cases}$	3 $\begin{cases} 1 \sigma^{\rightarrow} \\ 2 \text{♀} \end{cases}$	3 $\begin{cases} 1 \sigma^{\rightarrow} \\ 2 \text{♀} \end{cases}$	2 ♀	1 ♀
corps double	28	7	5	3	-
total	33	10 (30%)	8 (24%)	5 (15%)	1 (3%)

*longévité*moyenne: 14 mois
maximum: 78 mois*maturité sexuelle*mâle: 30 mois
femelle: 33 mois*longueur*moyenne (simple à 1 an): 48 mm
maximum (double): 100 mm

Tableau 10

Survie des chimères *T.helveticus*-*T.alpestris*

palm-alp	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
corps simple	6 $\begin{cases} 3 \sigma^{\rightarrow} \\ 3 \text{♀} \end{cases}$	2 ♂	2 ♂	2 ♂	2 ♂
corps double	1	-	-	-	-
total	7	2	2	2	2

*longévité*moyenne: 12 mois
maximum: 90 mois*maturité sexuelle*mâle: 24 mois
femelle: non*longueur*moyenne (simple à 1 an): 45 mm
maximum (double): 80 mm

Les urodèles chimères. I. Étude morphologique

Tableau 11

Chimères réalisées entre *T.alpestris*, *T.vulgaris* et *T.helveticus*

chimères	au moins 3 mois	longévité maximum	longueur maximum
alp-vulg	3 ♀ (corps simple)	5 mois	41 mm
vulg-alp	4 ♂ (corps simple)	5 mois	38 mm
palm-vulg	2 ♀ (corps simple)	12 mois	36 mm
vulg-palm	1 (corps double)	3 mois	35 mm

Tableau 12

Survie des chimères *T.cristatus-T.alpestris* et *T.alpestris-T.cristatus*

	au moins 3 mois	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
cr-alp corps simple	2 $\begin{matrix} \nearrow 1 \sigma \\ \searrow 1 \text{♀} \end{matrix}$	2 $\begin{matrix} \nearrow 1 \sigma \\ \searrow 1 \text{♀} \end{matrix}$	1 ♀	1 ♀	-
alp-cr corps simple	4 $\begin{matrix} \nearrow 2 \sigma \\ \searrow 2 \text{♀} \end{matrix}$	2 $\begin{matrix} \nearrow 1 \sigma \\ \searrow 1 \text{♀} \end{matrix}$	2 $\begin{matrix} \nearrow 1 \sigma \\ \searrow 1 \text{♀} \end{matrix}$	-	-
alp-cr corps double	3	3	3	1	-

longévité

moyenne: 23,2 mois
maximum: 42 mois

maturité sexuelle

mâle: 15mois
femelle: 22 mois

longueur

moyenne (simple à 1 an): 70 mm
maximum (double): 100 mm

Bulletin de la Société zoologique de France 125 (2)

Tableau 13
Survie des chimères *P.waltl-P. poireti* et *P. poireti-P.waltl*

chimères	au moins	1 an	2 ans	3 ans	4 ans et plus
	3 mois				
<i>P.w-P.p</i> corps simple	1 ♀	1 ♀	1 ♀	1 ♀	1 ♀
<i>P.w-P.p</i> corps double	4	4	4	3	3
<i>P.p-P.w</i> corps simple	2 ♀	2 ♀	2 ♀	2 ♀	2 ♀

longévité

moyenne: 66 mois
maximum: 92 mois

maturité sexuelle

femelle: 24 mois

longueur P.w-P.p

maximum (double): 210 mm

Tableau 14
Chimères xénogéniques avec l'Axolotl

chimères	au moins 3 mois	1 an	2 ans	longévité		longueur	
				moyenne	maximum	moyenne	maximum
<i>Ax-alp</i> corps simple	8 $\begin{matrix} \nearrow 4 \sigma^{\uparrow} \\ \searrow 4 \text{♀} \end{matrix}$	2 $\begin{matrix} \nearrow 1 \sigma^{\uparrow} \\ \searrow 1 \text{♀} \end{matrix}$	-	7,1 mois	17 mois	60mm	92 mm
<i>Ax-alp</i> corps double	7	-	-				
<i>alp-Ax</i> corps simple	41 $\begin{matrix} \nearrow 22 \sigma^{\uparrow} \\ \searrow 19 \text{♀} \end{matrix}$	2 σ^{\uparrow}	-	6,7 mois	26 mois	70mm	100mm
<i>alp-Ax</i> corps double	39	6	2				
<i>palm-Ax</i> corps simple	15 $\begin{matrix} \nearrow 8 \sigma^{\uparrow} \\ \searrow 7 \text{♀} \end{matrix}$	-	-	3,5 mois	8 mois	-	40 mm
<i>Ax-P.w</i> corps double	4	1	-	8 mois	16 mois	-	120 mm
<i>cr-Ax</i> corps double	1 ♀	-	-	4 mois	-	-	42 mm