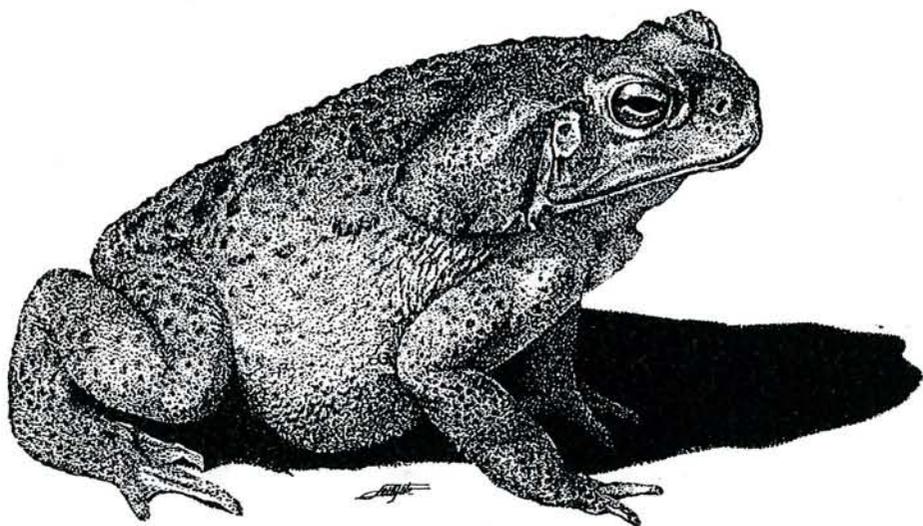


Bulletin de la Société Herpétologique de France

1^{er} trimestre 1996

N° 77



ISSN 0754-9962

Bull. Soc. Herp. Fr. (1996) 77

Bulletin de la Société Herpétologique de France

Directeur de Publication / Editor :
Roland VERNET

Comité de Rédaction / **Managing Co-Editors** :
Jean LESCURE, Claude PIEAU
Jean-Claude RAGE, Alexandre TEYNIÉ, Jeff TIMMEL (Index)

Secrétariat de Rédaction / **Secretaries** :
Valérie RAAD et Yannick VASSE (Bulletin)
Sophie BERLAND (Index),

Comité de lecture / **Advisory Editorial Board** :
Robert BARBAULT (Paris, France) ; Aaron M. BAUER (Villanova, Pennsylvania) ;
Liliane BODSON (Liège, Belgique) ; Donald BRADSHAW (Perth, Australie) ;
Maria Helena CAETANO (Lisbonne, Portugal) ; Max GOYFFON (Grenoble, France) ;
Robert GUYÉTANT (Chambéry, France) ; Ulrich JOGER (Darmstadt, Allemagne)
Michael R. K. LAMBERT (Chatham, Angleterre) ;
Benedetto LANZA (Florence, Italie) ; Raymond LECLAIR (Trois-Rivières, Canada) ;
Guy NAULLEAU (Chizé, France) ; Saïd NOUIRA (Tunis, Tunisie) ;
V. PEREZ-MÉLLADO (Salamanque, Espagne) ; Armand DE RICQLÈS (Paris, France) ;
Zbynek ROCEK (Prague, Tchécoslovaquie) ; Hubert SAINT-GIRONS (Paris, France).

Instructions aux auteurs / **Instructions to authors** :

Des instructions détaillées ont été publiées dans le numéro 33. Les auteurs peuvent s'y reporter. S'ils ne les possèdent pas, ils peuvent en obtenir une copie auprès du responsable du comité de rédaction. Les points principaux peuvent être résumés ainsi : les manuscrits, dactylographiés en double interligne, au recto seulement sont envoyés en double exemplaire. La disposition du texte doit respecter les instructions. L'adresse de l'auteur se place en dernière page. Les figures sont réalisées sur papier calque ou bristol. Les photographies (noir et blanc) ne sont publiées qu'exceptionnellement. Les légendes des figures sont dactylographiées sur feuilles séparées. Les références bibliographiques sont regroupées en fin d'article.

Exemple de présentation de référence bibliographique :

BONS, J., CHEYLAN, M. et GUILLAUME, C.P. (1984) - Les Reptiles méditerranéens. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, **29** : 7 -17.

Tirés à part

Les tirés à part (payants) ne sont fournis qu'à la demande des auteurs (lors du renvoi de leurs épreuves corrigées) et seront facturés par le service d'imprimerie. Tous renseignements auprès du Trésorier.

La rédaction n'est pas responsable des textes et illustrations publiées qui engagent la seule responsabilité des auteurs. Les indications de tous ordres, données dans les pages rédactionnelles, sont sans but publicitaire et sans engagement.

La reproduction de quelque manière que ce soit, même partielle, des textes, dessins et photographies publiées dans le Bulletin de la Société Herpétologique de France est interdite sans l'accord écrit du directeur de la publication. La S.H.F. se réserve la reproduction et la traduction ainsi que tous les droits y afférant, pour le monde entier. Sauf accord préalable, les documents ne sont pas retournés.

ENVOI DES MANUSCRITS à :

M. Roland VERNET

Laboratoire d'écologie, École Normale Supérieure

46 rue d'Ulm -75230 PARIS CEDEX 05

Tél : 01 44 32 37 04

Fax : 01 44 32 38 85

Email : vernet@wotan.ens.fr.

Dessin de couverture :

Maël DEWYNTER
Bufo marinus (Guyane française)

N° commission paritaire 59374

Imprimeur : S.A.I. Biarritz
18, rue de Folin, 64200 BIARRITZ

Dépôt légal : 4^{ème} trimestre 1996

24^{ème} Congrès de la Société Herpétologique de France

Nancy (28 juin - 1^{er} juillet 1995)



THÈMES 1995

**EFFETS DES FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX SUR LE
DÉVELOPPEMENT ET LA REPRODUCTION**

**RÉPARTITION ET CONSERVATION DES AMPHIBIENS
ET DES REPTILES DANS L'EST DE LA FRANCE
ET DANS LES PAYS VOISINS**

**UTILISATION DES AMPHIBIENS
DANS LA RECHERCHE SPATIALE**

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

1^{er} trimestre 1996

n° 77

SOMMAIRE

24^{ème} Congrès de la Société Herpétologique de France Nancy (28 juin - 1^{er} juillet 1995) (1^{ère} partie)

- **Déterminisme de l'inversion du sexe des gonades chez *Pleurodeles waltl* et *Pleurodeles poireti* (Amphibiens, Urodèles) sous l'effet de la température d'élevage**
Dominique CHARDARD, Amand CHESNEL, Alain BAUTZ et Christian DOURNON..... 5
- **Le point sur le déterminisme du sexe en fonction de la température chez les reptiles**
Claude PIEAU..... 11
- **Les amphibiens dans la conquête spatiale**
Alain BAUTZ et Christian DOURNON..... 23
- **Taille, sex-ratio et structure d'âge d'une population de *Salamandra lanzai* (Caudata, Salamandridae) dans les Alpes du Sud-Est de la France**
Alexandre RIBERON, Claude MIAUD et Robert GUYÉTANT..... 35
- **Bulletin de liaison** 46

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

1^{er} trimestre 1996

n° 77

CONTENT

24th Annual Meeting of the French Herpetological Society Nancy (1995, June 28 - July 1) (1st part)

- **Gonadal sex change determination and rearing temperature in *Pleurodeles waltl* and *Pleurodeles poireti* (Amphibia, Urodela).**
Dominique CHARDARD, Amand CHESNEL, Alain BAUTZ and Christian DOURNON..... 5
- **Sex determination as a function of temperature in reptiles : a review**
Claude PIEAU..... 11
- **Amphibians in the conquest of space**
Alain BAUTZ and Christian DOURNON..... 23
- **Size, sex-ratio and demography of a population of *Salamandra lanzai* (Caudata, Salamandridae) in the Alps of South-East France (Parc Naturel Régional du Queyras, Hautes Alpes)**
Alexandre RIBERON, Claude MIAUD and Robert GUYÉTANT..... 35
- **Notes, news from the society..... 46**

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

1^{er} trimestre 1996

Bulletin de liaison

n°77

SOMMAIRE

NOTES

- **NOTES D'ÉLEVAGE (Roland Simon)**
- *Lampropeltis triangulum sinaloa* (Serpent de lait de Sinaloa)
par Michel LAMOUILLE 47
- *Lampropeltis triangulum campbelli* (Serpent de lait de Puebla)
par Michel LAMOUILLE 48
- *Boa constrictor constrictor* (Boa constricteur)
par Michel LAMOUILLE 48
- *Eublepharis macularis* (Gecko léopard)
par Philippe GERARD 50
- Fiche de résultats 51
- **LE POINT SUR LA LÉGISLATION**
par Emmanuel LEMONNIER 52

VIE DE LA SOCIÉTÉ

- Compte-rendu de l'Assemblée Générale de la SHF,
Nancy (30 juin 1995) 55
- Liste des nouveaux membres admis en 1995 58
- Rapport moral pour l'année 1994 - 1995 59
- Rapport financier du Trésorier (1994-1995) 61
- Rapport d'activité de la commission de protection 1994 -1995 67
- Rapport d'activité de la commission de terrariophilie
(1994- 1995) 69

DÉTERMINISME DE L'INVERSION DU SEXE DES GONADES CHEZ *Pleurodeles waltl* et *Pleurodeles poireti* (AMPHIBIENS, URODÈLES) SOUS L'EFFET DE LA TEMPÉRATURE D'ÉLEVAGE

par

Dominique CHARDARD, Amand CHESNEL, Alain BAUTZ et Christian DOURNON

Résumé - *Pleurodeles waltl* et *Pleurodeles poireti* sont deux amphibiens présentant un déterminisme génétique du sexe de type femelle ZW / mâle ZZ. Le phénotype sexuel peut être inversé de façon fonctionnelle par une température d'élevage des larves de 30-32°C. Chez *Pleurodeles waltl*, les femelles génétiques sont masculinisées; chez *Pleurodeles poireti*, les mâles génétiques sont féminisés. En l'absence d'hétéromorphisme des chromosomes mitotiques, le patron électrophorétique de la peptidase-1 permet le diagnostic du génotype sexuel. Cette enzyme est dimérique ; son polymorphisme est lié à la présence de deux gènes codominants A et β ou B localisés sur les deux chromosomes sexuels Z et W, mais ils sont en position inverse chez *P. waltl* et *P. poireti*. La corrélation entre le sens de l'inversion sexuelle et l'inversion de position des gènes peptidase-1 entre ces deux amphibiens, a conduit à émettre une hypothèse selon laquelle une séquence HAS thermosensible (HAS = heat-activated sequence) serait liée au gène peptidase-1 β ou B. Cette séquence pourrait, durant la période thermosensible pour la différenciation du sexe des gonades, contrôler l'expression des gènes codant pour l'aromatase P 450. L'activité de cette enzyme dans les gonades est élevée chez les femelles standard ZW, faible chez les mâles standard ZZ mais aussi chez les femelles ZW en cours de masculinisation. La séquence HAS pourrait contrôler l'expression de l'aromatase durant la période thermosensible.

Mots-clés : Amphibiens. Détermination du sexe. Température d'élevage. Gonades. Peptidase-1. Aromatase P 450.

Summary - The two amphibians *Pleurodeles waltl* and *Pleurodeles poireti* display a ZW / ZZ mechanism of genotypic sex determination. The sexual phenotype could be functionally sex reversed by a 30-32°C heat treatment of the larvae. In *P. waltl*, the ZW genotypic females were masculinized while in *P. poireti*, the ZZ genotypic males were feminized. In the absence of chromosomal heteromorphism, the diagnostic of the sexual genotype was permitted from the electrophoretic pattern of peptidase-1. This enzyme is dimeric and polymorphic; the genes A and β or B are located on the two sex chromosomes Z and W, but they are in inverted positions in *P. waltl* and in *P. poireti*. From the correlation between the two directions of the sex reversal and the inversion of peptidase-1 gene locations in these two amphibians, we hypothesize that a thermosensitive sequence, called HAS (heat-activated sequence), would be linked to the peptidase-1 β or B gene. This sequence could control the expression of the aromatase P450 gene during the thermosensitive period of the gonadal sex differentiation. In fact, the aromatase enzymatic activity in the gonads was high in the ZW standard females and low in both the ZZ standard males and in the ZW females during male sex reversal. The HAS sequence could control the expression of aromatase during the thermosensitive period.

Key-words : Amphibians. Sex determination. Rearing temperature. Gonads. Peptidase-1. Aromatase P 450.

I. INTRODUCTION

Au cours du développement des vertébrés, le génotype sexuel mis en place à la fécondation contrôle l'expression du phénotype sexuel des gonades dont dépendent ensuite les autres caractères sexuels.

Chez les amphibiens, l'élevage des larves (têtards) à la température ambiante (de 18 à 22°C) conduit en règle générale au sex ration (rapport mâles : femelles) égal à 1. Cependant pour certains amphibiens, l'élevage des larves à des températures élevées ou basses compatibles avec le développement dévie le sex ratio observé à la métamorphose.

L'étude des effets de la température d'élevage sur la différenciation sexuelle fut entreprise pour la première fois par Witschi sur *Rana temporaria* et *Rana sylvatica* (Witschi, 1914, 1929). D'autres auteurs examinèrent ensuite des Anoures comme *Bufo vulgaris* (Piquet, 1930), *Rana japonica* (Yoshikura, 1959, 1963), *Rana catesbeiana* (Hsü *et al.*, 1971) et un Urodèle *Hynobius retardatus* (Uchida, 1937 a, b). Dans tous les cas, des modifications histologiques des gonades ainsi que des sex ratios déviés furent décrits. Cependant, l'inversion complète et fonctionnelle du sexe ne fut pas démontrée. En effet, il était alors impossible d'identifier le génotype sexuel des individus qui ne furent élevés que quelques semaines après la métamorphose.

Par ailleurs, l'interprétation des résultats obtenus avec ces espèces doit prendre en compte l'existence de races sexuelles chez les amphibiens.

A la température ambiante, dans les races sexuellement différenciées, auxquelles appartiennent *Rana sylvatica*, *Rana japonica*, *Rana catesbeiana* et *Bufo vulgaris*, les gonades sexuellement indifférenciées évoluent conformément au génotype sexuel et dans ces conditions, à la métamorphose, le sex ratio est égal à 1. Dans les races sexuellement indifférenciées, comme *Rana temporaria*, la différenciation sexuelle des gonades des mâles génétiques débute par une période de féminisation ; à la métamorphose tous les individus possèdent des gonades de type ovarien. Suit alors, pour les mâles génétiques, une période d'intersexualité gonadique ; puis, en quelques semaines ou même en quelques mois après la métamorphose le sex ratio s'équilibre. Dans les races sexuelles semi-différenciées, comme celle d'*Hynobius retardatus*, des gonades femelles et des gonades intersexuées sont observables à la métamorphose en proportion variable selon les espèces d'amphibiens. Après la métamorphose, les intersexués et quelques individus qui présentaient de façon transitoire des gonades d'aspect femelle évoluent en mâles phénotypiques. La période "femelle" est ici pour les mâles, plus courte que dans les races sexuelles indifférenciées.

Ainsi chez les amphibiens durant la période juvénile, l'intersexualité et les modifications du sex ratio peuvent avoir des causes différentes selon la race sexuelle et la température d'élevage. Dans les races indifférenciées et semi-différenciées, l'intersexualité peut correspondre à la période de transition de la différenciation testiculaire des mâles génétiques, tandis que dans les races différenciées, l'intersexualité peut résulter de l'inversion partielle des gonades des femelles génétiques. Ainsi dans l'étude de la différenciation du sexe des gonades, il est nécessaire de faire la part de l'évolution normale des gonades et celle des effets d'un facteur épigénétique telle que la température d'élevage.

De plus, alors que la masculinisation partielle des gonades n'a été observée qu'à la métamorphose, il a été très souvent affirmé que, chez les amphibiens, les gonades intersexuées évoluent ultérieurement en testicules (prévalence mâle) et donc conduisent à 100% de mâles phénotypiques. Or, des résultats recueillis à partir de deux espèces d'Urodèles, *Hynobius retardatus* (Uchida, 1937 a et b) et *Pleurodeles waltl* (Dournon, 1981 ; Houillon et Dournon, 1986) montrent que des intersexués peuvent aussi évoluer en femelles phénotypiques.

Par conséquent, dans l'étude de la différenciation gonadique chez les amphibiens, il est important de travailler sur des espèces dont la race sexuelle est connue et sur des espèces qui peuvent se reproduire et s'élever en laboratoire ce qui permet des études de descendance.

Notre travail concerne deux espèces, *Pleurodeles waltl* et *Pleurodeles poireti*, proches sur le plan phylogénétique et de race sexuelle différenciée. Suite à un élevage des larves à la température ambiante du laboratoire, le sex ratio est égal à 1 à la métamorphose. Pour ces Urodèles, nous avons démontré qu'il existe un déterminisme génétique rigoureux du sexe des gonades qui s'exprime à température ambiante ; nous avons en outre démontré que ce déterminisme pouvait être perturbé par une température d'élevage anormale des larves au point d'obtenir des inversions sexuelles fonctionnelles.

Pleurodeles waltl s'élève couramment en laboratoire. *Pleurodeles poireti* est plus difficile à maintenir en élevage et à faire se reproduire au laboratoire.

II. DÉTERMINATION GÉNÉTIQUE DU SEXE A LA TEMPÉRATURE AMBIANTE

Pour des larves de *Pleurodeles* issues de lignées standard et élevées à la température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), le phénotype sexuel est toujours conforme au génotype sexuel. L'utilisation d'un marqueur moléculaire du génotype sexuel, la peptidase-1 (voir ci-après), apporte la confirmation de la concordance entre génotype sexuel et phénotype sexuel. Le génotype sexuel des mâles standard est ZZ et celui des femelles standard ZW (Gallien, 1954; Collenot *et al.*, 1989; Dournon *et al.*, 1990).

De plus les analyses génétiques de descendance élevées à la température ambiante montrent que le sex ratio observé est toujours conforme à la prévision théorique, cela quels que soient les génotypes sexuels des parents (Dournon et Houillon, 1984).

III. INVERSION FONCTIONNELLE DU PHÉNOTYPE SEXUEL A UNE TEMPÉRATURE DE $30^\circ\text{C} - 32^\circ\text{C}$

Chez *Pleurodeles waltl* et *Pleurodeles poireti*, l'élevage des larves à une température de $30^\circ\text{C} - 32^\circ\text{C}$ dévie le sex ratio de façon significative, voire même provoque l'inversion sexuelle de tous les individus de l'un des sexes. Les preuves de l'inversion par la température des femelles génotypiques ZW en néomâles ZW chez *P. waltl* (Dournon et Houillon, 1984) et les preuves de l'inversion des mâles génotypiques ZZ en néofemelles Z chez *P. poireti* (Dournon *et al.*, 1984) ont été apportées de façon irréfutable par des analyses de descendance.

A noter que chez *P. poireti* et chez *P. waltl*, la chaleur a des effets opposés sur l'inversion du sexe des gonades.

IV. PÉRIODE THERMOSENSIBLE POUR LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE DES GONADES

Chez *P. waltl*, les femelles génotypiques ZW ne sont pas toutes inversées par un traitement à 30°C , certaines ont même des gonades intersexuées. Mais suite à un traitement à 32°C , toutes les femelles génotypiques ZW sont totalement inversées. La période larvaire et la durée minimale de ce traitement ont été précisées (Dournon et Houillon, 1985). La période thermosensible est comprise entre les stades larvaires 42 et 54. Entre ces deux stades, le développement dure deux mois à 32°C .

Chez *P. poireti*, la période et la durée du traitement à 30°C correspond à celle de *P. waltl*. Cependant, pour cette espèce, une efficacité à 100% du traitement à 32°C n'a pu être encore démontrée du fait de la rareté de cette espèce et du nombre réduit de descendance disponibles.

V. INTERPRÉTATION ACTUELLE DES CAUSES DE L'INVERSION DU SEXE DES GONADES

A - Peptidase-1

Le génotype sexuel peut-être diagnostiqué à partir du profil électrophorétique de la peptidase-1. Cette enzyme spécifique *in vitro* de la liaison valyl-leucine est dimérique et polymorphique. Elle est codée par deux gènes codominants liés respectivement aux chromosomes sexuels Z et W.

Chez *P. waltl*, le gène *pep-1A* est lié au chromosome Z et le gène *pep-1β* ou *-1B* est lié au chromosome W. Les mâles normaux sont Z_AZ_A et les femelles normales Z_AW_B ou Z_AW_B (Ferrier *et al.*, 1983 ; Dournon *et al.*, 1988 ; Rudolf *et al.*, 1996). Chez *P. poireti*, contrairement à *P. waltl*, le gène *pep-1A* est lié au chromosome W et le gène *pep-1β* est lié au chromosome Z. Les mâles normaux sont Z_BZ_B et les femelles normales Z_BW_A (Dorazi *et al.*, 1995). Il existe donc entre *P. waltl* et *P. poireti* une inversion des gènes *pep-1A* et *pep-1β* ou *pep-1B* entre les chromosomes sexuels Z et W (fig. 1). Les résultats acquis suggèrent que l'inversion des gènes *pep-1A* et *pep-1β* ou *pep-1B* entre les chromosomes Z et W de *P. waltl* et *P. poireti* est corrélée au sens de l'inversion du sexe par la température d'élevage.

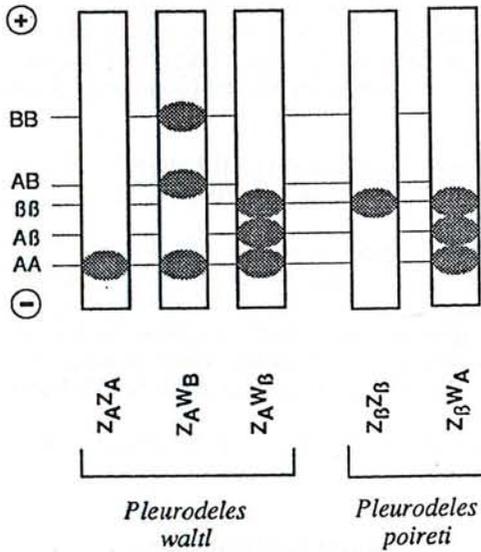


Figure 1 : Profils électrophorétiques de la peptidase-1 des mâles et femelles chez *Pleurodeles waltl* et *Pleurodeles poireti*.

Nous formulons l'hypothèse suivante. Un échange réciproque entre les chromosomes Z et W, localisé dans les secteurs différentiels du sexe serait à l'origine des deux espèces *P. waltl* et *P. poireti* (Rudolf *et al.*, 1996). A l'occasion de cet échange, d'autres gènes auraient été associés aux gènes peptidase-1 et en particulier une séquence sensible à une température anormalement élevée contrôlant la différenciation sexuelle. Cette séquence thermosensible dénommée HAS (= heat-activated sequence) pourrait, chez *P. waltl*, être associée au gène *pep-1β* ou à son allèle *pep-1B* sur le chromosome W et être absente sur le chromosome Z, et au contraire, chez *P. poireti*, être associée au gène *pep-1β* sur le chromosome Z et être absente sur le chromosome W (Dorazi *et al.*, 1995).

Ces gènes peptidase-1 s'avèrent donc d'une importance primordiale car une fois localisés sur les chromosomes sexuels, ils pourraient nous permettre d'approcher et de vérifier l'existence de la séquence HAS régulatrice de l'inversion sexuelle chez *Pleurodeles*.

Une étude de l'expression de la peptidase-1 au cours du développement embryonnaire et larvaire, ainsi que dans divers organes d'adultes mâles et femelles montre que la peptidase-1 n'intervient ni dans la détermination, ni dans l'inversion du sexe chez *Pleurodeles waltl* (Rudolf et Dournon, 1996).

Cette enzyme est donc uniquement un excellent marqueur du génotype sexuel aussi bien pour les animaux standard que pour les individus sexuellement inversés (Dournon *et al.*, 1988 ; Collenot *et al.*, 1989).

B - Aromatase P 450

L'aromatase P 450 est une enzyme de conversion de certains androgènes en oestrogènes. L'activité de cette enzyme a été mesurée au cours du développement larvaire chez *Pleurodeles waltl*.

Au cours d'un élevage effectué à température ambiante, l'activité de cette enzyme dans les gonades devient élevée bien avant le début de la différenciation sexuelle des gonades femelles. Dans les gonades mâles, avant et après le début de leur différenciation sexuelle, l'activité de l'aromatase P 450 reste très faible. Une très faible activité enzymatique est trouvée aussi bien chez les mâles normaux ZZ que chez les femelles génétiques ZW élevées à 32°C et en cours d'inversion sexuelle. L'activité de l'aromatase P 450 est donc différente bien avant toute différenciation histologique du sexe des gonades, c'est à dire différente selon le futur phénotype sexuel des gonades, ovarien ou testiculaire. Par ailleurs, des passages de 20 à 32°C pour quelques heures suivis d'un retour à la température ambiante induisent chez les larves ZW un abaissement de l'activité aromatase uniquement lorsqu'ils sont réalisés durant la période thermosensible. La température d'élevage paraît contrôler l'activité transcriptionnelle du gène aromatase (Chardard *et al.*, 1995).

V. CONCLUSION

Chez *Pleurodeles*, dans les conditions normales d'élevage en laboratoire, le déterminisme du sexe est strictement génétique. Dans des conditions anormales de température, chez ces amphibiens comme chez les reptiles, des processus de régulation sont probablement modifiés pour conduire à une différenciation sexuelle des gonades contraire au génotype des individus (voir l'article de Claude Pieau dans ce même numéro du Bulletin). Notre objectif est de vérifier si l'activité aromatase n'est pas sous contrôle d'une séquence du type HAS.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHARDARD, D., DESVAGES, G., PIEAU, C. et DOURNON, C. (1995) - Aromatase activity in larval gonads of *Pleurodeles waltl* (urodele, amphibia) during normal differentiation and during reversal by thermal treatment effect. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **99** : 100-107.

COLLENOT, A., DOURNON, C. and LAUTHIER, M. (1989) - Genetic evidence for linkage with the Z and W sex chromosomes of two distinct couples of alleles controlling larval and post metamorphic skin pigmentation in salamander. *Biol. Cell.*, **135** : 241-249.

DORAZI, R., CHESNEL, A. et DOURNON, C. (1995) - Oposite sex determination of gonads in two *Pleurodeles* species may be due to a temperature-dependent inactivation of sex chromosomes. *J. of Heredity.*, **86** : 28-31.

DOURNON, C. (1981) - Action d'une température d'élevage à 30°C sur la morphogenèse, l'inversion fonctionnelle du phénotype sexuel et la prolifération des cellules germinales chez l'amphibien urodèle *Pleurodeles waltl*. Thèse Doc. État ès Sci. Nat., Université P. et M. Curie, Paris, 204 p.

DOURNON, C. et HOUILLON, C. (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) : 361-378.

DOURNON, C. et HOUILLON, C. (1985) - Thermosensitivity of sexual differentiation in the newt *Pleurodeles waltlii* Michah (urodela amphibian). Requirements for sexual inversion of all genotypic females by heat treatment. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **25** (4A) : 671-688.

- DOURNON, C., COLLENOT, A. et LAUTHIER M. (1988) - Sex-linked peptidase-1 patterns in *Pleurodeles waltlii* Michah. (Urodele amphibian) : genetic evidence for a new codominant allele on the W sex chromosome and identification of ZZ, ZW and WW sexual genotypes. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **28 (4A)** : 979-987.
- DOURNON, C., GUILLET, F., BOUCHER, D. et LACROIX, J.-C. (1984) - Cytogenetic and genetic evidence of male sexual inversion by heat treatment in the newt *Pleurodeles poireti*. *Chromosoma (Berl.)*, **90** : 261-264.
- DOURNON, C. et HOUILLON, C. et PIEAU, C. (1990) - Temperature sex reversal in Amphibia and Reptiles. *Int. J. Dev. Biol.*, **34** : 81-92.
- FERRIER, V., GASSER, F., JAYLET, A. et CAYROL, C. (1983) - A genetic study of various enzyme polymorphisms in *Pleurodeles waltlii* (Urodele Amphibian). II. Peptidases : Demonstration of sex linkage. *Biochem. Genet.*, **21** : 535-549.
- GALLIEN, L. (1954) - Inversion expérimentale du sexe sous l'action des hormones sexuelles chez le Triton *Pleurodeles waltlii* Michah. Analyse des conséquences génétiques. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **77** : 456-461.
- HOUILLON, C. et DOURNON, C. (1986) - Development of the urogenital tract in double-bodied pleurodele chimeras : position effect on interaction between gonads of different sex. *Reprod. Nutr. Develop.*, **26 (5A)** : 1115-1135.
- HSÜ, C. Y. , YÜ, N. W. et LIANG, H. M. (1971) - Induction of sex reversal in female tadpoles of *Rana catesbeiana* by temperature treatment. *Endocrinol., Japon*, **18** : 243-251.
- PIQUET, J. (1930) - Détermination du sexe chez les Batraciens en fonction de la température. *Rev. Suisse Zool.*, **37** : 173-281.
- RUDOLF, E. et DOURNON, C. (1996) - Activity of peptidase-1, a sex linked enzyme, during larval development at normal or sex reversal rearing temperature and according to tissues in adults of *Pleurodeles waltli* (urodele amphibian). *Comp. Biochem. Physiol.*, **115** : 177-186.
- RUDOLF, E., DORAZI, R., CHESNEL, A., DURAND, D., BAUTZ, A. et DOURNON, C. (1996) - *Pleurodeles waltli* et *Pleurodeles poireti* : corrélations entre leur origine nord-africaine ou ibérique et les gènes B ou β de la peptidase-1, enzyme liée au sexe. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **121 (1)** : 21-29.
- UCHIDA, T. (1937 a) - Studies on the sexuality of Amphibia. I - Sexual induction in a sexually semi-differentiated Salamander. *J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ., Ser. 6 (Zool)*, **6** : 35-38.
- UCHIDA, T. (1937 b) - Studies on the sexuality of Amphibia. II - Sex transformation in *Hynobius retardatus* by the function of high temperature. *J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ., Ser. 6 (Zool)*, **6** : 59-70.
- WTSCHI, E. (1914) - Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von *Rana temporaria*. *Arch. Mikr. Anatomic.*, **85** : 9-13.
- WTSCHI, E. (1929) - Studies on sex differentiation and sex determination in Amphibians. II - Sex reversal in female tadpoles of *Rana sylvatica* following the application of high temperature. *J. Exp. Zool.*, **52** : 267-291.
- YOSHIKURA, M. (1959) - The action of the pituitary in sex differentiation and sex reversal in Amphibians. II - Effects of high temperature on the gonads of hypophysectomized frog tadpoles. *Kumamoto J. Sci., Ser. B., Sec. 2*, **4** : 69-101.
- YOSHIKURA, M. (1963) - Influence of high temperature on the development of gonads of thiourea-treated frog tadpoles. *Kumamoto J. Sci., Ser. B, Sec. 2*, **6** : 79-101.

D. CHARDARD, A. CHESNEL, A. BAUTZ et C. DOURNON
 Laboratoire de Biologie expérimentale - Immunologie. EA 1119
 Université Henri Poincaré, Nancy 1 Faculté des Sciences - BP 239
 54506 VANDOEUVRE-LÈS-NANCY cedex
 e-mail : dournon@scbiol.u-nancy.fr

LE POINT SUR LE DÉTERMINISME DU SEXE EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE CHEZ LES REPTILES

par

Claude PIEAU

Résumé - L'influence de la température d'incubation des oeufs sur le déterminisme du sexe a été mise en évidence chez tous les crocodyliens étudiés jusqu'à présent (la moitié des espèces), de nombreuses tortues, quelques lézards et les deux espèces actuelles de *Sphenodon*. En incubation artificielle, certaines températures conduisent à 100% ou une majorité de mâles, d'autres à 100% ou une majorité de femelles ; les températures intermédiaires conduisent à des mâles et des femelles dans des proportions variables. La période thermosensible couvre 18 à 30% du développement embryonnaire et correspond aux premières étapes de la différenciation sexuelle des gonades. Pendant cette période, les gonades synthétisent déjà des stéroïdes et cette synthèse est influencée par la température. En particulier, la synthèse d'oestrogènes est activée à température féminisante, alors qu'elle est inhibée à température masculinisante. Diverses expériences ont prouvé l'implication de ces hormones dans la différenciation gonadique et mis en évidence le rôle de l'aromatase, l'enzyme qui convertit les androgènes en oestrogènes. Les résultats suggèrent qu'un facteur thermosensible pourrait intervenir, directement ou indirectement, dans la régulation transcriptionnelle du gène codant pour l'aromatase chez les reptiles présentant un déterminisme du sexe dépendant de la température.

Mots-clés : Reptiles. Déterminisme du sexe. Température. TSD. Gonades. Oestrogènes. Aromatase.

Summary - Egg incubation temperature influences sex determination in all crocodylians so far studied (half of the species), many chelonians, some lizards and the two extant species of *Sphenodon*. Some artificial incubation temperatures yield 100% (or predominantly) males, while others yield 100% (or predominantly) females ; intermediate temperatures produce various male : female ratios. The thermosensitive period for sex determination covers 18-30% of embryonic development, and corresponds to the first stages of sexual differentiation of the gonads. The gonads are already synthesizing steroids during this period, and the synthesis is temperature-dependent. In particular, synthesis of oestrogens is activated at female-producing temperatures, and inhibited by male-producing temperatures. Many experiments have demonstrated the involvement of these hormones in gonadal differentiation, and the key role of aromatase, the enzyme converting androgens to oestrogens. Results suggest that a thermosensitive factor could intervene, directly or indirectly, in the transcriptional regulation of the aromatase gene in reptiles with temperature-dependent sex determination (TSD).

Key-words : Reptiles. Sex determination. Temperature. TSD. Gonads. Oestrogens. Aromatase.

I. INTRODUCTION

Chez de nombreuses espèces de reptiles, le sexe est déterminé par les chromosomes sexuels, dès la fécondation et obéit à un système mâle XY / femelle XX ou à un système femelle ZW / mâle ZZ ("Genotypic Sex Determination", GSD, Bull, 1980). Chez d'autres espèces, toutes ovipares, la différenciation sexuelle des gonades est sensible à la température d'incubation des oeufs pendant une période critique du développement embryonnaire ("Temperature-dependent Sex Determination", TSD, Bull, 1980). En 1966, Charnier suggéra que la température pourrait influencer la sex ratio des nouveau-nés chez un lézard, *Agama agama*. Quelques années plus tard, des incubations à différents températures d'oeufs de deux tortues, *Emys orbicularis* et *Testudo graeca*, démontrèrent l'influence de la température sur le phénotype sexuel des embryons (Pieau, 1971, 1972). En 1976, Yntema décrivit ce phénomène chez une autre tortue, *Chelydra serpentina*.

Depuis, TSD a été mis en évidence chez toutes les espèces de crocodiles étudiées, soit la moitié des 22 espèces actuelles (Lang et Andrews, 1994), environ une centaine d'espèces de tortues (Janzen et Paukstis, 1991 ; Ewert *et al.*, 1994), quelques espèces de lézards (Viets *et al.*, 1994) et, plus récemment, chez les deux espèces actuelles de *Sphenodon* (Cree *et al.*, 1995).

Dans cette revue, je rappellerai tout d'abord les différents types de réponses à la température, obtenues en incubation artificielle et préciserai la notion et la signification biologique de température "pivot". Je ferai brièvement le point sur les données concernant la période thermosensible, puis examinerai comment le sexe peut être déterminé dans les conditions naturelles. Enfin, je présenterai les résultats d'expériences récentes montrant l'implication des stéroïdes, notamment des oestrogènes, dans le phénomène de TSD. Pour conclure, je m'efforcerai de montrer comment ces résultats peuvent contribuer à élucider les mécanismes impliqués dans le déterminisme du sexe chez les vertébrés.

II. LES DIFFÉRENTES RÉPONSES A LA TEMPÉRATURE, TEMPÉRATURES "PIVOTS"

En mettant les oeufs de diverses espèces à incuber à différentes températures constantes, trois types de réponse ont été obtenus. Ces types de réponse, désignés par Ia, Ib, et II par Ewert et Nelson (1991), sont représentés sur la figure 1 :

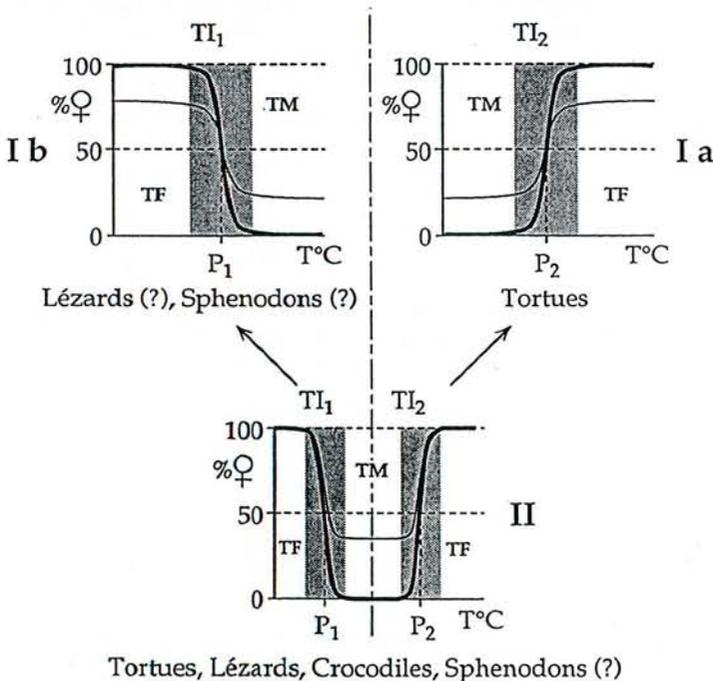


Figure 1 : Déterminisme du sexe en fonction de la température chez les reptiles : les différents types de réponse à la température (Ia, Ib, II) selon Ewert et Nelson (1991). Le type II pourrait être le type ancestral à partir duquel les types Ia et Ib auraient dérivé. (T : température ; TF : températures féminisantes ; TM : températures masculinisantes ; TI : températures intermédiaires ; P1, P2 : températures pivots).

type la : les températures basses donnent 100% ou une majorité de mâles, les températures élevées 100% ou une majorité de femelles ;
type lb : les températures basses conduisent à 100% ou une majorité de femelles, les températures élevées à 100% ou une majorité de mâles ;
type II : les températures basses et élevées donnent 100% ou une majorité de femelles, différentes proportions de mâles étant obtenues aux températures intermédiaires.

Le type la s'observe chez de nombreuses espèces de tortues appartenant à diverses familles ; il a été trouvé chez toutes les tortues marines (Ewert *et al.*, 1994).

Le type lb a été initialement décrit chez le lézard *Eublepharis macularius* (Bull, 1980) et l'alligator *Alligator mississippiensis* (Ferguson et Joanen, 1982), mais les travaux récents, étudiant une plus grande gamme de températures, ont montré que ces deux espèces appartiennent au type II (Viets *et al.*, 1994 ; Lang et Andrews, 1994). De même, les espèces *Agama agama* (Charnier, 1966), *Sphenodon punctatus* et *Sphenodon guntheri* (Cree *et al.*, 1995), actuellement classées dans le type lb, pourraient se révéler de type II si les effets d'une plus grande gamme de température étaient examinés.

Le type II fut initialement découvert chez *Chelydra serpentina* (Yntema, 1976). Depuis, il a été trouvé chez plusieurs autres espèces de tortues, 5 espèces de crocodyliens et des lézards. En fait, il semble que ce type soit très répandu, voire unique chez les crocodyliens et les lézards (Lang et Andrews, 1994 ; Viets *et al.*, 1994). Pour cette raison, on pense qu'il pourrait représenter le type ancestral à partir duquel les types la et lb auraient dérivé (fig. 1), soit par perte de féminisation à des températures extrêmes (températures basses en la, élevées en lb), soit parce que ces températures, lorsqu'elles sont constantes, sont au delà des limites de survie des embryons (Pieau, 1996). Dans chaque type de réponse, il existe une gamme de températures intermédiaires (TI, fig. 1) permettant la différenciation des deux sexes. Dans cette gamme, qui, suivant les espèces, varie de 1 à plusieurs degrés, la température "pivot" (ou température "seuil", Bull, 1980 ; ou température "critique", Pieau, 1976) a été définie comme donnant 50% de femelles. Cette température peut être déterminée pour une ponte (en particulier, lorsque le nombre d'oeufs est important, cas des tortues marines), une population (par exemple dans un étang ou un groupe d'étangs de Brenne pour la tortue *Emys orbicularis*) ou une espèce (Mrosovsky et Pieau, 1991). L'analyse de la sex ratio et de son héritabilité dans diverses pontes de tortues incubées au voisinage de la température critique a mis en évidence un composant génétique du déterminisme du sexe chez ces espèces (Bull *et al.*, 1982 ; Girondot *et al.*, 1994 a). Chez *Emys orbicularis*, ce composant génétique pourrait correspondre à un déterminisme de type ZW / ZZ (Zaborski *et al.*, 1988 ; Girondot *et al.*, 1994 b).

III. PÉRIODE THERMOSENSIBLE

Pour déterminer la période thermosensible dans une espèce, des oeufs sont transférés d'une température masculinisante à une température féminisante, ou l'inverse, à différents stades du développement embryonnaire et la sex ratio est examinée à la fin de la vie embryonnaire ou à l'éclosion. Les résultats varient selon les conditions expérimentales choisies, notamment en fonction des températures utilisées qui sont plus ou moins éloignées de la température pivot et donc plus ou moins masculinisantes ou féminisantes (Mrosovsky et Pieau, 1991). Néanmoins, en se situant dans les limites raisonnables, proches des conditions naturelles, on a pu établir que selon les espèces, la période thermosensible couvre de 18 à 30% du développement embryonnaire et se situe dans le deuxième quart (lézards), le deuxième tiers (tortues) ou le troisième quart (crocodyles) de ce développement. Dans tous les cas, la période thermosensible correspond aux premières étapes de la différenciation sexuelle des gonades (Pieau et Dorizzi, 1981 ; Wibbels *et al.*, 1991 ; Lang et Andrews, 1994).

IV. DÉTERMINISME DU SEXE DANS LES CONDITIONS NATURELLES

Dans les conditions naturelles, le composant génétique du déterminisme du sexe sera masqué si, pendant la période thermosensible, la température dans les nids se maintient au-dessus ou au dessous de la température pivot. Mais, et c'est souvent le cas, si la température fluctue autour de la température pivot, le sexe des individus résultera de l'influence à la fois du génotype et de la température.

En 1973, j'avais étudié au laboratoire les effets de variations cycliques de température sur la sex ratio d'embryons d'*Emys orbicularis*. Les résultats obtenus m'avaient conduit à considérer que dans un nid, pendant la période thermosensible, une oscillation régulière de la température, avec, chaque jour, des durées sensiblement égales de part et d'autre de la température pivot, devrait aboutir à une sex ratio voisine de 1 mâle : 1 femelle (Pieau, 1973). Je réalisai ensuite des expériences dans la nature (en Brenne), consistant à incuber des oeufs d'*Emys orbicularis* dans le sol, à enregistrer la température à leur niveau, puis à analyser la sex ratio en rapport avec la température pendant la période thermosensible. Dans plusieurs expériences, la sex ratio était déviée en faveur des femelles, alors que les durées quotidiennes d'incubation aux températures masculinisantes avaient été nettement supérieures à celles aux températures féminisantes. Les durées respectives d'exposition aux températures masculinisantes et féminisantes ne pouvaient donc rendre compte des sex ratios observées. Le développement embryonnaire étant plus rapide à température élevée qu'à température basse, j'avais estimé que la fraction de développement pendant laquelle les embryons avaient été exposés à des températures féminisantes avait dû être en fait supérieure à la fraction exposée à des températures masculinisantes. J'avais alors émis l'hypothèse que dans les conditions naturelles, ce sont les proportions de développement exposées respectivement aux températures féminisantes et aux températures masculinisantes qui sont importantes et non les durées d'exposition à ces températures (Pieau, 1982). Cette hypothèse a, depuis, fait l'objet d'un modèle mathématique et a été confirmée expérimentalement chez la tortue marine *Caretta caretta* (Georges, 1989 ; Georges *et al.*, 1994).

V. IMPLICATION DES STEROIDES DANS LA DIFFÉRENCIATION SEXUELLE DES GONADES

Chez *Emys orbicularis*, l'incubation des oeufs au voisinage de la température pivot conduit à des femelles typiques et à des mâles dont les gonades présentent divers degrés d'intersexualité. Les testicules sont typiques ou présentent un cortex plus ou moins épais. Fréquemment, le cortex est aussi développé que dans les ovaires : les gonades sont des *ovotestes* (Pieau, 1976 ; Raynaud et Pieau, 1985). Ces résultats indiquent que la structure des gonades dépend de la production plus ou moins importante d'une ou de plusieurs substances masculinisantes ou féminisantes. Des modifications ou même l'inversion du phénotype sexuel des gonades ont été obtenues avec des traitements hormonaux (androgènes ou oestrogènes) dans les différentes classes de vertébrés. On peut donc penser que les stéroïdes font partie des substances impliquées dans la différenciation sexuelle normale des gonades et que chez les reptiles présentant TSD, la synthèse des stéroïdes est dépendante de la température (Pieau, 1985).

A. Mise en évidence de la synthèse précoce de stéroïdes dans les gonades

La synthèse de stéroïdes a été étudiée *in vitro* dans les gonades d'*Emys orbicularis*, pendant et après la période thermosensible, à l'aide de précurseurs tritiés : prégénolone, progestérone, déhydroépiandrosterone, androstènedione. Cette étude a montré que, dès le début de la période thermosensible, les enzymes de la stéroïdogénèse

sont présentes et actives permettant une stéroïdogénèse complète, jusqu'à la production de testostérone et d'oestradiol, dans les gonades. De plus, les voies métaboliques sont différentes selon la température d'incubation. Ainsi à 25°C (température masculinisante), l'activité de la 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase-5-ène-4-ène isomérase (3 β HSD) est plus élevée qu'à 30°C (température féminisante) (Desvages et Pieau, 1991). Par dosage radio-immunologique, on a pu montrer que la production d'oestrogènes, bien qu'encore faible, est significativement plus importante à 30°C qu'à 25°C dès le début de la période thermosensible (Dorizzi *et al.*, 1991).

B - Implication des oestrogènes et rôle de l'aromatase dans la différenciation des gonades

Chez *Emys orbicularis*, l'injection pendant la période thermosensible, de benzoate d'oestradiol ou d'oestrone dans des oeufs incubés à 25°C (température donnant 100% de mâles), provoque l'inversion partielle ou totale du phénotype sexuel des gonades ; suivant la dose d'hormone injectée, les gonades sont des *ovotestes* ou des ovaires typiques (Pieau, 1974 ; Dorizzi *et al.*, 1991). Inversement, l'injection de tamoxifène ou d'inhibiteurs d'aromatase non stéroïdiens (Fadrozole, Létrozole) dans des oeufs incubés à 30°C (température donnant 100% de femelles), induit la formation de testicules. Ceux-ci présentent des tubes testiculaires bien différenciés et, souvent, une ébauche de cortex plus ou moins développée (Dorizzi *et al.*, 1991, 1994). Cependant, ils fonctionnent comme des testicules normaux : ils présentent une faible activité aromatase (voir ci-dessous) et sécrètent un facteur provoquant la régression des canaux de Müller (Richard-Mercier *et al.*, 1995). La caractérisation biochimique de ce facteur anti-Müllérien n'a pas encore été réalisée chez les reptiles.

Le tamoxifène est un antioestrogène, c'est-à-dire une substance qui en se liant aux récepteurs des oestrogènes, entre en compétition avec ces hormones et empêche leur action. L'aromatase est l'enzyme qui convertit les androgènes (androstènedione, testostérone) en oestrogènes (oestrone, oestradiol-17 β) (fig. 2). Les inhibiteurs d'aromatase inhibent l'activité de cette enzyme et empêchent ainsi la synthèse d'oestrogènes. Les résultats expérimentaux obtenus chez *Emys orbicularis* prouvent donc l'implication des oestrogènes dans la différenciation sexuelle normale des gonades. A 25°C, le niveau d'oestrogènes dans les gonades est faible : les tubes testiculaires peuvent se différencier et le cortex ne se développe pas. A 30°C, le niveau d'oestrogènes est plus élevé : le développement des tubes testiculaires est inhibé, celui du cortex est stimulé (les cellules germinales s'accumulent dans le cortex, s'y divisent et entrent en prophase méiotique). Le traitement par les oestrogènes à température masculinisante reproduit les effets de la température féminisante. On observe d'ailleurs que la période de sensibilité à ces hormones correspond à la période de sensibilité à la température (revue dans Pieau *et al.*, 1994 b). Le traitement par des antioestrogènes ou des inhibiteurs d'aromatase à température féminisante lève l'inhibition exercée par les oestrogènes sur les tubes testiculaires et permet donc leur développement.

Les effets féminisants des oestrogènes sur la différenciation des gonades ont été observés chez d'autres espèces de tortues, des crocodiliens et un lézard présentant TSD (revues dans Pieau *et al.*, 1994b ; Lang et Andrews, 1994). Les effets masculinisants des inhibiteurs d'aromatase ont été obtenus chez deux autres espèces de tortues, *Trachemys scripta* (Crews et Bergeron, 1994 ; Wibbels et Crews, 1994) et *Chelydra serpentina* (Rhen et Lang, 1994).

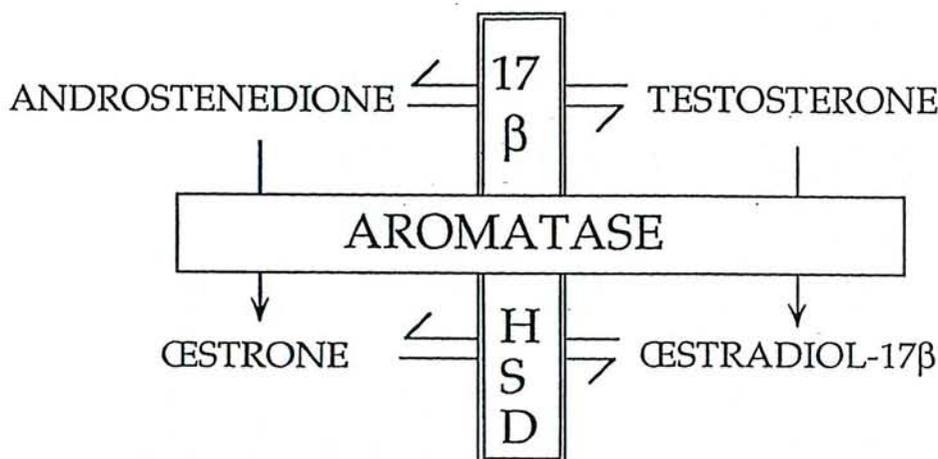


Figure 2 : Conversion des androgènes (androsténédione, testostérone) en oestrogènes (oestrone, oestradiol-17β). L'aromatase est le système enzymatique impliqué dans cette réaction. Par ailleurs, la 17β-hydroxystéroïde déshydrogénase (17β HSD) catalyse la conversion de l'androsténédione en testostérone et celle de l'oestrone en oestradiol-17β ; ces deux réactions sont réversibles.

L'aromatase étant l'enzyme impliquée dans la synthèse des oestrogènes, on doit s'attendre à ce que son activité varie de la même façon que le niveau d'oestrogènes. L'activité aromatase a été mesurée chez les tortues et les crocodiliens. Chez les tortues *Emys orbicularis* et *Dermochelys coriacea*, les mesures ont été effectuées dans les gonades embryonnaires seules, après leur séparation du complexe gonade-surrénale-mésonephros. Les résultats sont parfaitement identiques pour les deux espèces. A température masculinisante, l'activité aromatase demeure très faible depuis le début de la période thermosensible jusqu'à l'éclosion. A température féminisante, l'activité est faible au début de la période thermosensible. Puis, elle augmente exponentiellement jusqu'à la fin de la vie embryonnaire. Elle diminue sensiblement à l'éclosion (Desvages et Pieau, 1992 a, Desvages *et al.*, 1993 et travaux non publiés). Il existe une forte corrélation entre la structure des gonades et l'activité aromatase (Desvages et Pieau, 1992 b et résultats non publiés). De plus, la période de sensibilité de l'aromatase à des changements de température correspond à la période thermosensible pour la différenciation des gonades (Desvages et Pieau, 1992 b ; Desvages *et al.*, 1993).

Chez les crocodyliens *Crocodylus porosus* et *Alligator mississippiensis*, l'activité aromatasase a été mesurée dans l'ensemble du complexe gonade-surrénale-mésonéphros des embryons. Elle augmente fortement au cours de la différenciation ovarienne, alors qu'elle demeure faible au cours de la différenciation testiculaire. Chez les femelles, à l'éclosion, l'activité aromatasase mesurée est essentiellement fournie par les ovaires (Smith et Joss, 1994 ; Smith *et al.*, 1995). Ces résultats sont donc tout à fait semblables à ceux obtenus chez les tortues. De plus, chez les tortues comme chez les crocodyliens, la température d'incubation utilisée pour la mesure de l'activité aromatasase n'a pas d'effet important sur cette activité. On peut donc penser que chez les reptiles présentant TSD, la température agit, directement ou indirectement, sur la synthèse de l'enzyme aromatasase (Desvages et Pieau, 1992 a ; Smith *et al.* 1995).

Chez les vertébrés adultes, on trouve une activité aromatasase dans divers tissus, notamment dans la granulosa des follicules ovariens, le tissu adipeux et le tissu nerveux (cerveau). Dans tous les cas, le niveau d'activité aromatasase est fortement corrélé au niveau d'expression (ARNm) de l'enzyme (Pieau *et al.*, 1994 a ; Pieau, 1996). Ceci suggère que chez les reptiles présentant TSD, la température intervient, directement ou indirectement, dans la régulation transcriptionnelle du gène codant pour l'aromatasase. Trois mécanismes possibles de régulation ont été proposés (Pieau, 1996) :

- la température régule un facteur thermosensible, directement ou indirectement (via l'AMP cyclique ou un autre facteur) impliqué dans l'activation de la transcription du gène codant pour l'aromatasase ;
- la température active ou réprime un facteur thermosensible, directement ou indirectement impliqué dans l'activation de la transcription d'un gène dont le produit réprime l'aromatasase ;
- la température régule l'expression d'une ou de plusieurs protéines de choc thermique impliquées dans la liaison des oestrogènes à leurs récepteurs, ou est impliquée dans la dissociation de cette ou de ces protéines du complexe oestrogène-récepteur aux oestrogènes ; cette dissociation est nécessaire pour activer le récepteur ; les oestrogènes via leurs récepteurs activés amplifient la transcription de l'aromatasase.

Dans l'état actuel des recherches, il n'est pas possible de privilégier l'un ou l'autre de ces mécanismes.

VI. CONCLUSION : INTÉRÊT DE L'ÉTUDE DES REPTILES POUR LA COMPRÉHENSION DES MÉCANISMES DE DÉTERMINISME DU SEXE CHEZ LES VERTÉBRÉS

L'hypothèse d'une implication des hormones stéroïdes dans la différenciation sexuelle des gonades de vertébrés fut formulée il y a soixante ans, à la suite de l'obtention d'intersexués chez des poulets mâles traités avec de la folliculine pendant la vie embryonnaire (Wolff et Ginglinger, 1935). Les données récentes auxquelles ont amplement contribué les travaux effectués chez les reptiles, ont clairement montré l'importance des oestrogènes dans la différenciation sexuelle des gonades de tous les vertébrés non mammaliens, et suggèrent que ces hormones interviennent aussi chez les mammifères. *In vivo*, la féminisation, partielle ou totale, des gonades de mâles génétiques ou d'individus incubés à une température donnant 100% de mâles, a été induite par des oestrogènes exogènes dans toutes les classes de vertébrés, à l'exception des mammifères placentaires (revue dans Pieau *et al.*, 1994 a). La masculinisation des gonades de femelles génétiques ou d'individus incubés à une température donnant 100% de femelles a été obtenue, par des traitements avec des inhibiteurs d'aromatasase, chez les poissons (Piferrer *et al.*, 1994), les amphibiens (Yu *et al.*, 1993), les reptiles (voir ci-

dessus et Wennstrom et Crews, 1995) et les oiseaux (Elbrecht et Smith, 1992 ; Wartenberg *et al.*, 1992). Chez l'amphibien *Pleurodeles waltl*, le phénotype sexuel des gonades obéit à un déterminisme génétique (ZW / ZZ) lorsque les larves se développent à température ambiante ($20\pm 2^\circ\text{C}$), mais à température élevée ($31\pm 1^\circ\text{C}$), les femelles génétiques ZW se transforment en mâles phénotypiques (néo-mâles). L'activité aromatase dans les gonades est faible chez les mâles standard ZZ et les néo-mâles ZW, alors qu'elle augmente fortement au cours du développement chez les femelles standard ZW. De même, l'activité aromatase ne répond à des changements de température que pendant la période thermosensible. Ces résultats sont donc tout à fait semblables à ceux obtenus chez les tortues (Chardard *et al.*, 1995).

Chez les mammifères placentaires, l'étude *in vitro* des effets de l'hormone anti-Müllérienne (AMH, sécrétée par les cellules de Sertoli des testicules chez l'embryon) a révélé une influence possible des oestrogènes sur la différenciation gonadique. En effet, chez l'embryon femelle, l'AMH induit la formation de cordons testiculaires dans les gonades (Vigier *et al.*, 1987). Par ailleurs, l'AMH réprime la synthèse d'aromatase dans les ovaires (Vigier *et al.*, 1989). On peut donc penser que la formation de cordons testiculaires résulte d'une baisse de la production d'oestrogènes dans les ovaires.

Ces données ont conduit à proposer un modèle général permettant d'expliquer la différenciation sexuelle des gonades chez tous les vertébrés (Pieau *et al.*, 1994 a). Dans ce modèle, la régulation transcriptionnelle du gène codant pour l'aromatase est multifactorielle et joue un rôle clef. Lorsque ce gène est activé, la synthèse d'enzyme et, par conséquent, la synthèse d'oestrogènes sont importantes. Les oestrogènes activent à leur tour les gènes de différenciation ovarienne et répriment les gènes de différenciation testiculaire, gènes de structure présents chez tous les individus, quel que soit leur génotype sexuel. Dans ces conditions, les gonades se différencient en ovaires. Lorsque le gène aromatase est réprimé, la synthèse d'enzyme et la synthèse d'oestrogènes sont faibles. Les gènes de différenciation ovarienne ne sont pas activés et ceux de différenciation testiculaire ne sont pas réprimés ; les gonades se différencient en testicules.

Dans ce modèle, les différences entre les systèmes de déterminisme du sexe chez les vertébrés (XY / XX, ZW / ZZ et TSD) se situent au niveau des mécanismes de régulation transcriptionnelle du gène codant pour l'aromatase. Ainsi, dans le système XY / XX, le facteur SRY codé par le chromosome Y pourrait réprimer, directement ou indirectement, l'aromatase. Dans le système ZW / ZZ, un facteur codé par le chromosome W pourrait au contraire activer l'aromatase. Dans le système TSD, nous avons vu comment un facteur thermosensible pourrait être impliqué dans la régulation transcriptionnelle de l'aromatase. Les recherches sur TSD entreprises chez les reptiles et les amphibiens (voir l'article de Dournon *et al.*, dans ce numéro) s'inscrivent donc dans un vaste programme visant à élucider et comprendre les mécanismes moléculaires impliqués dans le déterminisme du sexe chez les vertébrés.

Remerciements - Je remercie Marc Girondot pour la réalisation des figures présentées dans cet article.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BULL, J. J. (1980) - Sex determination in reptiles. *Quart. Rev. Biol.*, **55** : 3-21.

BULL, J. J., VOGT, R. C. et BULMER, M. G. (1982) - Heritability of sex ration in turtles with environmental sex determination. *Evolution*, **36** : 333-341.

- CHARDARD, D., DESVAGES, G., PIEAU, C. et DOURNON, C. (1995) - Aromatase activity in larval gonads of *Pleurodeles waltl* (Urodele Amphibia) during normal sex differentiation and during sex reversal by thermal treatment effect.. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **99** : 100-107.
- CHARNIER, M. (1966) - Action de la température sur la sex-ratio chez l'embryon d'*Agama agama* (Agamidae, Lacertilien). *C. R. Soc. Biol. Paris*, **160** : 620-622.
- CREE, A., THOMPSON, M. B. et DAUGHERTY, C. H. (1995) - Tuatara sex determination. *Nature*, **375** : 543.
- CREWS, D. et BERGERON, J. M. (1994) - Role of reductase and aromatase in sex determination in the red-eared slider (*Trachemys scripta*), a turtle with temperature-dependent sex determination. *J. Endocrinol.*, **143** : 279-289.
- DESVAGES, G., GIRONDOT, M. et PIEAU, C. (1993) - Sensitive stages for the effects of temperature on gonadal aromatase activity in embryos of the marine turtle *Dermodochelys coriacea*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **92** : 54-61.
- DESVAGES, G. et PIEAU, C. (1991) - Steroid metabolism in gonads of turtle embryos as a function of the incubation temperature of eggs. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **39** : 203-213.
- DESVAGES, G. et PIEAU, C. (1992 a) - Aromatase activity in gonads of turtle embryos as a function of the incubation temperature of eggs. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, **41** : 851-853.
- DESVAGES, G. et PIEAU, C. (1992 b) - Time required for temperature-induced changes in gonadal aromatase activity and related gonadal structure in turtle embryos. *Differentiation*, **52** : 13-18.
- DORIZZI, M., MIGNOT, T. M., GUICHARD, A., DESVAGES, G. et PIEAU, C. (1991) - Involvement of oestrogens in sexual differentiation of gonads as a function of temperature in turtles. *Differentiation*, **47** : 9-17.
- DORIZZI, M., RICHARD-MERCIER, N., DESVAGES, G., GIRONDOT, M. et PIEAU, C. (1994) - Masculinization of gonads by aromatase inhibitors in a turtle with temperature-dependent sex determination. *Differentiation*, **58** : 1-8.
- ELBRECHT, A. et SMITH, R. G. (1992) - Aromatase activity and sex determination in chickens. *Science*, **255** : 467-470.
- EWERT, M. A., JACKSON, D. R. et NELSON, C. E. (1994) - Patterns of temperature-dependent sex determination in turtles. *J. Exp. Zool.*, **270** : 3-15.
- EWERT, M. A., et NELSON, C. E. (1991) - Sex determination in turtles : diverse patterns and some possible adaptative values. *Copeia*, **91** : 50-69.
- FERGUSON, M. W., J. et JOANEN, T. (1982) - Temperature of egg incubation determines sex in *Alligator mississippiensis*. *Nature*, **296** : 850-853.
- GEORGES, A. (1989) - Female turtles from hot nests : is it duration of incubation or proportion of development that matters ? *Oecologia*, **81** : 323-328.
- GEORGES, A., LIMPUS, C. et STOUTJESDIJK, R. (1994) - Hatchling sex in the marine turtle *Caretta caretta* is determined by proportion of development at a temperature, not daily duration of exposure. *J. Exp. Zool.*, **270** : 434-444.
- GIRONDOT, M., SERVAN, J., et PIEAU, C. (1994 a) - Détermination du sexe sensible à la température chez une tortue (*Emys orbicularis*) : importance du composant génétique. *Bull. Soc. Ecophysiol.*, **19** : 5-17.
- GIRONDOT, M., ZABORSKI, P., SERVAN, J. et PIEAU, C. (1994 b) - Genetic contribution to sex determination in turtles with environmental sex determination. *Genet. Res.*, **63** : 117-127.
- JANZEN, F. J. et PAUKSTIS, G. L. (1991) - Environmental sex determination in reptiles : Ecology, evolution, and experimental design. *Quart. Rev. Biol.*, **66** : 149-179.
- LANG, J. W. et ANDREWS, H. V. (1994) - Temperature-dependent sex determination in crocodilians. *J. Exp. Zool.*, **270** : 28-44.

- MROSOVSKY, N. et PIEAU, C. (1991) - Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles. *Amphibia - Reptilia*, **12** : 169-179.
- PIEAU, C. (1971) - Sur la proportion sexuelle chez les embryons de deux Chéloniens (*Testudo graeca* L. et *Emys orbicularis* L.) issus d'oeufs incubés artificiellement. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **272 (D)** : 3071-3074.
- PIEAU, C. (1972) - Effets de la température sur le développement des glandes génitales chez les embryons de deux Chéloniens, *Emys orbicularis* L. et *Testudo graeca* L.. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **274 (D)** : 719-722.
- PIEAU, C. (1973) - Nouvelles données expérimentales concernant les effets de la température sur la différenciation sexuelle chez les embryons de Chéloniens. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **277 (D)** : 2789-2792.
- PIEAU, C. (1974) - Différenciation du sexe en fonction de la température chez les embryons d'*Emys orbicularis* L. (Chélonien) ; effets des hormones sexuelles. *Annls. Embryol. Morphog.*, **7** : 365-394.
- PIEAU, C. (1976) - Données récentes sur la différenciation sexuelle en fonction de la température chez les embryons d'*Emys orbicularis* L. (Chélonien). *Bull. Soc. Zool. France*, **101** (suppl. n°4) : 46-53.
- PIEAU, C. (1982) - Modalities of the action of temperature on sexual differentiation in field-developing embryos of the European pond turtle *Emys orbicularis* (Emydidae). *J. Exp. Zool.*, **220** : 353-360.
- PIEAU, C. (1985) - Le déterminisme du sexe chez les reptiles ; influence de facteurs épigénétiques. *Bull. Soc. Zool. France*, **110** : 97-111.
- PIEAU, C. (1996) - Temperature variation and sex determination in reptiles. *BioEssays*, **18** : 19-26.
- PIEAU, C. et DORIZZI, M. (1981) - Determination of temperature sensitive stages for sexual differentiation of the gonads in embryos of the turtle *Emys orbicularis*. *J. Morphol.*, **170** : 373-382.
- PIEAU, C., GIRONDOT, M., DESVAGES, G., DORIZZI, M., RICHARD -MERCIER, N. et ZABORSKI, P. (1994 a) - Environmental control of gonadal differentiation. In : The differences between the sexes. Short, R. V. et Balaban, E. (éds.), pp. 433-448. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 479 p.
- PIEAU, C., GIRONDOT, M., RICHARD -MERCIER, N., DESVAGES, G., DORIZZI, M., et ZABORSKI, P. (1994 b) - Temperature sensitivity of sexual differentiation of gonads in the European pond turtle : Hormonal involvement. *J. Exp. Zool.*, **270** : 86-94.
- PIFERRER, F., ZANUY, S., CARRILLO, M., SOLAR, I. I., DEVLIN, R. H. et DONALDSON, E. M. (1994) - Brief treatment with an aromatase inhibitor during sex differentiation causes chromosomally female salmon to develop as normal, functional males. *J. Exp. Zool.*, **270** : 255-262.
- RAYNAUD, A. et PIEAU, C. (1985) - Embryonic development of the genital system. In : Biology of the Reptilia Gans, C. et Billett, F. (éds). Vol. 15 (Development B), pp. 149-300. Wiley, New York, Chichester, Brisbane, 731 p.
- RHEN, T. et LANG, J. W. (1994) - Temperature-dependent sex determination in the snapping turtle : manipulation of the embryonic sex steroid environment. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **96** : 243-254.
- RICHARD -MERCIER, N., DORIZZI, M., DESVAGES, G., GIRONDOT, M., et PIEAU, C., (1995) - Endocrine sex reversal of gonads by the aromatase inhibitor Letrozole (CGS 20267) in *Emys orbicularis*, a turtle with temperature-dependent sex determination. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **100** : 314-326.
- SMITH, C.A., ELF, P. K., LANG, J. W. et JOSS, J. M. P. (1995) - Aromatase enzyme activity during gonadal sex differentiation in alligator embryos. *Differentiation*, **58** : 281-290.
- SMITH, C.A. et JOSS, J. M. P. (1994) - Steroidogenic enzyme activity and ovarian differentiation in the saltwater crocodile, *Crocodylus porosus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **93** : 232-245.
- VIETS, B. E., EWERT, M. A., TALENT, L. G. et NELSON, C. E. (1994) - Sex-determining mechanisms in squamate reptiles. *J. Exp. Zool.*, **270** : 45-56.
- VIGIER, B., FOREST, M. G., EYCHENNE, B., BEZARD, J., GARRIGOU, O., ROBEL, P. et JOSSO, N. (1989) - Anti-Müllerian hormone produces endocrine sex reversal of fetal ovaries. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86** : 3684-3688.

- VIGIER, B., WATRIN, F., MAGRE, S., TRAN, D. et JOSSO, N. (1987) - Purified bovine AMH induces a characteristic freemartin effect in fetal rat prospective ovaries exposed to it *in vitro*. *Development*, **100** : 43-55.
- WARTENBERG, H., LENZ, E. et SCHWEIKERT, H. U. (1992) - Sexual differentiation and the germ cell in sex reversed gonads after aromatase inhibition in the chicken embryo. *Andrologia*, **24** : 1-6.
- WENNSTROM, K. L. et CREWS, D. (1995) - Making males from females : the effects of aromatase inhibitors on a parthenogenetic species of whiptail lizard. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **99** : 316-322.
- WIBBELS, T., BULL, J. J. et CREWS, D. (1991) - Chronology and morphology of temperature-dependent sex determination. *J. Exp. Zool.*, **260** : 371-381.
- WIBBELS, T. et CREWS, D. (1994) - Putative aromatase inhibitor induces male sex determination in a female unisexual lizard and in a turtle with temperature-dependent sex determination. *J. Endocrinol.*, **141** : 295-299.
- WOLFF, E. et GINGLINGER, A. (1935) - Sur la transformation des poulets mâles en intersexués par injection d'hormone femelle (folliculine) aux embryons. *Arch. Anat. Hist. Embryol.*, **20** : 219-278.
- YNTEMA, C. L. (1976) - Effects of incubation temperatures on sexual differentiation in the turtle, *Chelydra serpentina*. *J. Morph.*, **150** : 453-462.
- YU, N. W., HSU, C. Y., KU, H. H., CHANG, L. T. et LIU, H. W. (1993) - Gonadal differentiation and secretions of estradiol and testosterone of the ovaries of *Rana catesbeiana* tadpoles treated with 4-hydroxyandrostenedione. *J. Exp. Zool.*, **265** : 252-257.
- ZABORSKI, P., DORIZZI, M. et PIEAU, C. (1988) - Temperature-dependent gonadal differentiation in the turtle *Emys orbicularis* : Concordance between sexual phenotype and serological H-Y antigen expression at threshold temperature. *Differentiation*, **38** : 17-20.

C. PIEAU
Institut Jacques MONOD
CNRS, Université Paris 7
Département Dynamique du Génome et Évolution
2, place Jussieu. Tour 43
F- 75251, PARIS Cedex 05 (France)

LES AMPHIBIENS DANS LA CONQUÊTE SPATIALE

par

Alain BAUTZ et Christian DOURNON

Résumé - La première partie de l'article est consacrée à la présentation des divers moyens techniques actuels permettant aux scientifiques d'annuler la gravité sur terre, de simuler la microgravité sur terre, ou de travailler réellement en microgravité. Dans une seconde partie, un inventaire des amphibiens qui ont contribué à la conquête spatiale ainsi que leur intérêt pour la recherche en biologie de l'espace sont présentés.

Mots-clés : Amphibiens. Fécondation. Développement embryonnaire. Oreille interne. Environnement spatial. Microgravité.

Summary - Current technology available to cancel the earth gravity, and to simulate microgravitational work condition in space, are described in the first part of the paper; in the second, an inventory is proposed of amphibians useful in space research and contributing to the conquest of space.

Key-words : Amphibians. Fertilization. Embryonic development. Inner ear. Space environment. Microgravity.

I. INTRODUCTION

Depuis son origine, la vie s'est organisée sur notre planète dans un environnement en perpétuel bouleversement. Pour les micro-organismes, les végétaux, les animaux, le milieu ambiant a varié en fonction de paramètres physico-chimiques tels que la température, la composition de l'atmosphère, le pH des eaux, la luminosité. Ces variations ont influencé en retour l'évolution des êtres vivants sur notre planète. Mais durant l'évolution, un facteur est resté constant, la gravité, c'est-à-dire la force d'attraction qu'exerce une planète sur les objets massiques. La gravité (= 1 g sur terre) est une force qu'on appelle aussi pesanteur. Même en orbite autour de la terre, les objets sont attirés par la planète, mais la force d'attraction est extrêmement faible, elle est appelée microgravité ou micropesanteur. Par exemple la station orbitale russe "MIR" qui sera prochainement transformée en station internationale "Alpha" doit être régulièrement éloignée de la terre car elle s'en rapproche progressivement. Un satellite ou une station orbitale reste longtemps en orbite parce que la vitesse de déplacement du véhicule spatial équilibre pratiquement la force d'attraction exercée par la terre.

Dans une première partie, nous verrons brièvement quels sont les moyens pour annuler la gravité sur terre, pour simuler la microgravité sur terre, enfin pour travailler réellement en microgravité.

Dans une seconde partie, nous ferons un inventaire des amphibiens qui ont contribué à la conquête spatiale et nous montrerons l'intérêt qu'ils présentent pour la recherche en biologie de l'espace.

II. LES MOYENS DE LA RECHERCHE SPATIALE

A - Les moyens pour annuler la gravité sur terre : les tours à chute libre

Le principe est le suivant. Un bâtiment abrite un tube cylindrique de faible diamètre (20 cm) et haut de plusieurs dizaines de mètres dans lequel on fait le vide. Quand on laisse tomber un objet de petite taille, durant la chute, en absence de frottement dans le vide, la pesanteur est réduite à 10^{-8} g (état de microgravité) pendant quelques secondes. L'objet s'écrase au sol en fin de trajectoire. Le temps de microgravité (μ g) est trop court pour des expériences de biologie. Les tours sont utilisées par les physiciens pour étudier par exemple la solidification de gouttelettes en microgravité. En France, une telle tour se situe à Grenoble. D'autres existent en Europe.

B - Les moyens pour simuler la microgravité sur terre

Après avoir acquis une certaine expérience des vols spatiaux et de leurs conséquences, des techniques de simulation d'un état de microgravité ont été testées puis mises en pratique.

1. Les clinostats

Il s'agit d'instruments mis au point au 19^{ème} siècle, perfectionnés depuis, utilisés par exemple en biologie végétale pour étudier la germination de la tige et de la racine. En 1806, Knight a placé des graines en germination sur un disque horizontal en rotation. Si le disque tourne rapidement, la croissance de la racine est horizontale, mais si la vitesse est lente, la racine prend la direction oblique d'une force résultante. Une autre force que la force centrifuge s'exerce donc sur les racines ; cette force est verticale, c'est la pesanteur. Knight a ainsi mesuré pour la première fois la gravité, dont l'existence avait été montrée par la pomme de Newton.

2. Le bed rest

Ce test est effectué par l'homme pour s'entraîner à de longs séjours dans l'espace. Le futur cosmonaute est maintenu allité durant des mois. Tout est réalisé en position allongée. La masse sanguine se répartit de façon inhabituelle, afflue au cerveau et délaisse les membres inférieurs qui n'ont plus à supporter le poids du corps.

3. Les piscines couvertes

Elles ont été utilisées par les Soviétiques pour entraîner les cosmonautes aux longs séjours dans l'espace. Le futur cosmonaute séjournait durant des semaines sur une toile tendue à la surface d'une piscine. Il était isolé de l'eau et ne disposait d'aucun appui fixe, pratiquement comme un corps qui flotte dans un véhicule spatial.

4. L'immersion en scaphandre

Ce moyen est toujours utilisé pour l'entraînement des cosmonautes (russes) et des astronautes (américains). Bien que les mouvements soient freinés par la viscosité de l'eau, le futur spationaute apprend et répète les tâches qu'il aura à exécuter dans l'espace.

5. La suspension du rat par la queue

Cette technique inspirée du bed rest dispense les pattes postérieures du rat de supporter le poids du corps. Le rat est suspendu en permanence par la queue qui est fixée à une sorte de youpala ; il se déplace à l'aide de ses pattes antérieures en traînant son postérieur monté sur roulettes. Les résultats expérimentaux semblent reproduire les effets des séjours de ces animaux en microgravité : fonte musculaire, décalcification.

C - Les moyens d'emport pour travailler en microgravité

1. Les vols paraboliques d'avion

Il existe une douzaine d'avions équipés au monde pour réaliser ce type de vol. On peut citer : pour la France et l'Europe, la Caravelle Zéro G du Centre National d'Études spatiales (CNES) remplacée depuis quelques mois par un Airbus A300, utilisé(e) aussi par l'Agence Spatiale Européenne (ESA) ; pour les USA, le Boeing KC 135 de la NASA ; pour l'ex URSS et maintenant la Russie, l'Illiouchine 76 de la RKA.

Le principe du vol parabolique est le suivant. A l'aide de puissants réacteurs fiables, l'avion est injecté sur une trajectoire balistique à environ dix mille mètres d'altitude. Lancé comme une pierre, réacteurs coupés, l'avion monte puis redescend en décrivant une trajectoire parabolique. A l'intérieur de l'avion, pendant une période de 20 à 25 secondes un état relatif de microgravité (0,02 g) est obtenu. L'avion décrit de 30 à 40 paraboles par vol, une toutes les 2 minutes. Des expériences de brève durée et des tests sont réalisés dans ces conditions.

2. Les fusées-sondes à deux étages

La charge utile d'environ 250 kg est située dans la tête de la fusée. Le principe est le même que celui des vols paraboliques, mais la trajectoire étant plus importante, la durée de microgravité est augmentée. En effet, la fusée décrit une trajectoire balistique dont l'apogée peut atteindre 270 km d'altitude. On obtient une microgravité de l'ordre de 10^{-4} g durant 6 à 15 min. selon les types de fusée-sonde. La tête de la fusée qui contient les expériences redescend en parachute. Elle est récupérée par hélicoptère. Pour l'Europe, les tirs des fusées ont lieu à Kiruna en Suède ou à Esrange en Norvège.

3. Les biosatellites

Ces satellites automatiques récupérables sont lancés par les Russes, les Américains utilisant les moyens offerts par les navettes. La durée du séjour dans l'espace varie de quelques jours à plusieurs mois. Les expériences doivent être entièrement automatisées.

4. Les navettes américaines

Certaines navettes ont été équipées pour recevoir des expériences de biologie. Selon les orbites et donc selon le vol, la microgravité est environ de $3 \cdot 10^{-5}$ g. Les vols durent de 1 à 3 semaines. L'une des navettes peut recevoir un laboratoire, le Spacelab. Il s'agit d'un cylindre de 4 m de diamètre et de 2,7 mètres de long qui est chargé dans la soute de la navette. Le Spacelab est réutilisable ; les astronautes y ont accès depuis la zone de pilotage de la navette.

5. Le complexe orbital russe "MIR", prochainement station internationale "Alpha"

La station orbitale "MIR" est une station spatiale permanente. Elle est desservie régulièrement par des vaisseaux automatiques de type "Progress" tous les 3 mois environ et par des vaisseaux habités de type "Soyouz" tous les 3 à 6 mois. Ces vaisseaux rejoignent la station en 48 heures. La station est habitée en permanence par au moins 3 cosmonautes, ils s'y relaient périodiquement. Dans la station MIR, la microgravité est de 10^{-3} g et même de 10^{-4} g durant le sommeil de l'équipage.

D - Les moyens humains pour la réalisation des expériences scientifiques

Avant de pouvoir accéder à l'espace, les scientifiques ont dû attendre que les problèmes physiologiques et comportementaux rencontrés par les astronautes, les cosmonautes ou les spatonautes aient été analysés. Pour des raisons de sécurité évidentes, la priorité est donnée à l'homme : il pilote les engins, il manipule pour les scientifiques.

Parce qu'il y a eu des pionniers, tels que les spationautes français : Jean-Loup Chrétien, Patrick Baudry, Michel Tognini (mission Antares - MIR en juillet 1992), Jean-Pierre Haigneré (mission Altair - MIR en juillet 1993), Jean-François Clervoy (mission STS-66 - navette américaine en novembre 1994), Claudie André-Deshays (mission Cassiopée - MIR ; décollage prévu le 6 juillet 1996), les biologistes français peuvent accéder à l'espace, à la microgravité, peuvent concevoir et réaliser des expériences scientifiques avec l'aide du Centre National d'Études spatiales.

E - Principes généraux d'une expérience spatiale

Sur l'ensemble d'un vol, le matériel biologique est soumis à divers facteurs physiques : au décollage, à des vibrations et à une accélération importante ; en vol, aux rayonnements cosmiques, à la microgravité, et éventuellement à des facteurs inconnus ; au retour, à la décélération, à un échauffement dû à la rentrée dans l'atmosphère. A ces facteurs s'ajoutent durant le vol, pour l'homme comme pour d'autres espèces vivantes, le stress, le mal de l'espace.

D'une façon générale, le principe d'une expérience repose sur plusieurs lots expérimentaux et témoins :

- en vol, un premier lot, expérimental, sur lequel agissent la microgravité, les rayonnements cosmiques, des facteurs inconnus (non décelés à ce jour) ; un second lot, témoin, placé en centrifugation 1g pour reconstituer la gravité terrestre, sur lequel agissent les rayonnements, des facteurs inconnus. L'étude comparative de ces deux lots permet d'évaluer la part de la gravité ou de la microgravité ;
- au sol, un premier lot témoin reprenant le protocole du lot en microgravité ; un second lot témoin, reprenant le protocole du lot en microgravité mais auquel on fait subir les accélérations et les vibrations du décollage et de l'atterrissage. Pour ces deux lots, les modifications de la température des lots doivent être reproduites.

III. LES AMPHIBIENS DANS LA CONQUÊTE SPATIALE

A - L'animal dans l'espace

Dans la conquête de l'espace par l'homme, et afin de préparer les vols spatiaux habités, les premières spatiales humaines ont toujours été précédées par des premières animales.

Avec cette préoccupation, au départ de la conquête spatiale par les animaux, la priorité a été donnée aux mammifères considérés comme des modèles physiologiquement proches de l'espèce humaine. Parmi les espèces retenues, qualifiées d'espèces conventionnelles, celles de grande taille utilisées au début de l'histoire spatiale : les chiens par les Russes et les chimpanzés par les Américains, ont été ultérieurement remplacées par des espèces de moindre poids et de moindre encombrement comme les singes macaque ou rhesus, le rat, la souris.

La première phase de la conquête spatiale a été une phase d'évaluation globale des risques liés aux conditions d'un vol spatial (fortes accélérations, vibrations, bruit, microgravité, rayonnements cosmiques, échauffement,...). Elle a conduit à l'obtention de données biomédicales brutes attestant que les mammifères, dont l'homme, pouvaient supporter les contraintes extrêmes du vol spatial.

Mais rapidement s'est imposée la nécessité de développer une recherche fondamentale en biologie gravitationnelle et en radiologie spatiale afin de comprendre les effets des facteurs liés à l'environnement spatial sur les organismes vivants. L'éventail des espèces animales utilisées pour ces travaux s'est alors élargi aux espèces non mammaliennes. Parmi ces espèces qualifiées d'espèces non conventionnelles : protozoaires, invertébrés et vertébrés non mammaliens, les amphibiens représentent des modèles régulièrement utilisés, depuis trois décennies, pour des expériences en microgravité (Bautz et Dournon, 1995).

B - Les amphibiens dans l'espace

1. Les avantages des modèles amphibiens

Les avantages des amphibiens par rapport aux mammifères sont multiples :

- ce sont des vertébrés de petite taille, de poids restreint, de faible encombrement, d'où une relative simplicité pour les héberger dans un volume restreint dans les véhicules spatiaux ;
- une enceinte humidifiée de faible poids est généralement suffisante pour leur conditionnement ;
- ils peuvent jeûner plusieurs semaines sans problèmes majeurs ; il est inutile de prévoir des prises de nourriture durant les missions spatiales de courte et moyenne durée ; les rejets de déchets solides sont ainsi très diminués ;
- ils sont hétérothermes, la régulation thermique des conteneurs de transport est moins délicate que pour les mammifères ;
- leur ponte comporte de nombreux oeufs de gros diamètre, facilement manipulables, à développement externe, hors du corps de la femelle ; la coque de l'oeuf entourée de la gangue muqueuse constitue un micro-aquarium pour l'oeuf en développement ; le développement des oeufs placés sur un simple support humides est possible ;
- le développement embryonnaire des amphibiens est généralement bien connu.

2. Les espèces qui ont séjourné dans l'espace

Si l'utilisation d'amphibiens est assez fréquente pour les vols orbitaux destinés aux sciences de la vie, le nombre des espèces retenues à ce jour reste relativement restreint. La préférence actuelle concerne les espèces pour lesquelles la reproduction et l'élevage sont possibles en laboratoire.

Les espèces suivantes ont séjourné dans l'espace :

- pour les Anoures : *Rana pipiens* (fusées Gemini 8 et 12, biosatellites 1 et 2), *Rana temporaria* (Soyouz 10), *Rana catesbiana*, *Hyla japonica* (station orbitale MIR), *Xenopus laevis* (fusées-sondes, Salyout, navette américaine) ;
- pour les Urodèles : *Pleurodeles waltl* (Cosmos, Photon), *Cynops pyrrhogaster* (navette IML 2).

Les premières expériences avec le modèle amphibien concernent les Anoures. Les Américains avec Young avaient placé à bord de la fusée Gemini 8, en mars 1966, des oeufs en tout début de segmentation, au stade 2 blastomères, de la grenouille *Rana pipiens*.

Plus tard, en juillet 1985, les Russes embarquèrent des Pleurodèles adultes âgés de 12 mois après la métamorphose, dans le satellite automatique Cosmos 1667 (ou Bion 7).

C - Apport des amphibiens en biologie de l'espace

Les principaux thèmes de recherche développés avec les amphibiens concernent les processus de la régénération, le comportement et l'équilibration en microgravité, la reproduction et le développement dans l'espace.

1. Les processus de la régénération

Au départ, les recherches, réalisées chez des amphibiens Urodèles, sont essentiellement celles de l'École russe de Grigoryan et Mitashov.

A plusieurs reprises, des Pleurodèles adultes (*P. waltl*) ont été embarqués à bord de satellites automatiques russes Cosmos ou Photon :

Cosmos 1667 (Bion 7)	en juillet 1985,
Cosmos 1887 (Bion 8)	en octobre 1987,
Photon 4	en avril 1988,
Photon 5	en avril 1989,
Cosmos 2044 (Bion 9)	en septembre 1989,
Photon 6	en avril 1990,
Photon 7	en octobre 1991,
Cosmos 2229 (Bion 10)	en décembre 1992.

Les études engagées portent sur la régénération du cristallin, des membres, des muscles squelettiques (Mitashov *et al.*, 1996).

Certains résultats surprenants restent inexplicables actuellement. Pendant le vol spatial, les processus de la régénération chez les Pleurodèles en microgravité et chez les témoins synchrones restés au sol, sont comparables et se déroulent à la même vitesse. Deux à trois semaines après le retour sur terre, les phénomènes de la régénération sont fortement augmentés chez les sujets ayant séjourné dans l'espace.

Plus récemment, lors de la mission Bion 10, d'autres chercheurs européens ont engagé des travaux sur la régénération de la queue chez le Pleurodèle (Anton *et al.*, 1996, Grinfeld *et al.* 1996).

2. Le comportement et l'équilibration en microgravité

En impesanteur, les larves de *Xenopus laevis* effectuent des loopings en nageant. Ce comportement, qui n'a jamais été observé chez les larves vivant sur terre, n'est pas conservé après le retour au sol (Fejtek *et al.*, 1992).

L'étude du développement en microgravité de l'oreille interne, organe de l'équilibration, est menée actuellement chez le Xénope (Neuberg *et al.*, 1996).

Notre laboratoire a entrepris des études comparables chez les Urodèles, avec le Pleurodèle comme support biologique (Bautz *et al.*, 1995). L'expérience TORCOL, "Triton en Orbite : Recherches Concernant l'Oreille interne et la Lignée latérale", a pour objectif l'étude du développement embryonnaire et larvaire des systèmes baro-et gravi-sensibles chez le Pleurodèle. Sur terre, ces structures contribuent à la perception de la gravité et des mouvements, ainsi qu'à la localisation des obstacles dans l'eau. Notre but est de vérifier si la pesanteur intervient dans l'organogenèse de structures qui permettent plus tard à l'individu de se positionner et de se localiser par rapport à la gravité elle-même. C'est probablement au cours des périodes très précoces de l'ontogenèse que la gravité, ou son absence, pourrait intervenir et entraîner des modifications structurales et fonctionnelles lors de la différenciation des systèmes cellulaires impliqués.

Le support technologique de l'expérience est l'Instrument de Biologie Spatiale (IBIS) développé par le CNES et embarqué à bord d'une capsule récupérable russe Photon. L'instrument comporte un plateau microgravité et une centrifugeuse permettant de recréer, en orbite, un champ gravitationnel comparable à celui existant sur terre. Cet équipement permet la comparaison des réponses des systèmes biologiques soumis à des conditions d'environnement spatial qui ne diffèrent qu'au niveau du paramètre gravité. Le lancement de Photon 10 s'est déroulé le 16 février 1995 pour une durée de vol orbital de 16 jours.

Des embryons de *Pleurodeles waltl* au stade jeune bourgeon caudal ont été placés dans des chambres en polyéthylène de 2 ml ("berlingots"), elles mêmes groupées par 4 dans des "cassettes" étanches de 50 ml, chaque berlingot contenant 3 micro-chambres ("capsules") pouvant renfermer de l'air ou un fixateur. Depuis la préparation des cassettes à Nancy jusqu'à la mise en rotation de l'instrument IBIS placé en orbite, le développement des embryons est resté bloqué à une température de 6°C, il a été ensuite réactivé au cours du vol par une élévation de température à 22°C. Les cassettes de vol avaient été préparées par paire, une cassette étant destinée à rester en microgravité, l'autre à être centrifugée en 1 g dans le satellite. Huit séries expérimentales (= 8 paires de cassettes) ont été réalisées, correspondant à des embryons dont le développement a été activé à des délais pré-établis et qui ont été fixés à des stades de développement différents, selon un cyclogramme de gestion des cassettes. Parallèlement, au laboratoire, un lot témoin de cassettes a suivi le même cyclogramme.

Le satellite a atterri le 3 mars 1995 dans le Kazakhstan, le vol orbital et le fonctionnement de l'instrument IBIS ayant parfaitement réussi. Mais à cause de perturbations météorologiques, l'hélicoptère qui le transportait après récupération s'est trouvé en difficulté et a dû larguer Photon 10 qui s'est écrasé au sol. Malgré cet accident, des embryons fixés et deux jeunes larves vivantes ont pu être récupérés. Sur ces deux larves, l'une s'était développée en microgravité ; elle est morte à l'âge de 8 mois en octobre 1995 ; elle mesurait 54 mm de longueur, n'était pas métamorphosée et présentait encore des éléments de branchies externes. La deuxième larve s'était développée en centrifugeuse 1 g ; elle est morte plus récemment, en avril 1996, à l'âge de 14 mois, sa longueur étant de 113 mm ; elle non plus n'était pas métamorphosée. La prise de nourriture et la croissance de ces larves à l'issue de leur retour sur terre, ont été inférieures à celles des larves de l'expérience témoin au sol. Les larves témoins se sont normalement développées et métamorphosées à l'âge de 3 à 4 mois, leur taille moyenne étant alors de 60 mm de longueur. Le nombre trop restreint de larves vivantes récupérées ne permet pas d'interpréter ces résultats, cependant il est intéressant de souligner que les deux larves issues du vol spatial ont présenté un retard important de la métamorphose, la deuxième ayant poursuivi sa croissance durant 14 mois et atteint 113 mm avant de mourir. Cette croissance exagérée chez une larve non métamorphosée évoque celle obtenue chez les larves d'amphibiens ayant subi une ablation de la thyroïde ou traitées par des substances antithyroïdiennes.

Un vol de remplacement (Photon 11) a été négocié avec les partenaires russes ; il est programmé pour l'automne 1996.

3. Les activités enzymatiques

Nous avons participé à l'expérience "Triton" embarquée à bord du Biosatellite russe Cosmos 2229 (ou Bion 10) du 29 décembre 1992 au 10 janvier 1993. Notre laboratoire avait à étudier chez le Pleurodèle l'expression d'une enzyme liée au sexe, la peptidase-1, chez des femelles spatialisées et chez leurs témoins synchrones au sol. Les patrons électrophorétiques de l'enzyme obtenus pour l'ovaire, l'intestin et les muscles abdominaux sont semblables au patron de référence établi à partir des érythrocytes d'animaux témoins. En revanche, le patron est différent pour le rein et le cœur. Aucune différence majeure n'a été décelée entre les patrons des animaux du vol orbital et ceux de leurs témoins synchrones. L'activité enzymatique spécifique ne présente pas de différences significatives entre les animaux du vol et ceux du lot synchrone pour l'ovaire, l'intestin, le cœur et les muscles ; dans les reins, l'activité paraît plus élevée pour les femelles du vol que pour celles du lot synchrone. Il apparaît qu'à la suite d'un vol orbital de 12 jours, la peptidase-1 reste un bon marqueur du génotype sexuel chez le Pleurodèle (Bautz *et al.*, 1994, 1996)

4. La reproduction et le développement

Au cours du développement embryonnaire précoce des amphibiens, plusieurs processus ont été décrits comme pouvant être dépendants de la gravité terrestre. Mais cette dépendance n'a encore jamais pu être prouvée car il n'existe aucune technique au sol permettant de supprimer la gravité terrestre pendant plusieurs jours, ni même plusieurs heures. Il faut nécessairement accéder à l'espace (Rahmann et Slenzka, 1994).

a. Les processus supposés gravi-dépendants

Parmi les principaux processus susceptibles d'être gravi-sensibles au cours de la fécondation et du développement précoce des amphibiens, on peut citer :

- la rotation d'équilibration : au moment de la ponte, les oeufs dont le centre de gravité est excentré sont émis dans l'eau sans orientation préférentielle. Au cours des processus de fécondation, sous l'effet de la gravité, l'oeuf **tourne** dans ses enveloppes et **s'oriente**. L'hémisphère végétatif alourdi par le vitellus se positionne vers le bas, l'hémisphère animal moins riche en vitellus vers le haut. L'hémisphère animal est pigmenté, souvent en brun foncé ou en noir ;
- la migration du pronoyau femelle : après la pénétration du spermatozoïde, le pronoyau femelle, initialement localisé près du pôle animal, descend verticalement suivant l'axe pôle animal - pôle végétatif à la rencontre du pronoyau mâle ;
- l'orientation des premiers plans de clivage de l'oeuf : les deux premiers plans sont verticaux et perpendiculaires l'un à l'autre. Ils débent au pôle animal et progressent vers le pôle végétatif. Le premier plan qui apparaît 2 heures après l'impact spermatique coïncide généralement avec le plan de symétrie bilatérale du futur individu. Le troisième plan de division est horizontal, plus proche du pôle animal que du pôle végétatif. L'embryon est alors constitué de 8 cellules de taille inégale, 4 micromères animaux et 4 macromères végétatifs.

b. La symétrisation de l'embryon

Durant la première demi-heure qui suit l'impact spermatique et avant l'apparition du premier plan de clivage, la région corticale pigmentée du cytoplasme de l'hémisphère animal bascule de 30° en direction du point d'impact spermatique. Ce basculement laisse apparaître derrière lui dans le cytoplasme une traînée peu pigmentée en forme de croissant : le croissant dépigmenté. Celui-ci permet de visualiser la position du plan de symétrie bilatérale du futur individu ; elle correspond au plan de symétrie du croissant dépigmenté. Le croissant indique en outre la région dorsale du futur embryon. A ce niveau apparaît en début de gastrulation la lèvre dorsale du blastopore.

A l'acquisition de la symétrie bilatérale externe mise en évidence par les déplacements pigmentaires de l'hémisphère animal se superpose l'acquisition de la symétrie interne soulignée par des déplacements de compartiments cytoplasmiques (Ubbels, 1977).

Chez les amphibiens, l'acquisition de la symétrie bilatérale est particulièrement précoce.

De façon générale, la position du plan de symétrie d'un individu est déterminée au moment de la fécondation par le plan formé par le point d'entrée du spermatozoïde et l'axe pôle animal - pôle végétatif. Cependant il existe des arguments expérimentaux en faveur d'un rôle de la gravité.

c. Arguments en faveur d'un rôle de la gravité

Différents arguments expérimentaux plaident en faveur d'un rôle de la gravité dans les processus de développement embryonnaire précoce et de symétrisation de l'individu chez les amphibiens.

• Expérience perturbant l'orientation normale des oeufs

Schultze (1894) retourne de 180° des oeufs indivis, prélevés un peu avant le moment de leur première division, par conséquent après leur symétrisation. Il place leur pôle végétatif vers le haut. Les oeufs, emprisonnés entre deux lames de verre, ne peuvent pas se retourner. Le renversement complet de l'oeuf entraîne un remaniement des divers constituants cytoplasmiques. Le vitellus abondant de l'hémisphère végétatif retombe par mottes sous l'effet de la pesanteur, tandis que le matériel animal remonte entre les mottes. Un gradient vitellin se reconstitue en sens inverse du gradient d'origine. Dans 50% des cas de développement, les jeunes gastrules présentent deux lèvres blastoporales dorsales au lieu d'une. Dans ce cas, il obtient une duplication partielle de la région antérieure des embryons.

Pasteels (1938, 1940 a, 1941) ne retourne pas complètement les oeufs. Il leur donne des orientations diverses ne dépassant pas 135°. Le vitellus glisse lentement, descend en masse. La lèvre blastoporale apparaît près du centre du croissant gris. Les développements obtenus sont normaux.

Plus tard, Ancel et Vintemberger (1948) montrent chez *Rana temporaria* que si l'oeuf indivis est retourné de 180° ou suffisamment incliné très tôt, et à condition qu'il puisse se réorienter, le plan de symétrie bilatérale correspond au plan de cette rotation d'orientation. Le croissant apparaît toujours du côté descendant. La gravité prévaut alors sur l'impact spermatique.

• Expérience de centrifugation

Pasteels (1940 b) soumet à une centrifugation de 460 g pendant 2 à 3 minutes des oeufs indivis, juste avant la formation du croissant gris. L'hypergravité entraîne une modification du gradient vitellin. La lèvre blastoporale apparaît plus dorsalement que la normale. Il obtient des embryons microcéphales.

Plus récemment, Gerhart *et al.* (1983), après une centrifugation 30 g durant 4 minutes d'oeufs indivis de *Xenopus laevis*, obtiennent des neurules présentant un dédoublement partiel du plan de symétrie et des larves bicéphales. Dans leurs expériences, l'action de l'hypergravité s'exerce perpendiculairement à l'axe pôle animal - pôle végétatif des oeufs.

• Expérience en microgravité

Ubbels (1988, 1991) lors d'un vol balistique de la fusée sonde Texas 17, puis Bautz *et al.* (1992) au cours de vols paraboliques d'avion réalisent respectivement chez le Xénope (Anoure) et le Pleurodèle (Urodèle), des fécondations artificielles. De retour au sol, le développement de ces oeufs conduit à l'obtention d'embryons normaux et anormaux, dont des bicéphales. Dans ces vols de courte durée, les conditions de gravité dégradée sont hétérogènes, des phases d'hypergravité liées aux accélérations alternent avec les phases de microgravité.

Souza et son équipe réalisent eux aussi des fécondations artificielles chez le Xénope lors du vol STS Spacelab SL-J de la navette américaine en septembre 1992 (expérience répétée lors de la mission IML2 en 1994). Compte tenu de la durée du vol (9 jours), le développement des oeufs a pu commencer en microgravité. Parmi les embryons de stades très précoces, peu sont normaux. En microgravité, le noyau de fécondation et le premier aster de mitose sont plus bas dans l'hémisphère végétatif que chez les embryons

témoins ; le toit du blastocoele des jeunes gastrules est plus épais et la cavité de segmentation déportée vers le pôle végétatif, la gastrulation est atypique (Black et Souza, 1994). Mais il est difficile de dire si les anomalies observées sont dues aux conséquences de la fécondation artificielle chez les amphibiens Anoures (anomalies caryotipiques) ou si elles sont dues aux contraintes du vol spatial. Les neurules fixées dans l'espace et les larves vivantes écloses au moment du retour sur terre apparaissent normales, suite probablement à des processus de régulation embryonnaire (Souza *et al.*, 1995 ; Black *et al.*, 1996).

Les Japonais, avec l'expérience "Astronewt" sur IML2 de la navette en juillet 1994, auraient obtenu des fécondations naturelles chez le triton japonais *Cynops pyrrhogaster*. Cependant les résultats sur la suite du développement des oeufs n'ont pas fait l'objet de publication.

Il est donc utile de mener au cours de vols orbitaux de plus longue durée, des expériences permettant d'obtenir à la fois une fécondation naturelle et un développement embryonnaire complet.

d. Le projet FERTILE

Actuellement nous préparons en collaboration avec le CNES et le Centre de Biologie du Développement CNRS de l'Université Paul Sabatier de Toulouse, l'expérience FERTILE (Fécondation et Embryogenèse Réalisées chez le Triton *in vivo* dans L'Espace) de la prochaine mission Cassiopée à bord de la station orbitale MIR.

L'objectif de l'expérience FERTILE est d'obtenir dans les conditions d'un vol spatial, microgravité et radiations cosmiques, la fécondation naturelle et le développement embryonnaire complet d'un vertébré, l'amphibien Urodèle *Pleurodeles waltl* (Gualandris-Parisot *et al.*, 1994). Trois femelles pré-inséminées seront embarquées dans la station MIR. La ponte des ovocytes sera déclenchée au début du vol orbital par une injection d'hormone. Leur fécondation se fera au passage dans le cloaque. Les oeufs pondus en vol seront répartis par un cosmonaute en deux lots pour suivre d'une part le développement en microgravité et sous influence des radiations cosmiques, et d'autre part pour suivre le développement en gravité 1 g restituée par une centrifugeuse et sous influence des radiations cosmiques. Dans ces deux lots, des embryons seront fixés à différents stades du développement. Il est prévu que des embryons et des larves vivants, et les femelles du vol, reviennent sur terre. Le vol, d'une durée prévue de 16 jours est programmé pour août 1996 avec à bord la première spatonaute française, Claudie André-Deshays, qui sera chargée de réaliser les expériences.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANCEL, P. et VINTEMBERGER, P. (1948) - Recherches sur le déterminisme de la symétrie bilatérale dans l'oeuf des amphibiens. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, suppl. **31** : 1-182.

ANTON, H. J., GRIGORYAN, E. N. and MITASHOV, V. I. (1996) - Influence of longitudinal whole animal clinorotation on lens, tail, and limb regeneration in Urodeles. *Adv. Space Res.*, **17** (6/7) : 55-65.

BAUTZ, A. et DOURNON, C. (1995) - L'animal dans l'espace. De la préparation des vols habités à l'acquisition de connaissances fondamentales en biologie gravitationnelle. Les projets "TORCOL" et "FERTILE". *Bull. Acad. Soc. Lorr. Sci.*, **34** (1) : 3-15.

- BAUTZ, A. GRINFELD, S., HOUILLON, C., DUPRAT, A. M. et DOURNON, C. (1992) - Intérêt des vols paraboliques d'avion pour l'étude de l'influence de la microgravité et de l'hypergravité sur la fécondation et le développement de *Pleurodeles waltl* (amphibien Urodèle). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **117** : 168-169.
- BAUTZ, A., RUDOLF, E., AIMAR, C., MITASHOV, V., HOUILLON, C. et DOURNON, C. (1994) - Expression d'une protéine liée au sexe, la peptidase-1, chez des Pleurodèles femelles soumises à un vol orbital et recherche d'anomalies génétiques dans leurs descendance. *Bull. Acad. Soc. Lorr. Sci.*, **33 (3)** : 149-158.
- BAUTZ, A., RUDOLF, E., MITASHOV, V. et DOURNON, C. (1996) - Peptidase-1 expression in some organs of the salamander *Pleurodeles waltl* submitted to a 12-day space flight. *Adv. Space Res.*, **17 (6/7)** : 271-274.
- BLACK, S., LARKIN, K., JACQMOTTE, N., WASSERSUG, R., PRONYCH, S. et SOUZA, K. (1996) - Regulative development of *Xenopus laevis* in microgravity. *Adv. Space Res.*, **17 (6/7)** : 209-217.
- BLACK, S. D. et SOUZA, K. A. (1994) - Regulative development of *Xenopus laevis* at microgravity. *ASGSB Bull.*, **8 (1)** : 6.
- FEJTEK, M., NEFF, A., PRONYCH, S., SCHOFIELD, S., SOUZA, K. et WASSERSUG, R. (1992) - Gravitational effects on the locomotion behavior of hatchling anuran larvae (*Xenopus laevis*). *ASGSB Bull.*, **6 (1)** : 46.
- GRINFELD, S., FOULQUIER, F., MITASHOV, V., BRUCHLINSKAIA, N. et DUPRAT, A. M. (1996) - Amphibian tail regeneration in space : effect on the pigmentation of the blastema. *Adv. Space Res.*, **17 (6/7)** : 237-240.
- GUALANDRIS-PARISOT, L., GRINFELD, S., FOULQUIER, F., DUPRAT, A. M., HOUILLON, C., AIMAR, C., DOURNON, C. et BAUTZ, A. (1994) - Fécondation et embryogenèse réalisés chez le triton *in vivo* dans l'espace (projet FERTILE). "Sciences Physiques et Sciences de la Vie : Quatre années de recherche scientifique dans l'espace, 1990-1994", CNES: 483-486.
- GERHART, J., BLACK, S. D. et SCHATZ, S. (1983) - Control of polarity in the amphibian egg. Time, Space, and pattern in Embryonic development, *Alan R. Liss, Inc., New-York* : 261-286.
- MITASHOV, V., BRUSHLINSKAYA, N. V., GRIGORYAN, E. N., TUCHKOVA, S. Ya. et ANTON, H. J. (1996) - Regeneration of organs and tissues in lower vertebrates during and after space flight. *Adv. Space Res.*, **17 (6/7)** : 241-255.
- NEUBERT, J., SCHATZ, A., BRIEGLEB, W., BROMEIS, B., LINKE-HOMMES, A., RAHMANN, H., SLENZKA, K. et HORN, E. (1996) - Early development in aquatic vertebrates in near weightlessness during the D-2 mission Statex project. *Adv. Space Res.*, **17 (6/7)** : 275-279.
- PASTEELS, J. (1938) - Recherches sur les facteurs initiaux de la morphogenèse chez les amphibiens Anoures. I. Résultats de l'expérience de Schultz et leur interprétation. *Arch. Biol.*, **49** : 629-667.
- PASTEELS, J. (1940 a) - Recherches sur les facteurs initiaux de la morphogenèse chez les amphibiens Anoures. III. Effets de la rotation de 135° sur l'oeuf insegmenté, muni de son croissant gris. *Arch. Biol.*, **51** : 103-149.
- PASTEELS, J. (1940b) - Recherches sur les facteurs initiaux de la morphogenèse chez les amphibiens Anoures. IV. Centrifugation axiale de l'oeuf fécondé et insegmenté. *Arch. Biol.*, **51** : 335-386.
- PASTEELS, J. (1941) - Recherches sur les facteurs initiaux de la morphogenèse chez les amphibiens Anoures. V. Les effets de la pesanteur sur l'oeuf de *Rana fusca* maintenu en position anormale avant la formation du croissant gris. *Arch. Biol.*, **52** : 321-339.
- RAHMANN, H. et SLENZKA, K. (1994) - Influence of gravity on early development of lower aquatic vertebrates. Proceedings 5th Eur. Symp. on "Life Science Research in Space", *ESA SP-366* : 147-152.
- SCHULTZE, O. (1894) - Die künstliche Erzeugung von Doppelbildungen bei Froschlarven mit Hilfe abnormer Gravitation. *Roux' Arch. Entw.*, **1** : 269-305.
- SNETKOVA, E., CHELNAYA, N., SEROVA, L., SAVELIEV, S., CHERDANZOVA, E., PRONYCH, S. et WASSERSUG, R. (1995) - Effects of space flight on *Xenopus laevis* larval development. *J. Exp. Zool.*, **273** : 21-32.

SOUZA, K. A. , BLACK, S. D. et WASSERSUG, R. J. (1995) - Amphibian development in the virtual absence of gravity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92** : 1975-1978.

UBBELS, G. A. (1977) - Symmetrization of the fertilized egg of *Xenopus laevis* (studied by cytological, cytochemical and ultrastructural methods). *Mém. Soc. Zool. Fr.*, **41** : 103-115.

UBBELS, G. A. (1988) - A first fertilization of frog eggs in Space. *Microgravity News from ESA*, **1** (2) : 19-23.

UBBELS, G. A. (1991) - The role of gravity in the establishment of the dorso-ventral axis in the amphibian embryo. *Microgravity News from ESA*, **4** (1) : 16-17.

A. BAUTZ et C. DOURNON
Laboratoire de Biologie expérimentale-Immunologie. EA 1119
Université Henri Poincaré, Nancy 1
Faculté des Sciences, B. P. 239
54506 VANDOEUVRE-LÈS-NANCY Cedex (France)
E-mail : abautz@scbiol.u-nancy.fr.

TAILLE, SEX-RATIO ET STRUCTURE D'ÂGE D'UNE POPULATION DE *Salamandra lanzai* (CAUDATA, SALAMANDRIDAE) DANS LES ALPES DU SUD-EST DE LA FRANCE

par

Alexandre RIBERON, Claude MIAUD et Robert GUYÉTANT

Résumé - Une étude sur la biologie d'une des seules populations de *Salamandra lanzai* identifiée à ce jour en France, située dans le Parc Naturel Régional du Queyras, a été engagée en 1994. L'échantillonnage des animaux s'est fait par capture-marquage-recapture durant leur période d'activité qui s'étend de fin mai à mi-septembre environ. Les salamandres ont été marquées individuellement à l'aide d'une marque magnétique qui permettra un suivi sur plusieurs années. En outre, le plus grand doigt de la patte postérieure a été prélevé sur chaque salamandre en vue d'une analyse squelettechronologique, méthode histologique permettant la détermination de l'âge. Le traitement statistique des données de capture-marquage-recapture a permis à partir du modèle choisi, c'est-à-dire une survie constante (0,75) et des probabilités de recaptures variables au cours du temps (de 4 à 33%), d'estimer la taille de la population à 380 ± 130 individus. Globalement la sex-ratio a été biaisée en faveur des mâles (1,6 mâle/1 femelle). L'âge minimum d'acquisition de la maturité sexuelle (observée par des caractères sexuels externes) est de 6 ans chez les mâles et les femelles. La longévité maximale a dépassé 20 ans chez les deux sexes. Ces différents résultats ont été comparés avec ceux obtenus pour diverses populations appartenant à d'autres espèces du genre *Salamandra*.

Mots-clés : Démographie. Âge individuel. Viviparité. Montagne. Salamandridae.

Summary - The biology of the only known French population of the endemic black salamander *Salamandra lanzai* has been studied in the Parc Naturel Régional du Queyras, Hautes Alpes (S. E. France) since 1994. Male, female and immature salamanders were hand-caught on five occasions (3-5 days each) for a mark capture-recapture study during the summer period of activity (June-September). Individuals were marked with PIT-tags and the biggest toe of the hindleg removed for skeletochronological age determination. Statistical models applied to mark capture-recapture data allowed a constant survival rate ($s = 0.75$) and variable probabilities of recapture (4 to 33%) to be determined. The size of population was 380 ± 130 individuals, with a sex-ratio of 1.6 males / 1 female. Minimum age at sexual maturity was 6 years in both males and females. Longevity could exceed 20 years in both sexes. Results are compared with those from populations for other species of *Salamandra*.

Key-words : Demography. Ageing. Viviparity. Mountain. Salamandridae.

I. INTRODUCTION

Une nouvelle espèce de salamandre noire, *Salamandra lanzai*, a récemment été décrite à partir d'une étude génétique et morphologique de différentes populations et espèces de salamandres (Nascetti *et al.*, 1988). Deux caractères morphologiques facilement observables permettent de distinguer *S. lanzai* de *S. atra* (Grossenbacher, 1994). Chez les adultes, l'extrémité de la queue est arrondie chez *S. lanzai* alors que celle-ci est pointue chez *S. atra*. Par ailleurs la disposition des orifices excréteurs des glandes à venin diffère selon les espèces: *S. atra* présente une double rangée d'orifices le long de la colonne vertébrale et des protu-

bérances coniques sur les flancs pourvues d'un unique orifice excréteur. En revanche, *S. lanzai* ne possède pas d'orifices excréteurs en position dorsale et les protubérances latérales de forme ovale montrent plusieurs orifices excréteurs.

Les deux espèces occupent des aires de répartition disjointes: *S. atra* est présente sur une grande partie de l'arc alpin alors que *S. lanzai* ne se rencontre, en l'état actuel de nos connaissances, que dans les Alpes du Sud entre 1500 et 2500 m d'altitude. La population étudiée sur le versant français du Mont Viso est localisée au niveau de la pelouse alpine, comme cela a été observé sur le versant italien (Clima, 1994 et Michelis, 1994).

Outre les aspects phylogéographiques (en cours d'étude), le but de ce travail concerne la dynamique des populations de *S. lanzai* par la détermination des structures d'âge, des taux de survie des différentes phases du cycle vital (immatures et adultes terrestres, cette espèce étant totalement vivipare), de la fécondité et des échanges entre sous-populations.

Le caractère apparemment fortement localisé de *S. lanzai* au sein du périmètre du Parc Naturel Régional du Queyras soulevait également des questions finalisées liées à la conservation de l'espèce (statut actuel, risques encourus).

Le travail présenté ici est le résultat de la première campagne de terrain au cours du printemps et de l'été 1994 et concerne l'estimation des densités et des structures d'âge des immatures et des adultes.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODE

A - Site d'étude

La station d'étude se situe sur le versant Sud-Est de la haute vallée du Guil à 2100 m d'altitude dans le massif du Mont Viso (Parc Naturel Régional du Queyras). La zone d'échantillonnage (160x80 m) est une pelouse alpine parsemée de genévriers nains (*Juniperus nana*) et de rhododendrons (*Rhododendron ferrugineum*). Elle est parcourue par de petits torrents, le long desquels se trouvent quelques saules (*Salix sp*). Le grand nombre d'anfractuosités parmi les éboulements et les trous de marmottes offrent aux salamandres une multitude d'abris.

B - Technique d'échantillonnage

En 1994, cinq campagnes d'études d'une durée de 2 à 4 jours toutes les 3 semaines ont été réalisées depuis la fonte des neiges jusqu'aux gelées de septembre, les 6-8 juin, 2-5 juillet, 26-29 juillet, 24-26 août et 27-28 septembre. La recherche des animaux s'est effectuée à l'aube suivant un itinéraire-échantillon standard. Nous avons vérifié que les sorties en début de nuit étaient peu fréquentes. Chaque animal capturé était stocké dans un récipient individuel et son emplacement de capture noté sur une carte.

C - Caractéristiques individuelles

La détermination du sexe des individus adultes s'est faite à partir de l'examen des caractères sexuels externes. Les mâles se distinguent par la présence de petites granulations le long de la colonne vertébrale et un cloaque proéminent. Les immatures sont de petite taille (longueur museau-cloaque inférieure à 60 mm) et ne présentent pas de caractères sexuels externes. Certains animaux de taille supérieure et ne présentant pas de caractères sexuels externes affirmés ont été classés comme indéterminés. Chaque individu a

été pesé, mesuré et marqué individuellement à l'aide d'une marque magnétique (Trovan) injectée dans la cavité générale. Un tel marquage n'affecte pas la croissance et le comportement de tritons de plus de 2 g (Fasula *et al.*, 1993) ou de petits crapaud de plus de 30 mm (Sinsch, 1991). Par ailleurs, le plus grand doigt d'un membre postérieur a été prélevé et fixé à l'alcool à 70° en vue de l'analyse squelettochronologique. Les individus ont finalement été relâchés sur leur lieu précis de capture. Dix animaux ont été suivis dans des terrariums placés *in situ* et aucune mortalité n'a été observée.

D - Squelettochronologie

Sur 204 doigts récoltés en 1994, un échantillon de 50 adultes tirés au hasard et de 13 immatures a été utilisé pour l'analyse squelettochronologique. Après dissection, les phalanges sont décalcifiées dans l'acide nitrique à 3% pendant 4 heures. L'os est ensuite placé dans l'eau du robinet pendant 24 heures. Des coupes transversales d'une épaisseur de 12µm sont réalisées dans la région diaphysaire de la phalange proximale à l'aide d'un microtome à congélation. Les coupes sont colorées à l'hématoxyline d'Ehrlich pendant 8 minutes puis rincées à l'eau du robinet pendant 2 heures. Elles sont enfin montées entre lame et lamelle dans de l'Aquamount, puis observées au microscope photonique.

E - Estimation des effectifs

Le marquage individuel et l'échantillonnage séquentiel permettent l'utilisation de modèles de capture-marquage-recapture (voir Clobert *et al.*, 1985; Lebreton *et al.*, 1992) qui tiennent compte du caractère «ouvert» (immigration, natalité émigration, mortalité) de la population étudiée et de la probabilité de capture d'un animal.

Généralement, quatre modèles de base sont utilisés, dans lesquels les taux de survie et les probabilités de recapture sont soit constants soit variables au cours du temps. Le modèle retenu correspond à l'optimum d'adéquation entre les données et le critère de parcimonie. Ce traitement statistique a été réalisé à l'aide du logiciel SURGE 4.1 (Pradel et Lebreton, 1991).

L'estimation de la taille de la population a été calculée à partir des probabilités de recapture en utilisant l'estimateur (Clobert et Lebreton, 1987) $N = n_i/p_i$ où n_i est le nombre total d'animaux pris au temps i et p_i l'estimation de la probabilité de capture au temps i (cet estimateur suppose que la population soit démographiquement fermée).

III. RÉSULTATS

A - Sélection d'un modèle et taille de la population

Le protocole de capture-marquage-recapture est prévu pour un suivi pluriannuel des populations. Dans ces résultats, nous ne présentons qu'une analyse préliminaire, c'est-à-dire des taux de survie et des probabilités de recapture pour une seule saison d'activité (1994). Les résultats globaux (suivi pluriannuel, comparaisons entre mâles et femelles, entre classes d'âge) feront l'objet d'une publication ultérieure.

1. Choix du modèle

Le modèle ($s ; p_i$) a été retenu c'est-à-dire avec une survie constante et des probabilités de recapture variables au cours du temps. Le taux de survie a été estimé à 0,75 (tableau I).

Dates	Taux de survie	Probabilités de recapture		
		Valeur estimée	Minimum	Maximum
2-5 juillet	0,75	0,04	0,006	0,23
26-29 juillet		0,33	0,17	0,53
24-26 août		0,24	0,12	0,41

Tableau I : taux de survie et probabilités de recaptures des Salamandres de Lanza au cours de la saison d'activité 1994.

Dans ce modèle, le taux de survie est un taux de survie apparent c'est-à-dire que les animaux absents de la zone d'échantillonnage interviennent au même titre que les individus morts. Le taux de survie ainsi calculé prend en compte les individus présents mais non capturés, les animaux émigrés, les individus qui ne sont pas sortis de leur abri et les animaux morts entre deux campagnes de capture. Sa valeur constante au cours d'une seule saison d'activité pourrait s'expliquer par le rapprochement des campagnes de capture et l'aspect sédentaire des salamandres.

Les probabilités de recapture varient en fonction de l'intensité d'échantillonnage et de l'activité des animaux. En raison d'un effort de standardisation entre les campagnes de capture, des variations des probabilités de recapture devraient résulter de différence d'activité des animaux au cours de la saison (avec un maximum fin juillet fin août).

2. Effectifs capturés et taille de la population

Les effectifs de salamandres capturées en 1994 sont donnés dans le tableau II. L'estimation de la taille de la population est calculée à partir de la probabilité de recapture de l'épisode 3, pour lequel la probabilité de recapture a été maximale. La taille de la population a ainsi été estimée à 380 ± 130 individus soit une densité de 0,03 individu au m².

Les immatures ont représenté 9,3 % (N = 19) des individus capturés.

	Dates				
	6-8 juin	2-5 juillet	26-29 juillet	24-26 août	27-28 septembre
Mâles	7	23 (2)	75 (11)	9 (22)	0
Femelles	9	13 (1)	37 (11)	9 (6)	(1)
Immatures	0	5	12	2 (1)	0
Indéterminés	16	3	1	3	1

Tableau II : effectifs de Salamandre de Lanza capturées au cours de la saison d'activité 1994.

() : nombre d'individus recapturés.

indéterminés : animaux de plus de 60 mm ne présentant pas de caractères sexuels externes.

B - Sex-ratio

La sex-ratio, exprimée comme étant le rapport entre le nombre de mâles et le nombre total d'adultes, a été calculée pour toute la saison ainsi qu'en début, milieu et fin de période d'activité (tableau III). Globalement, la sex-ratio a été significativement biaisée en faveur des mâles (SR = 0,64; $\varepsilon = 3,5$; $p = 0,0004$). Cependant, des variations de cette dernière ont été observées au cours de la saison. En début et en fin de la période d'activité, la sex-ratio a été équilibrée alors qu'en milieu de saison l'effectif des mâles a été significativement supérieur à celui des femelles (SR = 0,71; $\varepsilon = 3,6$; $p = 0,0003$).

	Nt	SR	e	P
6-8 juin et 2-5 juillet	52	0,57	1,15	0,30
26-29 juillet	90	0,71	3,6	<0,05
24- 26 août	18	0,5	0	1,00
Total	160	0,64	3,5	<0,05

Tableau III : valeur globale et variations de la sex-ratio au cours de la saison d'activité 1994.

Nt = nombre total d'adultes ; SR = sex-ratio = nombre de mâles / Nt

Le test contre $p = 0,5$ (pas de différence entre le nombre de mâles et le nombre de femelles) conduit à former le rapport : $\varepsilon = (p - 0,5) / \sqrt{0,5 \times (0,5/Nt)}$.

P : probabilité associée au test du modèle binomial (Nt ; 0,5).

C - Squelettechronologie et structure d'âge

1. Observations des lignes d'arrêt de croissance (LAC)

92 % (N=58) des coupes permettent une exploitation en terme d'estimation de l'âge individuel. La résorption endostéale apparaît faible dans les phalanges de *S. lanzai*: seulement 8 % (N=5) des individus présentent une érosion partielle atteignant au maximum la troisième ligne. Les deux premières lignes voire la troisième sont nettement moins chromophiles que les autres chez la plupart des individus. La présence de lignes supplémentaires est rare, observée chez 6 % (N=4) des animaux.

Les conditions écologiques de la station permettent d'attribuer une seule période d'arrêt de croissance pendant l'hiver. Le dénombrement de ces lignes donne donc directement l'estimation de l'âge des individus. Cependant *S. lanzai* est vivipare, avec une durée de gestation estimée actuellement à au moins quatre ans à partir de dissection de femelles gravides et en comparaison avec le développement embryonnaire et larvaire de *S. atra* (Guex et Greven, 1994). Des lignes d'arrêt de croissance peuvent se mettre en place au cours de la vie intra-utérine. En effet les plus petits immatures capturés (longueur museau-cloaque comprise entre 37 et 42 mm) montrent 3 lignes. En comparant leur taille avec celle d'individus nouveau-nés, on constate que les plus petits immatures capturés sont très vraisemblablement nés l'année précédant leur capture. On peut

donc penser que deux lignes se mettent en place chez l'embryon au cours des deux dernières années de vie intra utérine. Selon cette hypothèse et dans l'attente de confirmations ultérieures (squelettochronologie pratiquée sur des embryons et précisions quant aux premiers stades d'ossification diaphysaire des phalanges), on considérera que l'âge des individus est égal au nombre de LAC soustrait des deux lignes formées pendant la vie embryonnaire.

2. Structures d'âge

La distribution du nombre de LAC observées chez les mâles, les femelles et les immatures est présentée par la figure 1. Selon l'hypothèse exprimée précédemment de l'existence de 2 LAC «intra-utérines», l'âge des immatures s'échelonne de 1 à 4 ans alors que l'âge des adultes se répartit de 6 à plus de 20 ans. Les structures d'âge ne diffèrent pas de façon significative entre mâles et femelles (test de Kolmogorov-Smirnov, $D_{max} = 0,18$ et $p > 0,05$). Le mode de la distribution des âge des adultes est de 13-14 ans avec deux tiers des animaux âgés de plus de 10 ans. Les plus jeunes animaux présentant des caractères sexuels externes ont 6 ans pour les 2 sexes, ce qui correspondrait à l'âge minimal d'acquisition de la maturité sexuelle. On n'observe pas d'immatures et d'adultes dans une même classe d'âge, ce qui indiquerait l'absence d'un échelonnement de l'âge d'acquisition des la maturité sexuelle. Alors qu'on pourrait s'attendre à une diminution progressive du nombre d'individus avec l'âge, la distribution de l'échantillon analysé présente un déficit d'adultes pour les âges de 6 à 10 ans. Ce biais pourrait s'expliquer par l'absence des adultes les plus jeunes (par émigration), ou de fortes variations pluriannuelles du recrutement.

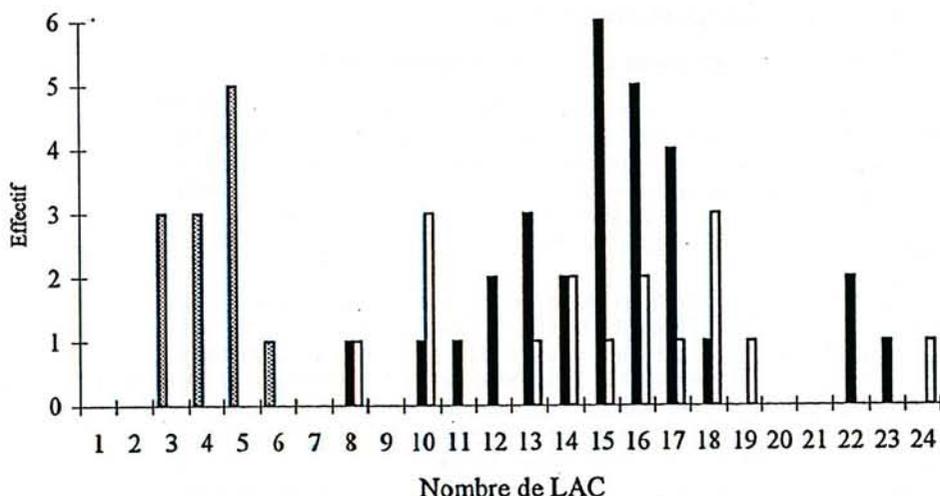


Figure 1 : distribution des Lignes d'Arrêt de Croissance (LAC) estimées par squelettochronologie appliquées aux phalanges d'une population de *S. lanzai* du Sud-Est des Alpes (France)

Grisé : immatures ; blanc : femelles ; noir : mâles.

L'âge des individus correspond au nombre de LAC - 2 (voir III.C.1)

IV. DISCUSSION

A - Effectif

Certains paramètres comme le taux de survie ou le recrutement, particulièrement intéressants pour une étude de la dynamique de la population ne sont vraiment utilisables qu'après plusieurs années de suivis par capture-marquage-recapture chez les espèces longévives (Pollock *et al.*, 1990). Dans un cadre de conservation d'une espèce, la taille de la population constitue souvent la variable la plus immédiate pour quantifier son état (Pollock *et al.*, 1990) alors que l'estimation des taux de survie est plus pertinente (Lebreton *et al.*, 1992). Pour la population étudiée, bien délimitée spatialement et avec des probabilités de recapture élevées, la taille est un paramètre facile à appréhender. Cette approche a été également menée chez les populations vivant en Italie où Clima (1994), avec des méthodes analogues, trouve pour la population du Mont Viso un effectif similaire (480 ± 80 individus) mais avec une densité plus élevée ($0,17$ animaux/m²).

La proportion des salamandres immatures est faible : 9 % pour cette population et 6 % pour la population italienne (Michelis, 1994). Cette faible proportion d'immatures est fréquemment observée chez les salamandres terrestres (Joly, 1968; Rebelo et Caetano, 1995). Ceci pourrait s'expliquer par la difficulté de repérer les immatures du fait de leur petite taille, par une activité locomotrice (liée à la période de reproduction) supérieure chez les adultes ou encore par un mode de vie différent suivant les phases du cycle vital (vie davantage hypogée et/ou émigration pour les immatures par exemple). Cependant Joly (1968) indique que de toute façon la fraction des immatures est effectivement faible par rapport à celle des adultes dans les populations de *S. salamandra*.

B - Sex-ratio

Bien que la sex-ratio soit très variable selon les populations, il apparaît cependant une tendance à la prédominance de mâles au sein des populations naturelles chez le genre *Salamandra*. De 1,1 à 1,7 mâles pour 1 femelle pour des populations de plaine chez la salamandre tachetée (Joly, 1968 et Warburg, 1994), 1,2 : 1 à 1000 m et 2 : 1 à 2000 m chez *S. atra* (Klewen, 1986) et 1,9 : 1 à 2100 m chez *S. lanzai* (cette étude). Ces biais pourraient résulter soit de l'échantillonnage soit de déviations naturelles de la sex-ratio.

Si les résultats des calculs de la sex-ratio portent sur un effectif statistiquement suffisant et si l'échantillonnage est effectué sur l'ensemble de la période d'activité de l'animal, le biais observé pourrait être mis en relation avec l'écologie ou le comportement de l'animal. Une différence d'activité entre mâles et femelles est souvent avancée pour expliquer une prédominance de ces derniers surtout en période d'accouplement. Les mâles plus actifs sont davantage repérés par l'expérimentateur que les femelles plus discrètes (Joly, 1968 ; Rebelo et Caetano, 1995). Andreone *et al.* (sous presse) ont montré chez *S. lanzai* une activité plus faible des femelles par rapport à celle observée chez les mâles sur l'ensemble de la saison. Chez la grenouille rousse (*Rana temporaria*), en altitude, les mâles se rencontrent préférentiellement à proximité des points d'eau alors que les femelles occupent des biotopes herbacés plus terrestres (Guyétant *et al.*, 1988) : la sex-ratio variant alors en fonction de la surface échantillonnée. Aucune observation de ce type n'est indiquée chez les salamandres européennes.

Plusieurs hypothèses concernant les déviations naturelles de la sex-ratio peuvent être proposées, au moment de la fécondation, lors du développement embryonnaire et après la naissance :

La régulation de la sex-ratio pourrait être mise en oeuvre durant la période de stockage des spermatozoïdes dans l'organe de Seibold par les femelles (Vilter, 1985). Cette hypothèse implique la capacité des femelles à sélectionner un type de gamètes pour la fécondation des ovocytes. D'autre part, il serait possible que l'environnement intra-utérin puisse modifier les probabilités de fécondation des ovocytes par les deux catégories de spermatozoïdes (Geiringer, 1961), par des modifications du pH influençant la mobilité des spermatozoïdes par exemple. De tels phénomènes ont été observés chez des Vertébrés supérieurs (revue dans Graziani, 1994).

Au cours du développement embryonnaire, l'action de certains facteurs environnementaux pourrait aboutir à une inversion du sexe. L'effets de la température sur le déterminisme du sexe est connu chez les Reptiles (Chéloniens et Crocodiliens pour la plupart ainsi que quelques lézards) et certains Amphibiens (Dournon *et al.*, 1990). Un tel phénomène se rencontre chez deux espèces de Pleurodèles *Pleurodeles waltl* et *P. poireti*, où une élévation de la température du milieu d'élevage entraîne une inversion phénotypique du sexe avec augmentation respectivement du nombre de mâles (Dournon et Houillon, 1984) ou de femelles (Dournon *et al.*, 1984). La réponse à de basses températures est peu connue chez les Amphibiens. L'élevage de têtards à 14°C donne en majorité des femelles chez *R. temporaria* (Guyétant, données non publiées).

Lors de la vie intra-utérine, une mortalité différentielle entre sexes pourrait se produire. Chez *S. atra*, l'adelphophagie (prédation entre larves dans l'utérus) se fait toujours au détriment des larves les plus petites (Vilter, 1985 ; Guex et Greven, 1994). Une adelphophagie dirigée (par élimination des femelles) pourrait alors jouer sur la sex-ratio à la naissance.

Enfin après la naissance, une mortalité différentielle des individus des deux sexes pourrait générer une déviation de la sex-ratio. Pour les immatures, il est difficile de déterminer les causes d'une mortalité différentielle. Chez les adultes, les structures d'âge (cette étude) donnent des estimations de survie globale identique pour les 2 sexes. Le protocole de capture-marquage-recapture nous renseignera, après plusieurs années de suivi, sur les taux de survie individuels des mâles et des femelles.

C - Âge à la maturité et longévité

La longévité au sein des espèces du genre *Salamandra* (tableau IV) est importante (jusqu'à 22 ans). On ne note pas de différence entre les sexes sauf chez *S. salamandra* où la longévité des femelles (15 ans) apparaît inférieure à celle des mâles (19 ans). Les femelles, terrestres et ovovivipares, déposent les larves dans des points d'eau parfois très éloignés de leur domaine vital (au sens de Duelman et Trueb, 1986) s'exposant ainsi davantage aux risques d'accidents (comme l'écrasement sur les routes) que les mâles (Rebello et Caetano, 1995). Certains auteurs (Joly, 1985; Warburg, 1994) estiment que chez *S. salamandra* la longévité est pour chacun des sexes d'une vingtaine d'années (élevages, captures-recaptures). La longévité élevée des salamandres terrestres peut être mise en relation avec la prédation : En plaine, où se rencontre le plus de prédateurs d'Amphibiens potentiels (reptiles, oiseaux et mammifères carnivores), *S. salamandra*, est une proie occasionnelle mais ne constitue pour aucun une proie préférentielle (Joly, 1968). *S. atra* en altitude moyenne (1000 m) peut être la proie de la couleuvre à collier (*Natrix natrix*) (Luiselli, com. pers.). Au niveau de l'étage alpin, les prédateurs potentiels se font rares (corvidés, mustéllidés et carnivores) et aucune observation de prédation n'a été faite chez *S. lanzai* (nous avons trouvé une femelle de 14 ans écrasée par un rocher).

Espèces	Sexe	Âge minimal à la maturité	Longévité	Altitude (m)	Site	Auteurs
<i>S. salamandra</i> N = 156	M	2 à 3	19	350	Forêt de Sintra Portugal	Rebelo et Caetano, 1995
	F	3 à 4	15			
<i>S. atra</i> N = ?	M	4 à 5	20 (1)	1700	Alpes Autriche	Fachbach, 1988
	F	4 à 5	20 (1)			
<i>S. lanzai</i> N = 120	M	5 à 6	22	2050	Mont Viso Italie	Clima, 1994
	F	5 à 6	22			
N = 63	M	6	21	2100	Mont Viso France	Cette étude
	F	6	22			

Tableau IV : âge minimal à la maturité sexuelle et longévité (déterminées par squelettechronologie) de différentes populations de *Salamandra* sp vivant à plusieurs altitudes.

(1) estimée en élevage.

M = mâles, F = femelles et N = effectifs.

L'âge à la maturité sexuelle (considérée comme un stade de développement spécifique et reconnaissable qui reflète qu'un organisme a atteint la capacité physiologique de se reproduire : Bernardo, 1993) est similaire entre les mâles et les femelles de salamandre noire (*S. atra* et *S. lanzai*) et décalée d'un an entre les sexes chez la salamandre tachetée (tableau IV). Cette différence, classiquement observée chez les Amphibiens Urodèles (revue dans Miaud, 1991) est interprétée en terme de compromis croissance-maturation. L'investissement pour la reproduction (du point de vue anatomo-morphologique) considéré comme plus faible pour les mâles et/ou une reproduction plus tardive (et donc à une taille corporelle supérieure) permettrait aux femelles d'augmenter leur fécondité au cours de la première année de reproduction. Il apparaît prématuré de raisonner sur les résultats obtenus actuellement chez les salamandres noires. L'âge à la maturité observé est en fait la limite inférieure d'un intervalle dont on ne connaît pas la limite supérieure, les intervalles pouvant être différents entre les 2 sexes. On remarquera simplement qu'avec une maturité sexuelle débutant vers 6 ans, une fécondation cette même année, quatre années de gestation et une durée de vie de l'ordre de 16 ans, une femelle aura seulement 2 gestations et une production de 4 à 12 jeunes sur la durée totale de sa vie (fécondité de *S. lanzai* de 2 à 6 jeunes/femelle : Andreone, com. pers.)

Le statut, en particulier en terme de risques encourus pour la population de Salamandre de Lanza du versant français du Mont Viso ne peut être estimé après une seule saison de suivi. Cependant, les caractéristiques démographiques (telles que les structures d'âge, la durée de gestation et la fécondité) attestent de l'importance des valeurs des taux de survie des adultes dans la population étudiée.

Remerciements - Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel du Parc Naturel Régional du Queyras qui a pu contribuer à cette étude, et en particulier M. Blanchet, responsable scientifique du Parc, pour son importante implication scientifique et humaine qui a permis son bon déroulement, J.-M. Gaillard (Université de Lyon I) pour son aide à l'utilisation du logiciel SURGE et deux référés pour leurs commentaires constructifs. Autorisation ministérielle de capture des espèces soumises au titre I du livre II du code rural relatif à la protection de la nature n° 94/123 du 26 mai 1994. Programme de recherche intégré au P.I.C. INTERREG «Valorisation des ressources naturelles et touristiques du Queyras et du Val Pellice».

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANDREONE, F., DE MICHELIS, S. et CLIMA, V. (sous presse) - Preferenze ambientali e life history in una popolazione di *Salamandra lanzai* (Amphibia: Salamandridae). Actes du Convegno italiano di erpetologia montana, Trento 6-9 avril 1994.
- BERNARDO, J. (1993) - Determinants of maturation in animals. *Trends in Ecology and Evolution*, **8** (5) : 166-173.
- CLIMA, V. (1994) - Adattamento ambientale in un urodela di alta quota, *Salamandra lanzai* (Amphibia: Salamandridae). Tesi di laurea, Università de Milan, 104p.
- CLOBERT, J., LEBRETON, J. D., CLOBERT-GILLET, M. et COQUILLARD, H. (1985) - The estimation of survival in bird population by recapture or sightings of marked individuals. In *Statistics in Ornithology*. North and Morgan (Eds), Spinger Verlag : 197-213.
- CLOBERT, J. et LEBRETON, J. D. (1987) - Recent models for mark-recapture and mark resighting data: a reponse to C. Brownie. *Biometrics*, **43** : 1019-1022.
- DOURNON, C. et HOUILLON, C. (1984) - Démonstration génétique de l'inversion fonctionnelle du phénotype sexuel femelle sous l'action de la température d'élevage d'un Amphibien Urodèle: *Pleurodeles waltl*. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **24** (4) : 361-378.
- DOURNON, C., GUILLET, F., BOUCHER, D. et LACROIX, J.-C. (1984) - Cytogenetic and genetic evidence of male sexual inversion by heat treatment in newt *Pleurodeles poireti*. *Chromosoma*, **90** : 261-264.
- DOURNON, C. HOUILLON, C. et PIEAU, C. (1990) - Temperature sex reversal in Amphibia and Reptiles. *Int. J. Dev. Biol.*, **34**: 81-92.
- DUELLMAN, W.E. et TRUEB, L. (1986) - *Biology of Amphibians*. New-York: Mac Graw-Hill Book Company : 670 p.
- FACHBACH, G. (1988) - Röhrenknochenentwicklung und altersbestimmung bei *Salamandra atra* Laur., 1768 (Urodela, Salamandridae). *Zool. Anz.*, **221** : 188-200.
- FASULA, M., BARBIERI, F. et CANOVA, L. (1993) - Test of an electronic individual tag for newts. *Herpetol. J.*, **3** : 149-150.
- GEIRINGER, E. (1961) - Effect of ACTH on sex ratio of albino rat. *Proceeding of the Society of Experimental Biology and Medicine*, **106** : 752-754.
- GRAZIANI, L. (1994) - Déterminisme des sex-ratio primaire et secondaire chez les Vertébrés supérieurs: rôle du milieu physique et social des individus. Rapport bibliographique de DEA, Université Cl. Bernard Lyon I, 32 p.

- GROSSENBACHER, K. (1994) - Distribution et systématique des salamandres noires. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, **71-72** : 5-12.
- GUÉX, G.-D. et GREVEN, H. (1994) - Structural and physiological aspects of viviparity in *Salamandra atra Mertensiella*, **4** : 161-208.
- GUYÉTANT, R., BROUSSE, S., HEROLD, J.P. et PINSTON, H. (1988) - Étude de la croissance et du développement de grenouilles rousses *Rana temporaria* L. en altitude (Alpes du Nord). *C. R. Soc. Biol.*, **182** : 301-307.
- JOLY, J. (1968) - Données écologiques sur la salamandre tachetée *Salamandra salamandra*. *Ann. Sci. Nat. Zool.*, Série **12** : 301-366.
- JOLY, J. (1985) - La reproduction de la salamandre terrestre (*Salamandra salamandra*). In *Traité de Zoologie*, Tome XIV, Batraciens, P.-P. Grassé et M. Delsol (édts), fasc. **1 B** : 471-486.
- KLEWEN, R. (1986) - Untersuchungen zur verbreitung, öko-ethologie und innerartlichen gliederung von *Salamandra atra* Laurenti 1768. Inaugural-Dissertation, Universität de Köln : 185p.
- LEBRETON, J. D., BURNHAM, K. P., CLOBERT, J. et ANDERSON, D. R. (1992) - Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecological Monographs*, **62 (1)** : 67-118.
- MIAUD, C. (1991) - Essai de synthèse sur les caractéristiques démographiques des tritons du genre *Triturus*. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, **59** : 1-18.
- MICHELIS (DE), S. (1994) - Aspetti ecologici di una popolazione di *Salamandra lanzai* dell'Alta Val Po, Piemonte. Tesi di laurea, Università de Milan 140 p.
- NASCETTI, G., ANDREONE, F., CAPULA, M. et BULLINI, L. (1988) - A new *Salamandra* species from southwestern Alps (Amphibia, Urodela, Salamandridae). *Boll. Mus. reg. Sci. nat. Torino*, **6** : 617-638.
- PRADEL, R. et LEBRETON, J. D. (1991) - User's manual for program SURGE. Version 4.1. CEFE/CNRS, Montpellier, France.
- POLLOCK, K. H., NICHOLS, J. D. , BROWNIE, C. et HINES, J. E. (1990) - Statistical inference for capture-recapture experiments. *Wild. Monogr.*, **107** : 1-97.
- REBELO, R. et CAETANO, M. H. (1995) - Use of the skeletochronological method for ecodemographical studies on *Salamandra salamandra gallaica* from Portugal. *Scientia Herpetologica*, Liorente *et al.* (eds), **1995** : 135-140.
- SINSCH, U. (1991) - Zwei neue markierungsmethoden zur individuellen identifikation von Amphibien in langfristigen freilanduntersuchungen: ezste ezfahrungen bei kreuzkröten. *Salamandra*, **28** : 116-128.
- VILTER, V. (1985) - La reproduction de la salamandre noire (*Salamandra atra*). In *Traité de Zoologie*, Tome XIV, Batraciens, P.-P. Grassé et M. Delsol (édts), fasc. **1 B** : 487-495.
- WARBURG, M. R. (1994) - Population ecology, breeding activity, longevity and reproductive strategies of *Salamandra salamandra* during an 18-years long study of an isolated population on Mt. Carmel, Israel. *Mertensiella*, **4** : 399-421.

A. RIBERON, C. MIAUD et R. GUYÉTANT
 Université de Savoie
 Centre Interdisciplinaire Scientifique de la Montagne
 Laboratoire Écosystèmes Aquatiques et Interfaces
 Équipe Écologie des Vertébrés
 73376 LE BOURGÈT DU LAC cedex (France)

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

1^{er} trimestre 1996

Bulletin de liaison

n°77

SOMMAIRE

NOTES

- **NOTES D'ÉLEVAGE (Roland Simon)**
- *Lampropeltis triangulum sinaloa* (Serpent de lait de Sinaloa)
par Michel LAMOUILLE 47
- *Lampropeltis triangulum campbelli* (Serpent de lait de Puebla)
par Michel LAMOUILLE 48
- *Boa constrictor constrictor* (Boa constricteur)
par Michel LAMOUILLE 48
- *Eublepharis macularis* (Gecko léopard)
par Philippe GERARD 50
- Fiche de résultats 51
- **LE POINT SUR LA LÉGISLATION**
par Emmanuel LEMONNIER 52

VIE DE LA SOCIÉTÉ

- Compte-rendu de l'Assemblée Générale de la SHF,
Nancy (30 juin 1995) 55
- Liste des nouveaux membres admis en 1995 58
- Rapport moral pour l'année 1994 - 1995 59
- Rapport financier du Trésorier (1994-1995) 61
- Rapport d'activité de la commission de protection 1994 -1995 67
- Rapport d'activité de la commission de terrariophilie
(1994- 1995) 69

NOTES D'ÉLEVAGE

Lampropeltis triangulum sinaloa (Serpent du lait de sinaloa)

Un mâle et une femelle âgée de 4 ans (LT 100 cms ; M 350 g) sont maintenus dans un terrarium de dimensions : 40 x 20 x 25 cm, éclairé d'un tube de type "Grolux" de 15 W et chauffé par un câble chauffant de 15 W disposé dans un double fond. En période d'activité, les températures diurnes et nocturnes sont respectivement de 25-30°C et 19-20°C. Une période de repos durant laquelle la température est de 19-20°C est obtenue par coupure de l'éclairage et du chauffage de Février à Mars.

L'éclairage a été restauré le 2 avril, le chauffage 6 jours plus tard.

Mâle et femelle ne sont mis en présence que pour les accouplements. Un seul accouplement a été observé le 22 Juin 1995. La femelle a jeûné après le 23 juillet, une ponte de 9 oeufs est intervenue le 30 juillet: Les oeufs placés en incubation à une température comprise entre 28,5°C et 28,7°C ont éclos entre les 21 et 25 septembre. (un oeuf a été ouvert aux ciseaux).

POIDS	LONGUEUR
10,6 g	31 cm
9,9 g	32 cm
10,5 g	32,5 cm
11,3 g	33,5 cm
10 g	32 cm
10,1 g	31,5 cm
10,1 g	33,5 cm
10 g	32,5 cm
9,5 g	32 cm

La première mue est intervenue dès le 29 septembre, la première prise de nourriture (souriceau nouveau né) le 8 octobre.

7 des jeunes se sont alimentés très rapidement, de jour, les deux derniers quelques jours plus tard. Cette espèce a été reproduite en 1994 avec les mêmes conditions d'élevage :

- Même femelle, mâle différent (6 oeufs, 6 jeunes).
- Un autre couple (6 oeufs, 6 jeunes).

Tous les reproducteurs sont nés en captivité.

Michel LAMOUILLE
5, route du Semnoz,
74000 ANNECY

Lampropeltis triangulum campbelli
(Serpent du lait de Puebla)

Un mâle né en Septembre 1989 (88 cm , 290 g) et une femelle née en Août 1989 (91 cms, 270 g) sont logés toute l'année dans un vivarium (L 40 cms, l 20 cms, H 25 cms) chauffé par un câble chauffant de 15 Watts disposé dans un double fond et éclairé d'un tube "blanc industrie" de 13 Watts. En période d'activité les températures diurnes et nocturnes sont respectivement situées entre 25-30°C et 19-20°C. En période de repos, la température avoisine les 19-20°C. L'hygrométrie varie en cours d'année et s'échelonne de 60 à 70 %.

Aucun accouplement n'a été observé, la femelle a accepté un dernier repas le 5 Mai 1994, la ponte composée de 5 oeufs est intervenue le 12 Mai. Incubés à 28°C, un jeune est né le 12 juillet, bien qu'ayant fendu leur coquille, les quatre autres apparemment bien formés ont été trouvés morts. La cause de ces décès est probablement due à une élévation de température de la pièce d'élevage (35-36°C) liée à la canicule.

La première mue a eu lieu le 18 juillet, refusant les souriceaux vivants qui lui ont été proposé, le serpent a accepté un souriceau mort le 18 juillet.

En 1992 et 1993, des pontes de 3 et 4 oeufs se sont révélées non fécondées.

La femelle vit aujourd'hui séparée du mâle et ne sera mise en sa présence que dans un but d'accouplements.

Michel LAMOUILLE
5, route du Semnoz,
74000 ANNECY

Boa constrictor constrictor
(Boa constricteur)

Un couple de boa provenant de Guyane, âgé d'environ 11 ans (Mâle 9 kg, Femelle 12 kg, Longs de 2,50 - 3 m) est logé dans un vivarium de dimensions : L 1,55 m, l 0,86 m, H 1m.

Du mois d'avril au 15 septembre la température diurne et nocturne est maintenue respectivement à 25-35°C et 20-25°C, L'hygrométrie oscille de 70 à 100%, une à deux pulvérisations journalières d'eau tiède permettent d'augmenter l'humidité.

Du 15 septembre à la fin mars la température est comprise entre 25-26°C le jour et 19-20°C la nuit, l'hygrométrie est maintenue à 60-70%.

Les premières manifestations sexuelles du mâle sont apparues en 1993, plusieurs accouplements ont été observés le 29 Août, le 19 Septembre et le 3 Octobre de cette même année.

La femelle s'est alimentée chaque mois de 1 à 2 rats, le dernier repas accepté le 17 février 1994 précédait de peu la parturition intervenue le 5 mars.

Pendant la période de gestation, la femelle a occupé le point le plus chaud du terrarium où la température varie de 30 à 35°C.

21 jeunes sont nés dont un mort né (entièrement formé mais particulièrement petit)

POIDS	NOMBRE
70 g	1
80 g	2
85 g	8
90 g	6
95 g	2
100 g	1

Le plus petit mesurait 60 cm, le plus grand 66 cm, la longueur moyenne étant de 62,5 cm.

La première mue est intervenue le 17 mars pour 17 jeunes, le 19 pour deux autres et un retardataire ne muera que le 2 avril.

Le 31 mars, un premier repas a été proposé, tous les nouveaux nés ont accepté un raton agé d'une semaine.

Le 8 mars 1989, une parturition avant terme a produit 3 jeunes chétifs (morts rapidement), 11 jeunes mort-nés et 12 oeufs non fécondés.

Femelle et mâles pesaient alors 7 et 5,5 kg.

Michel LAMOUILLE
5, route du Semnoz
74000 ANNECY

Eublepharis macularius
(Gecko léopard)

Un mâle et deux femelles agés de 18 mois sont logés dans un vivarium de dimensions L : 1 m, l : 0,60 m, H : 0,60 m.

LONGUEUR	POIDS
20 cm	50 g
21 cm	60 g
22 cm	80 g

Le chauffage est assuré par une lampe I.R. Ebstein d'une puissance de 100 W.

De la mi-février à la fin décembre la température diurne et nocturne est de 32 à 25°C et 20°C. L'hygrométrie est faible (20%) mais une petite boîte remplie de sable humide est à la disposition des animaux en permanence, il y règne une humidité relative de l'ordre de 80 %.

En période d'activité la durée d'éclairage, assuré par un tube UVB Zoomed 310, est de 14 heures.

En janvier, température et durée d'éclairage sont abaissées progressivement pour atteindre respectivement 24-20°C le jour, 18°C la nuit et 10 heures.

Plusieurs accouplements d'une durée d'environ 2 mn ont été observés les 1^{er} et 22 février, le 19 avril, le 22 juin.

Les femelles jeûnent 3 à 7 Jours avant chaque ponte.

Les 14 oeufs incubés à 30-31°C ont donné naissance à 10 jeunes après une incubation d'une durée de 34 à 42 jours. Ayant connu quelques problèmes de dessiccation en utilisant du sable, j'ai obtenu pour l'utilisation de vermiculite comme substrat d'incubation. Les cinq oeufs qui n'ont pas éclos sont apparus non fécondés à l'ouverture.

DATE DE PONTE	NOMBRE D'OEUFS	NOMBRE DE JEUNES
15.2	2	2
13.3	2	2
29.3	2	1
18.4	1	0
21.5	2	0
18.5	2	1
6.6	2	2
26.6	2	2

Les jeunes mesuraient 8 cm pour un poids compris entre 2,5 et 3 g. La première mue est intervenue 2 à 3 jours après l'éclosion.

Ils se sont nourris entre le 1^{er} et le 3^{ème} jour de blattes, teignes, criquets et grillons.

Les jeunes ont été exposés 5 mn par jour aux rayons U.V. et ont effectué une croissance très rapide : taille de 18 cm à 5 mois 1/2.

Les mêmes spécimens se sont reproduits en 1994.

Philippe GÉRARD
8, rue Bertrand
75007 PARIS

Les notes d'élevage sont rédigées par le responsable de la commission de terrariophilie à partir des données figurant dans la fiche de résultats ci jointe. Cette fiche est à faire parvenir à :

Roland SIMON
12, rue Q/M Bondon
29470 PLOUGASTEL-DAOULAS

FICHE DE RESULTATS
Coordonnées éleveur :

ANNEE :

A l'aide de cette fiche, indiquez le maximum de données concernant la reproduction de l'une de vos espèces pour UNE année. Ces résultats seront publiés dans le bulletin de la Société Herpétologique de France sous la forme d'un court article. Vous pouvez apporter des précisions supplémentaires au dos de la fiche (le préciser en bas de page).

La fiche est à renvoyer à Roland SIMON, 12 rue Q/M Bondon, 29470 PLOUGASTEL DAOULAS

Nom scientifique				
Nom commun				
Taille, poids, âge des parents				
Dimensions du terrarium	L :	I :	H :	
Chauffage type intensité				
Température(s) diurne(s)	Période d'activité		Période de repos	
Température(s) nocturne(s)	Période d'activité		Période de repos	
Eclairage, type intensité, lumière naturelle ?				
Durée de l'éclairement	Période d'activité		Période de repos	
Hygrométrie				
Cycle annuel : éléments, dates autres stimuli utilisés				
Date(s) d'accouplement				
La femelle a-t-elle jeûné (dates)				
OVIPARES : Date de ponte Nombre d'oeufs T°C d'incubation				
Date d'éclosion/de naissance	vivants		Morts	
Nombre de jeunes				
Jeunes : taille, poids				
Date de la première mue				
Nourriture normale	première prise (date)		nourriture	
Gavage	première prise (date)		nourriture	
Avez vous déjà reproduit cette espèce		Année(s)		
Avec les mêmes spécimens ?		Année(s)		
Indiquer les éventuelles : modifications par rapport aux reproductions antérieures ou éventuels échecs Toutes précisions utiles				

LE POINT SUR LA LÉGISLATION

Ce document a pour but de présenter les principaux textes législatifs applicables aux éleveurs d'animaux d'espèces non domestiques dans le cadre d'échanges. Les références des textes de lois sont données afin de permettre des recherches complémentaires pour les personnes intéressés. Certaines questions actuellement sans réponse nécessiteraient des éclaircissements de la part des autorités compétentes.

I. LA CONVENTION DE WASHINGTON ET SON APPLICATION COMMUNAUTAIRE

L'application dans la Communauté de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvage menacée d'extinction est régie par le règlement CEE N° 3626/82 du conseil du 3 décembre 1982.

Le règlement CEE N° 3418/83 porte sur l'application uniforme des documents requis par la Convention au sein de la Communauté. L'Arrêté du 1 Mars 1993 fixe les modalités d'application de la convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore menacées d'extinction.

Ces textes ainsi que la dernière mise à jour de la liste des espèces protégées au titre de la Convention peuvent être obtenus au Ministère de l'Environnement au bureau de la Direction de la Nature et des Paysages.

Contrairement à une idée fort répandue et largement entretenue, la Convention n'interdit pas le commerce des espèces inscrites à l'Annexe 1 ou C1 mais elle la réglemente en prévoyant certaines dispositions pour les animaux d'élevage. L'un des problèmes majeurs lié à l'application de ces textes réside dans leur interprétation différentes en fonction des autorités.

Si on se réfère à l'article I paragraphe c de la Convention de Washington, la définition du mot "commerce" est : l'exportation, la réexportation, l'importation et l'introduction en provenance de la mer.

On constate donc que les échanges commerciaux (vente, achat, etc.) ne sont pas interdit à l'intérieur d'un état sauf si une législation nationale s'y oppose.

Le règlement N°3626/82 prévoit donc que (...) afin d'assurer la pleine efficacité de l'interdiction d'importation, il convient de prévoir une réglementation des conditions de commercialisation des spécimens des espèces figurant à l'annexe I de la convention et à l'annexe C partie 1 (...), ce texte s'applique à l'usage commercial sur le plan communautaire.

L'article 6 paragraphe 1 de ce règlement définit la liste des interdictions (vente, transport pour la vente, etc.), et les mesures dérogatoires permettant d'exercer ces activités. On constate également que les spécimens animales élevés en captivité ne sont pas concernés par ces interdictions.

Malheureusement la législation française va plus loin que ces textes :

Ainsi l'arrêté du 1 Mars 1993 prévoit une dispense d'autorisation Ministérielle pour une utilisation (vente, commerce, location, etc.) des animaux Annexe 1 et C1 lorsque les spécimens sont " préconventions " ou bien **issus d'élevages agréés** :

- par le secrétariat de la convention pour les espèces Annexe 1.
- par un organe de gestion de la convention d'un Etat membre de la CEE pour les espèces figurant à l'Annexe C1 du règlement n° 3626-82.

Dans une note d'information sur la Convention de Washington on peut lire :

" Tout spécimen d'Annexe I appartenant à la **deuxième génération née et élevée en captivité dans un établissement agréé par les autorités**, est considéré comme relevant du niveau immédiatement inférieur à celui dont bénéficie son espèce, et peut donc faire l'objet d'un commerce international. Il sera soumis à un régime identique à celui d'une espèce appartenant à l'Annexe II "

Ces notions d'élevages agréés et d'animaux de deuxième génération ne sont pas claires car elles ne sont mentionnées nulle part dans le texte original de la convention ou dans la directive 3626/82. On peut cependant penser que l'agrément des autorités correspond à l'autorisation d'ouverture d'établissement lié à l'obtention du certificat de capacité, toutefois ceci pose le problème de l'harmonisation communautaire.

Par contre, on retrouve cette idée de seconde génération née et élevée en captivité dans un rapport de la huitième session de la Conférence des parties (CITES) de Kyoto du mois de Mars 1992. Ainsi il est demandé aux responsables d'élevages à but commercial d'espèces Annexe I, d'apporter la "Documentation montrant que l'espèce a été reproduite jusqu'à la deuxième génération (F2) dans l'établissement et description de la méthode utilisée; ou, si l'établissement n'a pas élevé l'espèce jusqu'à la deuxième génération, description des méthodes utilisées ailleurs pour y parvenir". Toutefois dans ce cas on n'est pas obligé d'attendre la deuxième génération avant de commercialiser les jeunes, on doit se contenter d'apporter la preuve que l'on peut parvenir à cette deuxième génération (ce qui est très facile pour de nombreuses espèces élevées depuis longtemps en captivité).

De plus le fait que les élevages à but commerciaux d'espèces Annexe I doivent être agréés par la CITES n'implique en aucune façon que le commerce des spécimens issus d'élevages non agréés soit interdit.

L'article VII, 5. de la convention précise d'ailleurs clairement que lorsque l'on apporte la preuve que l'animal est né en captivité son commerce est autorisé.

Il est donc difficile voir impossible à l'heure actuelle de dire si le commerce d'animaux Annexe I issus d'élevage est autorisé ou non.

II. LOI DU 10 JUILLET 1976

A l'heure actuelle l'ensemble des espèces protégées par cette loi (faune de France métropolitaine et DOM, y compris la Guyane, autre que les espèces gibiers ou classés nuisibles) ne peuvent être échangés sans une dérogation délivrée par le Ministère de l'Environnement. Jusqu'en 1995 les interdictions concernant ces espèces comprenaient presque tout (transport, vente, capture, etc.) à l'exception de la détention, dès lors que les animaux avaient été légalement obtenus avant l'entrée en vigueur de ce texte et de ces arrêtés.

Depuis Janvier 1995 la détention est également interdite ceci conformément aux directives Européennes et notamment par rapport à la Directive 79/409 concernant la protection des oiseaux migrateurs.

Toutefois malgré cette modification il est important de préciser que les animaux obtenus légalement et dont les justificatifs d'acquisition peuvent être fournis ne sont pas concernés par ce texte. De plus un arbitrage récent de la cour Européenne de Justice indique clairement que les animaux nés en captivité ne sont pas concernés par la directive 79/409 (celle la même qui interdit la détention des animaux prélevés dans leur milieu).

Devant le problème de la légalisation des animaux détenus le Ministère planche actuellement avec diverses associations sur la rédaction d'un arrêté qui devrait faciliter la vie des éleveurs.

Ce projet prévoit un système d'autorisation de détention délivré au niveau préfectoral pour les élevages de petite et moyenne importance, le certificat de capacité n'étant plus obligatoire que pour des élevages à finalités professionnelles ou apparentés (quotas, importance des flux, nature des échanges).

III. QUE FAIRE EN CAS D'ÉCHANGES D'ANIMAUX ?

> Échanges en France et dans la CEE

- Animaux Annexe I et C1 : pour un échange à but commercial (vente) une autorisation doit être demandée au Ministère de l'Environnement sauf pour les animaux préconventionnés ou issus d'élevage agréé par la CITES pour les Annexe I et disposant d'une autorisation d'ouverture pour les C1. Lors d'un transport à but non commercial (prêt d'élevage, don, etc.) la demande doit être adressée à la DDSV.
- Animaux Annexe II et C2 : une autorisation délivrée par la DDSV est nécessaire uniquement lorsque les animaux sont issus d'un élevage non agréé. Dans tous les autres cas lorsque l'on dispose des éléments nécessaires (facture avec n° de CITES ou copie des registres) aucune autorisation n'est nécessaire.
- Faune Française protégée : dans tous les cas une demande de dérogation doit être demandée au service de la DPN du Ministère de l'environnement, cette dérogation n'est en règle générale accordée que pour des raisons scientifiques.

> Échanges hors CEE

- Une demande de permis d'importation doit être adressée au Ministère de l'environnement pour les espèces CITES ou Française.

NB - En fonction des espèces concernées la DDSV doit être contactée pour les démarches sur le plan sanitaire (dérogation sanitaire, etc.), lors d'importation hors pays de la CEE la demande passe par le Ministère de l'Agriculture.

Emmanuel LEMONNIER

COMPTE-RENDU DE L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE DE NANCY (30 JUIN 1995)

Présents : J.-M. EXBRAYAT, J. CASTANET, B. LE GARFF, A. VEYSSET, R. GUYÉTANT, T. GERNIGON, F. PAYSANT, P. HAFFNER, F. BARBIER, M. GARAUDEL, G. NAULLEAU, B. THORENS, R. VERNET, M. DENOEL, R. FOURMY, J. JOLY, F. GUERRE, F. PERRIN, A. RIBERON, H. LOPPARELLE, F. CHRISTMANN, A. SCHIETTECATTE, E. ANSAY, C. DOURNON, S. KURES, B. LAMORT, S. RENOUS, J. DETRAIT, J.-P. MACE, F. MAYER, S. AUDRAIN, J.-M. FRANCAZ, T. FRETEY, J. LESCURE, S. GUERNE, F. MULLER.

La séance est ouverte à 14 h 15.

I. LECTURE DU RAPPORT MORAL

Le rapport, joint en annexe, est lu par le Secrétaire. Approuvé à l'unanimité.

II. RAPPORT FINANCIER

En l'absence du Trésorier, J.-P. Boisard, le rapport financier est lu par J. Lescure qui fait l'éloge du trésorier. Les commissaires aux comptes, M. Detrait et M. Renous déclarent les comptes limpides.

Le rapport est adopté à l'unanimité.

La cotisation sera portée à 180,00 F pour 1996. Pour les adhérents de moins de 25 ans, elle sera de 120,00 F. L'augmentation des cotisations est votée à 29 voix pour, 3 voix contre et 3 abstentions.

III. ANNONCE DES DÉCÈS

J. Lescure annonce les décès intervenus parmi les membres au cours de l'année écoulée. Mme JOLY, Mme SAINT-GIRONS, M. de BEAUFORT, Professeur au Muséum, M. LEMIRE, M. DELACOUR.

IV. RENOUELEMENT DU CONSEIL

Scrutateurs : J.-M. Francaz et T. Fretey

Votants : 84 (dont 45 par correspondance) ; blanc : 1, suffrages exprimés : 83.

Guyétant : 83

Heuclin : 72

Renous : 79

Teynié : 79

Miaud (non candidat) : 2

V. BULLETIN

Le bilan est présenté par R. Vernet, Éditeur en chef.

Deux problèmes sont encore liés au bulletin : le délai de composition et la trésorerie. Une solution actuellement adoptée est de publier des numéros doubles pour les années 1993 et 1994, ce qui permettra de rattraper le retard. Le bulletin de liaison a été intégré au bulletin scientifique. Des articles sont déjà prévus pour publication jusqu'au deuxième trimestre 1995.

R. Vernet fait appel aux bonnes volontés pour assurer la partie concernant la liaison en précisant toutefois que, pour des raisons de commodité, il est souhaitable que les personnes intéressées habitent en région parisienne.

G. Naulleau signale qu'il est possible de se procurer les anciens numéros.

VI. LES COMMISSIONS

Les comptes-rendus détaillés de certaines commissions sont jointes en annexe.

a - J. Castanet fait le compte-rendu de la commission de répartition.

b - J. Lescure lit le rapport de la commission de terrariophilie en l'absence de R. Simon. Il signale la mise au point d'un fascicule "Conseils pour l'élevage des reptiles et amphibiens". G. Naulleau présente les compte-rendu de la réunion de la commission qui s'est tenue la veille. Les jeunes adhérents souhaitent des contacts entre les terrariophiles. Un besoin de formation se fait ressentir. Des stages seraient souhaités par les nouveaux arrivants. J. Lescure précise qu'il est prévu un stage pour 1996. Peut-être faudrait-il envisager deux formes de stages à des niveaux différents ?

c - Groupe Cistude

Le compte-rendu est donné par A. Veysset.

d - Protection

La lecture du compte-rendu d'activité est assurée par J. Lescure en l'absence d'A. Dupré.

e - Groupe vétérinaire

Un groupe a été constitué sous la responsabilité de M. Perrin.

VII. ASSEMBLÉE GÉNÉRALE 1996

Elle se déroulera au cours des Journées d'Angers organisées par G. Matz, à la fin du mois de juin. Ce sera l'occasion de fêter le 25^{ème} anniversaire de la S.H.F. Les thèmes porteront :

- sur la pathologie des amphibiens et reptiles, conjointement avec le groupe vétérinaire qui vient de se former ;
- sur la répartition et la gestion des espèces dans l'ouest de la France.

Le stage, organisé par B. Le Garff, suivra.

VIII. QUESTIONS DIVERSES

- Commission venins. Le responsable, M. Liano, a constitué quelques dossiers.
- J. Castanet signale qu'entre les 2 et 5 août 1997, le 3^{ème} Congrès mondial d'herpétologie se déroulera à Prague. Le Congrès européen aura lieu en France en 1998 (et non en 1997), à l'Université de Chambéry, sous la responsabilité de R. Guyétant.

Une demande concerne le bulletin : ne pourrait-on pas avoir un index et un sommaire de l'ensemble ?

La séance est levée à 16 h 10.

LISTE DES NOUVEAUX MEMBRES ADMIS EN 1995

I. CONSEIL DU 8 OCTOBRE 1994

Postulants : BOUTEILLE, A., CALATAYUD, F., CHAMON, B., CHERIF, Y., COHEN, M., HAMARD, L., KELLE, L., LACANAL, J., LOURDAIS, O., LUCAS, Y., MONTUPET, G., RIBARDIERE, N., TARDIEU, A., GIROUSSEN, F.

Membre : BRADSHAW, D.

II. CONSEIL DU 18 FÉVRIER 1995

Postulants : ADAM, T., ALEGRIA, A., AUBRY, S., BOITARD, N., BOURLON, P., BUFFET, G., CHEVALIER, F., CLEMENT, A., DABRIGEON, M., DROMARD, L., EBRARD, D., RINGWALD, J.-C., GERBAUD, N., GOURRAUD, M., HECEK, C., HULIN, P., LIRA KORNFELD, C., LHERMITTE-DEBORDES, N., LUCAS, P., MAZAUD, S., MEZIANE, S., MORNET, F., PEDOTTI, P., PELLETIER, M., PFEIFFER, G., POTIER, J.-F., SCHMITT, R., SIMONATO, C., VALLARINO, G., VIRY, D.

Membres : BOUSSAC, B., KLEINHAUSS, N., LEBAS, P., LODE, T.

Postulants admis au rang de membres : BRUNELLI, Y., CHALLE, D., CHIRIO, L., CHRISTMANN, F., DAVID, T., D'ESPARBES, C., FOUCARD, A., FROSTIN, G., GASLAIN, P., GLEMAREC, Y., LANNELUC, M., LUYEN, V., PEDRONO, M., PELLICER, M.

III. CONSEIL DU 1^{er} JUIN 1995

Postulants : ADAM, P., AGIER, R., AMIDIEU, S., ASAL, C., AUDRAIN, S., BOVIN, T., CHANTRIER, D., CHEVALLIER, A., COURTIAL, M., DAMON, J., FERRY, G., FONTAINE, P., FRANÇOIS, GAUTHIER, J., GAUTIER, J.-P., KURES, S., LEBAS, E., LOPPARELLI, H., LOUIS, M., LOUVAT, D., LUTZ, S., MALLETROIT, P., MASSET, M., MIRALLES, A., NERI, F., NICOLAS, J., PICARD, T., POTTIER, C., POULELAOUEN, E., REMOND, D., ROSTAGNAT, P., SOULE, B., VETTE, M., VILAIN, F., DUREAU, H.

Membres : LE COMPAGNON, J., BEAUVAIS, J.-F., DERAND, D.

IV. CONSEIL DU 30 JUIN 1996

Postulants : CHENTRIER, C., COUTY, D., FOUNDOULIS, E., PIACENTINI, M.

Postulants admis au rang de membres : RIBERON, A., SCHIETTECATTE, A.

RAPPORT MORAL POUR L'ANNÉE 1994-1995

Comme chaque année, le Secrétaire Général donne lecture du rapport moral de la Société Herpétologique de France.

Le nombre d'adhérents est actuellement de l'ordre de 630. Une soixantaine de nouvelles adhésions ont été enregistrées au cours de l'année qui vient de s'écouler. Les premiers Postulants, catégorie de membre qui avait été créée à l'Assemblée Générale d'Orsay (1991) ont été admis comme Membres titulaires au cours de la réunion du Conseil d'Administration du 18 février 1995.

● Les commissions sont actives. Mon rôle n'est pas d'en donner les comptes-rendus mais d'en souligner les points forts.

➤ *La commission "protection"* est particulièrement active. Son responsable Alain Dupré nous fait part des actions assurées dans le domaine de la protection de la plaine des Maures, des élevages de tortues vertes dans l'île de la Réunion, de la tortue de Floride. Des résultats satisfaisants sont apportés à l'issue de ces activités. Citons par exemple, la protection des passages massifs de crapauds en région parisienne. Il n'en demeure pas moins que de nombreux dossiers sont en cours de traitement. Alain Dupré fait appel à toutes les bonnes volontés.

➤ *Le groupe "Cistudes"* (responsable Alain Veysset) est également très actif et certaines de ses actions sont assurées en collaboration étroite avec la commission de protection.

➤ *La commission "répartition"* reçoit toujours de nouvelles données. Son responsable, Jacques Castanet signalait, en octobre 1994, que depuis la parution de l'Atlas, plus de 1000 données supplémentaires avaient été enregistrées.

➤ *La section parisienne*, animée par M. Rochelet poursuit toujours régulièrement ses activités et notamment les conférences mensuelles à l'E. N. S., à la rue d'Ulm, à Paris. Malheureusement, le public n'est pas toujours très nombreux.

➤ *La commission "terrariophilie"* (responsable Roland Simon) regroupe actuellement plus de 150 membres. Elle continue à permettre le contact entre terrariophiles et à fournir des renseignements concernant les élevages des espèces diverses.

Une nouvelle commission, *le groupe vétérinaire* a vu le jour au Conseil du 18 février 1995. La responsable en est Mme. F. Perrin.

● Le bulletin a toujours un certain retard que l'on s'efforce de resserrer. Pour épauler l'éditeur en chef, Roland Vernet, un nouvel éditeur en chef adjoint a été nommé, il s'agit de Jean-Claude Rage.

● Les journées annuelles 1994 de Martigny ont réuni une centaine de personnes pour un congrès de qualité. Par contre, trop peu de membres ont participé à l'Assemblée Générale. C'est pour cela que, cette année, l'AG se déroule au milieu du congrès et non plus le samedi après-midi, juste avant la clôture. Merci à nos collègues suisses, organisateurs de ces journées.

● Ce rapport moral ne serait pas complet sans parler des quelques points qui restent toujours à améliorer :

> D'abord les changements d'adresse qui ne sont pas effectués systématiquement par les adhérents. A chaque envoi en nombre, nous avons encore un trop abondant retour de courrier. Ce qui occasionne des frais inutiles, un travail supplémentaire et une moins bonne efficacité.

> Des courriers sont souvent adressés à notre siège social, à l'Université Paris 7. Je remercie Jacques Castanet et Jean Lescure qui répartissent et transmettent ces lettres aux différents destinataires de la S.H.F.

> Quelques courriers transitent toujours par l'Université d'Orléans, siège de notre ancien secrétaire, Jean-Marc Francz. Je le remercie aussi de transmettre ces quelques courriers au Secrétariat.

Pour terminer je dirai, comme précédemment d'ailleurs, que les membres du Conseil essaient d'administrer au mieux la Société. Ce n'est pas toujours facile, compte tenu de la diversité et donc de la richesse de sa composition, compte tenu également des activités professionnelles intenses de tous les membres du Conseil. Ces derniers d'ailleurs s'entoureraient volontiers de "sang neuf"

Merci à vous tous de faire vivre la S.H.F.

Le Secrétaire Général
Jean-Marie EXBRAYAT

RAPPORT FINANCIER DU TRÉSORIER (1994-1995)

Quelques remarques préliminaires doivent être faites avant l'exposé des comptes de l'exercice 1994 proprement dits.

Reprenant officiellement la trésorerie de la SHF à compter du premier janvier 1994, il n'a pas été possible de faire coller les comptes avec ceux des exercices antérieurs faute d'avoir pu obtenir du trésorier précédents les A-nouveaux correspondants. Les comptes de 1994 ont été établis à parti des soldes connus selon les différents relevés obtenus des établissements financiers ou bancaires. Aucun inventaire de stocks n'a pu être réalisé notamment concernant les livres et documents appartenant à la SHF et mis en dépôt chez M. Raymond Chabaud.

Le logiciel de comptabilité utilisé à compter du 1er janvier 1994 est le logiciel CIEL comptabilité pour les associations. Ce logiciel fonctionne sur ordinateur Macintosh. Il gère aussi la liste de membres et a permis lors de la dernière relance de cotisations 95 d'indiquer précisément à chacun son arriéré de cotisation. Une comptabilité analytique faisant ressortir le coût des différentes commissions, celui du secrétariat ou celui de chaque bulletin, est possible.

L'importation du listing des membres sur ce logiciel, la correction des erreurs et la mise à jour du fichier, l'établissement d'un plan comptable SHF sans élément de référence a demandé un travail important dans le premier semestre 1994.

Un écart important nous est apparu très rapidement entre le nombre de membres inscrits sur les listes...et donc recevant le bulletin et le nombre de cotisants.

Un premier "nettoyage" du listing des membres, en ôtant ceux dont les arriérés de cotisations étaient supérieurs à 2 ans a été fait.

161 adhérents dont le dernier versement de cotisation était antérieur à 1992, ont ainsi été ôtés des ayants-droits au bulletin.

41 adhérents ont été mis à part, leur adresse était erronée.

83 ont été résiliés après consultation du président.

Au 26 juin 1995, le listing comportait 630 adhérents dont seulement 350 étaient à jour de cotisation. Parmi ces 350 adhérents à jour de leur cotisation se trouvent pour une bonne part les nouveaux adhérents. Au 31 décembre 1994, il y avait 561 adhérents dont 481 étaient à jour de leur cotisation. Du 1er janvier 1994 au 31 décembre 1994, 77 nouveaux membres ont adhéré et 47 d'entre eux ont déjà renouvelé leur cotisation en 1995. Depuis le 1er janvier 1995, 68 nouveaux membres ont adhéré.

Le tiers des membres à jour de leur cotisation sont ainsi des membres ayant moins de deux ans d'ancienneté à la SHF.

RÉSULTATS 1994

Au 31 décembre 1994, le résultat d'exploitation redevenait positif pour un montant de 22 241,81 francs.

Les cotisations et dons, pour un montant de 75 314,25 francs ont représenté près des 3/4 de la recette. Il est donc particulièrement important de surveiller l'évolution de ce poste, reflet de la bonne santé de notre société. Or une des causes des mauvais résultats enregistrés en 1993 (résultat négatif pour un montant de 17 139,09 francs) et surtout les difficultés de trésorerie rencontrées, provient de la pratique qui s'est instaurée au fil des ans au sein de notre société de régulariser sa cotisation en cours d'année et souvent dans le second semestre voire seulement au moment de l'Assemblée Générale sinon après...sinon l'année suivante...ou encore après. Outre les difficultés de trésorerie qu'une telle pratique entraîne, cela empêche toute programmation sur le nombre de bulletins à imprimer et à expédier.

La vente des livres, pour 14 234,44 francs est un complément de recette appréciable, mais dont on ne peut mesurer la rentabilité exacte en l'absence d'éléments comptable antérieurs.

Les produits financiers pour un montant de 796,28 francs sont restés symboliques du fait des faibles réservoirs de trésorerie.

CONGRÈS

Les frais de Congrès se sont élevés à 2548 francs et correspondent à la participation de notre société au premier congrès Franco-Suisse qui s'est déroulé à Martigny en Suisse.

FOCTIONNEMENT DES COMMISSIONS

Les dépenses entraînées par le fonctionnement des commissions se sont montées à 8694,35 francs pour 1994. Des choix budgétaires doivent être faits de façon qu'un juste équilibre puisse être établi entre les dépenses nécessaires pour le bon fonctionnement des commissions et l'édition du bulletin. Pour 1995, les dépenses des commissions pour le premier semestre ont été fortement réduites.

Dépenses des commissions	1994	1995 (jusqu'au 20/06)
Section parisienne	2 615,90	
bureau	41,70	
déplacement	572,00	
affranchissement	2 002,00	
Terrariophilie	3 334,40	
bureau	621,80	
déplacement	1 438,00	
affranchissement	1 274,60	
Protection	1 071,50	855,65
bureau	502,40	62,95
déplacement		
affranchissement	569,10	792,70
Groupe Cistude	1 672,55	461,60
bureau	170,05	8,00
déplacement		
affranchissement	1 502,50	453,60
Total Commissions	8 694,65	1 317,25

FRAIS DE GESTION

En comptabilité analytique, nous avons distingué quatre postes : Président, Conseil d'Administration, Secrétariat, Trésorier. L'ensemble de ces frais s'est élevé à 11 497,68 francs. Une réduction de ces frais a été entreprise et, dans le courant du premier semestre 1995, ils ne s'élevaient qu'à 3437,37 francs.

	1994	1995
Président		299,20
Affranchissement		299,20
Conseil d'administration	1 542,00	516,00
Déplacements	1 542,00	516,00
Secrétariat	8 820,70	2 368,37
Fournitures bureau	2 504,88	1 568,37
Frais secrétariat	2 400,00	800,00
Affranchissement	1 757,30	
Imprimerie	2 158,52	
Trésorier	1 134,98	253,80
Fournitures bureau	137,28	
Affranchissement	997,70	
Imprimerie		253,80
Total frais de gestion	11 497,68	3 437,37

Compte d'exploitation au 31 décembre 1994			
Dépenses en francs		Recettes en francs	
Dépenses		Recettes	
Cadeaux	548,00	Vente de livres	14 234,44
Fournitures bureau	4 987,62	Recette attente d'affect.	190,00
Produit pour vente	1 355,00	Réalisation d'études	14 000,00
Rédaction bulletin	2 800,00	Cotisations et dons	75 314,25
Impression bulletin	38 314,24	Subventions	2 250,00
Routage bulletin	453,05	Produits financiers	796,28
Frais déplacement	3 672,00		
Frais secrétariat	2 400,00		
Frais d'étude	14 000,00		
Affranchissement	11 117,29		
Frais d'imprimerie	2 158,52		
Cotisations diverses	170,00		
Frais organisation	2 000,00		
Commissions, agios	567,44		
Total dépenses	84 543,16		
Résultats	22 241,81		
TOTAL	106 784,97	TOTAL	106 784,97

CONVENTION ET ÉTUDES

Frais d'étude et réalisation d'études se sont compensés au centime près pour 14 000 francs. Le poste "subventions" correspond en fait à la convention Nature Essonne pour un montant de 2 250 francs et sera comptabilisé comme tel en 1995. Sur 1994, les dépenses de Nature Essonne ont été de 1 143,11 francs. Le solde de cette convention est positif pour un montant de 1 106,89 francs.

IMPRESSION DU BULLETIN

En 1994, les n° 62 à 64 du bulletin ont été tirés à 900 exemplaires pour un routage de 774 exemplaires pour 475 membres à jour de leur cotisation.

En 1995, le n°65/66 a été imprimé à 700 exemplaires pour un routage de 608 exemplaires. Il reste que l'impression du n° 65/66 et le dernier routage vont encore bien au delà des membres à jour de leur cotisation.

Le coût de l'édition du bulletin, poste principal des dépenses, s'est monté en 1994 à 44 053,99 francs et a permis l'envoi de trois bulletins (n° 62 à 64), de régler un reliquat de dépense sur le numéro 59, ainsi que les frais de rédaction du bulletin n° 65

	Fourniture	Affranchis.	Rédaction	Impression	Routage	TOTAL	Observations
n° 59		2 256,09				2 256	
n° 62				12 754,53	453,05	13 207,58	900 ex. Dont 774 ex. En routage
n°63				13 994,80		13 994,80	900 ex.
n°64	18,00	133,00		11 564,91		11 715,91	900 ex.
n°65/66		79,50	2 800,00	9 621,60	256,58	12 757,68	700 ex. dont 608 en routage Impres. et routage sur exercice 1995

COMPTES DE BILAN

Les comptes de bilan font apparaître des réserves pour un montant de 25 516,35 francs. Il reste, pour des besoins éventuels de trésorerie, un SICAV pour un montant de 11 423 francs

Bilan au 31 décembre 1994			
ACTIF en francs		PASSIF en francs	
Actif circulant		Capitaux propres	
Divers			
Valeurs mobilières de placement SICAV	11 423,00	Réserve	25 516,35
Caisse d'épargne			
Banque B.N.P.	7 821,42		
C.C.P.	26 973,74	Résultat	22 241,81
Caisse	1 540,00		
TOTAL ACTIF	47 758,16	TOTAL PASSIF	47 758,16

COMPTES PROVISOIRES AU 26 JUIN 1995

Les comptes provisoires au 26 juin 1995 font apparaître un solde positif de 51 889,93 francs qui devrait permettre l'édition de deux bulletins et assurer les frais de gestion de 1995 pour un montant de 10 000 francs ainsi qu'un budget de fonctionnement global pour l'ensemble des commissions également de l'ordre de 10 000 francs.

Compte d'exploitation au 20 juin 1995			
Dépenses en francs		Recettes en francs	
Dépenses		Recettes	
Fournitures bureau	60,35	Vente de livres	7 182,60
Fournitures serv. ext.	1 641,07	Réalisation d'études	5 250,00
Impression bulletin	9 621,60	Cotisations et dons	62 037,79
Routage bulletin	256,58		
Frais de déplacement	1 367,16		
Frais secrétariat	800,00		
Frais d'étude	5 000,00		
Affranchissement	2 769,90		
Frais d'imprimerie	253,00		
Cotisations diverses	470,00		
Commissions, agios	340,00		
Total dépenses	22 580,46		
Résultats	51 889,93		
TOTAL	74 470,39	TOTAL	74 470,39
Bilan provisoire au 20 juin 1995			
ACTIF en francs		PASSIF en francs	
Actif circulant		Capitaux propres	
Divers			
Valeurs mobilières de placements SICAV	11 423,00	Réserve	47 758,16
Caisse d'épargne			
Banque B.N.P.	7 821,42		
C.C.P.	77 413,67	Résultat	51 889,93
Caisse	2 990,00		
TOTAL ACTIF	99 648,09	TOTAL PASSIF	99 648,09

COMPTE RENDU DES ACTIVITÉS DE LA COMMISSION DE PROTECTION (1994-1995)

Plusieurs gros dossiers ont occupé les membres de la Commission de Protection cette année encore. Les réunions générales sont certes peu fréquentes (deux seulement cette année), mais de nombreuses réunions informelles entre les membres du "noyau-dur" de la commission, se sont déroulées pendant toute l'année. Il est à noter que la réunion, lors du congrès de la SHF à Martigny en Suisse n'a attiré qu'une très faible participation. Les réunions (hélas parisiennes) furent plus suivies.

Les dossiers importants cette année ont encore été :

> la plaine des Maures : au jour d'aujourd'hui, l'affaire est réglée. Michelin s'installe à Vins, près de Brignoles, toujours dans le département du Var. Le site de la plaine est momentanément sauvegardé, grâce aux actions du Collectif d'associations locales, bien soutenu par les associations nationales, ainsi que par de nombreux scientifiques. Qu'ils soient ici publiquement remerciés ;

> les établissements CORAIL : élevage de tortues vertes (*Chelonia mydas*) dans l'Île de la Réunion. Là encore, le collectif d'associations a bien aidé notre représentant sur place Didier Derand, à accomplir l'imposant travail qui a porté ses fruits. Les prélèvements de juvéniles sur l'îlot de Tromelin sont interdits par le Ministre et la mutation des établissements vers d'autres objectifs est en cours. Restent les problèmes des écaillers qui pensent pouvoir utiliser le stock d'écailles que constituent les 3 000 tortues maintenues encore captives dans les bassins à l'heure actuelle. De nombreuses négociations sont en cours à Paris tant qu'à la Réunion. Nous ne manquerons pas de vous tenir au courant des évolutions de cet interminable dossier qui occupait déjà la commission de protection de la SHF il y a plus de 15 ans !!!

> les problèmes posés par les tortues de Floride : là encore, un livre ne suffirait pas pour vous évoquer tous les aspects du problème...Les centres d'accueil sont toujours plus nombreux, les abandons continuent, tant dans nos structures que dans la nature. Des cycles complets de reproduction "in natura" sont constatés (Montélimar). Le Ministère ne fait toujours rien pour interdire l'importation de ces tortues, il ne répond même plus à nos courriers...

Une enquête de répartition de l'espèce a commencé en janvier de cette année. A ce jour, près de 500 personnes y ont répondu et une première projection nous montre que TOUS les départements de France sont touchés !!!

Des études sur la compétition Cistude - Floride seront bientôt entreprises par Jean Servan et Christophe Arvy ;

> le dossier grenouille taureau (*Rana catesbeiana*) est toujours au point mort, faute d'une personne sur place (Région bordelaise) pour mener les investigations. Par contre, nous avons adressé des courriers au Ministère de l'Environnement et à la P.R.O.D.A.F. pour faire cesser la vente en animalerie de cette espèce. Là encore, nous n'avons reçu aucune réponse, et dernièrement (mai 1995) un membre de la SHF vient de m'informer que des têtards de *Rana catesbeiana* sont en vente, quai de la Mégisserie à Paris ;

> les dossiers Amphibiens - Reptiles en région parisienne nous apportent des satisfactions, comme par exemple les efforts de Madame Dubourg à Vélizy, des membres de l'A.N.C.A. pour le Plateau d'Avron, le Fort de Noisy et la population de lézards des murailles à Charenton au bord de la Seine.

G. Guillon et P. Sambur préparent toujours l'Atlas de répartition des reptiles et amphibiens de l'Essonne, de nombreux autres dossiers fleurissent tout au long de l'année ;

> plusieurs dossiers de divers trafics nous occupent encore : vente d'objets en écaille de tortues marines en plein Paris (magasin "Aux Tortues" à l'angle de la rue Tronchet et du boulevard Haussmann), vente de tortues d'Hermann au marché aux oiseaux, encore à Paris...etc. Il est à remarquer que sur des dossiers semblables en Province, un simple coup de fil au D.S.V. permet de régler le problème rapidement. En région parisienne il est difficile de faire "bouger" les autorités compétentes et de faire appliquer les lois...

> pour reparler des D.O.M. - T.O.M. , lors d'un récent voyage aux Antilles Françaises, j'ai pu constater que la législation protégeant les tortues marines semble bien appliquée localement : plus de bijoux en écaille dans les boutiques des aéroports, plus de "cartes touristiques" dans les restaurants proposant "la délicieuse daube de tortue". Il ne nous reste plus qu'à régler le problème de l'île de la Réunion pour attaquer celui des T.O.M...Jacques Fretey est encore allé ce printemps à Mayotte, des programmes de protection prennent forme, l'année 1995 a été déclarée "Année de la Tortue" dans l'Océan Pacifique !!!

Cette longue liste de dossiers n'est malheureusement pas exhaustive. Le travail de la commission exige de la ténacité au jour le jour. Les bonnes volontés pour nous aider ne seront pas ignorées.

Venez nombreux aux réunions, faites vous connaître même pour une information que vous considérez comme mineure, nous avons besoin de tout le monde, le travail ne manque pas !!!

N. B. - Un congrès mondial sur la protection des Chéloniens se tiendra du 5 au 10 juillet 1995 à l'initiative de la S.O.P.T.O.M., à Gonfaron dans le Var.

Nous pensions pouvoir le jumeler avec celui de la SHF comme cela s'était déjà fait à Marseille en 1988. Pour des raisons indépendantes de notre volonté, cela n'a pas été possible. Je tiens à le regretter publiquement ici.

Merci encore à tous.

A. DUPRÉ
Secrétaire de la Commission de Protection de la SHF
Résidence Beau Site
181 Boulevard Pasteur
94360 BRY-SUR- MARNE
Tel : 01 48 81 29 85 Fax : 01 48 81 29 89

COMPTE RENDU D'ACTIVITE DE LA COMMISSION DE TERRARIOPHILIE (1994-1995)

La commission de terrariophilie s'est réunie à deux occasions au cours de l'année écoulée.

Après réactualisation du fichier des membres de la société, elle est composée de 134 personnes. De nombreux membres postulants ont souhaité faire partie de la commission au cours de l'année 94.

I. CIRCULAIRE D'ANNONCES

Jacques ANDRÉ publie et fait parvenir la circulaire avec la régularité et l'efficacité à laquelle il nous a habitué.

Heureuse coïncidence, ce mois de Juin 95 en marque la centième parution.

II. REPERTOIRE D'ÉLEVAGE

Le répertoire d'élevage 94 a été diffusé à une cinquantaine d'exemplaires.

Le faible nombre de répondants, par corollaire, le manque de signification des données recueillies ne permettent pas d'envisager une cinquième édition.

A l'heure actuelle, le débat concernant la législation en matière de détention d'animaux sauvages n'incite pas à la transparence, gageons qu'une prochaine clarification du cadre législatif favorisera un redémarrage du répertoire d'élevage.

Je remercie les quelques personnes assidues et m'excuse de cette décision auprès des membres qui m'ont envoyé leurs données cette année.

III. CONSEILS POUR L'ÉLEVAGE DES REPTILES ET AMPHIBIENS

Alexandre TEYNIÉ avait rédigé en 93 les "NORMES MINIMALES POUR LES ÉLEVAGES HORS SOL DES OPHIDIENS", en nous inspirant de ce document, nous avons réalisé des fiches "CONSEILS D'ÉLEVAGE" :

SAURIENS : Francis GIRARD
CHÉLONIENS : Roland SIMON
AMPHIBIENS : Renaud BOISTEL

Guy NAULLEAU a transmis à la commission une proposition faite au ministère intitulée "CONDITIONS D'ÉLEVAGE POUR LES REPTILES".

Ces documents ont été étudiés lors de la réunion du 11 Mars 95, la synthèse "CONSEILS POUR L'ÉLEVAGE DES REPTILES ET AMPHIBIENS" est transmis ce jour au conseil d'administration pour adoption, après approbation des différents rédacteurs, il sera diffusé dans le prochain courrier de la commission de terrariophilie et rapidement publié dans le bulletin.

Ces conseils d'élevage, volontairement succincts, ont pour vocation de créer un repère "normatif" pour permettre aux éleveurs de s'appuyer sur un texte de "référence" en cas de litige avec les autorités de contrôle.

Il peut également constituer une trame pour la réalisation du dossier de certificat de capacité.

D'ores et déjà, quelques témoignages attestent que ces objectifs seront atteints.

IV. ÉLEVAGE DES ANIMAUX SAUVAGES

Le mercredi 8 mars se tenait au ministère de l'environnement une réunion concernant le projet d'arrêté fixant les conditions d'autorisation de détention, d'utilisation et de transport d'animaux d'espèces non domestiques.

Jean LESCURE et moi même y avons représenté la S.H.F. et les terrariophiles. Jean-Jacques BOISARD présent à titre professionnel a également participé activement à ce débat.

A l'heure actuelle, ce projet concerne prioritairement les oiseaux, j'ai demandé à plusieurs personnes de la commission de l'analyser dans le but de faire au ministère une proposition adaptée aux spécificités de l'herpétologie.

Cette réunion se tenait dans le cadre du dialogue instauré entre le ministère et le collectif des associations et professionnels concernés par la détention des animaux sauvages.

L'implication de la S.H.F. dans ce collectif devra s'affirmer dans les mois à venir.

V. TORTUES DE FLORIDE

- La liste des membres susceptibles d'apporter un soutien technique aux S.P.A. s'est étoffée.

A ce jour, 25 départements sont couverts.

- La commission a également diffusé l'information sur l'enquête de répartition de la tortue de Floride.

VI. ARTICLES ET NOTES D'ÉLEVAGE

Deux notes d'élevage sont parvenues à la commission cette année. C'est un euphémisme de penser que ce nombre est un peu faible.

Je rappelle aux éleveurs, par ailleurs souvent critiques quant au contenu du bulletin, que les articles de terrariophilie ne pourront y prendre place qu'à condition de les écrire.

VII. MEMBRES NÉOPHYTES

Les nombreux courriers et contacts téléphoniques démontrent les attentes des nouveaux adhérents souvent néophytes en matière d'élevage. Une réunion de commission leur a été consacrée. Le besoin de contacts direct avec d'autres éleveurs s'est fait ressentir, dans ce but, nous envisageons la mise en place d'un réseau de correspondants locaux.

Ajoutons la rencontre avec M. TAMBOUR président de l'INTERCLUB D'AQUARIOPHILIE ET D'ICHTHYOLOGIE FRANCOPHONE (avec qui nous avons évoqué de possibles échanges d'articles ainsi que la possibilité de réaliser de substantielles économies dans la parution du bulletin) et le rapport d'activité de la commission sera brossé.

Malgré quelques écueils, les activités de cette année ouvrent la perspective d'un prochain exercice dynamique, au cours duquel nous pouvons notamment espérer une clarification du cadre légal dans lequel nous exerçons nos activités d'éleveurs.

Juin 1995

Roland SIMON
12 rue Q. M.Bondon
29470 Plougastel Daoulas

dernière minute

Le 26^{ème} CONGRES DE LA SHF se tiendra en Auvergne,
à SAINT-PONCY dans le Cantal, du 3 au 6 Juillet 1997

Les thèmes retenus sont:

- 1.- BIOLOGIE DE LA CONSERVATION ET GESTION.
- 2.- REPARTITION ET PROTECTION DES AMPHIBIENS ET DES REPTILES DANS LA REGION AUVERGNE ET LE CENTRE DE LA FRANCE
+ les communications libres.

Le stage d'initiation à l'herpétologie aura lieu au même endroit
du lundi 7 au samedi 12 juillet.

Pour toute correspondance s'adresser à:
Roland VERNET, Laboratoire d'écologie, Ecole Normale Supérieure,
46, rue d'Ulm, 75230 PARIS Cedex 05; Tel: 01 44 32 37 04;
Fax: 01 44 32 38 85; Email: vernet@wotan.ens.fr

SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

Association fondée en 1971
agrée par le Ministère de l'Environnement le 23 février 1978

Siège social

Université de Paris VII, Laboratoire d'Anatomie Comparée
2, Place Jussieu - 75251 PARIS Cedex 05

Secrétariat

Jean-Marie EXBRAYAT, Laboratoire d'Histologie / E.P.H.E. - Université catholique de
Lyon. 25, rue du Plat, 69288 LYON Cedex 02
Tel : 04 72 32 50 36
Fax : 04 72 33 50 19

Trésorier

Jean-Jacques BOISARD
Réserve Africaine, 11130 SIGEAN

ADRESSES UTILES

Responsable de la rédaction : R. VERNET, École Normale Supérieure, Laboratoire d'Écologie, 46, rue d'Ulm -
75230 PARIS Cedex 05.

Responsable de la commission de répartition : J. CASTANET, Laboratoire d'Anatomie Comparée, Université
de Paris VII. 2, place Jussieu, 75251 PARIS Cedex 05.

Responsable de la commission de protection : J. LESCURE, Laboratoire Amphibiens-Reptiles, Muséum
National d'Histoire Naturelle, 25 rue Cuvier - 75005 PARIS.
Secrétaire : A. DUPRÉ, 181 Bd Pasteur. 94360 BRY-sur-MARNE.

Responsable de la commission d'ethnoherpétologie et histoire de l'herpétologie : R. PUJOL, Laboratoire
d'Ethnobiologie-Biogéographie. Muséum National d'Histoire Naturelle. 57 rue Cuvier, 75005 PARIS.

Responsable de la commission de terrariophilie : R. SIMON, 12 rue Q. M. Bondon - 29470 PLOUGASTEL
DAOULAS.

Responsable de la circulaire d'annonces : J. ANDRÉ, 8 rue Paul Gauguin, 77550 MOISSY CRAMAYEL.

Responsable des archives et de la bibliothèque : G. MATZ, Université d'Angers, Laboratoire de Biologie
animale, 2 Bld Lavoisier - 49045 ANGERS Cedex.

Responsable section parisienne : J. L. ROCHELET, 21 Avenue de la Pommeraie, 78520 LIMAY.

Responsable de la photothèque SHF : D. HEUCLIN, La Morcière - Vaux en Couhé - 86700 COUHE-VERAC.

Responsable du groupe Cistude : A. VEYSSET, 3 rue Archimède - 91420 MORANGIS

Responsable du groupe venins : M. LIANO, 1101 rue de Nointel. Autreville, BREUIL-LE-SEC, 60600
CLERMONT.

Responsable groupe vétérinaire : F. PERRIN, Ménagerie du Jardin des Plantes, 57 rue Cuvier, 75005 PARIS.

Responsable du Club junior : F. SERRE - COLLET, 35 rue E. Vaillant, 94140 ALFORTVILLE.

SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

Association fondée en 1971
agrée par le Ministère de l'environnement le 23 février 1978

CONSEIL D'ADMINISTRATION

Président : Bernard LEGARFF, laboratoire d'Évolution des Systèmes Naturels et Modifiés. Université de Rennes I. Avenue de Général Leclerc, 35042 RENNES, Cédex.

Vice-Présidents : Jean-Pierre BARON, École maternelle annexe, rue de Jericho prolongée, 17000 LA ROCHELLE.
Jacques CASTANET, Laboratoire d'Anatomie Comparée, Université de Paris VII, 2 place Jussieu, 75251 PARIS Cedex 05.

Secrétaire général : Jean-Marie EXBRAYAT, Laboratoire d'Histologie / E.P.H.E. - Université catholique de Lyon, 25 rue du Plat, 69288 LYON Cedex 02.

Secrétaire adjoint : Sabine RENOUS, Laboratoire d'Anatomie Comparée, Muséum National d'Histoire Naturelle, 55 rue Buffon, 75005 PARIS.

Trésorier : Jean-Jacques BOISARD, Réserve Africaine, 11130 SIGEAN.

Trésorier adjoint : Alain DUPRÉ, 181 boulevard Pasteur, 94360 BRY sur MARNE.

Autres membres du conseil : Raymond CHABAUD, Vincent BELS, Robert GUYÉTANT, Daniel HEUCLIN, Alexandre TEYNIÉ.

Membres d'Honneur : Guy NAULLEAU (CEBC, 79360 CHIZÉ), Gilbert MATZ (Fac. Sciences, ANGERS).

ADMISSIONS

Les admissions à la S.H.F. sont décidées par le Conseil d'Administration sur proposition de deux membres de la Société (art. 3 des Statuts). N'envoyez votre cotisation au secrétaire général qu'après avoir reçu l'avis d'admission du conseil.

COTISATIONS 1997 / MEMBERSHIP

Tarifs (France, Europe, Afrique) :	Taux annuel		Bulletin	=	Total
- adhérents de moins de 25 ans	40	+	80	=	120 FRF
- adhérents de plus de 25 ans	120	+	80	=	200 FRF
- bienfaiteurs : minimum				=	350 FRF
- membre conjoint				=	100 FRF
- club junior				=	120 FRF
Tarifs (Amérique, Asie, Océanie) :	25	+	25	=	50 US \$

ABONNEMENTS / SUBSCRIPTION to SHF Bulletin

France, Europe, Afrique	=	245 FRF
Amérique, Asie, Océanie	=	55 US \$

Le service de la revue est assuré aux membres à jour de leur cotisation.

To our members in America, Asia or Pacific area

The SHF Bulletin is a quarterly. Our rates include the airmail postage in order to ensure a prompt delivery.

Modalités de règlement

1. Chèque postal : à l'ordre de la SHF, CCP 3796-24 R PARIS
2. Chèque bancaire à l'ordre de la SHF, Envoi direct au secrétaire général (adresse ci-dessus).
3. Nous rappelons que les dons ou cotisations de soutien sont le bienvenus.

Changement d'adresse

N'omettez pas de signaler sans retard au secrétaire tout changement d'adresse.

BIBLIOTHÈQUE

Les périodiques obtenus par la S.H.F. en échange avec les autres sociétés (liste publiée dans le bulletin) ainsi qu'une bibliothèque de tirés-à-part sont regroupés au Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences, 2 Bld Lavoisier - 49045 Angers Cedex. Les articles de ces périodiques peuvent être consultés sur demande adressée à G. MATZ. En outre, nous demandons aux auteurs d'envoyer leurs travaux récents en 2 exemplaires à cette bibliothèque.

