

Bulletin de la Société Herpétologique de France

4^e trimestre 2003

N°108



ISBN 0754-9962

Bull. Soc. Herp. Fr. (2003) 108

Bulletin de la Société Herpétologique de France N°108

Directeur de la Publication/Editor : Claude MIAUD

Comité de rédaction/Managing Co-editors :

Jean LESCURE, Claude PIEAU, Jean Claude RAGE, Max GOYFFON, R. VERNET

Secrétariat de Rédaction/Secretary : Josée DEPRIESTER

Comité de lecture/Advisory Editorial Board :

Robert BARBAULT (Paris, France) ; Aaron M. BAUER (Villanova, Pennsylvania) ;
Liliane BODSON (Liège, Belgique) ; Donald BRADSHAW (Perth, Australie) ;
Corinne BOUJOT (Paris, France) ; Maria Helena CAETANO (Lisbonne, Portugal) ;
Max GOYFFON (Paris, France) ; Robert GUYETANT (Chambéry, France) ;
Ulrich JOGER (Darmstadt, Allemagne) ; Michael R.K. LAMBERT (Chatham, Angleterre) ;
Benedetto LANZA (Florence, Italie) ; Raymond LECLAIR (Trois-Rivière, Canada) ;
Guy NAULLEAU (Chizé, France) ; Saïd NOUIRA (Tunis, Tunisie) ;
V. PEREZ-MELLADO (Salamanque, Espagne) ; Armand DE RICQLES (Paris, France) ;
Zbynek ROCEK (Prague, Tchécoslovaquie).

Instructions aux auteurs / Instructions to authors :

Des instructions détaillées ont été publiées dans le numéro 91 (3^e trimestre 1999). Les auteurs peuvent s'y reporter. S'ils ne le possèdent pas, ils peuvent en obtenir une copie auprès du responsable du comité de rédaction. Elles sont également consultables sur le site internet de l'association :

<http://www.societeherpetologiquedefrance.asso.fr>

Les points principaux peuvent être résumés ainsi : les manuscrits sont dactylographiés en double interligne, au recto seulement. La disposition du texte doit respecter la présentation de ce numéro. L'adresse de l'auteur se place après le nom de l'auteur (en première page), suivie des résumés et mots-clés en français et en anglais. Les figures sont réalisées sur documents à part, ainsi que les légendes des planches, figures et tableaux. Les références bibliographiques sont regroupées en fin d'article.

Exemple de présentation de référence bibliographique :

Bons J., Cheylan M. & Guillaume C.P. 1984 - Les Reptiles méditerranéens. Bull. Soc. Herp. Fr., 29 : 7-17

Tirés à part / reprints : 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 publiés 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 publiés dans le Bulletin de la Société Herpétologique de France est interdite sans l'accord écrit du directeur de la publication. La SHF 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 / MANUSCRIPT SENDING

Claude MIAUD, Université de Savoie, UMR CNRS 5553, Laboratoire d'Écologie Alpine,
73 376 LE BOURGET DU LAC. 3 exemplaires pour les manuscrits soumis par la poste,
ou bien en fichier attaché à : claudio.miaud@univ-savoie.fr

Abonnements 2003 / Subscriptions to SHF Bulletin

France, Europe, Afrique : 45 €uros

Amérique, Asie, Océanie : 70 US \$

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.

N° 108

Photo de couverture : *Dendrobates auratus*, femelle avec ponte.

Olivier Marquis

N° commission paritaire : 59374

Imprimeur : S.A.I. Biarritz

Z.I. de Mayonnabe 18, allée Marie-Politzer 64 200 BIARRITZ

Dépôt légal : 4^e trimestre 2003

Bulletin de la Société Herpétologique de France

4^e trimestre 2003

N°108



ISBN 0754-9962

Bull. Soc. Herp. Fr. (2003) 108

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

4^e trimestre 2003

N°108

SOMMAIRE

- **Greffes d'ébauches ovariennes et transplantations d'ovaires
juvéniles entre Amphibiens Urodèles : aspect fonctionnel.**
Charles HOUILLON5-54
- ***In memoriam* Dr. Olivér György DELY.**
Zoltán KORSÓ55-58

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ HERPÉTOLOGIQUE DE FRANCE

4^e trimestre 2003

N°108

CONTENTS

- **Graft of a presumptive ovary and transplantations of juvenile ovaries between different species of Urodela Amphibians: Functional aspects.**
Charles HOUILLON5-54
- ***In memoriam* Dr. Olivér György DELY.**
Zoltán KORSÓS55-58

Greffes d'ébauches ovariennes et transplantations d'ovaires juvéniles entre Amphibiens Urodèles : aspect fonctionnel.

par

Charles HOUILLON

179, boulevard Voltaire, 75011 PARIS

Résumé - Des greffes d'ébauches d'ovaires présomptifs ont été réalisées aux stades embryonnaires entre les Amphibiens Urodèles *Pleurodeles waltl* Michah., *Ambystoma mexicanum* Shaw et *Triturus alpestris* Laur. La tolérance des ébauches dépend de l'histocompatibilité des xéno greffes embryonnaires dont certaines atteignent la maturité sexuelle et sont fonctionnelles. Sur 293 greffes embryonnaires, l'ébauche gonadique s'est différenciée en ovaire chez 63 animaux parmi lesquels 13 ont émis des œufs issus de l'ébauche greffée. C'est ainsi que des Pleurodèles, en plus de leurs propres œufs, ont émis des œufs d'Axolotl ou des œufs de Triton alpestre. Des pontes hétérologues sont également possibles à la suite de transplantations d'ovaires juvéniles xénogéniques chez de jeunes animaux, femelles ou mâles, préalablement castrés. Sur 208 transplantations, les ovaires juvéniles ont été tolérés chez 105 animaux parmi lesquels 28 ont pondu uniquement les œufs issus des ovaires transplantés. La tolérance des ovaires intervient dans les mêmes associations interspécifiques que les xéno greffes embryonnaires, ce qui a permis au Pleurodèle de pondre uniquement des œufs d'Axolotl ou des œufs de Triton alpestre. De même le Triton alpestre peut pondre uniquement des œufs de Pleurodèle. Quand ils sont émis par un Pleurodèle, les œufs d'Axolotl sont entourés par une gangue produite par le Pleurodèle et sont fécondés par des spermatozoïdes de Pleurodèle. Ils amorcent parfois une segmentation anormale (fragmentation) et se cytolysent. Mais ils peuvent encore être fécondés artificiellement dans les heures qui suivent leur émission par des spermatozoïdes d'Axolotl. Ils ont alors un développement normal, cependant les jeunes larves d'Axolotl éprouvent de grandes difficultés au moment de l'éclosion pour se débarrasser de la gangue Pleurodèle. Les ovocytes d'Axolotl qui ont effectué tout leur accroissement et même pour certains d'entre eux, toute leur cytodifférenciation depuis la cellule germinale primordiale dans l'organisme du Pleurodèle, ne semblent pas, en apparence, avoir intégré d'informations en provenance de l'hôte étranger. Néanmoins, les xéno greffes embryonnaires et les xéno transplantations ovariennes pourraient être des techniques originales pour tenter de la transgénèse chez les Amphibiens Urodèles.

Mots-clés : allogreffe, allotransplantation, xéno greffe, xéno transplantation, ovaire, Axolotl, Pleurodèle, Triton alpestre

Summary - **Grafts of a presumptive ovary and transplantations of juvenile ovaries between different species of urodelaan amphibians: Functional aspects.** Two kinds of experiments, grafts of an ovarian anlage and transplantations of juvenile ovaries, were performed between three species of urodelaan amphibians, *Pleurodeles waltl* Michah., *Ambystoma mexicanum* Shaw and *Triturus alpestris* Laur. Depending on histocompatibility, tolerance was similar in the two kinds of experiments. Xenografts were performed at an embryonic stage. Some grafted ovaries reached sexual maturity and

became functional. Out of a total of 293 experiments, the grafted gonad differentiated into an ovary in 63 animals, 13 of which laid eggs produced by this gonad. Thus, in addition to their own eggs, adult females of *P. waltl* laid eggs of *A. mexicanum* or *T. alpestris*. Xenotransplantations of juvenile ovaries were performed in young, previously castrated females or males. Out of 208 experiments, the transplanted ovaries were tolerated in 105 animals, 28 of which laid eggs produced only by these ovaries (heterologous clutches). Thus, *P. waltl* laid eggs of *A. mexicanum* or eggs of *T. alpestris*, whereas *T. alpestris* was able to lay eggs of *P. waltl*. Eggs of *A. mexicanum* laid by *P. waltl* were wrapped in a gangue of *P. waltl*. When such an egg was fertilized by a spermatozoon of *P. waltl*, fragmentation rather than true segmentation started and was followed by cytolysis. Nevertheless, for a few hours after fertilization by *P. waltl* sperm, the eggs remained fertilizable by spermatozoa of *A. mexicanum*. The embryos developed normally, but at the time of hatching, they had great difficulties in freeing themselves from the *P. waltl* gangue. Apparently, *A. mexicanum* oocytes did not integrate genetic information from *P. waltl*, although they grew or even cytodifferentiated as of the primordial germ cell stage in this foreign host. Nevertheless, it would be of interest to examine the possibility of using xenografts and/or xenotransplantations of oocytes as tools to develop transgenetic methods in urodelan amphibians.

Key-words: Xenografts, xenotransplantations, ovary, heterologous clutches, urodelan amphibians

I. INTRODUCTION

Le développement externe des Amphibiens et le volume relativement important de l'œuf autorisent de multiples interventions aux stades embryonnaires, la plus commune étant la greffe des téguments. Celle-ci fut mise à profit pour greffer en même temps l'ébauche de la gonade présomptive en vue d'étudier les interactions entre glandes génitales de sexe différent au cours de leur différenciation. À partir de cette intervention, notre objectif était d'avoir des animaux adultes capables de se reproduire. L'originalité étant ici de pratiquer des greffes entre différentes espèces d'Urodèles pour obtenir l'émission des gamètes d'une espèce par une autre espèce et suivre le devenir des animaux qui en proviendraient.

Les connexions uro-génitales mâles nécessitent le transit des spermatozoïdes à travers le mésonéphros puis leur évacuation par le canal de Wolff auquel il est raccordé. Par suite de cette complexité anatomique, l'émission des spermatozoïdes qui seraient produits par un testicule greffé, s'avère pratiquement impossible. En revanche, chez les individus femelles de telles connexions n'existent pas ; les œufs qui sont expulsés dans la cavité générale, sont captés par l'ostium et transitent dans le canal de Müller où ils s'entourent d'une gangue muqueuse. Dès lors, la ponte des œufs issus d'un ovaire greffé s'avère possible.

La greffe des ébauches gonadiques présomptives fut réalisée au stade neurula chez les Anoures par Blackler et Gecking (1972a, b) afin d'obtenir la ponte et suivre le développement des œufs de *Xenopus laevis* émis par l'espèce voisine *Xenopus mulleri*. Nos premières tentatives de greffes interspécifiques furent réalisées au stade du bourgeon caudal chez les

Urodèles entre *Pleurodeles waltl* et *Ambystoma mexicanum* : les Pleurodèles ont pondu leurs propres œufs en même temps que des œufs d’Axolotl (Houillon 1973). La même intervention entre *Triturus alpestris* et *Ambystoma mexicanum* a permis d’observer la maturité sexuelle des ovaires d’Axolotl chez le Triton alpestre sans cependant pouvoir obtenir de pontes hétérologues comme chez le Pleurodèle (Houillon 1975). Les greffes embryonnaires entre différentes souches d’Axolotl ont conduit à des femelles capables d’émettre en même temps des œufs de l’une et de l’autre souche (Houillon et Bagnara 1996, Houillon 2001).

Mais au lieu de pratiquer des greffes aux stades embryonnaires, toujours aléatoires quant aux combinaisons sexuelles favorables, il semblait plus judicieux de tenter la transplantation de gonades déjà différenciées. Auquel cas, les combinaisons sexuelles les plus aptes à devenir fonctionnelles peuvent être sélectionnées lors de l’intervention. Du point de vue technique, il est évident que l’implantation des gonades d’un animal dans un autre, de la même espèce ou d’une espèce étrangère, ne peut intervenir qu’après l’ablation des gonades de l’hôte. Compte tenu des connexions anatomiques liées à l’émission des gamètes, seuls les ovaires sont transplantables avec des chances de fonctionnalité. Ambrosius (1962) avait remarqué que pour certaines associations à l’état adulte chez les Urodèles, les ovaires présentaient une survie particulièrement longue ; l’auteur s’était surtout attaché à l’aspect immunologique du phénomène en négligeant l’aspect fonctionnel des gonades tolérées.

Sur la base des données ci-dessus, nous avons entrepris de castrer des jeunes Pleurodèles afin de leur implanter les ovaires d’autres Pleurodèles du même âge et de réaliser des xénotransplantations d’ovaires juvéniles entre le Pleurodèle, l’Axolotl et le Triton alpestre. Lors des premières interventions, sur 20 Pleurodèles castrés à l’âge de 6 mois et transplantés avec des ovaires d’Axolotl sensiblement du même âge, 14 animaux avaient des ovaires tolérés ; parmi ces derniers, 12 ont pondu des œufs d’Axolotl (Houillon 1972).

Dans le cas des xénotransplantations identiques chez le Triton alpestre, les ovaires juvéniles d’Axolotl sont également tolérés et atteignent la maturité sexuelle, mais le Triton alpestre ne peut pas pondre les trop gros œufs d’Axolotl (Houillon 1975).

Quand ils sont pondus par un Pleurodèle, les œufs d’Axolotl sont de ce fait, fécondés par des spermatozoïdes de Pleurodèle ; ils présentent parfois un début de segmentation qui devient vite aberrante. Mais ils peuvent être fécondés artificiellement par des spermatozoïdes d’Axolotl, auquel cas leur développement s’avère normal (Houillon 1976).

Le présent article porte sur l’analyse d’un grand nombre d’interventions aussi bien pour les

xénogreffes embryonnaires d'ébauches ovariennes que pour les xénotransplantations d'ovaires juvéniles, l'objectif ultime étant l'étude du développement des œufs dont toute la cytodifférenciation ou seulement l'accroissement se sont déroulés dans un organisme étranger.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Animaux

Les interventions rapportées concernent quatre Amphibiens Urodèles : le Pleurodèle, *Pleurodeles waltl* Michah. (P.w), l'Axolotl, *Ambystoma mexicanum* Shaw (Ax), le Triton alpestre, *Triturus alpestris* Laur. (alp) et pour seulement quelques greffes embryonnaires, le Triton palmé, *Triturus helveticus* Raz. (palm). Avec l'Axolotl, on dispose de quatre souches qui diffèrent par la pigmentation des œufs et des adultes : souche sauvage (DA, œufs et adultes pigmentés), souche blanche (dA, œufs pigmentés et adultes blanchâtres), souches albinos (Da et da, œufs et adultes jaunâtres).

Les animaux ont été traités en respectant les principes exprimés dans la Déclaration d'Helsinki et par les directives du Conseil de la Commission Européenne sur la protection des animaux utilisés à des travaux scientifiques expérimentaux (*L 358/I, November 24, 1980*).

2. Greffes embryonnaires

Les greffes embryonnaires sont réalisées aux stades du bourgeon caudal avant la réponse musculaire : stades 22 à 25 pour le Pleurodèle (Gallien et Durocher 1957), stades 25 à 30 pour l'Axolotl (Schreckenberget Jacobson 1975), stades équivalents à ceux du Pleurodèle pour le Triton alpestre et le Triton palmé. Le principe des greffes d'ébauches ovariennes est directement inspiré de la technique mise en œuvre pour obtenir l'inversion du phénotype sexuel femelle chez l'Axolotl (Humphrey 1928) et chez le Pleurodèle (Collenot 1973). L'intervention embryonnaire consiste à pratiquer unilatéralement l'ablation du territoire présumé de la gonade pour le remplacer aussitôt par le territoire équivalent prélevé sur un autre embryon soit de la même espèce (greffe allogénique), soit d'une espèce étrangère (greffe xénogénique) (fig.1). L'opération s'effectue selon les techniques classiques de la microchirurgie embryonnaire appliquées aux Amphibiens. La cicatrisation nécessite environ 24 heures de séjour dans le liquide physiologique opératoire de Steinberg, après quoi les embryons sont progressivement remplacés dans le liquide opératoire dilué au dixième, puis

dans l'eau ordinaire. La réussite opératoire tient avant tout à la qualité des embryons que seule une longue pratique permet d'apprécier. Les jeunes larves se nourrissent quelques jours après le stade équivalent à celui de l'éclosion, c'est-à-dire vers l'âge d'au moins deux semaines à la température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

Les allogreffes embryonnaires n'ont été réalisées que chez l'Axolotl entre embryons pigmentés (souche blanche dA) et embryons dépigmentés (souche albinos Da). Les xéno-greffes ont concerné la plupart des associations concevables entre les embryons des divers Urodèles en cause. Le sexe de l'embryon receveur et de l'embryon donneur étant inconnu au moment de l'opération, quatre combinaisons sexuelles sont réalisées :

hôte ♂ et greffe ♂

hôte ♂ et greffe ♀

hôte ♀ et greffe ♀

hôte ♀ et greffe ♂

Seules les deux combinaisons sexuelles avec une greffe ovarienne présentent un intérêt pour le présent travail : combinaison homosexuée femelle-femelle et combinaison hétérosexuée mâle-femelle. La prise en compte de cette dernière sera explicitée ultérieurement car il faudra pratiquer l'ablation du testicule de l'hôte situé du côté non-opéré.

3. Transplantations ovariennes

Les transplantations ovariennes se font le plus souvent entre animaux d'âges équivalents. Ces derniers sont encore à l'état juvénile, ils n'atteindront l'état adulte, capable de se reproduire, qu'au moins 12 à 18 mois plus tard. Les plus jeunes Pleurodèles sont âgés d'à peine 4 mois (70 mm), la métamorphose est intervenue quelques semaines auparavant. Dans la majorité des cas, les Pleurodèles sont âgés de 5 à 8 mois (80 à 100 mm), cependant quelques interventions furent réalisées à un an (110 à 130 mm). Les Axolotls, utilisés uniquement comme donneurs d'ovaires juvéniles, sont âgés de 4 à 8 mois (100 à 140 mm). Les Tritons alpestres proviennent d'œufs récoltés au printemps dans la nature ; les jeunes animaux élevés au laboratoire sont opérés à l'automne de la même année, à partir de l'âge de 7 mois (50 à 60 mm).

Les animaux receveurs et donneurs étant à jeun depuis une semaine, la transplantation d'un ovaire juvénile nécessite au préalable la castration du receveur (figs 2 et 3). Il est important de souligner que ce dernier est aussi bien une femelle qu'un mâle. Toutes les interven-

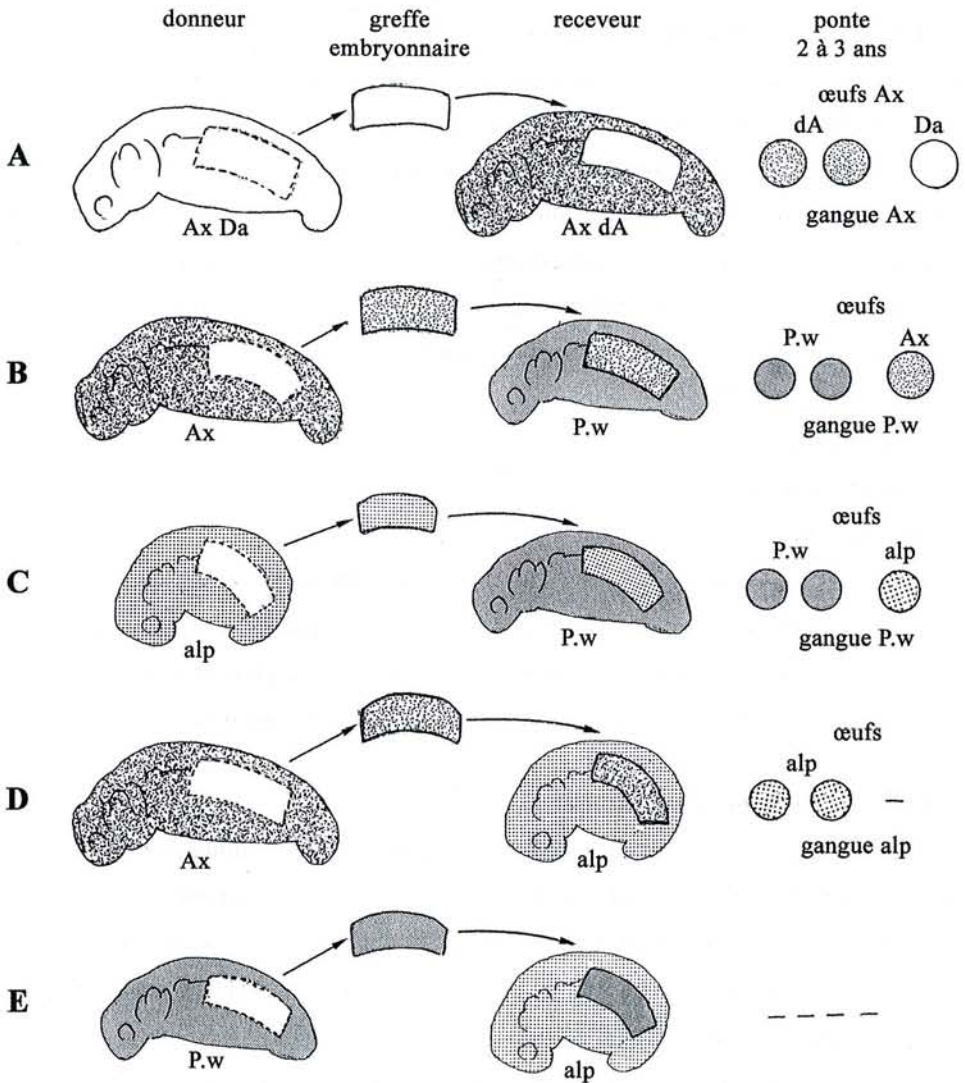


Figure 1 : Schémas opératoires des greffes embryonnaires d'ébauches de gonades. **A** : allogreffe Axolotl de la souche albinos (Da) sur un Axolotl de la souche blanche (dA) [protocole Ax (dA) Ax (Da)] ; l'Axolotl blanc receveur pond ses propres œufs pigmentés (dA) et des œufs albinos (Da). **B** : xéno greffe Axolotl sur le Pleurodèle (protocole P.w Ax) ; le Pleurodèle pond ses propres œufs et des œufs d'Axolotl qui sont entourés d'une gangue Pleurodèle. **C** : xéno greffe Triton alpestre (alp) sur le Pleurodèle (protocole P.w alp) ; le Pleurodèle pond ses propres œufs et des œufs de Triton alpestre qui sont entourés d'une gangue Pleurodèle. **D** : xéno greffe Axolotl sur le Triton alpestre (protocole alp Ax) ; le Triton alpestre pond ses propres œufs mais ne peut pas émettre les trop gros œufs d'Axolotl. **E** : xéno greffe Pleurodèle sur le Triton alpestre (protocole alp P.w) ; bien que tolérant parfois l'ovaire de Pleurodèle, aucun Triton alpestre n'a atteint la maturité sexuelle. Ax : embryon ou œuf d'Axolotl ; alp :

embryon ou œuf de Triton alpestre ; P.w : embryon ou œuf de Pleurodèle. Dans la majorité des cas, les pontes hétérologues ne sont obtenues que pour la combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle.

Figure 1: Operative diagrams of gonadal embryonic grafts. **A:** Axolotl albino strain allograft (Da) on an Axolotl white strain host (dA) [protocol Ax (dA) Ax (Da)]; the white Axolotl host lays both its own pigmented eggs (dA) and albino eggs (Da) of the graft. **B:** Axolotl xenograft on *Pleurodeles* host (protocol P.w Ax); *Pleurodeles* lays both its own eggs and Axolotl eggs which are surrounded by a *Pleurodeles* jelly. **C:** *T. alpestris* xenograft (alp) on *Pleurodeles* host (protocol P.w alp); *Pleurodeles* lays both its own eggs and *T. alpestris* eggs which are surrounded by a *Pleurodeles* jelly. **D:** Axolotl xenograft on *T. alpestris* host (protocol alp Ax); *T. alpestris* lays its own eggs but cannot lay the voluminous Axolotl eggs. **E:** *Pleurodeles* xenograft on *T. alpestris* host (protocol alp P.w); *Pleurodeles* ovaries were sometimes tolerated but none *T. alpestris* reached sexual maturity. Ax: Axolotl embryo or Axolotl egg; alp: *T. alpestris* embryo or *T. alpestris* egg; P.w: *Pleurodeles* embryo or *Pleurodeles* egg. In most cases, heterologous clutches were obtained for the homosexual female combination (female host-female graft).

tions chirurgicales sont pratiquées sous anesthésie générale. L'ablation d'un ovaire qui a un mésovarium assez long est plus délicate que celle d'un testicule dont le mésorchium est plus court. La castration peut entraîner une hémorragie plus ou moins importante, sans conséquence pour la survie de l'animal, même chez le Triton alpestre où elle est assez difficile du fait de sa petite taille. Le prélèvement d'un ovaire se fait de la même manière en évitant de léser la gonade quand on supprime la majeure partie du corps jaune adipeux qui lui est intimement associé. L'implantation doit intervenir aussitôt après la castration, en plaçant l'ovaire chez le receveur dans la position orthotopique qu'il occupait chez le donneur. Il est essentiel pour la cicatrisation, la reprise et surtout la bonne évolution ultérieure, que le mésovarium de l'ovaire transplanté coïncide avec le mésogonium de la gonade qui vient d'être enlevée. Une fois terminée la mise en place de l'ovaire, les flancs de l'animal sont refermés par quelques points de suture. Les receveurs sont toujours castrés bilatéralement alors que la transplantation s'effectue uni- ou bilatéralement.

Les transplantations d'ovaires allogéniques n'ont été pratiquées qu'entre Pleurodèles [Pleurodèles castrés receveurs d'ovaires de Pleurodèle (fig. 2A)]. Les transplantations xénogéniques d'ovaires d'Axolotl ont été faites chez le Pleurodèle [Pleurodèles castrés receveurs d'ovaires d'Axolotl (fig. 3A)] et chez le Triton alpestre [Tritons alpestres castrés receveurs d'un ovaire d'Axolotl (fig. 3B)]. De même des transplantations ovariennes xénogéniques ont été faites dans les deux sens entre le Pleurodèle et le Triton alpestre [Pleurodèles castrés receveurs d'ovaires de Triton alpestre (fig. 2B) et Tritons alpestres castrés receveurs d'un ovaire de Pleurodèle (fig. 2C)]. Sur le même principe que les xénotransplantations ovariennes,

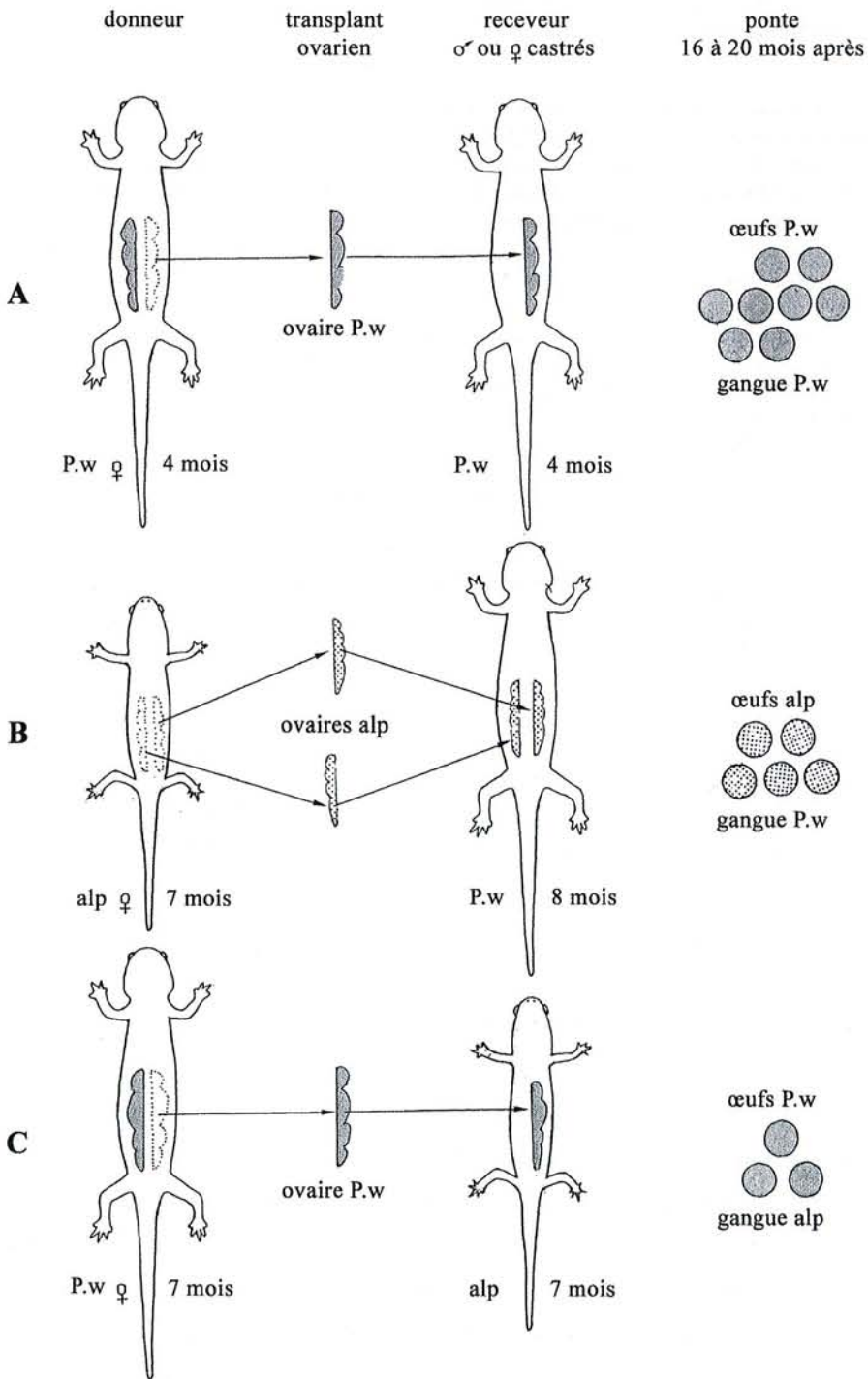


Figure 2 : Schémas des transplantations d'ovaires juvéniles de Pleurodèle et de Triton alpestre. **A** : allotransplantation unilatérale chez le Pleurodèle à l'âge de 4 mois, le transplant ovarien est placé en position orthotopique chez le receveur castré (protocole ♀ ou ♂ P.w + ♀ P.w) ; le Pleurodèle receveur émet ses œufs au même âge que le Pleurodèle donneur qui a gardé un ovaire. **B** : xénotransplantation bilatérale d'ovaires juvéniles de Triton alpestre chez un Pleurodèle castré sensiblement du même âge (protocole ♀ ou ♂ P.w + ♀ alp) ; 16 à 20 mois plus tard, le Pleurodèle receveur peut pondre uniquement des œufs de Triton alpestre qui sont entourés d'une gangue de Pleurodèle. **C** : xénotransplantation unilatérale d'un ovaire juvénile de Pleurodèle chez un Triton alpestre (protocole ♀ ou ♂ alp + ♀ P.w) ; environ deux années plus tard, le Triton alpestre receveur peut pondre quelques œufs de Pleurodèle qui sont entourés d'une gangue de Triton alpestre.

Figure 2: Diagrams of *Pleurodeles* and *T. alpestris* juvenile ovarian transplantations. **A**: *Pleurodeles* unilateral allogenic transplantation at 4 months of age, the ovarian transplant is located in orthotopic location in the castrated host (protocol ♀ or ♂ P.w + ♀ P.w), *Pleurodeles* host lays its eggs at the same age that the *Pleurodeles* donor. **B**: *T. alpestris* bilateral xenogenic transplantation into castrated *Pleurodeles* of the same age (protocol ♀ or ♂ P.w + ♀ alp); 16 to 20 months later, the *Pleurodeles* host can lay only *T. alpestris* eggs which are surrounded by a *Pleurodeles* jelly. **C**: unilateral xenogenic transplantation of a *Pleurodeles* juvenile ovary into *T. alpestris* (protocol ♀ or ♂ alp + ♀ P.w); about 2 years later, the *T. alpestris* host can lay some *Pleurodeles* eggs which are surrounded by a *T. alpestris* jelly.

quelques xénotransplantations de testicules d'Axolotl furent tentées chez le Pleurodèle pour envisager une possible tolérance des testicules tout comme celle des ovaires (fig. 3C).

Chez les Urodèles, les œufs sont fécondés au moment de leur passage dans le cloaque. À la suite d'une allotransplantation ovarienne, les œufs pondus sont fécondés par des spermatozoïdes homologues et auront un développement normal. Mais à la suite d'une xénotransplantation ovarienne, qu'advient-il des œufs pondus quand ils sont fécondés par des spermatozoïdes hétérologues ? Par exemple, lorsqu'après une xénotransplantation des œufs d'Axolotl sont fécondés par des spermatozoïdes de Pleurodèle ? *A priori*, il semblerait que fécondés par des spermatozoïdes d'une espèce étrangère (spermatozoïdes hétérologues), les œufs ne se développeront pas. Cependant, la fécondation artificielle de ces œufs par des spermatozoïdes homologues a pu être envisagée ainsi qu'il sera précisé à propos du devenir des pontes hétérologues.

4. Terminologie

Le terme de "greffe" est utilisé pour les interventions embryonnaires puisqu'il s'agit de tissus encore indifférenciés qui comprennent à la fois les téguments et les éléments sous-jacents, en particulier l'ébauche génitale. Le terme de "transplantation" s'adresse à l'ovaire qui est un organe bien localisé et différencié au moment de l'intervention, même s'il est encore loin de la maturité sexuelle.

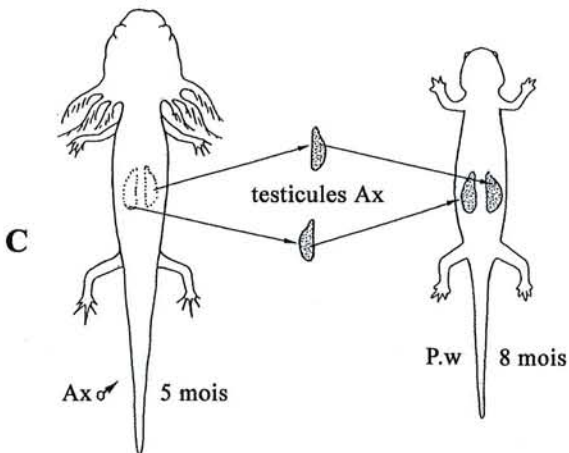
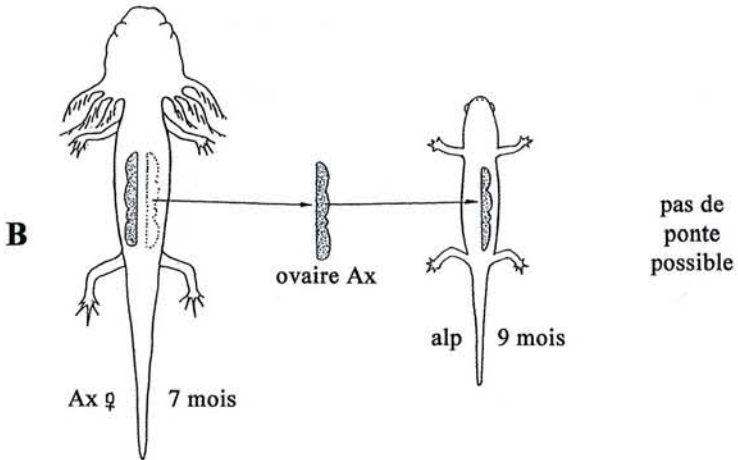
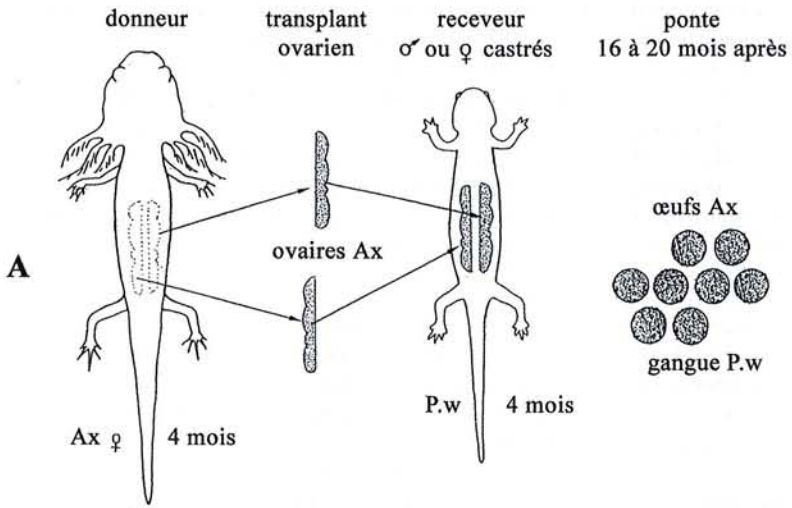


Figure 3 : Schémas des xénotransplantations de gonades juvéniles d’Axolotl. **A** : xénotransplantation bilatérale des ovaires d’un Axolotl âgé de 4 mois chez un Pleurodèle castré du même âge (protocole $\bar{\varnothing}$ ou $\bar{\sigma}$ P.w + $\bar{\varnothing}$ Ax) ; 16 à 20 mois plus tard, le Pleurodèle receveur pond systématiquement des œufs d’Axolotl qui sont entourés d’une gangue de Pleurodèle. **B** : xénotransplantation unilatérale d’un ovaire juvénile d’Axolotl chez un Triton alpestre juvénile castré ; l’ovaire d’Axolotl qui est toléré, atteint la maturité sexuelle mais le Triton alpestre ne peut pas émettre les trop gros œufs d’Axolotl. **C** : xénotransplantation bilatérale des testicules d’un Axolotl juvénile chez un jeune Pleurodèle castré (protocole $\bar{\varnothing}$ ou $\bar{\sigma}$ P.w + $\bar{\sigma}$ Ax) ; au même titre que les ovaires, les testicules d’Axolotl sont tolérés par le Pleurodèle et peuvent atteindre la maturité sexuelle quelques années plus tard, cependant ils ne sont jamais fonctionnels car il est impossible de rétablir les connexions anatomiques entre ces testicules xénogéniques et les voies génitales mâles du receveur Pleurodèle.

Figure 3: Diagrams of xenogenic transplantations of Axolotl juvenile gonads. **A**: bilateral xenogenic transplantation of Axolotl ovaries at 4 months of age into a castrated *Pleurodeles* of the same age (protocol $\bar{\varnothing}$ or $\bar{\sigma}$ P.w + $\bar{\varnothing}$ Ax), 16 to 20 months later the *Pleurodeles* host lays systematically Axolotl eggs which are surrounded by a *Pleurodeles* jelly. **B**: unilateral xenogenic transplantation of an Axolotl juvenile ovary into a *T. alpestris* juvenile castrated host (protocol $\bar{\varnothing}$ or $\bar{\sigma}$ alp + $\bar{\varnothing}$ Ax); the Axolotl ovary is tolerated and reaches sexual maturity but *T. alpestris* cannot lay the voluminous Axolotl eggs. **C**: bilateral xenogenic transplantation of Axolotl juvenile testes into a *Pleurodeles* juvenile castrated host (protocol $\bar{\varnothing}$ or $\bar{\sigma}$ P.w + $\bar{\sigma}$ Ax); as Axolotl ovaries, *Pleurodeles* tolerates Axolotl testes, these testes reached sexual maturity some years later, however they were never functional because it is not possible to restore the anatomic connections with the genital tract of the *Pleurodeles* host.

Un protocole expérimental de greffe embryonnaire correspond à l’association entre l’espèce receveuse et l’espèce donneuse de la greffe. Pour un protocole donné, plusieurs séries opératoires sont effectuées à des moments différents. Pour désigner un protocole de greffe embryonnaire, ou un animal appartenant à ce protocole, un premier terme souligné se rapporte au receveur et un second terme non-souligné indique l’espèce d’origine de la greffe. Par exemple “P.w Ax” est le protocole expérimental, ou un animal de ce protocole, dans lequel le Pleurodèle hôte reçoit une greffe embryonnaire d’Axolotl. Ce protocole expérimental a fait l’objet de sept séries opératoires réparties sur plusieurs années pour un total de 68 animaux opérés.

Les différents protocoles expérimentaux de transplantations ovariennes qui nécessitent d’abord la castration de l’hôte, dépendent des animaux en présence ; pour un protocole particulier, plusieurs séries opératoires sont réalisées en fonction de l’âge du receveur et de l’âge du donneur. Pour désigner un protocole de transplantation, ou un animal appartenant à ce protocole, un premier terme non-souligné et précédé du signe femelle barré ($\bar{\varnothing}$) ou du signe mâle barré ($\bar{\sigma}$), se rapporte au receveur castré, le second terme précédé du signe plus et du signe femelle non-barré (+ \varnothing), indique l’espèce du donneur d’ovaires juvéniles. Par exemple

Planche I . Xénogreffes embryonnaires

Figure 1. Pleurodèle avec une greffe embryonnaire Axolotl (P.w Ax). L'ovaire Pleurodèle situé du côté droit non-opéré a été enlevé à l'âge de 8 mois ; du côté gauche opéré, présence d'un ovaire Axolotl situé en avant d'un ovaire Pleurodèle; pas de canal de Müller du côté opéré. Cet animal a pondu au total 400 œufs Pleurodèles et 305 œufs Axolotls (12 ans, 210 mm). Voir figure 18, la descendance issue d'une ponte obtenue à l'âge de 10 ans.

Figure 2. Pleurodèle avec une greffe embryonnaire Axolotl (P.w Ax) : ovaire normal Pleurodèle situé du côté droit non-opéré et ovaire Axolotl du côté gauche opéré ; canal de Müller gauche uniquement dans sa partie antérieure (flèche). Ce Pleurodèle a pondu au total 930 œufs Pleurodèles et 135 œufs Axolotls (10 ans, 200 mm).

Figure 3. Triton alpestre avec une greffe embryonnaire Axolotl (alp Ax) : ovaire normal Triton alpestre du côté droit non-opéré ; du côté gauche opéré, présence d'un ovaire Axolotl à maturité sexuelle situé en avant d'un ovaire Triton alpestre ; canal de Müller gauche uniquement dans sa partie antérieure. Ce Triton alpestre ne peut pas pondre les trop volumineux œufs d'Axolotl (7 ans, 98 mm).

Figure 4. Pleurodèle avec une greffe embryonnaire Triton alpestre (P.w alp). L'ovaire Pleurodèle qui était situé du côté droit non-opéré a été enlevé à l'âge de 8 mois ; présence d'un ovaire Triton alpestre du côté gauche opéré. Le canal de Müller gauche est bloqué en avant de la greffe (flèche). Ce Pleurodèle a pondu uniquement en tout une centaine d'œufs de Triton alpestre (11 ans, 180 mm).

c.M. : canal de Müller ; o.alp : ovaire de Triton alpestre ; o.Ax : ovaire d'Axolotl ; o.P.w : ovaire de Pleurodèle. Noter le canal de Müller du côté opéré toujours bloqué en avant de la greffe, les œufs sont émis par le canal de Müller du côté non-opéré. Échelle barre = 20 mm.

Plate I. Embryonic xenografts

Figure 1. *Pleurodeles* recipient of an Axolotl embryonic graft (P.w Ax). The *Pleurodeles* normal ovary situated on the non-operated right side has been removed at 8 months of age; on the left operated side an Axolotl ovary is anterior to a *Pleurodeles* ovary; absence of Müllerian duct in the operated side. This animal laid a total of 400 *Pleurodeles* eggs and 305 Axolotl eggs (12 years, 210 mm). See figure 18, animals arising from a clutch deposited at 10 years of age.

Figure 2. *Pleurodeles* recipient of an Axolotl embryonic graft (P.w Ax). A *Pleurodeles* normal ovary is situated in the non-operated right side and an Axolotl ovary in the operated left side; the left Müllerian duct is formed only in its anterior part (arrow). This *Pleurodeles* laid a total of 930 *Pleurodeles* eggs and 135 Axolotl eggs (10 years, 200 mm).

Figure 3. *T. alpestris* recipient of an Axolotl embryonic graft (alp Ax). A *T. alpestris* normal ovary is situated on the non-operated right side; an Axolotl ovary anterior to a *T. alpestris* small ovary has reached sexual maturity; the left Müllerian duct is present only in its anterior part. This *T. alpestris* cannot lay the Axolotl voluminous eggs (7 years, 98 mm).

Figure 4. *Pleurodeles* recipient of a *T. alpestris* embryonic graft (P.w alp). The *Pleurodeles* normal ovary situated in the non-operated right side was removed at 8 months of age; a *T. alpestris* ovary is situated in the operated left side; the left Müllerian duct is blocked anterior to the graft (arrow). This *Pleurodeles* had laid a total of about a hundred *T. alpestris* eggs (11 years, 180 mm).

c.M.: Müllerian duct; o.alp: *T. alpestris* ovary; o.Ax: Axolotl ovary; o.P.w: *Pleurodeles* ovary. Note that in the operated side, the Müllerian duct is always blocked anterior to the graft and that the eggs are laid by the oviduct situated in the non-operated side. Scale bar = 20 mm.

Planche I

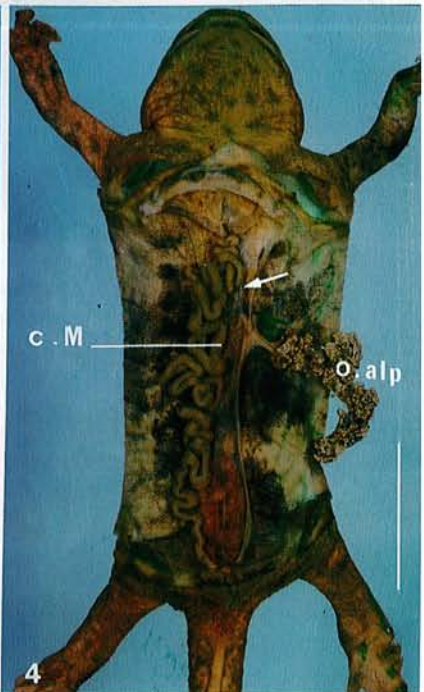
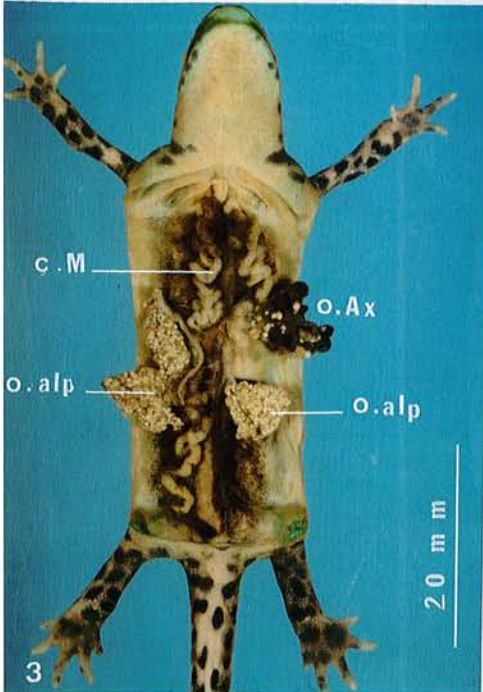
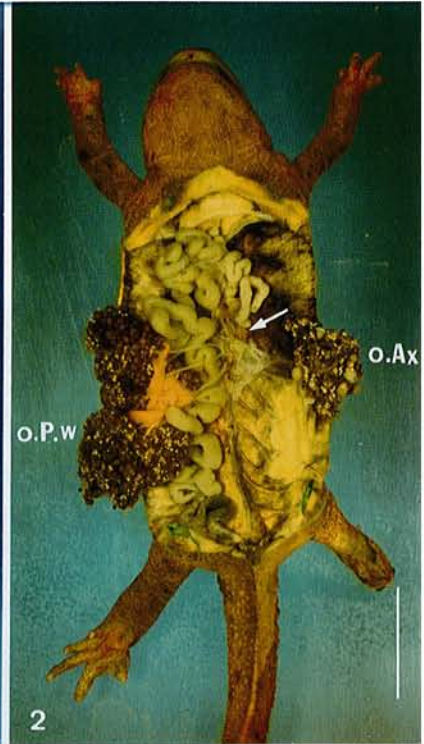
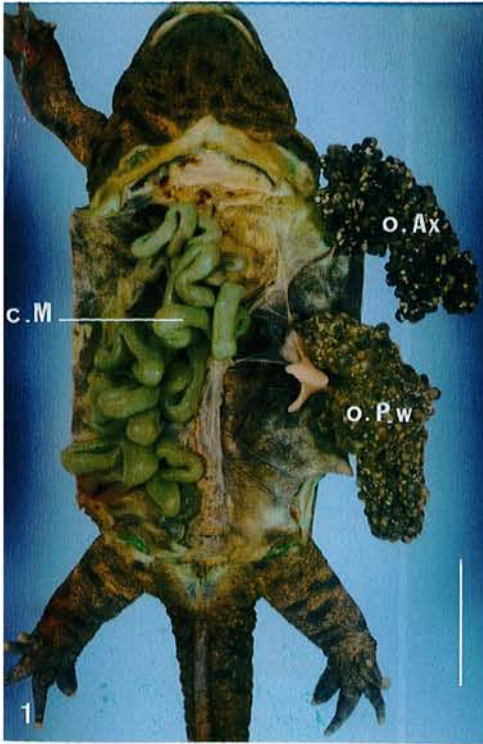


Planche II

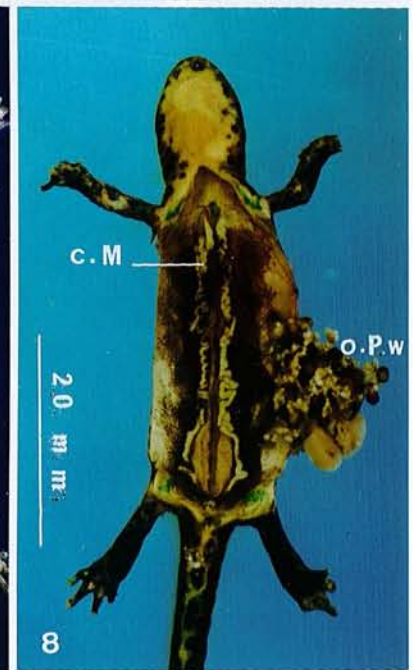
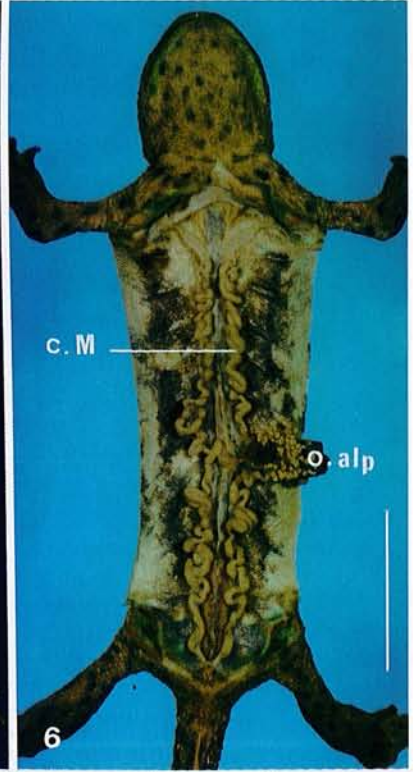


Planche II. Allo. et xénotransplantations ovariennes.

Figure 5. Allotransplantation ovarienne chez le Pleurodèle (\emptyset P.w + ♀ P.w). D : Pleurodèle donneur de l'ovaire juvénile gauche à 4 mois ; R : Pleurodèle mâle castré à 4 mois receveur de l'ovaire juvénile D qui a été implanté orthotopiquement à gauche. Les deux animaux ont pondu des œufs Pleurodèles quelques années plus tard (animal R : 4 ans, 190 mm).

Figure 6. Pleurodèle avec un xénotransplant ovarien Triton alpestre (♀ P.w + ♀ alp). Pleurodèle femelle castré à 8 mois, receveur d'un ovaire juvénile de Triton alpestre de 7 mois. Ce Pleurodèle a pondu 123 œufs Tritons alpestres (7 ans, 165 mm).

Figure 7. Allotransplantation ovarienne chez le Pleurodèle (♀ P.w + ♀ P.w). D : Pleurodèle donneur de l'ovaire juvénile droit à 4 mois ; R : Pleurodèle femelle castré à 4 mois receveur de l'ovaire juvénile D qui a été implanté orthotopiquement à droite. L'ovaire gauche du donneur resté en place et l'ovaire transplanté ont atteint la maturité sexuelle 15 mois après l'opération (animal R : 19 mois, 145 mm).

Figure 8. Triton alpestre avec un xénotransplant ovarien Pleurodèle (♀ alp + ♀ P.w). Triton alpestre femelle castré à 7 mois receveur d'un ovaire juvénile de Pleurodèle de 7 mois. Ce Triton alpestre avec un ovaire Pleurodèle à maturité sexuelle aurait pu pondre des œufs Pleurodèles (4 ans et demi, 90 mm).

c.M. : canal de Müller, les oviductes hypertrophiés sont complets de chaque côté ; o.alp : ovaire de Triton alpestre ; o.P.w : ovaire de Pleurodèle. La flèche indique l'origine de l'ovaire sur le donneur (D) qui a été implanté en position orthotopique sur le receveur (R). Échelle barre = 20 mm.

Plate II. Allo. and xenogenic ovarian transplantations

Figure 5. Allogenic ovarian transplantation into *Pleurodeles* (\emptyset P.w + ♀ P.w). D: *Pleurodeles* donor of the left juvenile ovary at 4 months of age; R: this D juvenile ovary had been orthotopically transplanted into the left side of a *Pleurodeles* male castrated at 4 months of age. This animal laid *Pleurodeles* eggs some years later (R animal: 4 years, 190 mm).

Figure 6. *Pleurodeles* recipient of a *T. alpestris* xenogenic ovarian transplant (♀ P.w + ♀ alp). *Pleurodeles* female castrated at 8 months of age which had received a *T. alpestris* juvenile 7 month old ovary. This *Pleurodeles* laid 123 *T. alpestris* eggs (7 years, 165 mm).

Figure 7. Allogenic ovarian transplantation into *Pleurodeles* (♀ P.w + ♀ P.w). D: *Pleurodeles* donor of the right juvenile ovary at 4 months of age. R: this D juvenile ovary had been orthotopically transplanted into the right side of a *Pleurodeles* female castrated at 4 months of age. The left non-transplanted ovary and the right transplanted ovary of the donor reached sexual maturity 15 months after the allogenic transplantation (R animal: 19 months, 145 mm).

Figure 8. Adult *T. alpestris* recipient of a *Pleurodeles* xenogenic ovarian transplant (♀ alp + ♀ P.w). *T. alpestris* female castrated at 7 months of age which had received a *Pleurodeles* juvenile 7 month old ovary. This *T. alpestris* with a *Pleurodeles* ovary at sexual maturity was able to lay *Pleurodeles* eggs (4 years, 90 mm).

c.M: Müllerian duct, the hypertrophied oviducts are normal on each side; o.alp: *T. alpestris* ovary; o.P.w: *Pleurodeles* ovary. The arrow indicates the location of the ovarian transplant into the donor (D) which had been orthotopically transplanted into the recipient (R). Scale bar = 20mm.

“ $\overline{\text{♀}}$ ou $\overline{\text{♂}}$ P.w + $\overline{\text{♀}}$ Ax” est le protocole expérimental, ou un animal qui appartient à ce protocole, dans lequel un Pleurodèle femelle castré ou un Pleurodèle mâle castré, reçoit un transplant ovarien juvénile d’Axolotl. D’une manière générale, le signe femelle barré ($\overline{\text{♀}}$) ou le signe mâle barré ($\overline{\text{♂}}$) signifie que l’animal en cause est castré. Le protocole expérimental ci-dessus a fait l’objet de neuf séries opératoires réparties sur plusieurs années pour un total de 124 Pleurodèles castrés et transplantés avec un ou deux ovaires juvéniles d’Axolotl.

L’exposé des résultats comprend une première partie pour les greffes embryonnaires et une deuxième partie pour les transplantations ovariennes, le début de chacune de ces parties étant consacré aux interventions allogéniques. La troisième partie de l’exposé se rapporte au devenir des œufs issus des diverses interventions.

III. RÉSULTATS

A. Greffes embryonnaires d’ébauches ovariennes présomptives

1. Caractères généraux

La première condition pour qu’une greffe embryonnaire puisse évoluer jusqu’à l’état adulte est qu’elle soit tolérée. Si les allogreffes embryonnaires sont toujours facilement tolérées, la tolérance des xénogreffes embryonnaires dépend du degré d’histocompatibilité entre le receveur et le greffon étranger (Houillon 1967, Houillon *et al.* 1969). C’est ainsi que le Pleurodèle et le Triton alpestre tolèrent indéfiniment les xénogreffes embryonnaires d’Axolotl alors qu’à l’inverse, l’Axolotl rejette inéluctablement les xénogreffes embryonnaires de Pleurodèle et de Triton alpestre. Le rejet est plus ou moins lent avec quelques cas de tolérance selon les associations entre le Pleurodèle, le Triton alpestre et le Triton palmé.

La seconde condition impliquée dans la présente étude, est la réalisation d’une combinaison sexuelle qui permette à l’ébauche ovarienne greffée de pouvoir se différencier. Ceci est obtenu dans la combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle. Néanmoins dans quelques cas, une meilleure évolution de l’ébauche greffée fut obtenue après l’ablation de l’ovaire de l’hôte situé du côté non-opéré de sorte que toute la sécrétion hypophysaire se reporte sur l’ébauche greffée.

La combinaison hétérosexuée receveur mâle - donneur femelle peut parfois conduire à un ovaire fonctionnel dans la mesure où le testicule de l’hôte n’inhibe pas totalement, et à plus forte raison n’inverse pas, le phénotype sexuel de l’ébauche ovarienne greffée. Une telle

situation peut se produire lorsque les gonades de sexe opposé en présence, appartiennent à des espèces différentes comme c'est le cas ici. Lorsque cette situation est observée au cours d'une laparotomie, on peut supprimer l'action inhibitrice du testicule normal en pratiquant son ablation. Cette intervention tardive, à 8 mois, a permis dans quelques cas d'obtenir l'évolution de l'ébauche ovarienne jusqu'à la maturité sexuelle alors qu'initialement il s'agissait d'une combinaison hétérosexuée.

Au total, 293 animaux ayant reçu une greffe embryonnaire ont été pris en compte parmi lesquels 63 ont présenté une évolution ovarienne de l'ébauche greffée jusqu'à la maturité sexuelle. L'aspect fonctionnel de cet ovaire a été prouvé chez 13 animaux grâce à l'émission d'œufs issus de l'ébauche greffée (tab.I).

Les résultats relatifs aux dix différents protocoles expérimentaux de greffes embryonnaires sont regroupés dans le tableau I. Les pontes obtenues sont pour la plupart constituées d'un mélange d'œufs issus de l'hôte et d'œufs issus de la greffe même si l'ovaire de l'hôte situé du côté non-opéré a été castré à 8 mois pour faciliter l'évolution de l'ébauche greffée. Dans ce cas, il a suffi qu'au moment de l'intervention embryonnaire le territoire gonadique présomptif destiné à être remplacé par l'ébauche à greffer, ne soit pas totalement enlevé. De la sorte, un élément ovarien de l'hôte persiste chez l'adulte en arrière de l'ovaire greffé (pl. I, figs 1 et 3).

Les ovaires atteignent la maturité sexuelle dans les délais habituels vers l'âge de deux ans mais ils ne deviennent réellement fonctionnels qu'au cours de la troisième année. Du côté opéré l'oviducte est souvent incomplet, il n'est présent que dans sa partie proximale avec l'ostium et un court canal aveugle. Néanmoins l'émission des œufs est assurée grâce à l'oviducte situé du côté non-opéré. À noter dès à présent que les œufs issus de la greffe effectuent toute leur cytodifférenciation dans un organisme étranger et qu'ils s'entoureront d'une gangue également étrangère au cours de leur transit dans l'oviducte.

2. Axolotls receveurs d'une greffe d'ébauche ovarienne Axolotl (Ax Ax) (fig. 1A)

Le protocole expérimental de greffes embryonnaires allogéniques n'a été réalisé qu'entre Axolotls de façon à utiliser les marqueurs pigmentaires : œufs pigmentés de la souche blanche (dA) et œufs dépigmentés de la souche albinos (Da). Sur 35 animaux pris en compte, 8 correspondaient à la combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle dont 6 hôtes pour la souche blanche et 2 hôtes pour la souche albinos (tab. I). Ces associa-

Tableau I : Protocoles expérimentaux des greffes embryonnaires.

Ax(dA) Ax(Da) : Axolotl de la souche blanche receveur d'une ébauche gonadique de la souche albinos ; Ax(Da) Ax(dA) : Axolotl de la souche albinos receveur d'une ébauche gonadique de la souche blanche ; P.w Ax : Pleurodèle receveur d'une ébauche gonadique d'Axolotl ; P.w alp : Pleurodèle receveur d'une ébauche gonadique de Triton alpestre ; alp Ax : Triton alpestre receveur d'une ébauche gonadique d'Axolotl ; alp P.w : Triton alpestre receveur d'une ébauche gonadique de Pleurodèle ; Ax P.w : Axolotl receveur d'une ébauche gonadique de Pleurodèle ; Ax alp : Axolotl receveur d'une ébauche gonadique de Triton alpestre ; P.w palm : Pleurodèle receveur d'une ébauche gonadique de Triton palmé ; alp palm : Triton alpestre receveur d'une ébauche gonadique de Triton palmé. Le premier terme souligné correspond au receveur, le second terme non-souligné correspond au donneur de l'ébauche embryonnaire greffée. Immunologie : statut immunologique de la greffe embryonnaire ; an. opérés : nombre d'animaux opérés pris en considération ; an. ovaire : nombre d'animaux chez lesquels l'ébauche greffée s'est différenciée en ovaire ; an. pontes (nb pontes) : nombre d'animaux qui ont émis des pontes (nombre de pontes obtenues pour le protocole considéré). Sur 293 animaux à qui fut greffée une ébauche de gonade embryonnaire, 63 ont présenté un ovaire greffé ; parmi ces derniers, l'ovaire qui a atteint la maturité sexuelle, a pu devenir fonctionnel chez 13 animaux.

Table I: Experimental protocols of embryonic grafts.

Ax(dA) Ax(Da): Axolotl of the white strain recipient of a gonadal anlage of the albino strain; Ax(Da) Ax(dA): Axolotl of the albino strain recipient of a gonadal anlage of the white strain; P.w Ax: *Pleurodeles* recipient of an Axolotl gonadal anlage; P.w alp: *Pleurodeles* recipient of a *T. alpestris* gonadal anlage; alp Ax: *T. alpestris* recipient of an Axolotl gonadal anlage; alp P.w: *T. alpestris* recipient of a *Pleurodeles* gonadal anlage; Ax P.w: Axolotl recipient of a *Pleurodeles* gonadal anlage; Ax alp: Axolotl recipient of a *T. alpestris* gonadal anlage; P.w palm: *Pleurodeles* recipient of a *T. helveticus* gonadal anlage; alp palm: *T. alpestris* recipient of a *T. helveticus* gonadal anlage. The first underlined term points out the recipient (host); the second non-underlined term points out the donor of the grafted embryonic anlage. Immunologie: tolerance or rejection of the embryonic graft; an. opérés: number of operated animals; an. ovaire: number of animals among which the grafted anlage was differentiated into an ovary; an. pontes (nb pontes): number of animals which laid (number of clutches for that protocol). On 293 animals with a grafted embryonic gonad, 63 developed a grafted ovary; in 13 of these animals the grafted ovary reached sexual maturity and became functional.

protocoles greffes embr.	immunologie	an. opérés	an.ovaire	an. pontes (nb pontes)
<u>Ax(dA)</u> Ax(Da)	tolérance	22	6	2 (4 pontes)
<u>Ax(Da)</u> Ax(dA)	tolérance	13	2	2 (3 pontes)
<u>P.w</u> Ax	tolérance	68	20	6 (14 pontes)
<u>P.w</u> alp	rare tolérance	33	5	3 (10 pontes)
<u>alp</u> Ax	tolérance	41	15	-
<u>alp</u> P.w	rare tolérance	31	4	-
<u>Ax</u> P.w	rejet	37	6	-
<u>Ax</u> alp	rejet	21	3	-
<u>P.w</u> palm	rare tolérance	14	-	-
<u>alp</u> palm	tolérance	13	2	-
	total	293	63	13 (31 pontes)

tions avaient permis de mettre en évidence le non-étalement et la non-migration des mélanophores de la souche blanche et l'absence de synthèse mélanique de la souche albinos. Le greffon albinos se pigmente fortement sur le receveur blanc mais les greffons blancs restent dépigmentés sur le receveur albinos (Houillon and Bagnara 1996).

À l'état adulte, quatre femelles ont émis au total sept pontes qui comprenaient à la fois des œufs pigmentés et des œufs dépigmentés (tab. II) (pl. IV, fig. 15). Sur les sept pontes obtenues, les œufs issus de l'ovaire du receveur sont plus nombreux, sauf dans un cas, que les œufs issus de l'ébauche greffée. Qu'ils soient fécondés par des spermatozoïdes de la souche blanche ou par des spermatozoïdes de la souche albinos, le développement de ces œufs s'effectue normalement.

Tableau II : Pontes homologues obtenues dans le protocole des allogreffes embryonnaires chez l'Axolotl. Ax(dA) Ax(Da) : Axolotl de la souche blanche (dA) receveur d'une ébauche ovarienne de la souche albinos (Da) ; Ax(Da) Ax(dA) : Axolotl de la souche albinos (Da) receveur d'une ébauche ovarienne de la souche blanche (dA). Dans tous les cas, il s'agit de la combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle. Âge ponte : âge de l'animal au moment de chaque ponte ; œufs pondus receveur : nombre d'œufs issus de l'ovaire situé du côté non-opéré du receveur ; œufs pondus greffe : nombre d'œufs issus de la greffe ; dA : œufs pigmentés de la souche blanche ; Da : œufs dépigmentés de la souche albinos ; dissection : âge de l'animal au moment de la dissection. Noter que dans tous les cas, sauf un, les œufs issus de l'ovaire normal du receveur sont plus nombreux que les œufs issus de la greffe.

Table II: Homologous clutches obtained in the Axolotl allogenic embryonic protocols. Ax(dA) Ax(Da): Axolotl of the white strain (dA) recipient of a gonadal ovarian anlage of the albino strain (Da); Ax(Da) Ax(dA): Axolotl of the albino strain (Da) recipient of a gonadal ovarian anlage of the white strain (dA). Female host-female graft homosexual combination in all the cases. Âge ponte: age of the animal at each egg-laying time; œufs pondus receveur: number of eggs arising from the normal ovary situated in the non-operated side; œufs pondus greffe: number of eggs arising from the grafted ovary; dA: pigmented eggs of the white strain; Da: unpigmented eggs of the albino strain; dissection: age of the animal at the dissection time. Note that in all cases, excepted one, the eggs arising from the normal host ovary are more numerous than the eggs arising from the grafted ovary.

protoc. greffes embr. allogén.	âge ponte	œufs pondus		dissection
		receveur	greffe	
<u>Ax(dA)</u> Ax(Da)	21 mois	150 dA	60 Da	4 ans
	36 mois	85 dA	180 Da	
<u>Ax(dA)</u> Ax(Da)	33 mois	235 dA	30 Da	4 ans 1/2
	48 mois	200 dA	50 Da	
<u>Ax(Da)</u> Ax(dA)	22 mois	20 Da	15 dA	5 ans 1/2
	36 mois	50 Da	20 dA	
<u>Ax(Da)</u> Ax(dA)	22 mois	290 Da	35 dA	7 ans

3. Pleurodèles receveurs d'une greffe d'ébauche ovarienne Axolotl (P.w Ax) (fig. 1B)

Le protocole expérimental de greffes embryonnaires xénogéniques le plus fréquemment réalisé est celui dans lequel le Pleurodèle hôte reçoit une ébauche ovarienne d'Axolotl. Sept séries opératoires ont été effectuées pour un total de 68 animaux pris en considération (tab. I). Parmi ceux-ci, 13 correspondaient à la combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle dont un a subi l'ablation de l'ovaire situé du côté non-opéré à l'âge de 8 mois. Sept autres animaux correspondaient à la combinaison hétérosexuée receveur mâle - donneur femelle dont 5 subirent l'ablation du testicule de l'hôte situé du côté non-opéré à l'âge de 8 mois.

Quatre animaux appartenant à la combinaison homosexuée femelle ont émis plusieurs pontes qui comportaient à la fois des œufs de l'hôte Pleurodèle et des œufs de la greffe Axolotl (tab. III). Dans ces pontes émises en chapelets, les gros œufs pigmentés peu nombreux d'Axolotl, s'intercalent entre les petits œufs clairs et plus nombreux de Pleurodèle (pl. IV, fig. 16). Deux autres animaux appartenant à la combinaison hétérosexuée, castrés du côté non-opéré, ont émis également plusieurs pontes mais qui ne comportaient que des œufs de la greffe Axolotl.

Les différentes pontes hétérologues interviennent plus tardivement que les pontes homologues rapportées au paragraphe précédent, néanmoins certaines sont encore émises par des animaux âgés de 10 ans. Les ovaires d'Axolotl qui se différencient à partir d'une greffe d'ébauche ovarienne ne sont jamais aussi volumineux que ceux des femelles standard (pl. I, fig. 2), d'où l'émission d'un plus faible nombre d'œufs. Dans le tableau III sont consignés les six Pleurodèles qui, à la suite de greffes embryonnaires Axolotls, ont émis plusieurs pontes à différents âges ainsi que le nombre total des deux sortes d'œufs. Le devenir de ces œufs sera envisagé avec celui des œufs issus des xénotransplantations ovariennes.

4. Pleurodèles receveurs d'une greffe d'ébauche ovarienne Triton alpestre (P.w alp) (fig. 1C)

Dans le protocole expérimental où le Pleurodèle est receveur d'une ébauche ovarienne xénogénique de Triton alpestre, les greffes qui sont souvent rejetées d'une façon lente et tardive, peuvent quelquefois être tolérées. Ce protocole a fait l'objet de trois séries opératoires pour un total de 33 animaux pris en compte parmi lesquels 5 seulement présentaient un ovaire toléré. Celui-ci n'a pu évoluer jusqu'à la maturité sexuelle qu'après l'ablation à l'âge de 8

mois, de la gonade normale de l'hôte située du côté non-opéré (pl. I, fig. 4). Trois Pleurodèles sur les cinq ont pondu des œufs de Triton alpestre (tab. III). L'un de ceux-ci a pondu en même temps des œufs de Pleurodèle malgré l'ablation de son ovaire normal. Ces œufs provenaient d'un reliquat du territoire gonadique Pleurodèle du côté opéré qui avait pu évoluer en ovaire fonctionnel au voisinage de l'ébauche ovarienne Triton alpestre greffée. Le deuxième

Tableau III : Pontes hétérologues dans les protocoles de xénogreffes embryonnaires.

P.w Ax : Pleurodèle receveur d'une ébauche ovarienne d'Axolotl ; P.w alp : Pleurodèle receveur d'une ébauche ovarienne de Triton alpestre ; (♀-♀) : combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle ; (♂-♀) : combinaison hétérosexuée receveur mâle - donneur femelle ; ♀ ou ♂ : ablation de l'ovaire ou du testicule situés du côté non-opéré du receveur à l'âge de 8 mois ; pontes, nb : nombre de pontes émises par l'animal, prem. : âge de cet animal au moment de la première ponte, dern. : âge de l'animal au moment de la dernière ponte ; nb œufs pondus, receveur : nombre total des œufs issus de l'ovaire du receveur pour l'ensemble de ses pontes ; greffe : nombre total des œufs issus de la greffe ; P.w : œufs de Pleurodèle ; alp : œufs de Triton alpestre ; DA : œufs d'Axolotl de la souche sauvage ; dA : œufs d'Axolotl de la souche blanche ; dissection : âge de l'animal au moment de la dissection.

Table III: Heterologous clutches obtained in the xenogenic embryonic protocols.

P.w Ax: *Pleurodeles* recipient of an Axolotl ovarian anlage; P.w alp: *Pleurodeles* recipient of a *T. alpestris* ovarian anlage; (♀-♀): host female - donor female homosexual combination; (♂-♀): host male - donor female heterosexual combination; ♀ or ♂: removal of the ovary or the testis situated in the non-operated side of the host at 8 months of age; pontes nb: number of clutches arising from the animal, pontes prem.: age of the animal at the first egg-laying time, pontes dern.: age of this animal at the last egg-laying time; nb œufs pondus, receveur: total number of eggs arising from the host ovary; nb œufs pondus, greffe: total number of eggs arising from the grafted ovary; P.w: *Pleurodeles* eggs; alp: *T. alpestris* eggs; DA: Axolotl eggs of the wild strain; dA: Axolotl eggs of the white strain; dissection: age of the animal at the dissection time.

protoc. greffes embr. xénogén.	pontes			nb œufs pondus		dissection
	nb	prem.	dern.	receveur	greffe	
<u>P.w</u> Ax (♀-♀)	3	5 ans	9 ans	930 P.w	135 DA	10 ans
<u>P.w</u> Ax (♀-♀)	3	2 ans	6 ans	650 P.w	200 dA	8 ans
<u>P.w</u> Ax (♀-♀)	1	3 ans	-	200 P.w	5 DA	5 ans 1/2
<u>P.w</u> Ax (♂-♀)	3	5 ans	10 ans	400 P.w	305 dA	12 ans
<u>P.w</u> Ax (♂-♀)	2	7 ans	10 ans	-	165 dA	11 ans
<u>P.w</u> Ax (♂-♀)	2	6 ans	7 ans	-	85 dA	10 ans
<u>P.w</u> alp (♀-♀)	4	6 ans	10 ans	60 P.w	210 alp	13 ans
<u>P.w</u> alp (♀-♀)	4	3 ans	9 ans	-	100 alp	11 ans
<u>P.w</u> alp (♂-♀)	2	3 ans	5 ans	-	60 alp	5 ans 1/2

me Pleurodèle également de la combinaison homosexuée femelle, n'a pondu que des œufs de Triton alpestre. Le troisième animal qui appartenait à la combinaison hétérosexuée, castré du côté non-opéré, n'a pondu aussi que des œufs de Triton alpestre.

5. Tritons alpestres receveurs d'une greffe d'ébauche ovarienne Axolotl (alp Ax) (fig. 1D)

Les xénogreffes embryonnaires Axolotls chez le Triton alpestre sont tolérées comme chez le Pleurodèle. Trois séries opératoires ont été effectuées pour un total de 41 animaux opérés pris en compte (tab. I). Parmi ceux-ci, 11 appartenaient à la combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle et 4 à la combinaison hétérosexuée receveur mâle - donneur femelle ; l'un de ces quatre Tritons alpestres a fait l'objet de l'ablation du testicule situé du côté non-opéré à l'âge de 8 mois.

Les ébauches ovariennes qui se différencient, arrivent à maturité sexuelle vers l'âge de deux ans. Les gros ovocytes pigmentés d'Axolotl contrastent par rapport aux petits ovocytes plus ou moins clairs de Triton alpestre (pl. I, fig. 3). Il a été fort décevant de n'avoir jamais pu obtenir l'émission d'œufs d'Axolotl par le Triton alpestre malgré de nombreuses tentatives à partir d'animaux qui ont vécu 7 années et même 9 années pour l'un d'entre eux. Les œufs d'Axolotl sont trop volumineux pour pouvoir transiter dans les oviductes du Triton alpestre. Il n'en demeure pas moins que les ovocytes d'Axolotl sont capables d'effectuer toute leur différenciation depuis les cellules germinales primordiales et tout leur accroissement dans l'organisme du Triton alpestre tout comme dans l'organisme du Pleurodèle.

6. Tritons alpestres receveurs d'une greffe d'ébauche ovarienne Pleurodèle (alp P.w) (fig. 1E)

Le protocole expérimental de greffe embryonnaire xénogénique dans lequel le Triton alpestre reçoit une ébauche ovarienne de Pleurodèle, a fait l'objet de trois séries opératoires pour un total de 31 animaux retenus (tab. I). Malgré le très faible degré d'histocompatibilité entre ces deux Urodèles, l'ébauche gonadique a pu évoluer en ovaire bien différencié chez 4 animaux qui correspondaient à la combinaison homosexuée receveur femelle-donneur femelle. Aucun de ces 4 Tritons alpestres n'a atteint l'état adulte, le plus âgé ayant péri à l'âge de 16 mois. Compte tenu du faible taux de réussite dans le présent protocole, il est peu probable qu'il soit possible d'obtenir l'émission d'œufs de Pleurodèle par le Triton alpestre à

partir de xénogreffes embryonnaires. En revanche, de telles pontes hétérologues se sont avérées possibles par le biais des xénotransplantations ovariennes.

7. Autres protocoles de xénogreffes embryonnaires (tab. I)

Dans les protocoles de xénogreffes embryonnaires où l'Axolotl est receveur, il a été possible d'observer un début d'évolution ovarienne de l'ébauche gonadique : 6 cas sur 37 animaux pour Ax P.w et 3 cas sur 21 animaux pour Ax alp. Mais le rejet qui intervient inéluctablement à partir de 4 à 5 mois, n'a jamais permis aux ovaires de Pleurodèle et de Triton alpestre d'atteindre la maturité sexuelle chez l'Axolotl. Par conséquent, l'Axolotl ne peut pondre ni des œufs de Pleurodèle ni des œufs de Triton alpestre.

Les rares cas de tolérance des xénogreffes embryonnaires dans le protocole receveur Pleurodèle - donneur Triton palmé (P.w palm) n'ont abouti à aucune combinaison sexuelle dans laquelle l'ébauche Triton palmé aurait pu évoluer en ovaire chez les 14 animaux opérés.

Enfin dans le protocole receveur Triton alpestre - donneur Triton palmé (alp palm) où la tolérance embryonnaire est de règle, 13 animaux furent pris en compte. Mais seulement 2 Tritons alpestres de la combinaison homosexuée receveur femelle - donneur femelle ont dépassé l'âge d'une année. L'ovaire Triton palmé greffé était nettement identifiable mais de volume réduit vraisemblablement à cause de l'important développement de l'ovaire de l'hôte Triton alpestre. Aucune ponte n'a été obtenue, néanmoins la ponte d'œufs de Triton palmé par le Triton alpestre est envisageable.

B. Transplantations ovariennes juvéniles

1. Caractères généraux

Comme pour les greffes embryonnaires, les transplants ovariens doivent être tolérés pour pouvoir évoluer jusqu'à la maturité sexuelle et devenir éventuellement fonctionnels. Pour cette raison, seules ont été réalisées des transplantations allogéniques chez le Pleurodèle et des transplantations xénogéniques avec des ovaires d'Axolotl chez le Pleurodèle et le Triton alpestre, de même que furent tentées quelques transplantations dans les deux sens entre le Pleurodèle et le Triton alpestre.

Quand il s'agit de transplantations, le sexe des animaux receveurs n'intervient pas puisqu'ils sont préalablement castrés. Le critère à prendre éventuellement en considération serait l'âge des animaux au moment de l'intervention. Il s'agit toujours d'animaux juvéniles qui

ont le plus souvent le même âge pour le receveur et le donneur. Il est remarquable de constater que la réussite de la transplantation est la même aussi bien pour les femelles castrées que pour les mâles castrés. Chez ces derniers, l'émission des œufs s'effectue comme chez les femelles puisque dans le cas des Urodèles mâles, les canaux de Müller persistent à l'état vestigial durant toute la vie, contrairement aux Vertébrés supérieurs chez lesquels ils régressent

Tableau IV : Protocoles expérimentaux des transplantations ovariennes.

♀ ou ♂ : femelle ou mâle castrés receveurs d'un ou deux transplants ovariens juvéniles ; ♀ ou ♂ P.w + ♀ P.w : Pleurodèle castré receveur d'un ovaire de Pleurodèle ; ♀ ou ♂ P.w + ♀ Ax : Pleurodèle castré receveur de deux ovaires d'Axolotl ; ♀ ou ♂ P.w + ♀ alp : Pleurodèle castré receveur de deux ovaires de Triton alpestre ; ♀ ou ♂ alp + ♀ P.w : Triton alpestre castré receveur d'un ovaire de Pleurodèle ; ♀ ou ♂ alp + ♀ Ax : Triton alpestre castré receveur d'un ovaire d'Axolotl ; opéré : nombre d'animaux transplantés ; ovaire : nombre d'animaux transplantés chez lesquels les ovaires sont tolérés ; an. pontes : nombre de femelles et de mâles castrés ayant émis des pontes pour le protocole considéré. Sur un total de 208 animaux transplantés, 105 ont toléré les ovaires ; parmi ces derniers 15 femelles castrées et 13 mâles castrés ont émis des pontes. Sachant que l'Axolotl rejetait toutes les greffes embryonnaires en provenance des autres Urodèles, les protocoles avec l'Axolotl comme receveur d'ovaires Pleurodèles ou d'ovaires Tritons alpestres, n'ont pas été réalisés.

Table IV: Experimental protocols of the ovarian transplantations.

♀ ou ♂ : castrated female or castrated male recipients of one or two juvenile ovarian transplants; ♀ ou ♂ P.w + ♀ P.w: castrated *Pleurodeles* recipient of one *Pleurodeles* ovary (allogenic transplantation); ♀ ou ♂ P.w + ♀ Ax: castrated *Pleurodeles* recipient of two Axolotl ovaries (xenogenic transplantation); ♀ ou ♂ P.w + ♀ alp: castrated *Pleurodeles* recipient of two *T. alpestris* ovaries; ; ♀ ou ♂ alp + ♀ P.w: castrated *T. alpestris* recipient of one *Pleurodeles* ovary; ♀ ou ♂ alp + ♀ Ax: castrated *T. alpestris* recipient of one Axolotl ovary; opéré: number of operated animals; ovaire: number of operated animals with one or two tolerated ovaries; an. pontes: number of castrated females (♀) or castrated males (♂) having laid for that protocol. On 208 operated animals, 105 animals tolerated one or two ovaries; of these animals, 15 castrated females and 13 castrated males laid eggs. The protocol with the Axolotl recipient of *Pleurodeles* ovaries or *T. alpestris* ovaries was not performed because the Axolotl rejects all the xenogenic embryonic grafts of the other Urodela.

protocoles transplant. ovar.	♀ castrées		♂ castrés		total		an. pontes	
	opéré	ovaire	opéré	ovaire	opéré	ovaire	♀	♂
♀ ou ♂ P.w + ♀ P.w	11	10	12	11	23	21	1	3
♀ ou ♂ P.w + ♀ Ax	69	32	55	31	124	63	10	10
♀ ou ♂ P.w + ♀ alp	20	3	6	0	26	3	2	-
♀ ou ♂ alp + ♀ P.w	17	9	7	1	24	10	2	-
♀ ou ♂ alp + ♀ Ax	7	4	4	4	11	8	-	-
total	124	58	84	47	208	105	15	13

définitivement très tôt. Les oviductes des mâles seront stimulés par la sécrétion hormonale des ovaires transplantés. Dès lors, les ex-mâles castrés qui tolèrent les transplants ovariens seront capables de pondre de la même façon que les femelles normales et à ce titre, ils peuvent être considérés comme ayant subi une inversion de leur phénotype sexuel somatique.

La reprise et l'évolution d'un transplant ovarien nécessitent sa revascularisation. Il peut contracter des adhérences avec la paroi péritonéale. Dans cette position hétérotopique et bien que revascularisé, son évolution est toujours modeste, il n'atteint jamais le volume d'un ovaire normal même si des ovocytes poursuivent leur vitellogenèse jusqu'à la maturité sexuelle. Seuls les ovaires qui contractent des adhérences avec le mésogonium de la gonade castrée poursuivent une évolution normale. Les allotransplants ovariens en position orthotopique chez le Pleurodèle sont tout à fait comparables aux ovaires d'une femelle standard. Les xénotransplants ovariens en position orthotopique bien que moins volumineux que ceux d'une femelle standard, ont un volume beaucoup plus important qu'en position hétérotopique et surtout, présentent davantage d'ovocytes mûrs. Pratiquement toutes les pontes obtenues à la suite de transplantations ovariennes sont issues d'ovaires dont la reprise a pu s'effectuer en position orthotopique.

Au total, sur 208 transplantations ovariennes effectuées, 105 animaux ont toléré les ovaires 6 mois au moins après l'intervention et l'émission d'œufs fut possible pour 28 d'entre eux. Le tableau IV regroupe les cinq protocoles expérimentaux en faisant référence au sexe des animaux castrés. Les premières pontes hétérologues furent émises au plus tôt, 16 mois après l'intervention, certains animaux pouvaient encore plus de cinq années après la transplantation.

2. Pleurodèles castrés receveurs d'un transplant ovarien juvénile de Pleurodèle

(♂ ou ♂ P.w + ♀ P.w) (fig. 2A)

Le protocole expérimental de transplantation d'ovaires juvéniles allogéniques concerne quatre séries opératoires, effectuées uniquement entre Pleurodèles, animaux les plus communément utilisés dans notre laboratoire. Sur 23 Pleurodèles opérés, 21 ont toléré un transplant ovarien (tab. IV). Les deux premières séries opératoires furent réalisées à partir d'animaux qui appartenaient aux deux lignées histocompatibles sélectionnées chez le Pleurodèle (Charlemagne and Tournefier 1974). Les interventions concernaient des animaux âgés de 4 mois : 6 Pleurodèles de la lignée AA et 6 Pleurodèles de la lignée BB ; dans l'une et l'autre série opératoire.

toire, autant de femelles castrées que de mâles castrés, reçurent un implant ovarien de la même lignée histocompatible. Dans ces interventions, le receveur castré ne reçoit qu'un ovaire du donneur, ce dernier qui garde l'un de ses ovaires, est élevé en même temps de façon à servir de contrôle (pl. II, figs 5 et 7). Chez ces 12 Pleurodèles, l'ovaire transplanté toujours parfaitement toléré, a atteint la maturité sexuelle 12 à 16 mois après l'intervention. Ainsi, les transplants ovariens entre Pleurodèles appartenant à une même lignée histocompatible, sont tolérés dans 100% des cas. Parmi les animaux mis à pondre, une femelle et trois mâles opérés ont émis des œufs dans les mêmes conditions que les femelles standard (tab. V). À la dissection les ovaires transplantés ont un volume comparable aux ovaires demeurés en place chez les donneurs femelles avec des ovocytes dans le même état de maturité.

Deux autres séries opératoires furent réalisées entre Pleurodèles standard, l'une à partir de 7 femelles castrées âgées de 3 mois et l'autre, à partir de 4 mâles castrés âgés de 8 mois.

Tableau V : Pontes homologues obtenues dans le protocole des allotransplantations ovariennes chez le Pleurodèle.

♀ P.w (BB) + ♀ P.w (BB) : Pleurodèle femelle castré de la lignée histocompatible BB receveur d'un ovaire juvénile de lignée BB ; ♂ P.w (BB) + ♀ P.w (BB) : Pleurodèle mâle castré de la lignée histocompatible BB receveur d'un ovaire juvénile de la même lignée ; ♂ P.w (AA) + ♀ P.w (AA) : Pleurodèle mâle castré de la lignée histocompatible AA receveur d'un ovaire juvénile de la lignée AA ; ponte après transpl. : temps écoulé entre la transplantation et la ponte ; nb œufs pondus : nombre total des œufs émis par l'animal ; dissection: âge de l'animal au moment de la dissection.

Table V: Homologous clutches obtained in the *Pleurodeles* allogenic ovarian transplantation protocol. ♀ P.w (BB) + ♀ P.w (BB): *Pleurodeles* castrated female of the BB histocompatible strain recipient of a juvenile ovary from the same strain; ♂ P.w (BB) + ♀ P.w (BB): *Pleurodeles* castrated male of the BB strain recipient of a juvenile ovary from the same strain; ♂ P.w (AA) + ♀ P.w (AA): *Pleurodeles* castrated male of the AA histocompatible strain recipient of a juvenile ovary of the AA strain; ponte après transpl.: months or years between transplantation and egg-laying; nb œufs pondus: total number of eggs laid by the animal; dissection: age of the animal at the dissection time.

protoc. transplant. ovar. allogéniques	ponte après transpl.	nb œufs pondus	dissection
♀ P.w (BB) + ♀ P.w (BB)	5 ans	1000	6 ans
♂ P.w (BB) + ♀ P.w (BB)	4 ans	1200	5 ans
♂ P.w (BB) + ♀ P.w (BB)	5 ans	500	6 ans
♂ P.w (AA) + ♀ P.w (AA)	22 mois	100	4 ans

Parmi ces 11 Pleurodèles, 9 animaux ont parfaitement toléré le transplant ovarien allogénique qui, ayant atteint l'état adulte, aurait pu être fonctionnel.

Cette remarquable tolérance des allotransplants ovariens chez le Pleurodèle fut mise à profit pour tenter d'obtenir la survie des ovaires de Pleurodèles adultes qui avaient séjourné 12 jours dans l'espace. L'expérience avait pour but de suivre éventuellement l'évolution des embryons issus d'ovocytes ayant été soumis durant quelques jours aux conditions spatiales (Dournon *et al.* 1997).

3. Pleurodèles castrés receveurs de transplants ovariens juvéniles d'Axolotl

(♂ ou ♂ P.w + ♀ Ax) (fig. 3A)

Compte tenu de la tolérance des xénogreffes embryonnaires, la tolérance des xénotransplants devrait concerner surtout les ovaires d'Axolotl. C'est ainsi que le protocole de transplantation le plus souvent réalisé est celui dans lequel des Pleurodèles castrés reçoivent uni- ou bilatéralement un ovaire d'Axolotl (fig. 3A).

Neuf séries opératoires furent réalisées dans ce protocole pour un total de 124 animaux (tab. IV). La tolérance des ovaires d'Axolotl s'est avérée aussi fréquente chez les Pleurodèles femelles que chez les mâles : sur 69 femelles castrées, 32 ont toléré des ovaires d'Axolotl et sur 55 mâles castrés, 31 ont toléré des ovaires d'Axolotl (tab. VI). Ne sont considérés comme "tolérés" que les ovaires observés chez des Pleurodèles au moins 6 mois après la transplantation.

La longévité des animaux transplantés est du même ordre que celle des témoins : 10 Pleurodèles avec des ovaires d'Axolotl ont atteint et dépassé l'âge de 9 ans, le maximum a été de 13 années pour l'un d'entre eux.

Les séries opératoires diffèrent selon l'âge des receveurs Pleurodèles et des donneurs Axolotls. Le critère à prendre en considération quant à la tolérance des xénotransplants ovariens, est l'âge des animaux au moment de l'intervention. On observe une remarquable tolérance pour les interventions entre très jeunes animaux sensiblement de même âge (9 animaux avec des ovaires sur 10 opérés lorsque le receveur est âgé de 4 mois et que le donneur de la souche sauvage DA est âgé de 4 mois). En revanche, la tolérance est d'autant moindre que le receveur est plus âgé par rapport au donneur (un animal avec des ovaires sur 12 opérés lorsque le receveur est âgé de 8 mois alors que le donneur de la souche blanche dA est âgé de 5 mois). Dans cette dernière série opératoire, il a été observé des transplants gorgés de sang

leur donnant un aspect rougeâtre, ce qui est le signe d'une violente réaction de rejet 2 à 4 mois après la transplantation. La tolérance des ovaires de la souche sauvage DA (60%) serait meilleure que la tolérance des ovaires de la souche blanche dA (40%).

Les ovaires transplantés, toujours juvéniles au moment de l'intervention, renferment des petits ovocytes en prévitellogénèse. Lorsqu'ils sont tolérés, l'accroissement des ovocytes Axolotls se poursuit avec régularité dans l'organisme étranger Pleurodèle. Pour certains d'entre eux, la vitellogénèse complète s'est terminée 15-16 mois plus tard, ce qui correspond à des animaux âgés au moins de 20 mois (pl. III, figs 9 et 10). Dès lors, ils peuvent se repro-

Tableau VI : Protocole ♀ ou ♂ P.w + ♀ Ax. Séries opératoires des transplantations ovariennes xénogéniques, femelles ou mâles castrés receveurs Pleurodèles et donneurs Axolotls.

opér. : nombre d'animaux opérés ; ov. : nombre d'animaux avec un ou deux ovaires d'Axolotl tolérés ; an. ponte ♀, ♂ : Pleurodèles femelles et mâles castrés qui ont pondu uniquement des œufs d'Axolotl pour la série opératoire considérée. Sur 124 Pleurodèles castrés receveurs d'ovaires juvéniles d'Axolotl, 63 ont toléré les ovaires parmi lesquels 10 Pleurodèles femelles castrés et 10 Pleurodèles mâles castrés ont pondu des œufs d'Axolotl.

Table VI: ♀ or ♂ P.w + ♀ Ax protocol. Operative series of xenogenic ovarian transplantations, *Pleurodeles* castrated females or castrated males recipients and Axolotl donors.

opér.: number of operated animals; ov.: number of operated animals with one or two Axolotl tolerated ovaries; an. ponte ♀, ♂ : *Pleurodeles* castrated females (♀) or *Pleurodeles* castrated males (♂) which have laid only Axolotl eggs for that operative serie. On 124 castrated *Pleurodeles* recipients of Axolotl juvenile ovaries, 63 tolerated the ovaries; of these animals 10 *Pleurodeles* castrated females and 10 *Pleurodeles* castrated males laid Axolotl eggs.

âge receveur Pleurodèle	âge donneur Axolotl (souche)	♀ castrées		♂ castrés		total		an. ponte	
		opér.	ov.	opér.	ov.	opér.	ov.	♀	♂
4 mois	4 mois (Da)	5	4	5	5	10	9	-	1
6 mois	5 mois 1/2 (DA)	12	9	8	5	20	14	8	4
8 mois	5 mois (dA)	8	5	6	4	14	9	1	3
7 mois	7 mois (DA)	6	3	4	3	10	6	-	-
3 mois 1/2	7 mois 1/2 (dA)	7	5	8	4	15	9	-	1
9 mois	8 mois (DA)	7	2	4	3	11	5	1	1
8 mois	6 mois (DA)	8	1	4	3	12	4	-	-
7 mois	4 mois (dA)	11	2	9	4	20	6	-	-
8 mois	5 mois (dA)	5	1	7	0	12	1	-	-
	total	69	32	55	31	124	63	10	10

duire tout comme les Pleurodèles ou les Axolotls standard qui atteignent la maturité sexuelle à cet âge. C'est ainsi que 20 Pleurodèles castrés (10 femelles et 10 mâles) qui avaient reçu des xénotransplants ovariens, ont pu émettre des œufs d'Axolotl (tab. X).

4. Pleurodèles castrés receveurs de transplants ovariens juvéniles de Triton alpestre (♀ ou ♂ P.w + ♀ alp) (fig. 2B)

Les xénogreffes embryonnaires de Triton alpestre étant quelquefois tolérées par le Pleurodèle, il pouvait en être de même pour les xénotransplants ovariens. Le protocole expérimental dans lequel les Pleurodèles castrés reçoivent des ovaires juvéniles de Triton alpestre a fait l'objet de trois séries opératoires (tab. VII) pour un total de 26 animaux opérés. La tolérance ovarienne fut effective dans une seule série pour laquelle sur 11 femelles castrées, 3 ont toléré les xénotransplants de Triton alpestre.

L'une d'entre elles qui n'avait pas pondu, fut sacrifiée à l'âge de 5 ans ; les deux autres Pleurodèles qui ont atteint l'âge de 7 ans, avaient pu émettre des œufs de Triton alpestre 4 ans après la transplantation (pl. II, fig. 6).

Tableau VII : Protocole ♀ ou ♂ P.w + ♀ alp. Séries opératoires des transplantations ovariennes xénogéniques, femelles ou mâles castrés receveurs Pleurodèles et donneurs Tritons alpestres.

opér. : nombre d'animaux opérés ; ov. : nombre d'animaux avec un ou deux ovaires de Triton alpestre tolérés ; an. ponte ♀, ♂ : Pleurodèles femelles et mâles castrés qui ont pondu uniquement des œufs de Triton alpestre. Sur 26 Pleurodèles castrés receveurs d'ovaires juvéniles de Triton alpestre, seulement 3 ont toléré les ovaires parmi lesquels 2 Pleurodèles femelles castrés ont pu pondre des œufs de Triton alpestre.

Table VII: ♀ ou ♂ P.w + ♀ alp protocol. Operative series of xenogenic ovarian transplantations, *Pleurodeles* castrated females or *Pleurodeles* castrated males recipients and *T. alpestris* donors.

opér.: number of operated animals; ov.: number of operated animals with one or two *T. alpestris* tolerated ovaries; an. ponte ♀, ♂ : *Pleurodeles* castrated females (♀) or *Pleurodeles* castrated males (♂) which have laid only *T. alpestris* eggs. On 26 castrated *Pleurodeles* recipients of *T. alpestris* juvenile ovaries, only 3 animals tolerated the ovaries, and 2 of them laid *T. alpestris* eggs.

âge receveur Pleurodèle	âge donneur T.alpestre	♀ castrées		♂ castrés		total		an. ponte	
		opér.	ov.	opér.	ov.	opér.	ov.	♀	♂
8 mois	7 mois	11	3	-	-	11	3	2	-
8 mois	7 mois	7	0	-	-	7	0	-	-
9 mois	7 mois	2	0	6	0	8	0	-	-
	total	20	3	6	0	26	3	2	-

Planche III. Xénotransplantations de gonades.

Figure 9. Pleurodèle avec deux ovaires Axolotls (\varnothing P.w + \varnothing Ax). Pleurodèle femelle castré à 4 mois receveur des ovaires d'un Axolotl juvénile de 4 mois. Cet animal aurait pu pondre uniquement des œufs Axolotls (7 ans, 205 mm).

Figure 10. Pleurodèle avec deux ovaires Axolotls (\varnothing P.w + \varnothing Ax). Pleurodèle femelle castré en fin de métamorphose à 3 mois et demi receveur des deux ovaires d'un Axolotl juvénile de 7 mois et demi. Ce Pleurodèle a pondu uniquement des œufs Axolotls. Atrésie des ovaires au moment de la dissection à 13 ans et demi (240 mm).

Figure 11. Xénotransplantation de testicules Axolotls (\varnothing P.w + σ Ax). Pleurodèle femelle castré à 8 mois receveur des deux testicules d'un Axolotl juvénile de 5 mois. Les testicules sont tolérés et atteignent la maturité sexuelle mais l'absence de connexions uro-génitales ne permet pas l'émission des spermatozoïdes Axolotls par le Pleurodèle. Noter la légère hypertrophie du canal de Wolff (4 ans, 205 mm).

Figure 12. Triton alpestre avec un ovaire Axolotl (\varnothing alp + \varnothing Ax). Triton alpestre femelle castré à 9 mois, receveur d'un ovaire d'Axolotl juvénile de 7 mois. Ce Triton alpestre avec un ovaire Axolotl à maturité sexuelle ne peut pas émettre les trop volumineux œufs Axolotls (40 mois, 105 mm).

Figure 13. Allotransplantation ovarienne à l'état adulte chez un Pleurodèle (\varnothing P.w + \varnothing P.w). Pleurodèle femelle castré à l'âge de 2 ans receveur d'un fragment ovarien d'un Pleurodèle sensiblement du même âge. L'ovaire Pleurodèle qui est à maturité sexuelle, peut être toléré par un animal adulte de la même espèce. Dissection 9 mois après l'allotransplantation (160 mm).

Figure 14. Œufs d'Axolotl pondus par un Pleurodèle et fécondés artificiellement par des spermatozoïdes d'Axolotl. A: jeune larve d'Axolotl au stade de l'éclosion recroquevillée dans sa gangue Pleurodèle dont elle ne peut pas se débarrasser. B: larve d'Axolotl au stade de l'éclosion qui a été débarrassée manuellement de sa gangue Pleurodèle (12-13 jours, 10 mm).

c.j.Ax: corps jaune adipeux d'Axolotl; c.M: canal de Müller; c.W: canal de Wolff; o.Ax: ovaire d'Axolotl; o.P.w: ovaire de Pleurodèle; t.Ax: testicule d'Axolotl. Échelle barre = 20 mm sauf pour la figure 14.

Plate III. Xenogenic transplantations of gonads.

Figure 9. Two Axolotl ovaries into *Pleurodeles* (\varnothing P.w + \varnothing Ax). A *Pleurodeles* female castrated at 4 months of age which had received the two Axolotl juvenile 4 month old ovaries. This *Pleurodeles* was able to lay only Axolotl eggs (7 years, 205 mm).

Figure 10. Two Axolotl ovaries into *Pleurodeles* (\varnothing P.w + \varnothing Ax). A *Pleurodeles* female castrated at 3 months of age (end of metamorphosis) which had received the two Axolotl juvenile 7 month old ovaries. Atretic ovaries at the dissection time (13 years, 240 mm).

Figure 11. Xenogenic transplantation of Axolotl testes (\varnothing P.w + σ Ax). A *Pleurodeles* female castrated at 8 months of age which had received two Axolotl juvenile 5 month old testes. The testes were tolerated and reached sexual maturity but *Pleurodeles* cannot eject the Axolotl spermatozoa because of the absence of uro-genital connections. Note the weak hypertrophy of the Wolffian ducts (4 years, 205 mm).

Figure 12. Axolotl ovary into *T. alpestris* (\varnothing alp + \varnothing Ax). A *T. alpestris* female castrated at 9 months of age which had received an Axolotl juvenile 7 month old ovary. The Axolotl ovary reached sexual maturity but *T. alpestris* could not lay the Axolotl voluminous eggs (40 months, 105 mm).

Figure 13. Allogenic ovarian transplantation at the adult stage into *Pleurodeles* (\varnothing P.w + \varnothing P.w). A *Pleurodeles* female castrated at 2 years of age which had received a *Pleurodeles* ovarian piece of the same adult age. *Pleurodeles* tolerated the allogenic adult ovary. The dissection was performed 9 months after the transplantation (160 mm).

Figure 14. Development of Axolotl eggs laid by *Pleurodeles* and artificially fertilized with Axolotl spermatozoa. A: Axolotl young larvae at the hatching stage, the larvae could not naturally hatch because it was shriveled into the *Pleurodeles* jelly. B: Axolotl larvae at the hatching stage after the *Pleurodeles* jelly had been manually removed (12-13 days, 10 mm).

c.j.Ax: yellow adipose tissue of Axolotl; c.M: Müllerian duct; c.W: Wolffian duct; o.Ax: Axolotl ovary; o.P.w: *Pleurodeles* ovary; t.Ax: Axolotl testis. Scale bar = 20 mm except for the figure 14.

Planche III

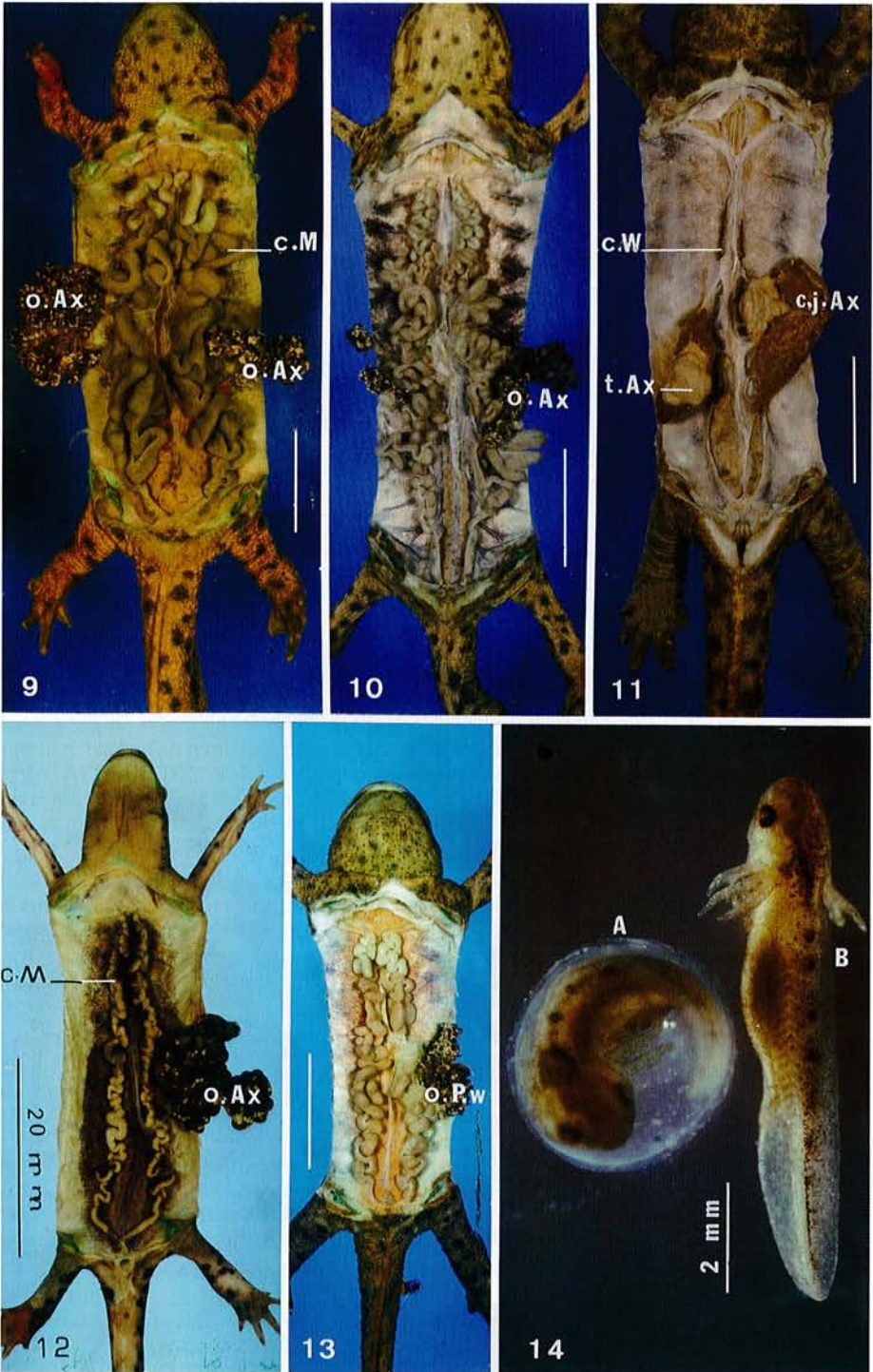


Planche IV

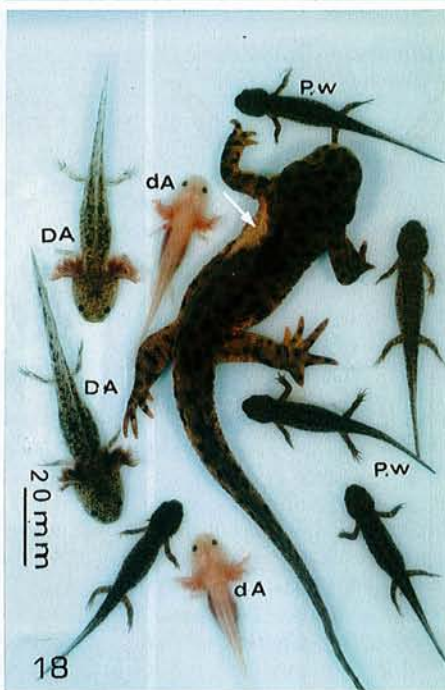
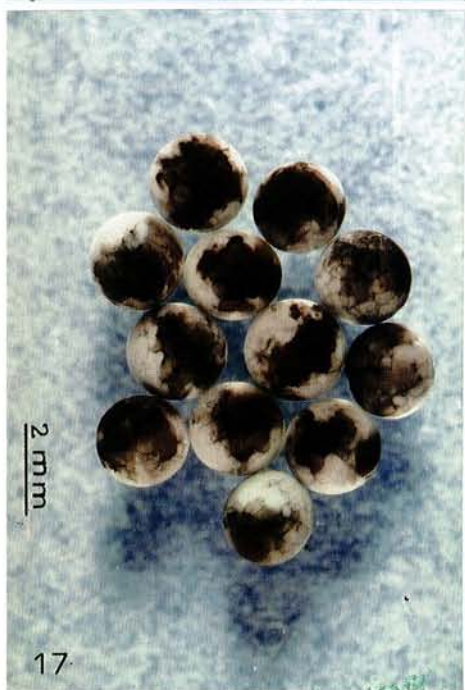
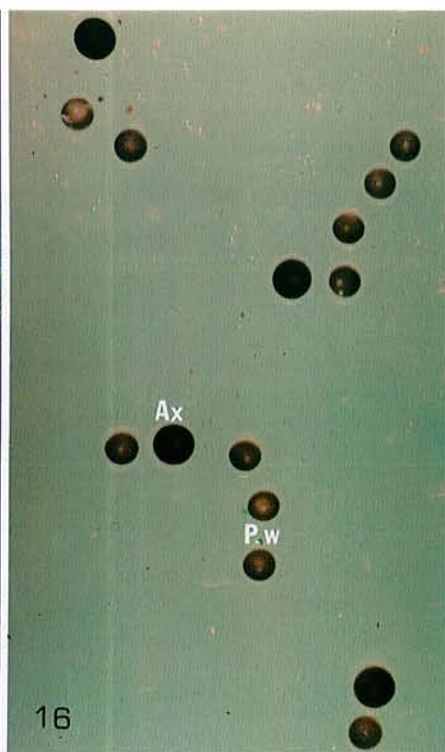
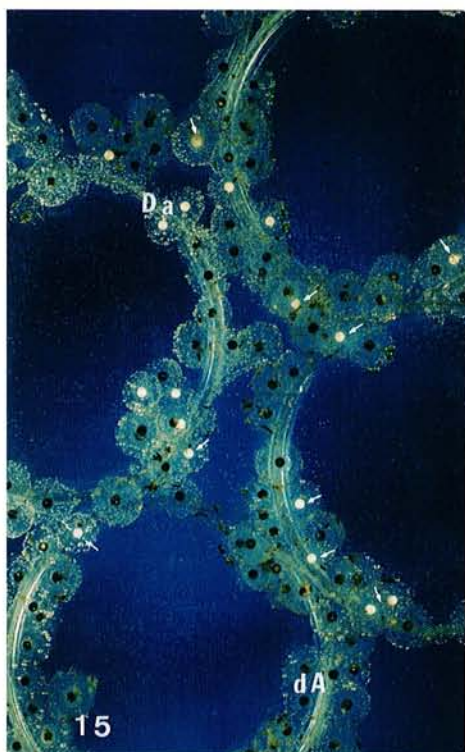


Planche IV. Œufs émis à la suite de xénogreffes ou de xénotransplantations.

Figure 15. Ponte émise par un Axolotl de la souche blanche à la suite d'une allogreffe embryonnaire de la souche albinos [Ax (dA) Ax (Da)]. L'Axolotl émet des œufs pigmentés (dA) de la souche blanche en même temps que des œufs dépigmentés (Da, flèches) de la souche albinos qui sont pondus en moins grand nombre.

Figure 16. Ponte émise par un Pleurodèle à la suite d'une xénogreffe embryonnaire Axolotl (P.w Ax). Le Pleurodèle pond ses propres œufs (les plus nombreux, petits et clairs) en même temps que des œufs d'Axolotl (les moins nombreux, plus gros et foncés). Ces œufs qui sont pondus en chapelets, sont situés dans la même gangue Pleurodèle.

Figure 17. Œufs d'Axolotl pondus par un Pleurodèle. Fécondés par des spermatozoïdes de Pleurodèle, les œufs d'Axolotl peuvent amorcer une segmentation qui devient vite aberrante (fragmentation), puis ils entrent en cytolysse (pour la photographie, les œufs en fragmentation une dizaine d'heures après la ponte, ont été débarrassés de leur gangue Pleurodèle).

Figure 18. Descendance d'un Pleurodèle qui avait reçu une greffe embryonnaire d'Axolotl de la souche blanche (la figure 1 correspond à la dissection de cet animal). Noter la plage cutanée dépigmentée sur le flanc gauche (flèche). À l'âge de 10 ans, ce Pleurodèle a émis une ponte comprenant 200 œufs Pleurodèles et 135 œufs Axolotls. Les cinq jeunes Pleurodèles métamorphosés (P.w) correspondent au développement normal d'œufs Pleurodèles. Sur 15 œufs Axolotls fécondés artificiellement avec des spermatozoïdes de la souche blanche, deux Axolotls blancs ont été obtenus (dA) et sur 13 œufs Axolotls fécondés artificiellement avec des spermatozoïdes de la souche sauvage, deux Axolotls pigmentés ont été obtenus (DA). La femelle génitrice âgée de 8 ans, est photographiée avec une partie de sa descendance âgée de 3 mois et demi.

Ax: œuf pigmenté d'Axolotl de la souche blanche ou de la souche sauvage; DA: jeune Axolotl pigmenté de la souche sauvage; Da: œuf dépigmenté de la souche d'Axolotl albinos; dA: jeune Axolotl de la souche blanche ou œuf pigmenté de la souche blanche; P.w: œuf de Pleurodèle ou jeune Pleurodèle métamorphosé. Échelle barre = 2 mm pour la figure 17 et 20 mm pour la figure 18.

Plate IV. Clutches following xenogenic grafts or xenogenic transplantations

Figure 15. Clutch of an Axolotl of the white strain following an embryonic allograft of the albino strain [Ax (dA) Ax (Da)]. The Axolotl laid pigmented eggs (dA) of the white strain and, at the same time, unpigmented eggs (Da) of the albino strain (white arrows). Albino eggs arising from the graft were less numerous than pigmented eggs arising from the host.

Figure 16. Clutch of a *Pleurodeles* following an Axolotl xenogenic embryonic graft (P.w Ax). *Pleurodeles* laid its own eggs (more numerous, smallest and clear) at the same time that the Axolotl eggs (less numerous, biggest and dark). The *Pleurodeles* eggs and the Axolotl eggs are surrounded by the same *Pleurodeles* jelly.

Figure 17. Axolotl eggs laid by *Pleurodeles* and naturally fertilized by *Pleurodeles* spermatozoa. These Axolotl eggs can begin the segmentation which rapidly becomes abnormal (fragmentation), then the eggs are cytolysed (for the picture 10 hours after the egg-laying, the *Pleurodeles* jelly of the fragmented eggs had been removed).

Figure 18. Offspring from *Pleurodeles* which had received an Axolotl embryonic graft of the white strain (figure 1 is the dissection of this *Pleurodeles*). Note the unpigmented cutaneous area on the anterior left side (arrow). At 10 years of age, this animal laid 200 *Pleurodeles* eggs and 135 Axolotl eggs. The five young metamorphosed *Pleurodeles* (P.w) arose from the normal development of *Pleurodeles* eggs. On 15 Axolotl eggs artificially fertilized with Axolotl spermatozoa of the white strain, two white Axolotls were obtained (dA) and on 13 Axolotl eggs artificially fertilized with Axolotl spermatozoa of the wild strain, two pigmented Axolotls were obtained (DA). The Axolotl mother at 8 years of age is shown with a part of his three and half month old offspring.

Ax: Axolotl eggs; DA: young pigmented Axolotl of the wild strain; Da: Axolotl unpigmented egg of the albino strain; dA: young white Axolotl or pigmented egg of the white strain; P.w: young metamorphosed *Pleurodeles* or *Pleurodeles* egg. Scale bar = 2mm for the figure 17 and scale bar = 20mm for the figure 18.

5. Tritons alpestres castrés receveurs de transplants ovariens juvéniles de Pleurodèle (♀ ou ♂ alp + ♀ P.w) (fig. 2C)

La possibilité d'obtenir parfois une tolérance des xéno greffes embryonnaires de Pleurodèle par le Triton alpestre autorise à tenter la transplantation des ovaires juvéniles de Pleurodèle chez le Triton alpestre. Ce protocole expérimental a fait l'objet de trois séries opératoires à partir de 24 animaux (tab. IV). Ainsi sur 17 Tritons alpestres femelles castrées, 9 ont toléré des ovaires de Pleurodèles et sur 7 Tritons alpestres mâles castrés, un seul a toléré l'ovaire Pleurodèle transplanté (tab. VIII).

La ponte d'œufs de Pleurodèle par le Triton alpestre est intervenue pour 2 femelles, 4 ans après la transplantation pour l'une et 6 ans après pour l'autre. La longévité maximum d'un Triton alpestre qui tolérait un ovaire de Pleurodèle, fut de 9 années ; les deux animaux qui avaient pondu des œufs de Pleurodèle, furent sacrifiés peu après l'âge de 6 ans (pl. II, fig. 8).

Tableau VIII : Protocole ♀ ou ♂ alp. + ♀ P.w. Séries opératoires des transplantations ovariennes xénogéniques, femelles ou mâles castrés receveurs Tritons alpestres et donneurs Pleurodèles.

opér. : nombre d'animaux opérés ; ov. : nombre d'animaux avec un ovaire de Pleurodèle toléré ; an. ponte ♀, ♂ : Tritons alpestres femelles et mâles castrés qui ont pondu uniquement des œufs de Pleurodèle. Sur 24 Tritons alpestres castrés receveurs d'un ovaire juvénile de Pleurodèle, 10 ont toléré l'ovaire mais seulement 2 Tritons alpestres femelles castrés ont pu pondre quelques œufs de Pleurodèle.

Table VIII: ♀ or ♂ alp + ♀ P.w protocol. Operative series of xenogenic ovarian transplantations, *T. alpestris* castrated females (♀) or *T. alpestris* castrated male (♂) recipients and *Pleurodeles* donors.

opér. : number of operated animals; ov.: number of operated animals with one *Pleurodeles* tolerated ovary; an. ponte ♀, ♂ : *T. alpestris* castrated females (♀) or *T. alpestris* castrated males (♂) which laid only *Pleurodeles* eggs. On 24 castrated *T. alpestris* recipients of *Pleurodeles* juvenile ovary, 10 animals tolerated the ovary but only 2 *T. alpestris* castrated females laid some *Pleurodeles* eggs.

âge receveur T.alpestre	âge donneur Pleurodèle	♀ castrées		♂ castrés		total		an. ponte	
		opér.	ov.	opér.	ov.	opér.	ov.	♀	♂
7 mois	7 mois	5	4	5	1	10	5	1	-
7 mois 1/2	7 mois 1/2	6	3	2	0	8	3	1	-
9 mois	9 mois	6	2	-	-	6	2	-	-
	total	17	9	7	1	24	10	2	-

6. Tritons alpestres castrés receveurs d'un transplant ovarien juvénile d'Axolotl

(♀ ou ♂ alp + ♀ Ax) (fig. 3B)

Les xénogreffes embryonnaires d'Axolotl étant tolérées par le Triton alpestre on pouvait concevoir, comme pour le Pleurodèle, que les xénotransplants ovariens seraient également tolérés. Une seule série opératoire a été réalisée à partir d'une vingtaine d'animaux. Il s'agissait de Tritons alpestres âgés de 9 mois qui mesuraient 65 à 70 mm ; les xénotransplants ovariens provenaient d'Axolotls de la souche sauvage âgés de 7 mois. La castration étant parfois incomplète parce que délicate à cause de la petite taille des Tritons alpestres, seulement 11 de ceux-ci chez lesquels la castration était totale, ont été retenus, chacun n'étant transplanté qu'avec un ovaire (tab. IV).

Sur 7 femelles castrées, 4 tolèrent le xénotransplant ovarien (pl. III, fig. 12) alors que la tolérance ovarienne est effective chez les 4 mâles castrés. La réussite de la transplantation des ovaires d'Axolotl chez le Triton alpestre est par conséquent aussi fréquente que chez le Pleurodèle. La longévité maximum a été de cinq années pour un animal. Les ovaires juvéniles tolérés atteignent la maturité sexuelle 12 à 15 mois après leur transplantation. Mais comme pour les xénogreffes embryonnaires, les ovocytes d'Axolotl ne peuvent pas être émis parce que trop volumineux pour transiter dans les oviductes du Triton alpestre.

7. Pleurodèles castrés receveurs de transplants testiculaires juvéniles d'Axolotl

(♀ ou ♂ P.w + ♂ Ax) (fig. 3C)

À titre expérimental et afin de se rendre compte si, comme les ovaires, les testicules juvéniles pouvaient être tolérés, des xénotransplantations de testicules furent tentées chez des Pleurodèles castrés. Il n'était pas envisageable d'obtenir l'émission de spermatozoïdes hétérologues puisqu'il est chirurgicalement impossible de rétablir les connexions anatomiques entre le testicule et les dérivés mésonéphrétiques indispensables pour l'émission des gamètes mâles dans les conditions naturelles.

Trois séries opératoires ont été réalisées pour un total de 17 animaux parmi lesquels 15 ont présenté une tolérance des testicules d'Axolotl. Toutes les 5 femelles castrées ont toléré les implants testiculaires ainsi que 10 mâles sur les 12 castrés (tab. IX).

Chez 11 animaux, les testicules juvéniles transplantés ont contracté des adhérences avec la paroi péritonéale ; dans cette position hétérotopique, leur évolution s'est poursuivie lentement mais aucun Pleurodèle n'a atteint la maturité sexuelle même chez ceux qui furent sacri-

fiés à l'âge de 7 ans, soit plus de 6 années après la transplantation testiculaire. En revanche, chez les 4 autres Pleurodèles, les transplants testiculaires retrouvés en position orthotopique, avaient pu contracter des adhérences avec le mésentère des gonades castrées ; dès lors, leur évolution s'est poursuivie jusqu'à la maturité sexuelle atteinte pour l'un d'entre eux dès l'âge de 20 mois, soit 12 mois après la transplantation. Chez ces 4 Pleurodèles, la maturité sexuelle se manifestait extérieurement par une légère turgescence du cloaque sans cependant la présence de callosités aux membres antérieurs. Les canaux de Wolff présentaient une légère hypertrophie, bien moins importante que chez les mâles adultes témoins (pl. III, fig. 11).

On retrouve pour les testicules d'Axolotl transplantés chez le Pleurodèle, comme pour les ovaires juvéniles, la possibilité d'évoluer jusqu'à la maturité sexuelle lorsque les gonades tolérées peuvent reprendre en position orthotopique.

8. Pontes hétérologues à la suite des transplantations ovariennes

De même que des pontes hétérologues ont été obtenues à la suite des xénogreffes d'ébauches ovariennes (tab. III), des pontes hétérologues sont obtenues à la suite de la tolé-

Tableau IX : Protocole ♀ ou ♂ P.w + ♂ Ax. Séries opératoires des transplantations testiculaires xénogéniques, femelles ou mâles castrés receveurs Pleurodèles et donneurs Axolotls.
opér. : nombre d'animaux opérés ; test. : nombre d'animaux avec un ou deux testicules d'Axolotl tolérés. Sur 17 Pleurodèles castrés receveurs de testicules juvéniles d'Axolotl, 15 ont toléré les testicules implantés ; bien que pouvant atteindre la maturité sexuelle, ces testicules ne peuvent pas être fonctionnels faute de connexions uro-génitales mâles.

Table IX: ♀ or ♂ P.w + ♂ Ax protocol. Operative series of xenogenic testicular transplantations, *Pleurodeles* castrated females or *Pleurodeles* castrated males recipients and Axolotl donors.
opér.: number of operated animals; test.: number of transplanted animals with one or two Axolotl tolerated testes. On 17 castrated *Pleurodeles* recipients of Axolotl juvenile testes, 15 animals tolerated the transplanted testes. These testes reached sexual maturity but they could not be functional because the absence of uro-genital male connections.

âge receveur Pleurodèle	âge donneur Axolotl	♀ castrées		♂ castrés		total	
		opér.	test.	opér.	test.	opér.	test.
3 mois 1/2	7 mois 1/2	1	1	4	4	5	5
8 mois	5 mois 1/2	4	4	4	3	8	7
12 mois	5 mois 1/2	-	-	4	3	4	3
	total	5	5	12	10	17	15

rance des xénotransplants ovariens juvéniles. Ces pontes sont émises soit naturellement après l'accouplement avec des mâles standard, soit artificiellement après injections d'hormone gonadotrope. Dans ce dernier cas, les pontes sont toujours plus abondantes.

Au total, 20 Pleurodèles (10 femelles castrées et 10 mâles castrés) receveurs d'ovaires d'*Axolotl*, ont pondu uniquement des œufs d'*Axolotl*. Certains ont pondu plusieurs fois à des intervalles variant de 10 à 14 mois ; deux animaux ont pondu à quatre reprises et un animal a pondu à cinq reprises (tab. X).

Deux Pleurodèles femelles castrées receveurs d'ovaires juvéniles de *Triton alpestre* ont pondu des œufs de *Triton alpestre* (tab. X) et deux *Tritons alpestres* femelles castrées receveurs d'un ovaire juvénile de Pleurodèle, ont pondu des œufs de Pleurodèle (tab. X).

L'âge du receveur au moment de la transplantation n'intervient pas par la suite sur son aptitude à pondre : les receveurs les plus jeunes (3 mois et demi) ont pondu à l'âge adulte comme les receveurs les plus âgés (9 mois). De même l'âge de l'ovaire transplanté n'intervient pas sur la maturité ultérieure des ovocytes et leur émission : des ovocytes issus des jeunes ovaires transplantés (4 mois) ont été émis comme les ovocytes issus des ovaires plus âgés (8 mois).

Dans le protocole où le Pleurodèle est receveur d'ovaires *Axolotls* (protocole ♀ ou ♂ P.w + ♀ Ax), il y a davantage d'œufs DA pondus que d'œufs dA, ce qui confirme la meilleure tolérance des xénotransplants de la souche sauvage DA que de la souche blanche dA. Faute d'animaux en temps utile, aucune transplantation n'a été faite avec des ovaires des souches albinos Da et da qui pourtant sont nettement mieux tolérées que les deux souches précédentes quant à la production expérimentale de tératomes (Houillon 2002).

C. Devenir des œufs issus des greffes embryonnaires et des transplantations ovariennes

Chez les Amphibiens Urodèles, les œufs sont fécondés au moment de leur passage dans le cloaque par les spermatozoïdes qui s'y trouvent stockés après l'accouplement. Qu'en est-il des œufs d'une espèce quand ils sont pondus par une autre espèce ? Le cas le plus fréquent ici est celui des œufs d'*Axolotl* qui sont pondus par le Pleurodèle et donc fécondés par des spermatozoïdes de Pleurodèle.

Les animaux qui ont émis des pontes homologues et hétérologues après les greffes embryonnaires et les transplantations juvéniles sont regroupés dans le tableau XI.

Quand il s'agit de pontes homologues issues des allogreffes embryonnaires (protocole Ax Ax) et des allotransplantations juvéniles (protocole ♀ ou ♂ P.w + ♀ P.w), les ovocytes

Tableau X : Pontes hétérologues obtenues dans les protocoles de xénotransplantations ovariennes.

Table X: Heterologous clutches obtained in the xenogenic ovarian transplantation protocols.

protoc.transpl ovar. xénogén.	âge receveur	âge donneur	pontes			nb œufs pondus	dissection
			nb	prem.	dern.		
♀ P.w + ♀ Ax	6 mois	5 mois 1/2	5	16 mois	7 ans	1560 DA	10 ans
			3	16 mois	4 ans 1/2	150 DA	8 ans
			3	24 mois	3 ans	570 DA	7 ans 1/2
			3	16 mois	3 ans	100 DA	6 ans 1/2
			3	17 mois	3 ans	140 DA	6 ans
			2	28 mois	3 ans	175 DA	6 ans
			1	16 mois	-	80 DA	2 ans
			1	28 mois	-	190 DA	6 ans 1/2
8 mois	5 mois	3	39 mois	5 ans	150 dA	7 ans 1/2	
9 mois	8 mois	1	27 mois	-	160 DA	4 ans	
♀ P.w + ♀ alp	8 mois	7 mois	1	4 ans	-	71 alp	7 ans
			1	4 ans	-	123 alp	7 ans
♂ P.w + ♀ Ax	6 mois	5 mois 1/2	4	16 mois	4 ans 1/2	625 DA	7 ans
			2	28 mois	3 ans	405 DA	8 ans
			2	28 mois	3 ans	140 DA	7 ans 1/2
			1	28 mois	-	5 DA	5 ans
	8 mois	5 mois	1	16 mois	-	5 dA	27 mois
			1	26 mois	-	84 dA	3 ans 1/2
			1	26 mois	-	184 dA	4 ans 1/2
	3 mois 1/2	7 mois 1/2	4	25 mois	4 ans	620 dA	6 ans
9 mois	8 mois	1	16 mois	-	12 DA	26 mois	
4 mois	4 mois	1	4 ans	-	27 DA	5 ans	
♀ alp + ♀ P.w	7 mois	7 mois	1	6 ans	-	25 P.w	6 ans 1/2
	7 mois 1/2	7 mois 1/2	1	4 ans	-	20 P.w	6 ans

pondus sont entourés par une gangue homologue qui s'est déposée au cours du transit dans les oviductes et sont fécondés par des spermatozoïdes de la même espèce. Ainsi, les ovocytes issus des greffes d'ébauches ovariennes Axolotls chez l'Axolotl (protocole Ax Ax) seront

♂ P.w + ♀ Ax : Pleurodèle femelle castré receveur d'ovaires juvéniles d'Axolotl. ♀ P.w + ♀ alp : Pleurodèle femelle castré receveur d'ovaires juvéniles de Triton alpestre. ♂ P.w + ♀ Ax : Pleurodèle mâle castré receveur d'ovaires juvéniles d'Axolotl. ♀ alp + ♀ P.w : Triton alpestre femelle castré receveur d'un ovaire juvénile de Pleurodèle. Âge du receveur et du donneur au moment de la transplantation ; pontes, nb : nombre de pontes émises par un animal ; prem., dern. : temps écoulé depuis l'intervention pour la première et pour la dernière ponte ; nb œufs pondus : nombre total des œufs émis par l'animal pour l'ensemble de ses pontes ; DA : œufs d'Axolotl de souche sauvage ; dA : œufs d'Axolotl de la souche blanche ; alp : œufs de Triton alpestre ; P.w : œufs de Pleurodèle ; dissection : âge de l'animal au moment de la dissection.

♂ P.w + ♀ Ax: *Pleurodeles* castrated female recipient of Axolotl juvenile ovaries; ♀ P.w + ♀ alp: *Pleurodeles* castrated female recipient of *T. alpestris* juvenile ovaries; ♂ P.w + ♀ Ax: *Pleurodeles* castrated male recipient of Axolotl juvenile ovaries; ♀ alp + ♀ P.w: *T. alpestris* castrated female recipient of *Pleurodeles* juvenile ovary; âge receveur, âge donneur: age of the recipient and age of the donor of the transplantation time; pontes nb: number of clutches laid by an animal; prem.: time of the first egg-laying after transplantation; dern.: time of the last egg-laying after transplantation; nb œufs pondus: total number of eggs laid by an animal; DA: Axolotl eggs of the wild strain; dA: Axolotl eggs of the white strain; alp: *T. alpestris* eggs; P.w: *Pleurodeles* eggs; dissection: age of the animal at the dissection time.

fécondés par des spermatozoïdes d'Axolotl (pl. IV, fig. 15) ; de la même façon, les ovocytes issus des greffes d'ébauches ovariennes Pleurodèles chez le Pleurodèle (protocole P.w P.w) seront fécondés par des spermatozoïdes de Pleurodèle (fig. 4A). Les œufs se développent normalement avec un pourcentage de développement compris selon les pontes, entre 70 et 95% comme on l'observe habituellement pour les pontes naturelles d'Axolotl et de Pleurodèle (tabs II et V) (figs 4A et 4D).

À la suite d'une xénogreffe d'ébauche ovarienne d'Axolotl, le receveur Pleurodèle peut émettre des œufs de Pleurodèle et des œufs d'Axolotl (protocole P.w Ax) ; de même, à la suite d'une xénogreffe d'ébauche ovarienne de Triton alpestre, le receveur Pleurodèle peut émettre des œufs de Pleurodèle et des œufs de Triton alpestre (protocole P.w alp) (tab. III). Dans les deux cas, les œufs de Pleurodèle ont un développement normal puisqu'ils sont fécondés naturellement par des spermatozoïdes de Pleurodèle. Mais dans l'un ou l'autre cas, les œufs d'Axolotl ou les œufs de Triton alpestre qui sont pondus en même temps, sont aussi fécondés par des spermatozoïdes de Pleurodèle (fig. 4B) ; ceci est confirmé par l'observation des impacts spermatiques à la surface des œufs. Cinq à six heures plus tard, certains de ces œufs, surtout ceux d'Axolotl, présentent une amorce de segmentation vite aberrante. Il s'agit davantage de fragmentations plutôt que d'une véritable segmentation qui peut parfois se poursuivre encore une dizaine d'heures, puis les œufs finissent par se cytolysier (pl. IV, fig. 17). Il est tout à fait exceptionnel d'avoir un début de gastrulation.

De telles fragmentations s'observent aussi bien pour les œufs hétérologues issus des xéogreffes embryonnaires que pour les œufs hétérologues issus des xéotransplantations juvéniles : œufs d'Axolotl ou de Triton alpestre émis par le Pleurodèle (donc fécondés par

Tableau XI : Récapitulatif des pontes obtenues à la suite des greffes d'ébauches embryonnaires et des transplantations ovariennes juvéniles.

Protocoles allogéniques et protocoles xénogéniques ; nb, sexe, type d'œufs : nombre et sexe des animaux ayant pondu, type d'œufs émis ; rappel des tableaux correspondants ; ♀ ou ♂ : femelles castrées ou mâles castrés quand il s'agit de transplantations ovariennes. Pour les greffes embryonnaires, l'hôte peut subir l'ablation de la gonade située du côté non-opéré, c'est en particulier toujours le cas quand il s'agit d'un testicule, d'où la présence de deux Pleurodèles mâles (♂) qui pondent des œufs d'Axolotl et d'un autre Pleurodèle mâle (♂) qui pond des œufs de Triton alpestre. (Da + dA) : œufs d'Axolotl des souches albinos et blanche.

Table XI: Recapitulation of the clutches obtained from the embryonic anlage grafts and from the juvenile ovarian transplantations.

Opérations: embryonic grafts and juvenile ovarian transplantations; protocoles: allogenic protocols and xenogenic protocols; nb, sexe: number of animals and sex of animals which laid eggs after the operations, type d'œufs: kind of eggs, remainder of the corresponding tables; ♀ ou ♂: castrated females or castrated males. In the embryonic graft protocols when the recipient was a female, the normal ovary located in the non-operated side was sometimes removed; when the recipient was a male, the testis located in the non-operated side was always removed; for this reason two *Pleurodeles* males (♂) laid Axolotl eggs after removal of the normal testis and another *Pleurodeles* male (♂) laid *T. alpestris* eggs. (Da + dA): Axolotl eggs of the albino and the white strains obtained from Axolotl allogenic embryonic grafts.

opérations	protocoles	nb, sexe	type d'œufs		
greffes embryon.	allo. Ax Ax	4 ♀	œufs Ax(Da + dA)	tab. II	
	xéno. P.w Ax	4 ♀	œufs P.w + œufs Ax	tab. III	
		2 ♂	œufs Ax		
xéno. P.w alp	2 ♀	œufs P.w + œufs alp	tab. III		
	1 ♂	œufs alp			
transpl. ovariennes juvéniles	allo. ♀ ou ♂ P.w + ♀ P.w	1 ♀ 3 ♂	œufs P.w	tab. V	
	xéno. ♀ ou ♂ P.w + ♀ Ax	10 ♀	œufs Ax	tab. X, XI	
		10 ♂			
		♀ P.w + ♀ alp	2 ♀		œufs alp
		♂ alp + ♀ P.w	2 ♀		œufs P.w

des spermatozoïdes de Pleurodèle) et œufs de Pleurodèle émis par le Triton alpestre (donc fécondés par des spermatozoïdes de Triton alpestre).

Malgré la présence évidente d'impacts spermatiques de Pleurodèle à la surface des œufs d'Axolotl, des fécondations artificielles avec des spermatozoïdes homologues furent tentées. Ces derniers proviennent de la dilacération dans un liquide physiologique de la base des canaux de Wolff d'Axolotls mâles adultes. Les œufs d'Axolotl fraîchement pondus par un Pleurodèle, sont placés sur un tampon d'ouate humide, puis recouverts par la solution spermatique pendant quelques minutes, après quoi ils sont immergés dans l'eau ordinaire. Les fécondations artificielles ainsi réalisées interviennent le plus souvent dans le quart d'heure qui suit l'émission des œufs. Cependant dans plusieurs cas, la fécondation artificielle n'est intervenue qu'une heure et même dans un cas que plus de trois heures après la ponte (fig. 4C).

C'est ainsi que des œufs d'Axolotl en cours de fécondation par des spermatozoïdes de Pleurodèle, se sont développés d'une façon apparemment normale après avoir été fécondés artificiellement par des spermatozoïdes d'Axolotl, même lorsque la fécondation artificielle était intervenue très tardivement. Une dizaine de telles fécondations furent tentées avec plus ou moins de succès. À titre d'exemple, à partir d'une ponte étalée sur 3 jours et qui provenait d'une xénotransplantation ovarienne chez un Pleurodèle mâle castré, sur 145 œufs fécondés de la sorte, 35 embryons au stade du bourgeon caudal furent obtenus, 29 ont atteint le stade de l'éclosion pour aboutir finalement à 20 Axolotls adultes 18 mois plus tard.

On peut remarquer que pour la réussite des fécondations artificielles ci-dessus, des spermatozoïdes d'Axolotl ont traversé une gangue de Pleurodèle en acquérant tout de même un pouvoir fécondant (fig. 4C). Dans la mesure où chez les Urodèles la gangue muqueuse qui entoure l'œuf intervient dans la capacitation des spermatozoïdes, son action n'est pas spécifique.

En revanche, les embryons d'Axolotl qui se développent à l'intérieur d'une gangue de Pleurodèle, éprouvent de grandes difficultés au moment de l'éclosion (pl. III, fig. 14). Des jeunes larves qui avaient un aspect normal au stade habituel de l'éclosion, sont demeurées encore plusieurs jours dans leur gangue avant de périr recroquevillées à l'intérieur de cette enveloppe hétérologue. La plupart de celles qui ont survécu, avaient été débarrassées manuellement de leur gangue, sous la loupe binoculaire, à l'aide de pinces fines. Une jeune larve d'Axolotl au stade de l'éclosion ne peut pas, ou ne peut que très difficilement, digérer une gangue de Pleurodèle. Il y aurait une spécificité enzymatique pour la digestion de la gangue.

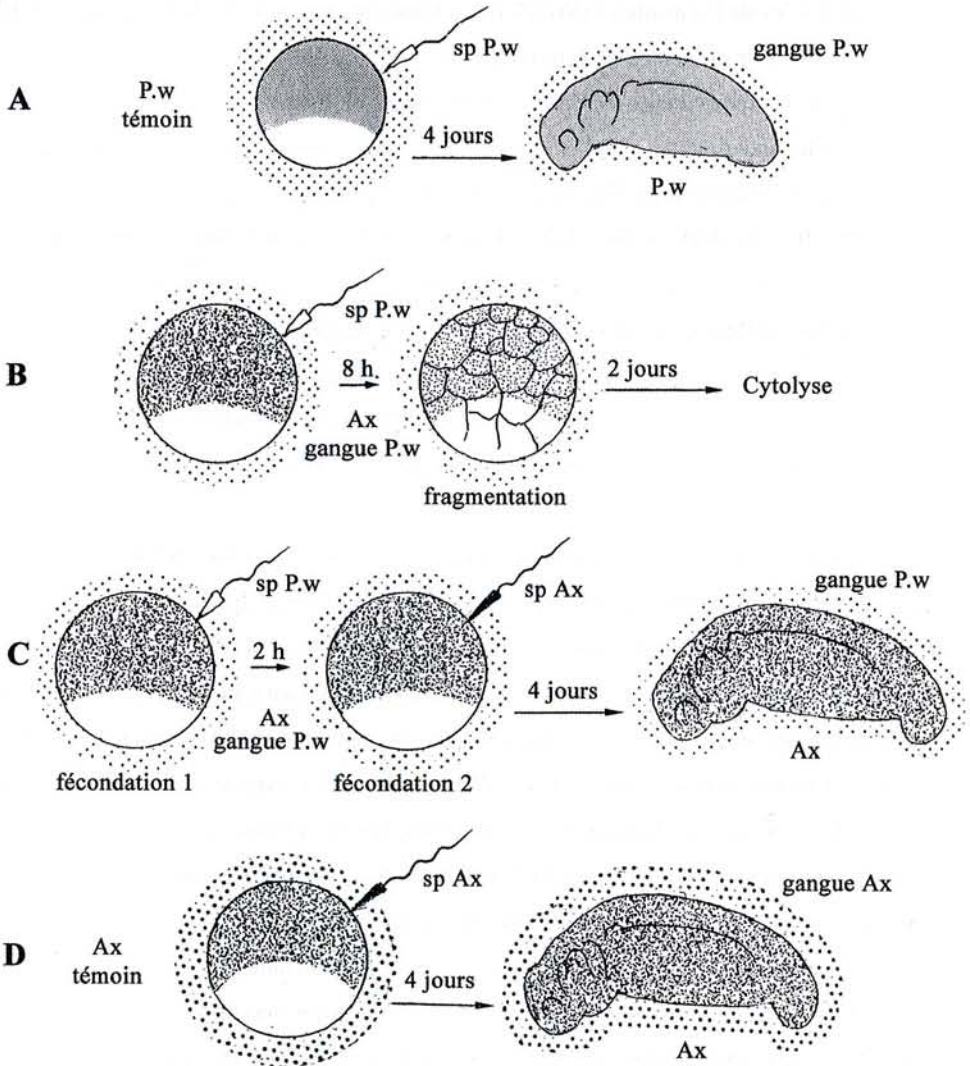


Figure 4 : Fécondation et développement des œufs issus des greffes embryonnaires et des transplantations ovariennes. **A :** fécondation d'un œuf de Pleurodèle émis par une femelle standard ou à la suite d'une allotransplantation ovarienne (fécondation témoin, développement normal). **B :** œuf d'Axolotl pondu par un Pleurodèle à la suite d'une xéngreffe embryonnaire ou d'une xénotransplantation ovarienne ; l'œuf d'Axolotl entouré d'une gangue Pleurodèle, est fécondé par un spermatozoïde de Pleurodèle ; il peut amorcer une segmentation (fragmentation) mais se cytolysé. **C :** même cas que le précédent. L'œuf d'Axolotl est fécondé par un spermatozoïde de Pleurodèle au moment de son émission (fécondation 1) puis il est fécondé artificiellement dans les deux à trois heures suivantes par un spermatozoïde d'Axolotl (fécondation 2). Cet œuf se développe alors normalement, cependant la jeune larve Axolotl éprouvera de grandes difficultés pour se débarrasser de sa gangue Pleurodèle au moment de

l'éclosion. **D** : fécondation d'un œuf d'Axolotl émis par une femelle standard (fécondation témoin, développement normal) ; sp. Ax : spermatozoïde d'Axolotl ; sp. P.w : spermatozoïde de Pleurodèle.

Figure 4: Fertilization and development of eggs arising from embryonic grafts and ovarian transplantations. **A**: fertilization of a *Pleurodeles* egg laid by a *Pleurodeles* female control or after an allogenic ovarian transplantation (control fertilization, *Pleurodeles* normal development). **B**: Axolotl egg laid by *Pleurodeles* after a xenogenic embryonic graft or a xenogenic ovarian transplantation; this Axolotl egg, surrounded by a *Pleurodeles* jelly, is fertilized by a *Pleurodeles* spermatozoon, the segmentation can begin (fragmentation) but cytolysis occurs 2 to 3 days later. **C**: same case as B; the Axolotl egg is fertilized by a *Pleurodeles* spermatozoon at the egg-laying time (fertilization 1), afterwards two or three hours later, the egg is artificially fertilized by an Axolotl spermatozoon (fertilization 2). This egg has a normal development, however the young larva will have some difficulties to emerge of its *Pleurodeles* jelly at the hatching time. **D**: fertilization of an Axolotl egg laid by an Axolotl female control (control fertilization, Axolotl normal development); sp.Ax: Axolotl spermatozoon; sp.P.w: *Pleurodeles* spermatozoon.

IV. DISCUSSION

Le premier objectif du présent travail était d'obtenir la tolérance d'ovaires placés expérimentalement dans un organisme étranger chez les Amphibiens Urodèles jusqu'à ce qu'ils deviennent fonctionnels. À la suite de recherches concernant l'histocompatibilité des xéno-greffes embryonnaires (Houillon 1976, Houillon *et al.* 1969), un premier type d'interventions a consisté à greffer sur des embryons des ébauches ovariennes présomptives. L'élargissement des expériences précédentes a consisté à transplanter des ovaires (xénotransplantations) d'un animal à un autre. Disposant d'animaux adultes avec des ovaires tolérés et fonctionnels, le second objectif était d'examiner le devenir des ovocytes dont la différenciation et l'accroissement se sont déroulés dans un environnement différent de leur milieu habituel.

1. Tolérance et évolution des xéno-greffes ovariennes embryonnaires

La tolérance des xéno-greffes embryonnaires, ici les ébauches ovariennes, a été interprétée sur la base d'une histocompatibilité relative entre les différentes espèces d'Urodèles. L'axolotl, considéré comme plus primitif, ne posséderait que les gènes d'histocompatibilité, et donc que les antigènes de transplantation communs à tous les autres Urodèles (Houillon 2001). D'où la remarquable tolérance des xéno-greffes embryonnaires d'Axolotl qui permet au Pleurodèle d'émettre des œufs d'Axolotl.

La combinaison sexuelle homosexuée receveur femelle - donneur femelle, est de toute évidence la mieux appropriée pour obtenir l'émission des œufs à partir de l'ébauche ovarienne greffée. Celle-ci évolue d'autant mieux que l'on pratique l'ablation de l'ovaire normal de

l'hôte situé du côté non-opéré afin que toute la sécrétion hypophysaire se reporte sur l'ébauche greffée. Cependant, l'émission d'œufs a été également obtenue à partir de certaines combinaisons hétérosexuées receveurs mâles - donneurs femelles. Chez celles-ci, l'ablation du testicule de l'hôte situé du côté non-opéré, s'avère encore plus nécessaire dans la mesure où la sécrétion testiculaire n'a pas définitivement perturbé la différenciation de l'ovaire greffé comme c'est habituellement le cas. En effet, la prévalence mâle est la règle dans les combinaisons hétérosexuées lorsqu'il s'agit de greffes entre individus de la même espèce. Mais lorsqu'il s'agit de greffes entre individus d'espèces différentes, il peut exister un décalage chronologique entre la différenciation sexuelle des gonades en présence. Ainsi dans le cas présent, la différenciation de l'ovaire d'*Axolotl* peut précéder la différenciation du testicule de *Pleurodèle*. Ou bien, sur un plan quantitatif, le testicule normal de l'hôte *Pleurodèle* aurait une sécrétion trop faible pour inhiber complètement la différenciation d'une volumineuse ébauche ovarienne *Axolotl*. Une fois la sécrétion testiculaire supprimée, l'ébauche greffée peut reprendre normalement son évolution ovarienne jusqu'à la maturité sexuelle.

2. Tolérance et évolution des xénotransplants de gonades

La reprise des ovaires juvéniles après leur transplantation chez les femelles ou les mâles castrés implique une faible antigénicité de ces organes. Cependant, l'antigénicité ovarienne n'est pas nulle comme l'attestent la tolérance dans 100% des cas des transplantations entre *Pleurodèles* d'une même lignée histocompatible alors qu'il y a des cas de non-tolérance entre *Pleurodèles* standard. Le rejet fut particulièrement bien observé dans plusieurs séries opératoires interspécifiques où des xénotransplants avaient un aspect rougeâtre par suite d'une forte infiltration d'éléments sanguins traduisant un violent rejet deux à quatre mois après l'intervention. La conséquence est le faible nombre d'animaux pourvus d'ovaires à l'état adulte dans certaines séries de xénotransplantations (tab. VI).

On constate une similitude entre la tolérance des xéno greffes embryonnaires et la tolérance des xénotransplants de gonades ; pour ces derniers, il s'agit aussi bien des ovaires que des testicules. Sans pouvoir en apporter la preuve directe en identifiant les antigènes en cause, on peut supposer que ces antigènes sont les mêmes, ou sont peu différents pour les xéno greffes et pour les xénotransplants. Quels qu'ils soient, de tels antigènes doivent être peu nombreux puisqu'ils n'empêchent pas de remarquables tolérances entre animaux qui

appartiennent à des espèces différentes. Une tolérance du même ordre a été également constatée à propos des parabioses et des chimères interspécifiques (Houillon 2001).

La maturité immunologique encore incomplète des receveurs interviendrait éventuellement dans la tolérance des xénotransplants ; il y a en effet davantage d'animaux pourvus d'ovaires chez les receveurs jeunes que chez les receveurs plus âgés (tab. VI). Cependant ce point ne peut guère être invoqué puisque chez le Pleurodèle par exemple, la maturité immunologique de greffe intervient vers l'âge de deux mois, bien avant la métamorphose (Charlemagne et Houillon 1968).

Il a déjà été indiqué que l'âge des ovaires xénogéniques transplantés n'intervenait pas dans leur tolérance : les ovaires d'Axolotl de quatre mois sont tolérés au même titre que ceux de huit mois, et même des ovaires adultes peuvent encore être tolérés comme c'est le cas pour des allotransplants ovariens chez le Pleurodèle (pl. III, fig. 13).

Les xénogreffes embryonnaires et les xénotransplants ovariens ayant un statut immunologique similaire pour la tolérance, il doit en être de même quand il s'agit du rejet. Pour cette raison, les xénogreffes de Pleurodèle et de Triton alpestre étant toujours rejetées par l'Axolotl, il devenait inutile de tenter des xénotransplantations ovariennes de Pleurodèle et de Triton alpestre chez l'Axolotl puisqu'elles seraient inéluctablement rejetées.

La meilleure évolution des ovaires qui contractent des adhérences avec le mésentère de la gonade de l'hôte qui vient d'être castré correspond à une meilleure revascularisation des transplants en position orthotopique. Lorsque les adhérences sont contractées avec la paroi péritonéale, le plus souvent au niveau de l'incision du flanc de l'animal, la vascularisation des téguments incisés est beaucoup plus faible, d'où un moindre apport des substances nécessaires à l'accroissement des ovocytes en position hétérotopique.

3. Pontes hétérologues

Une intervention aux stades embryonnaire ou juvénile n'acquiert toute sa valeur et son intérêt que dans la mesure où l'animal opéré atteint l'état adulte et présente une physiologie normale, ce qui permet d'envisager les conséquences de cette intervention. Dès lors que des ovaires issus des ébauches greffées et des xénotransplants évoluent jusqu'à la maturité sexuelle, il convient de connaître le devenir des ovocytes qui sont émis et éventuellement fécondés. Les animaux pourvus de tels ovaires sont mis à pondre avec des mâles de la même espèce comme dans les conditions naturelles ou reçoivent des injections d'hormones gona-

dotropes qui déclenchent artificiellement la ponte. Les injections hormonales furent cependant peu utilisées car les doses sont difficilement quantifiables et varient d'un animal à l'autre. De plus, quand une dose est efficace chez un animal donné, elle provoque toujours une ponte plus abondante que dans les conditions naturelles, entraînant ainsi une sorte d'“épuisement” des ovocytes de l'ovaire greffé ou transplanté, de sorte que par la suite, il n'est plus possible d'obtenir d'autres pontes. Cependant, on peut actuellement éviter cet inconvénient en injectant des facteurs hypothalamiques dont on ne disposait pas encore lors de la réalisation des expériences. Ces facteurs sont bien plus efficaces que les hormones hypophysaires gonadotropes quant à la prévision et à l'obtention d'une ponte à quelques heures près et surtout, les pontes obtenues n'“épuisent” pas le stock ovocytaire aussi bien chez le Pleurodèle que chez l'Axolotl. L'injection de tels facteurs fut utilisée pour obtenir des pontes en microgravité à partir de Pleurodèles embarqués dans la station spatiale Mir (Dournon 2002).

4. Fécondation

Il a été indiqué à propos de la ponte chez les Urodèles, que les ovocytes une fois expulsés dans la cavité générale, sont repris par l'ostium (pavillon) de l'oviducte dans lequel ils transitent en s'entourant d'une gangue muqueuse ; leur fécondation intervient lors du passage dans le cloaque par les spermatozoïdes qui s'y trouvent stockés après l'accouplement. Lorsqu'un Pleurodèle est pourvu d'une xénogreffe embryonnaire d'Axolotl réalisant la combinaison homosexuée femelle, il pond en même temps les œufs des deux espèces en cause. Les œufs de Pleurodèle sont fécondés par des spermatozoïdes de la même espèce et ont évidemment un développement normal. Mais les œufs d'Axolotl entourés d'une gangue de Pleurodèle, sont aussi fécondés par les spermatozoïdes de l'hôte Pleurodèle. Il n'est pas concevable qu'une telle fécondation entre espèces aussi différentes, puisse être suivie d'un développement normal. Néanmoins, les œufs d'Axolotl sont “fécondés” ou activés par les spermatozoïdes du Pleurodèle qui n'ont qu'à traverser une gangue homologue ; on observe parfois jusqu'à une dizaine d'impacts spermatiques à la surface de l'œuf. Une fragmentation du cytoplasme de l'œuf d'Axolotl apparaît cinq à six heures plus tard, dans le même délai que serait apparu le début de la segmentation s'il s'agissait d'une fécondation par un spermatozoïde d'Axolotl. Le nombre d'œufs en fragmentation varie selon les pontes : seulement 2 à 5% dans certains cas mais parfois jusqu'à 50%. Cette segmentation aberrante qui n'aboutit à

aucune amorce d'organogenèse, se termine par la cytolysse des œufs quelques jours plus tard.

Mais le phénomène le plus remarquable est que des œufs apparemment déjà "activés" une première fois par des spermatozoïdes hétérologues, peuvent encore être fécondés secondairement par des spermatozoïdes homologues dans l'heure et même dans les trois heures qui suivent. Ainsi les œufs d'Axolotl pondus par le Pleurodèle et entourés d'une gangue de Pleurodèle, peuvent malgré tout être fécondés artificiellement par des spermatozoïdes d'Axolotl. Dans ces conditions, ils présentent une segmentation tout à fait normale qui se poursuit par une organogenèse sans modification apparente. Ceci signifie que l'activation des œufs par des spermatozoïdes hétérologues ne modifie pas la normalité du développement s'ils sont ensuite fécondés plus ou moins rapidement par des spermatozoïdes homologues.

L'œuf d'Urodèle est naturellement polyspermique. Ainsi chez le Pleurodèle, il a pu être observé jusqu'à une vingtaine d'impacts spermatiques à la surface de l'œuf lors d'une ponte naturelle. Le blocage de la polyspermie serait long à s'établir chez l'Axolotl ou du moins serait peu efficace à la suite d'une activation par des spermatozoïdes de Pleurodèle puisqu'une fécondation pratiquée dans un second temps par des spermatozoïdes d'Axolotl entraîne un développement normal.

À noter qu'il est possible quelques mois après un accouplement normal, d'obtenir chez le Pleurodèle une seconde ponte fécondée induite par l'injection de facteur hypothalamique et cela en l'absence de mâle. En effet, des spermatozoïdes provenant de l'accouplement naturel sont stockés dans les glandes cloacales de la femelle et encore fonctionnels 3 à 4 mois après l'accouplement initial. La fécondation de la seconde ponte se vérifie commodément en observant la présence d'impacts spermatiques puis le développement embryonnaire. Le pourcentage de développement de la seconde ponte est souvent peu différent de celui de la première (Aimar *et al.* 2000).

5. Développement des œufs issus des pontes hétérologues

La gangue muqueuse hétérologue qui se dépose autour des œufs d'Axolotl au cours de leur transit dans les oviductes de Pleurodèle, ne modifie pas le pouvoir fécondant des spermatozoïdes d'Axolotl. Qu'elle soit homologue ou hétérologue, la gangue muqueuse aurait la même action sur la capacitation des spermatozoïdes chez les Urodèles.

Cependant, les jeunes larves d'Axolotl rencontrent des difficultés pour se libérer de la gangue de Pleurodèle au moment de l'éclosion ; la plupart d'entre elles périraient si la

gangue n'était pas dilacérée manuellement. On est en présence ici d'une notion originale selon laquelle il y aurait une spécificité des substances impliquées dans la digestion de la gangue au moment de l'éclosion.

L'obtention d'Urodèles susceptibles de pondre les œufs d'une autre espèce avait pour idée sous-jacente une modification éventuelle du développement des individus issus de ces œufs. Or, les Axolotls ainsi obtenus ne présentent pas de différences évidentes par rapport aux Axolotls standard. Les diverses étapes de l'organogenèse se déroulent normalement et les animaux atteignent la maturité sexuelle dans les délais habituels. Cependant le développement n'a pas été suivi d'une manière approfondie, on s'est contenté de suivre l'apparition et la normalité des stades. Peut-être aurait-il été judicieux d'étudier la descendance de tels animaux, ce qui n'a pu être entrepris faute de moyens...

Les ovaires juvéniles transplantés à l'âge de 5-6 mois renfermaient des ovocytes qui n'étaient qu'au début de leur accroissement. La majeure partie de l'accroissement, en particulier l'accumulation du vitellus au cours des 12 à 15 mois qui précèdent la ponte, s'est donc effectuée dans l'organisme étranger hôte. Le vitellus qui s'accumule dans un ovocyte d'Axolotl est synthétisé ici par un foie de Pleurodèle sans pour autant entraîner d'anomalies du développement de cet œuf. Les quelques protéinogrammes qui ont été réalisés, n'ont pas révélé de modifications particulières.

Encore plus énigmatique est le développement apparemment normal des œufs issus des xénogreffes d'ébauches ovariennes. La différenciation sexuelle s'effectue sans modification surtout s'il s'agit d'une combinaison homosexuée femelle. Et pourtant, tous les phénomènes de cytodifférenciation qui vont de la cellule germinale primordiale jusqu'à l'ovocyte définitif apte à être fécondé, se déroulent dans l'organisme du Pleurodèle, c'est le cas notamment pour la préméiose qui intervient vers l'âge de trois mois et qui est suivie par toutes les étapes de l'accroissement. Sans pouvoir en imaginer le mécanisme, on aurait pu concevoir que des informations spécifiques émanant de l'hôte Pleurodèle, se seraient intégrées dans l'œuf Axolotl! Serait-il inapproprié de parler ici de tentatives de transgenèse naturelle?

Chez les Amphibiens, au cours des phases d'accroissement des ovocytes et en particulier au cours de la vitellogenèse, les molécules à l'origine du vitellus stocké dans les ovocytes, sont synthétisées par le foie de la femelle. Ces molécules sont transportées dans l'ovaire par la circulation sanguine. Dans les expériences présentées, les ovocytes d'Axolotl ont effectué tout leur accroissement, et même pour certains, toute leur cytodifférenciation depuis

le stade ovogonie, dans l'organisme d'un Pleurodèle. Les résultats montrent clairement que les molécules exogènes synthétisées par le foie du Pleurodèle contribuent au développement de l'embryon d'Axolotl sans pour autant l'affecter. Le séquençage de ces molécules pourrait permettre leur comparaison et mettre probablement en évidence de légères différences.

La faible antigénicité des ovaires d'Urodèles qui permet le succès de leur transplantation et leur fonctionnalité, pourrait conduire à des recherches originales chez les Amphibiens. Adapté aux Vertébrés supérieurs, ce type d'intervention, du moins entre individus de la même espèce, pourrait être un moyen pour améliorer la reproduction des espèces menacées de disparition. Et si, en dehors de considérations éthiques évidentes, l'allotransplantation d'ovaires pouvait se concevoir comme un moyen de pallier la stérilité féminine quand elle a pour cause des anomalies ovariennes...

Remerciements. Grâce à l'obligeance du Professeur Alain Dubois et de Madame Annemarie Ohler, les pièces anatomiques des diverses expériences ont pu être classées et conservées en zoothèque où elles sont enregistrées sous les numéros de collection MNHN 1997, 6600-8200 au laboratoire des Reptiles et Amphibiens du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris. Mes remerciements vont également à Madame Monique Guimonneau pour la dactylographie et à Monsieur Claude Pieau pour ses conseils et son aide efficace dans la rédaction de cet article.

V. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aimar C., Bautz A., Durand D., Membre H., Chardard D., Gualandris-Pariset L., Husson D. & Dournon C. 2000 - Microgravity and hypergravity effects on fertilization processes in the salamander *Pleurodeles waltl*. *Biol. Reprod.*, 63 : 551-558.

Ambrosius H. 1962 - Heteroplastische Gonadentransplantationen bei Urodelen. *Wiss. Z. Karl-Max- Univ. Leipzig, Math.-Nat. R.*, 11 : 57-100.

Blackler A.W. & Gecking C.A. 1972a - Transmission of sex germ cells of one species through the body of a second species in the genus *Xenopus*. I. Intraspecific matings. *Develop. Biol.*, 27 : 376-384.

Blackler A.W. & Gecking C.A. 1972b - Transmission of sex germ cells of one species through the body of a second species in the genus *Xenopus*. II. Interspecific matings. *Develop. Biol.*, 27 : 385-394.

Charlemagne J. & Houillon Ch. 1968 - Effets de la thymectomie larvaire chez l'Amphibien Urodèle, *Pleurodeles waltlii* Michah. Production à l'état adulte d'une tolérance aux homogreffes cutanées. *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, 267 : 253-256.

Charlemagne J. & Tournefier A. 1974 - Obtention of histocompatible strains in the Urodele Amphibian *Pleurodeles waltl* Michah. (Salamandridae). *J. Immunogenetics*, 1 : 125-129.

Collenot A. 1973 - Obtention, par la méthode des greffes embryonnaires, d'une femelle à descendance unisexuée femelle, chez le Triton *Pleurodeles waltlii* Michah. *Experientia*, 29 : 885-887.

Dournon C. 2002 - Les Amphibiens dans la recherche scientifique contemporaine : fécondation et développement du *Pleurodeles waltl* (Amphibien Urodèle) à bord de la station spatiale MIR. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 104 : 5-15.

Dournon C., Aimar C., Bautz A., Ropars A. & Houillon C. 1997 - Grafts of ovaries in males and females of *Pleurodeles waltl* (urodele amphibia): evidence of a long-term tolerance of allografts ; application following a space biology experiment. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 37 : 637-649.

Gallien L. & Durocher M. 1957 - Table chronologique du développement chez *Pleurodeles waltlii* Michah. *Bull. Biol. Fr. Belg.*, 91 : 97-114.

Houillon Ch. 1967 - Greffes embryonnaires de peau entre *Ambystoma mexicanum* Shaw, *Pleurodeles waltlii* Michah. et *Triturus alpestris* Laur. : phénomènes de tolérance et de rejet. *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, 264 : 834-837.

Houillon Ch. 1972 - Tolérance des greffes ovariennes entre espèces différentes chez les Amphibiens Urodèles ; conséquences sur l'émission de pontes hétérologues. *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, 274 : 2790-2793.

Houillon Ch. 1973 - Greffes de gonades embryonnaires entre les Amphibiens Urodèles, *Pleurodeles waltlii* Michah. et *Ambystoma mexicanum* Shaw ; conséquences sur l'émission de pontes hétérologues. *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, 277 : 2245-2248.

Houillon Ch. 1975 - Évolution des xéno-greffes de gonades embryonnaires et des ovaires juvéniles d'*Ambystoma mexicanum* Shaw, transplantés sur *Triturus alpestris* Laur. *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, 281 : 171-174.

Houillon Ch. 1976 - Greffes de gonades embryonnaires entre espèces différentes chez les Amphibiens Urodèles. *Bull. Soc. Zool. France*, 101, supp. 4, *Différenciation sexuelle* : 108-114.

Houillon Ch. 2001 - Quatre décennies d'expérimentation embryologique chez les Amphibiens Urodèles. *Alytes*, 18(3-4) : 97-126.

Houillon Ch. 2002 - Formation de tératomes après l'implantation d'embryons dans la cavité générale chez les Amphibiens Urodèles. *Bull. Soc. Herp. Fr.*, 102 : 5-42.

Houillon Ch. & Bagnara J.T. 1996 - Insights into pigmentary phenomena provided by grafting and chimera formation in the axolotl. *Pigment Cell Res.*, 9 : 281-288.

Houillon Ch., Tournefier A. & Charlemagne J. 1969 - Antigénicité relative des hétéro-greffes embryonnaires de tégument chez les Amphibiens Urodèles : *Ambystoma mexicanum* Shaw, *Triturus helveticus* Raz., *Triturus alpestris* Laur. et *Pleurodeles waltlii* Michah. *C. R. Acad. Sci. Paris*, série D, 268 : 2982-2985.

Humphrey R.R. 1928 - The developmental potencies of the intermediate mesoderm of *Ambystoma* when transplanted into ventrolateral sites in other embryos : the primordial germ cells of such grafts and their role in the development of a gonad. *Anat. Rec.*, 40 : 67-101.

SchreckenberG G.M. & Jacobson A.G. 1975 - Stades du développement de l'Axolotl, *Ambystoma mexicanum* Shaw. *Develop. Biol.*, 42 : 391-400.

Manuscrit accepté le 21 octobre 2003.

***In memoriam* Dr. Olivér György DELY (1927-2003)**

by
Zoltán KORSÓS

*Department of Zoology, Hungarian Natural History Museum
H-1088 Budapest, Baross u. 13, Hungary
Email: korsos@zoo.zoo.nhmus.hu*

It is with deep regret that we announce that one of the last professional scientific student of Hungarian herpetology, rebuilder and curator of the herpetological collection in the Hungarian Natural History Museum, author of the basic textbooks (*Fauna Hungariae*) of Hungarian amphibians and reptiles, Dr. Olivér György DELY, has passed away after a long suffering on the 19th of November, 2003.

Olivér György DELY was born on the 27th of April, 1927, in Nagyszalonta (= Salonta, today in County Bihor, Romania). His loving addiction to his homeland, Transylvania, accompanied him during his entire life. He lost his father, Géza DELY, at the age of 7, whose influence on his life was determining. His mother, Mária BAJOR, a retired schoolteacher, brought up the two brothers, Alajos (later a dermatologist doctor) and Olivér, with hard work. There were also two important friends, his uncle, Andor DELY, and the Trianon diplomat, Iván PRAZNOVSZKY, who partly replaced his father. As a result of the support of the entire family, the two boys both became well-known, educated persons, and found their place in the world.

He studied in the schools of Nagyvárad (= Oradea) and Nagyszalonta, but World War II broke his studies with a short captivity in a Russian prison camp during his military service. He made the final exam already in a Budapest secondary school in 1946. In the same year he started to study museology at the Faculty of Arts, Péter Pázmány (later Budapest) University, where he graduated in 1950. He began to work in the herpetological collection of the Department of Zoology, Hungarian Natural History Museum (HNHM), Budapest. At that time, there were two herpetologists in the Museum from whom DELY could learn: Mrs. Aranka Mária FEJÉRVÁRY-LÁNGH was curator of the collection, and István BOROS was general director. The latter, having studied in the Soviet Union, was a faithful communist, having humanist relations with other people. Later DELY and BOROS wrote three papers together on the greatest Hungarian herpetologists (on Lajos MÉHELY, Géza Gyula FEJÉRVÁRY, and István BOLKAY). Olivér DELY became senior curator for the herpetological collection in 1952, and remained so until the end of his life.

The fall of 1956 brought a political revolution to Hungary, when during the Budapest confrontations between Hungarian revolutionists and the Russian troops resulted in a tragic

attack against the National Museum, and later the Department of Zoology of the HNHM. In the big fire caused by a shell, the entire herpetological collection was almost destroyed, more than 40 thousand specimens in alcohol (including the Méhely-types) burnt to ashes (Boros 1957). After the end of the revolution, it was completely DELY's task (and later his merit) to rebuild the collection. The Museum received many donations from other European museums (e.g. Berlin, Prague, St-Petersburg), but it was the tireless work of Olivér DELY, accompanied by his faithful assistant, Mrs Elisabeth Öry, which increased the collection number from almost nothing to the present 16,000 specimens.

Unfortunately, not only the entire collection but also all the scientific manuscripts of the young scientist and the material based for it was destroyed in the fire of 1956. Olivér DELY had to start his work again, and it took 8 more years for him to finish his dissertation for the Candidate of Science degree. Finally, he received this title from the Hungarian Academy of Sciences in 1965 for his taxonomical and ecological studies on the Hungarian populations of the Alpine Newt (*Triturus alpestris*).

To partly replace the loss caused in the collection in 1956, DELY conducted the first Hungarian expedition into Egypt in 1957. In 1973, he participated to another expedition into the Algerian Sahara, where he suffered a serious accident during a night collecting. A shotgun injured his left leg, and the healing lasted for almost two years. Unfortunately, he could never completely recovered, and the consequences of this accident (including the break of his leg three times) influenced later his entire life.

Olivér György DELY married to Ágnes DRASKOVITS in 1965, who also worked in the Hungarian Natural History Museum as a specialist on *Diptera*. They were together on an expedition to North Korea in 1978, on the fourth of a series of 22 conducted by the HNHM, which created a world-wide reputation of the accumulated East Asiatic material in this institution.

Despite all the difficulties in his life, Dr. DELY was a real professional herpetologist, whose work and merits were admired in whole Europe. In a pioneer manner, he organised the First Herpetological Conference of the Socialist Countries in 1981, which actually became a forum of this field of zoology for 47 representatives from 14 countries, including among others, the United States, France, Germany, Austria and Russia. Ten years after, in 1991, he was elected to be the honorary President of the 6th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica, held also in Budapest.

Dr. DELY has published altogether 83 scientific papers (in German, French, English and Hungarian), and although this number is not exceptionally high, there can be no doubt about the scientific accuracy, credit and work-out of his publications. He has learned the details, exact observations and descriptions, causal explanations and careful evaluations from the greatest Hungarian herpetologists (MÉHELY, BOLKAY, FEJÉRVÁRY), thus becoming their deserved follower. His papers – with a few exceptions – are dealing with members of the Hungarian herpetofauna; DELY's authentic purpose was to elaborate all of its species from the taxonomical and systematic points of view. His favourite subject was to investigate the morphological variability at the individual and population levels; he measured body size

parameters, counted scale rows, and drew head shield patterns, in order to clarify questions of microevolution of co-existing and isolated amphibian and reptile populations.

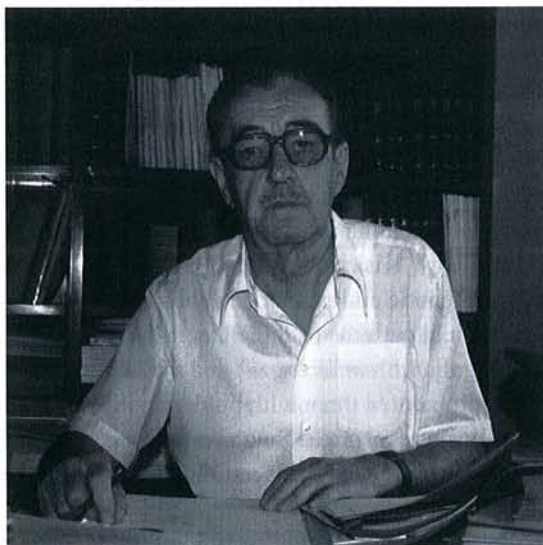
In his dissertation for the Candidate of Science degree, he described four new subspecies of the Alpine Newt from Hungary (*Triturus alpestris bakonyiensis*, *bükkiensis*, *carpathicus*, and *sátoriensis*). These forms, however, were not accepted later as valid taxa. He elaborated in separate publications the following species of the Hungarian herpetofauna: *Rana arvalis wolterstorffi*, *Salamandra salamandra*, *Lacerta* (= *Zootoca*) *vivipara*, *Lacerta* (= *Podarcis*) *taurica*, *Anguis fragilis*, *Coluber caspius*, *Vipera berus* and *Vipera ursinii rakosiensis*; listed their distribution records, and discussed the population variability and zoogeographical history in some cases. He contributed to the great European herpetological book series initiated in the '80-ies (*Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas*, edited by W. BÖHME) with two chapters on *Lacerta vivipara* and *Anguis fragilis*. He wrote the appropriate papers on amphibians and reptiles in the scientific results of the work of HNHM in three of the Hungarian National Parks (Hortobágy, Kiskunság and Bükk), as well as the Bátorliget Nature Reserve. Together with his genetic colleague Dr. Gábor STOHL, they established hereditary morphotypes in the head shield patterns of three lacertid lizard species (*Zootoca vivipara*, *Podarcis taurica*, the Mongolian *Eremias argus*) and the Hungarian meadow viper (*Vipera ursinii rakosiensis*), and commented them with phylogenetic considerations. He also published papers on some exotic reptiles: on the South American amphisbaenid *Anops kingii*, the Egyptian turtle *Pelomedusa subrufa*, and the lacertid genus *Eremias*, based on the collection by Z. KASZAB from Mongolia.

The two books in the academic series *Fauna Hungariae* can undoubtedly be considered as his most important contributions to Hungarian herpetology (*Amphibia*, 1967, and *Reptilia*, 1978). These were, and still are, the most comprehensive scientific summaries of all the amphibian and reptile species in the Carpathian Basin. They are sought after books in whole Europe, despite the fact that they were written only in Hungarian.

In 1959 Olivér DELY initiated, and later edited, all the subsequent 23 volumes of the Museum's periodical *Vertebrata hungarica*. He put a lot of effort into the editorial work of this journal, filled it with high-standard articles written by himself and well-known colleagues, and it was a great pity for him when in 1989, mainly on financial reasons, the publication had to be stopped. He always admired the literature of his predecessors, collected their publications with great honour, and paid attention to remember and understand their life and activities. He was a real tradition-making character who followed many old traditions himself. "Honesty, honour, commitment, patriotism" were all the cornerstones of his way of thinking.

As long as he could make it, he regularly visited the Museum, and tried to maintain a good and up-to-date relationship with his herpetologist students, followers, and foreign colleagues. Even during the last months of his life, painfully struggling with the consequences of the 1973 accident and his former heavy smoking habit abandoned long time ago, he wanted to organise his reprint library, and planned to prepare herpetological works for final publication. To the people surrounding him, he has handed over not only the professional bases of

herpetology, the modesty, correctness and objectivity which are needed to be a scientist, but has also shown an example to follow in honesty and strength of character. He had an exceptionally wide culture, and with his far-reaching trains of thought, long afternoon talks, almost speeches provided such a picture on a hard, already vanished epoch, which we will never forget.



Dr. Olivér György DELY
(photo by Ferenc MIHÁLYI, 1988)

Société Herpétologique de France

Association fondée en 1971, agréée

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

CONSEIL D'ADMINISTRATION (2002-2003)

Président : Claude PIEAU, Institut Jacques-Monod, Département Biologie du Développement
2 place Jussieu, Tour 43, 75251 Paris cedex 05

Vice-Présidents : Bernard LEGARFF, Université de Rennes 1,
Laboratoire Évolution des Systèmes naturels et modifiés, 35042 Rennes
Claude MIAUD, Université de Savoie,
UMR CNRS 5553, Laboratoire d'Écologie alpine, 73376 Le Bourget du Lac

Secrétaire générale : Michelle GARAUDEL, impasse de l'Église, 35450 Mece

Secrétaire adjoint : Franck PAYSANT, 1 rue Jean-Bruletou, 35700 Rennes

Trésorier : Frédéric TARDY, Réserve africaine, 11130 Sigean

Trésorier adjoint : Francis MULLER, 2 rue de Champagne, 54470 Pannes

Autres membres du Conseil : Roland SIMON, Roland VERNET, Bernard THORENS, Alain VEYSSET

Membres d'honneur : Guy NAULLEAU, CEBAS/CNRS, 79360 Chize
Gilbert MATZ, Faculté des Sciences, 49045 Angers

ADRESSES UTILES

Responsable de la rédaction : C. MIAUD, Université de Savoie, UMR CNRS 5553, Laboratoire d'Écologie alpine, 73376 Le Bourget du Lac. claudemiaud@univ-savoie.fr

Responsable de la commission de Répartition : J. LESCURE, Laboratoire Amphibiens-Reptiles, Muséum national d'Histoire naturelle, 25 rue Cuvier, 75005 Paris

Responsable de la commission de Protection : Francis MULLER, 2 rue de Champagne, 54470 Pannes

Responsable de la commission de Terriophilie : R. SIMON, 12 rue Q.M.-Bondon, 29470 Plougastel Daoulas

Responsable du groupe Cistude : A. VEYSSET, 3 rue Archimède, 91420 Morangis. emys@aol.com

Responsable des archives et de la bibliothèque : G. MATZ, Université d'Angers, Laboratoire de Biologie animale, 2 boulevard Lavoisier, 49045 Angers cedex

Responsable du Club Junior : F. SERRE-COLLET, 35 rue Edouard-Vaillant, 94140 Alfortville

Site internet : <http://SHF.JUNIOR.FREE.FR> - Email : shfjunior@wanadoo.fr

Responsable du Groupe Communication-Information : Y. DURKEL, Résidence Bellevue, 63 bd de Las Planas, 06100 Nice ivan.durkel@wanadoo.fr

Site internet : <http://www.societeherpetologiquedefrance.asso.fr>

ADMISSIONS : Les admissions à la SHF 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 2003 / MEMBERSHIPS

Tarifs (France, Europe, Afrique)	Taux annuel		Bulletin		Total
adhérents de moins de 25 ans	15,5	+	16	=	31,5 €uros
adhérents de plus de 25 ans	20	+	20	=	40 €uros
bienfaiteurs : minimum				=	60 €uros
membre conjoint				=	23,5 €uros
club junior				=	19 €uros
Tarifs (Amérique, Asie, Océanie)	31	+	30	=	62 US \$

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

Modalités de paiement : 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)

