

EMBRYOLOGIE EXPÉRIMENTALE. — *Isojumeaux multiples obtenus chez le Triton Pleurodeles waltlili Michah. par greffe nucléaire.* Note (\*) de MM. LOUIS GALLIEN, Membre de l'Académie et CHRISTIAN AIMAR.

La méthode de la greffe nucléaire a permis d'obtenir chez *P. waltlili* des séries d'isojumeaux multiples. Pour chaque série tous les individus dérivent du même noyau de fécondation du germe donneur. Ils sont du même sexe. Il a été obtenu des séries unisexuées mâle ou femelle.

Dans sa manifestation classique, la gémellarité correspond à deux types. Dans le cas le plus banal, il peut s'agir, chez les Mammifères par exemple, de jumeaux provenant d'œufs d'une même femelle, ovulés simultanément et dont chacun a été fécondé par un spermatozoïde provenant d'une même éjaculation d'un mâle. Dans ces conditions, les jumeaux ne sont pas génétiquement identiques et les deux sexes peuvent être présents. Les jumeaux ont la valeur de frères et de sœurs ordinaires. Il y a seulement simultanéité des naissances. Chez les jumeaux monozygotiques ou jumeaux vrais, il s'agit d'un seul œuf, fécondé par un seul spermatozoïde, qui normalement (Tatous), ou exceptionnellement, donne naissance à plusieurs individus. Ceux-ci ont même constitution génétique, ils sont de même sexe. On peut les qualifier d'isojumeaux.

La méthode de la greffe nucléaire, appliquée aux Amphibiens, permet d'obtenir un type un peu différent de gémellarité. Les noyaux greffés proviennent des blastomères d'un seul germe. Le génome de ces jumeaux, pour des noyaux blastuléens, est identique, sauf accident provoqué au cours de la transplantation. L'œuf récepteur peut être fourni, soit par une même femelle, soit par des femelles différentes de la même espèce, soit par des femelles de races ou d'espèces voisines. Ce type d'expérience permet d'analyser le rôle éventuel du cytoplasme maternel dans l'expression de constitutions nucléaires identiques.

La production de tels jumeaux a été obtenue dans un petit nombre d'espèces d'Amphibiens et dans les meilleurs cas, l'analyse du sexe de la descendance a pu être suivie lorsque les jeunes ont vécu assez longtemps pour atteindre par exemple la métamorphose et finalement l'état adulte, Gurdon [(<sup>1</sup>), (<sup>2</sup>), (<sup>3</sup>)] a ainsi obtenu des jumeaux multiples génétiquement identiques adultes chez *Xenopus laevis laevis*, et à la suite de combinaisons nucléocytoplasmiques intraspécifiques entre *X. laevis laevis* et *X. laevis victorianus*. Mc Kinnel (<sup>4</sup>) a réalisé des transplantations nucléocytoplasmiques intraspécifiques chez *Rana pipiens*.

Nous avons chez l'Urodèle *Pleurodeles waltlili* abordé ce problème de la production d'isojumeaux pour analyser en particulier la nature de leur sexe.

*Protocole expérimental.* — La greffe nucléaire a été réalisée selon la technique de Signoret, Briggs et Humphrey (<sup>5</sup>) appliquée antérieurement au Pleurodèle (Signoret et Picheral) (<sup>6</sup>). Le germe donneur pour chaque série est constitué par une blastula, ou une jeune gastrula. Les blastomères sont dissociés. C'est parmi ceux-ci que sont prélevées les cellules endodermiques dont le noyau sera greffé. Ainsi tous les noyaux sont des descendants du noyau initial de fécondation.

Dans notre expérience, les germes récepteurs sont constitués par les œufs provenant d'une même ponte d'une seule femelle. Dans un seul cas, nous avons utilisé les œufs de deux femelles, sans conséquence observable.

Après l'opération, les germes qui évoluent en blastulas normales sont retenus et élevés. La différenciation sexuelle est achevée après la métamorphose et le sexe des gonades peut être identifié sans aucune ambiguïté à partir du quatrième mois. Nos observations ont porté sur des animaux qui ont dépassé cet âge et ont été sacrifiés entre quatre et dix mois. 21 séries opératoires réalisant les conditions ci-dessus, ont été faites dont 11 nous ont fourni des isojumeaux multiples. Le tableau I résume les résultats.

*Analyse des résultats.* — Pour sept séries d'opérations, groupant 103 blastulas dont 22 ont évolué au-delà de la métamorphose et dont le sexe a pu être observé, la descendance a été constituée uniquement de mâles. Pour quatre séries, groupant 94 blastulas, dont 13 ont évolué dans les mêmes conditions, la descendance fut uniquement femelle.

Le fait que le nombre des séries à descendance mâle (sept séries), diffère de celui à descendance femelle (quatre séries) ne signifie pas que la *sex-ratio* des donneurs était aberrante. En effet, pour dix séries opératoires non retenues, parce que, pour chacune d'elles, un seul individu a pu être élevé assez longtemps pour identifier le sexe, nous avons obtenu respectivement, dans six cas, une femelle, dans quatre cas, un mâle. Ceci montre qu'au total pour les 21 germes ayant fourni les noyaux greffés, 10 étaient génétiquement femelles, 11 génétiquement mâles.

L'observation des jeunes animaux a de plus révélé les faits suivants :

— la durée de la vie larvaire présente quelques variations selon les diverses séries d'isojumeaux. Elle est en règle générale assez constante pour une série donnée.

— Pour chaque série d'isojumeaux, la croissance et la taille se révèlent homogènes.

— Dans une série donnée, la répartition et la forme des taches pigmentées appréciées pour une aire donnée (celle du dos, entre la tête et les pattes postérieures), ne sont pas uniformes. La définition de ce critère sur le Pleurodèle est assez difficile étant donné le nombre et l'irrégularité du contour des taches. Il reste cependant que l'examen d'une zone limitée très précise ne montre pas de correspondance rigoureuse entre les taches

TABLEAU I.  
*Isojumeaux multiples par greffe nucléaire chez le Pleurodèle.*

| N°<br>des<br>séries.        | Nombre<br>de<br>blastulas<br>normales. | Nombre<br>de larves<br>à la<br>prise de<br>nourriture. | Nombre<br>de<br>larves<br>méta-<br>morphosées. | Nombre<br>d'individus<br>à sexe<br>différencié<br>(4 à<br>10 mois). | Sexe. |    |
|-----------------------------|--|--|--|---|-------|----|
|                             |  |  |  |   | ♂     | ♀  |
| Descendance<br>unisexuée ♂. | 4.....                                 | 25   | 4  | 4   | 4     | 4  |
|                             | 5.....                                 | 17   | 4  | 4   | 4     | 6  |
|                             | 8.....                                 | 5  | 2  | 2   | 2     | 2  |
|                             | 9.....                                 | 23   | 4  | 4   | 4     | 4  |
|                             | 10.....                                | 10   | 4  | 4   | 3     | 3  |
|                             | 11.....                                | 4  | 2  | 2   | 2     | 2  |
|                             | 12.....                                | 19   | 4  | 3   | 3     | 3  |
| Descendance<br>unisexuée ♀. | 2.....                                 | 38   | 5  | 4   | 3     | 3  |
|                             | 3.....                                 | 16   | 2  | 2   | 2     | 2  |
|                             | 7.....                                 | 21   | 5  | 4   | 4     | 4  |
|                             | 13.....                                | 19   | 6  | 5   | 4     | 4  |
| TOTAUX.                     | Séries ♂.....                          | 103  | —  | 24  | —     | 22 |
|                             | * ♀.....                               | 94   | —  | 18  | —     | 13 |
|                             |  |  |  |   | —     | —  |
|                             |  |  |  |   | 22    | 13 |

pigmentées du dos. Il existe donc une certaine variation de l'expression phénotypique dans la répartition et le groupement des chromatophores chez les isojumeaux.

Il convient de retenir dans les expériences de greffe nucléaire, qu'on ne peut exclure un accident chromosomique affectant le génome lié à l'opération même (Gallien et coll.) (\*). Une telle situation ne s'est pas présentée dans nos expériences.

*Conclusions.* — La méthode de la greffe nucléaire permet d'obtenir chez *P. walilii* des isojumeaux qui ont tous reçu un noyau descendant du noyau de fécondation initial. Pour chaque série, les descendants sont du même sexe. Selon les séries ceux-ci sont tous mâles ou tous femelles.

(\*) Séance du 24 janvier 1966.

(<sup>1</sup>) J. B. GURDON, *Heredity*, 16, 1961, p. 305-315.

(<sup>2</sup>) J. B. GURDON, *Dev. Biol.*, 4, 1962, p. 256-273.

(<sup>3</sup>) J. B. GURDON, *J. Hered.*, 53, 1962, p. 5-10.

(<sup>4</sup>) R. G. MC KINNELL, *J. Hered.*, 53, 1962, p. 199-207.

(<sup>5</sup>) J. SIGNORET, R. BRIGGS, et R. R. HUMPHREY, *Dev. Biol.*, 4, 1962, p. 134-164.

(<sup>6</sup>) J. SIGNORET et B. PICHERAL, *Comptes rendus*, 254, 1962, p. 1150.

(<sup>7</sup>) L. GALLIEN, M. LABROUSSE, B. PICHERAL et J. CL. LACROIX, *Rev. Suisse Zool.*, 72, 1965, p. 59-85.