

BULLETIN MENSUEL

DE LA

SOCIÉTÉ LINNÉENNE

DE LYON

SOCIÉTÉ DE SCIENCES NATURELLES, RECONNUE D'UTILITÉ PUBLIQUE



33 rue Bossuet, F 69006 LYON

SOMMAIRE

ANJUBAULT E. et EXBRAYAT J.-M. – Contribution à la connaissance de l'appareil génital de <i>Typhlonectes compressicauda</i> (Duméril et Bibron, 1941), Amphibien Gymnophione. I. Gonadogenèse	379
ANJUBAULT E. et EXBRAYAT J.-M. – Contribution à la connaissance de l'appareil génital de <i>Typhlonectes compressicauda</i> (Duméril et Bibron, 1941), Amphibien Gymnophione. II. Croissance des gonades et maturité sexuelle des mâles.	393
GOMY Y. – Contribution à la connaissance des Histeridae de la République du Yémen (Coleoptera)	406
MACQUERON G. et J.-L. — Compte rendu de la sortie de la section botanique dans le Var, les 29, 30, 31 mai 2004	373
Analyse d'ouvrage	372
Table des matières	421

CONTENTS

ANJUBAULT E. et EXBRAYAT J.-M. – Gonadogenesis in <i>Typhlonectes compressicauda</i> (Duméril et Bibron, 1941), Amphibia Gymnophiona	379
ANJUBAULT E. et EXBRAYAT J.-M. – Growth and sexual maturity in <i>Typhlonectes compressicauda</i> males, Amphibia Gymnophiona	393
GOMY Y. – A contribution to the knowledge of Histeridae (Coleoptera) of the Yemen Republic ...	406
Book review	372

Contribution à la connaissance de l'appareil génital de *Typhlonectes compressicauda* (Duméril et Bibron, 1841), Amphibien Gymnophione.

II. Croissance des gonades et maturité sexuelle des mâles.

Elisabeth Anjubault et Jean-Marie Exbrayat

Laboratoire de Biologie générale, Université catholique et Laboratoire de Reproduction et Développement des vertébrés, Ecole Pratique des Hautes Etudes 25, rue du Plat, F 69288 Lyon Cedex 02.

Résumé. – Le but de ce travail a été de préciser l'acquisition de la maturation sexuelle de *Typhlonectes compressicauda* mâle, par une étude des gonades, des canaux de Müller et du cloaque. La première année qui suit la naissance est consacrée à la croissance des organes génitaux, un premier cycle de reproduction est ébauché à l'âge de 1,5 an et la maturité sexuelle est effective à l'âge de 2,5 ans. La présence de testostérone a été détectée d'abord dans les cellules somatiques entourant les spermatogonies, à la naissance de l'animal, puis dans les cellules de Leydig, comme chez les adultes.

Growth and sexual maturity in *Typhlonectes compressicauda* males, Amphibia Gymnophiona

Summary. – The purpose of this work was to precise growth and maturity of sexual organs (testes, mullerian glands and cloaca) in male *Typhlonectes compressicauda*. First year after birth is devoted to growth of these organs. A first inefficient sexual cycle is observed in 1.5 year old animals. Sexual maturity occurs in 2.5 years old animals. At birth, presence of testosterone has been detected in somatic cells surrounding spermatogonia. Then testosterone is observed in Leydig cells like in adult animals.

I - INTRODUCTION

Les Gymnophiones sont des Amphibiens à la répartition intertropicale caractérisés par une forme allongée, l'absence de membres et de ceintures, possédant des mœurs, fouisseuses terrestres ou aquatiques. Peu d'espèces ont fait l'objet d'études approfondies. Cependant, les appareils génitaux et notamment l'appareil génital mâle ont fait l'objet de plusieurs études anatomiques (WAKE, 1968a et b, 1970a et b, 1972), ou consacrées au cycle sexuel (SARASIN et SARASIN, 1887-1890, SESHACHAR, 1936,

Accepté pour publication le 16 mars 2004.

Bull. mens. Soc. linn. Lyon, 2004, 73 (10).

1937, 1942, 1943 ; WAKE, 1980, 1981, 1995 ; EXBRAYAT, 1986a et b, 1992, 1996 ; EXBRAYAT et SENTIS, 1982 ; ANJUBAULT et EXBRAYAT, 1998 ; EXBRAYAT *et al*, 1995 ; BHATTA, 1987). La structure et l'ultrastructure du testicule de *Typhlonectes compressicauda* ont été décrites par EXBRAYAT (1986b), EXBRAYAT et DANSARD (1994).

Le développement embryonnaire et la croissance des testicules ont fait l'objet de travaux anciens (SPENGEL, 1876 ; BRAUER, 1902 ; TONUTTI, 1931 ; VON MARCUS, 1939). Plus récemment, ANJUBAULT et EXBRAYAT (2000, 2004) ont examiné le développement des gonades de *Typhlonectes compressicauda*. SESHACHAR (1936) a apporté quelques indications sur la morphogenèse et la croissance des testicules d'un *Ichthyophis*. L'évolution des cellules germinales au cours de la croissance des testicules de *Typhlonectes compressicauda* a été étudiée par EXBRAYAT (1986a et b). Quelques données concernant la croissance et la différenciation du cloaque de cette même espèce ont été publiées par EXBRAYAT (1996).

Le but de cet article est de faire part de l'ensemble des modifications qui affectent l'appareil génital mâle de *Typhlonectes compressicauda* dans son ensemble. Pour cela seront envisagés le développement entre la naissance et la maturité sexuelle des gonades, tant du point de vue germinal qu'endocrine, des canaux de Müller qui persistent chez tous les Gymnophiones mâles et du cloaque érectile au moment de la reproduction.

II – MATERIEL ET METHODES

1 - Les animaux

Les animaux sont tous des jeunes mâles provenant de l'importante collection du laboratoire et prélevés en Guyane française au cours de différentes missions. Les animaux ont été fixés sur le terrain, dès leur capture, au liquide de Bouin. L'âge des animaux a été déterminé à partir de leur taille selon une première méthode établie précédemment par WAKE (1980) pour l'étude de *Dermophis mexicanus* et utilisée également par EXBRAYAT et DELSOL (1985), basée sur une corrélation précise entre l'âge à la capture et la longueur de l'animal prise entre l'extrémité du museau et l'extrémité postérieure de l'animal. Une deuxième méthode, basée sur la comparaison de la taille des animaux capturés avec la taille d'animaux nés en élevage et dont la croissance a été surveillée pendant deux ans a permis de confirmer les résultats obtenus (EXBRAYAT, 1986 b) (Tab. I).

2 - Méthodes histologiques et histochimiques

Les différents organes fixés au liquide de Bouin et inclus en paraffine ont été débités en coupes de 5µm. Ces dernières ont été colorées par le trichrome de Masson-Goldner ou l'azan de Romeis. Certaines d'entre elles ont fait l'objet de réactions histochimiques telles que l'APS pour la mise en évidence de l'ensemble des mucopolysaccharides, le bleu alcian à pH 2,5 pour détecter les mucopolysaccharides acides ou encore la coloration de Ravetto permettant de différencier les sulfomucopolysaccharides par le bleu alcian pH 0,5 et les mucopolysaccharides carboxylés par le jaune alcian à pH 2,5.

3 - Méthodes immunocytologiques

La détection de la testostérone dans les testicules a été effectuée par immunocytochimie. Pour cela, les peroxydases endogènes ont été inhibées par du peroxyde

d'hydrogène sur les coupes déparaffinées et hydratées. Ces dernières ont ensuite été mises au contact d'un anticorps primaire spécifique dirigé contre la testostérone, préparé dans un lapin, pendant une heure à 37°C. Un sérum de chèvre biotinylé dirigé contre les immunoglobulines de lapin a ensuite été mis au contact des coupes. Ensuite un réactif composé d'avidine couplée à de la peroxydase a été mis au contact de l'ensemble. L'activité peroxydasique a enfin été révélée par action sur le substrat du peroxyde d'hydrogène. Le produit obtenu, par combinaison avec de l'aminoéthyl carbazole (AEC) permet de développer une coloration rouge orangée au niveau des sites réactifs. L'ensemble est contre-coloré par de l'hématoxyline.

Des témoins négatifs ont été confectionnés par omission de l'anticorps primaire, par omission de l'anticorps secondaire, par l'application des anticorps primaires sur des tissus réputés ne contenant pas la substance recherchée.

4 - Morphométrie des testicules

Les testicules de *Typhlonectes compressicauda* possèdent la structure classique décrite chez tous les Gymnophiones. Ils sont formés d'une succession de lobes disposés sur un canalicule longitudinal contenant un nombre variable de lobules. Pour chaque animal étudié, la surface de 40 à 50 coupes de lobes assimilées à des ellipses

Mois de capture	Nombre	Taille (mm)	Age (mois)
Naissance			
Juillet	3	167-177	0
Août	2	142-145	0
Octobre	11	150-157	0
1^{ère} année			
Février	1	192	7
Juin	1	208	11
Juillet	5	205-230	12
Août	2	200-245	13
2^{ème} année			
Janvier, Février	3	260-265	18-19
Avril	3	232-263	21
Mai	3	240-295	22
Juin	5	245-295	23
Juillet	9	265-295	24
3^{ème} année			
Août	3	260-285	25
Janvier	6	303-390	30

Tableau I

Caractéristiques morphométriques des testicules des jeunes *Typhlonectes compressicauda* mâles étudiés entre la naissance et la fin de la deuxième année.

a été mesurée. Sur ces coupes, la surface totale des lobules a également été mesurée. Par différence entre la surface totale de coupe et la surface cumulée des lobules, la surface de tissu interstitiel a pu être calculée. Pour toutes les mesures, la moyenne et l'erreur standard ont été calculées. Les moyennes ont été comparées par le test T de Student.

III - OBSERVATIONS

1 - Les testicules

Evolution entre la naissance et l'âge de un an. - Chez les jeunes animaux comme chez les adultes, les testicules de *Typhlonectes compressicauda* sont des structures paires comportant une vingtaine de lobes irrégulièrement disposés sur un canal longitudinal. Chaque lobe est divisé en lobules délimités par une lame basale et séparés les uns des autres par du tissu conjonctif.

A la naissance (de juillet à septembre, période des mises bas), les lobules minuscules sont formés d'îlots de spermatogonies primaires caractérisées par un volumineux cytoplasme réfractaire aux colorants et un noyau central. Ces cellules germinales, entourées de cellules somatiques de petite taille se développent à l'extrémité de canalicules connectés sur le canal longitudinal (Fig. 1). Certains testicules présentent cependant déjà des lobules plus développés. Dans ce cas, les cellules entourant les spermatogonies sont plus volumineuses que précédemment. Leur cytoplasme particulièrement développé acquiert l'aspect filamenteux caractéristique des cellules de Sertoli des Gymnophiones après une fixation classique pour la microscopie phototonique. Les lobules se développent ensuite (Fig. 2). La surface de coupe augmente. En juillet-août, à la fin de la première année, des spermatogonies secondaires sont formées (Fig. 3).

Pendant cette période, les cellules entourant les cellules germinales et le tissu conjonctif lui-même sont le siège d'un important marquage après application d'un anticorps anti-testostérone (Fig. 5). Les quelques cellules de Leydig, déjà en place dans le tissu conjonctif ne paraissent par contre pas marquées mais cela semble dû à la présence d'un cytoplasme réduit à une très mince bande autour d'un noyau particulièrement chromophile.

Deuxième année. - Vers 18 mois, en janvier-février, période correspondant à l'activité sexuelle chez les adultes, toutes les cellules de la lignée germinale sont présentes. Quelques spermatozoïdes à l'aspect plus ou moins dégénéré sont même observés dans les canalicules évacuateurs. En avril-mai, de nombreuses cellules germinales dégénérées sont observées dans les lobules. Dans le tissu interstitiel, des cellules de Leydig allongées ou ovoïdes sont observées, réunies en îlots. Un léger marquage révélant la présence de testostérone peut être observé dans plusieurs échantillons (Fig. 6). Parallèlement, l'étude morphométrique montre, au début de cette période (janvier à avril), une augmentation de la taille des surfaces de lobe, de lobule et de tissu interstitiel.

En juin, la taille des lobules, des lobes et du tissu interstitiel augmente à nouveau. Seules quelques spermatogonies primaires et secondaires et des spermatocytes primaires sont observés. En juillet-août, toutes les catégories de cellules germinales sont observées. Le tissu interstitiel encore volumineux comporte des cellules de Leydig en nombre plus important, réunis en îlots qui sont le siège d'un léger marquage révélant

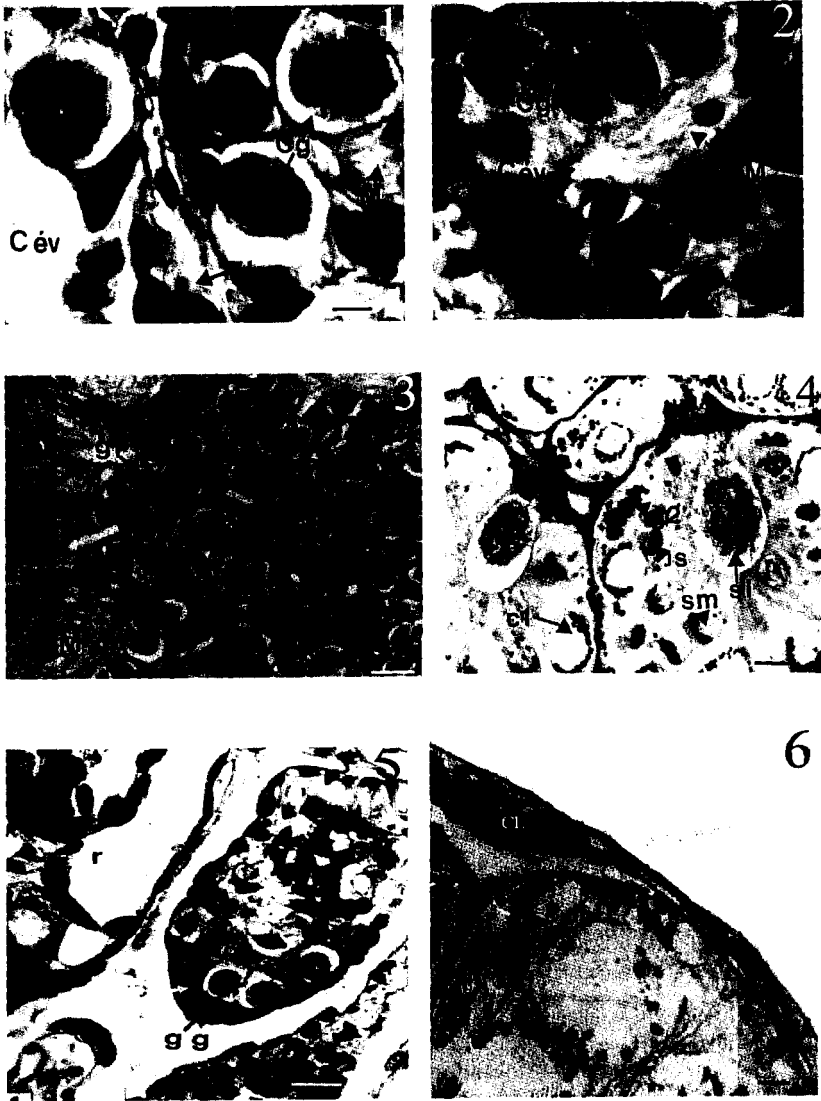


Fig. 1 : Aspect histologique d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda*, à la naissance. La barre indique 8 μ m.

Fig. 2 : Aspect histologique d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda* au cours de la première année de croissance. La barre indique 8 μ m.

Fig. 3 : Aspect histologique d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda* de 12 mois. La barre indique 30 μ m.

Fig. 4 : Aspect histologique d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda* adulte (janvier). La barre indique 90 μ m.

Fig. 5 : Mise en évidence par immunocytochimie de la testostérone (flèche) dans le tissu conjonctif d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda*, à la naissance. La barre indique 20 μ m.

Fig. 6 : Mise en évidence par immunocytochimie de la testostérone (flèche) dans les cellules de Leydig d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda* chez un animal capturé en mai de la deuxième année (22 mois). La barre indique 30 μ m.

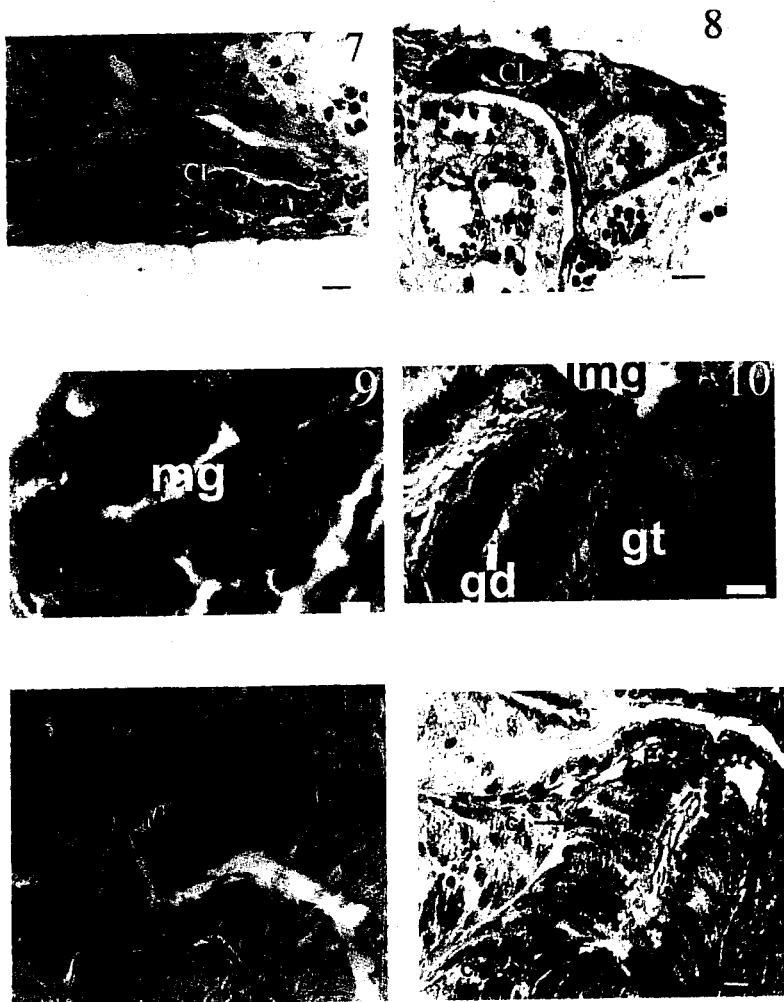


Fig. 7 : Mise en évidence par immunocytochimie de la testostérone (flèche) dans les cellules de Leydig d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda* chez un animal adulte (avril). La barre indique 30 μ m.

Fig. 8 : Mise en évidence par immunocytochimie de la testostérone (flèche) dans les cellules de Leydig d'un lobule testiculaire de *Typhlonectes compressicauda* chez un animal adulte (juillet). La barre indique 30 μ m.

Abréviations pour les figures 1 à 8 :

C év : canalicule évacuateur ; Cg : cellule germinale ; g1 : spermatogonie de premier ordre ; g2 : spermatogonies de deuxième ordre ; js : jeunes spermatides ; Lo : lobule testiculaire ; M : matrice (cytoplasme de cellule de Sertoli) ; sl : spermatozoïdes libres ; sm : spermatides matures ; TI : tissu interstitiel.

Fig. 9 : Coupe transversale d'un canal de Müller de *Typhlonectes compressicauda* à la naissance. La barre indique 15 μ m.

Fig. 10 : Coupe transversale d'un canal de Müller de *Typhlonectes compressicauda* de 12 mois. La barre indique 30 μ m.

Fig. 11 : Coupe transversale d'un canal de Müller de *Typhlonectes compressicauda* adulte (avril). La barre indique 30 μ m.

Fig. 12 : Coupe transversale d'un canal de Müller de *Typhlonectes compressicauda* adulte (janvier). La barre indique 30 μ m.

Abréviations pour les figures 9 à 12 :

CF : canalicule évacuateur du tubule glandulaire ; ci : cellule de la partie interne de la glande ; CM : canal de Müller ; Ec : épithélium cilié ; FG : tubule glandulaire ; LCM : lumière centrale du canal de Müller.

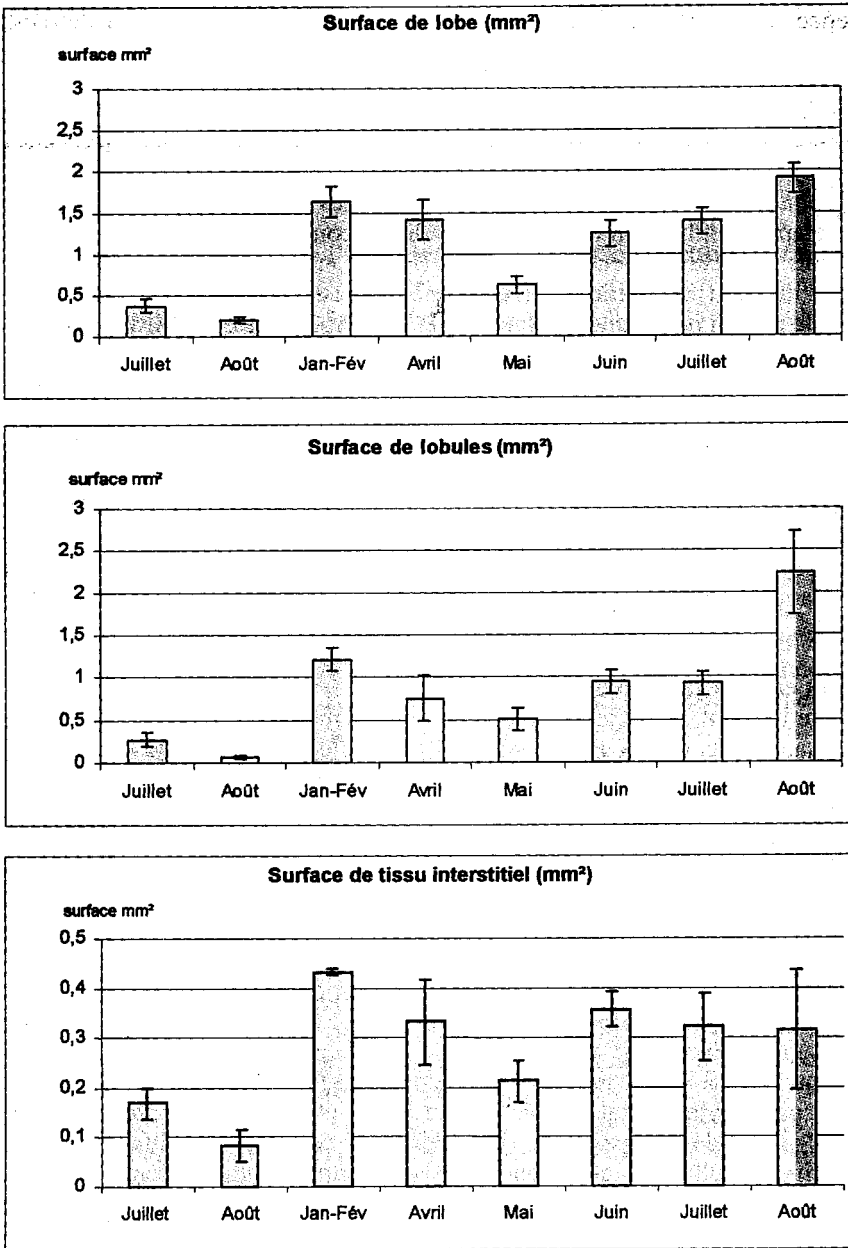


Fig. 13 : Caractéristiques biométriques des testicules des jeunes de *Typhlonectes compressicauda* étudiés entre la naissance et la fin de la deuxième année. L'axe des abscisses indique les mois de juillet et août de la fin de la première année et les mois de janvier à août de la deuxième année. . Les variations de la surface de lobe, de la surface cumulée des lobules et de la surface calculée de tissu interstitiel, montrent que la première année est consacrée à la croissance des gonades. Un premier cycle de reproduction est ébauché au cours de la deuxième année où les variations sont parfaitement superposables au cycle des cellules germinales (EXBRAYAT, 1986 b) et comparables au cycle des adultes (EXBRAYAT et SENTIS, 1982 ; EXBRAYAT , 1986 b).

la présence de testostérone. Un tel marquage est également observé dans les cellules de Sertoli.

Troisième année. — En janvier-février de la troisième année, l'animal a alors 30 mois. Les testicules sont à leur développement maximal. Ils comportent toutes les cellules de la lignée germinale. Des spermatozoïdes à l'aspect normal sont observés dans les canalicules évacuateurs (Fig. 4). Les cellules de Leydig marquées de manière intense après application d'un anticorps dirigé contre la testostérone sont regroupées en îlots particulièrement volumineux (Fig. 7 et 8). Les tailles des lobes, des lobules et du tissu interstitiel sont alors maximales. L'état des testicules est alors comparable à celui des adultes (EXBRAYAT et SENTIS, 1982 ; EXBRAYAT, 1986 b) (Fig. 13).

Evolution quantitative des cellules germinales. — Dans une étude précédente, nous avons pu montrer que, à partir de la première année, dès le mois de janvier (animaux de 18 mois), toutes les catégories germinales sont présentes dans les testicules selon des proportions rappelant ce qui a été observé chez les adultes. En mai (22 mois), on constate une nouvelle prolifération de spermatogonies secondaires ; en juin, il y a formation de spermatocytes primaires et secondaires ; une spermatogenèse est observée en juillet-août. L'année suivante (troisième année), le cycle est comparable à celui des adultes.

2 - Les canaux de Müller

Comme les adultes, les jeunes animaux possèdent une paire de canaux de Müller parallèles aux reins et aux gonades dont l'extrémité postérieure de chacun d'entre eux est connectée au cloaque. De manière générale, chaque canal de Müller, en coupe transversale, apparaît formé de tissu conjonctif limité par une séreuse. Au centre de ce tissu, une lumière bordée par un épithélium simple est délimitée par une lame basale. Des expansions glandulaires se développent à partir du canal central. De la naissance qui se situe, rappelons-le, entre juillet et août, jusqu'en février suivant, chez des animaux de sept mois, le tissu conjonctif est abondant, contient de nombreux vaisseaux sanguins, notamment à la périphérie. Le canal central est bordé par un épithélium prismatique simple indifférencié formé de cellules de $8 \times 20 \mu\text{m}$ dont le volumineux noyau occupe pratiquement tout l'espace. A cette période, aucune expansion glandulaire n'est observée le long de chaque canal (Fig. 9).

A un an (juin à août), le tissu conjonctif est relativement moins abondant. Le calibre du canalicule central parfois cilié, a augmenté et les structures glandulaires très nettes se sont développées. Ces dernières sont bordées d'un épithélium pseudostratifié formé de cellules hautes au noyau basal, rempli de granulations et de cellules ciliées au noyau également basal (Fig. 10). A cette période, nous avons pu observer les intermédiaires entre les canaux non différenciés et les canaux portant des expansions glandulaires.

Chez les animaux de 18 mois (janvier, février de la deuxième année), le tissu conjonctif est réduit, les tubules glandulaires sont par contre très développés, formés de cellules remplies de globules colorés en rouge par l'azocarmin ou la fuchsine acide ponceau donc de nature protéique. Le canal évacuateur de chaque glande et le canal central évacuateur sont ciliés. En avril (19-20 mois), on constate une diminution de la quantité de sécrétions. A partir de mai (20 mois), le tissu conjonctif est à nouveau très abondant avec une forte diminution de la taille des cellules glandulaires

alors dépourvues de sécrétions. Les canalicules et le canal central ne sont pas ciliés. Des débris cellulaires sont observés dans ces derniers, témoins de la desquamation de la paroi.

Entre janvier et avril suivants (animaux de 30 à 33 mois environ), les canaux de Müller sont très développés et présentent toutes les caractéristiques des adultes aux périodes d'activité sexuelle (Fig. 11 et 12) : canal central et canalicules ciliés, glandes volumineuses avec deux types de cellule. Les cellules du fond des tubules glandulaires présentent des granulations colorées par la fuchsine acide ponceau, l'orangé G ou l'azocarmine mais jamais par l'APS, le bleu alcian ou le Ravetto. Ce sont donc des granulations de nature protéique. Les cellules situées dans la partie proche du canal central sont remplies de globules colorés par l'orangé G et APS positif mais pas colorés par le bleu ou le jaune alcian ; elles sont donc de nature glycoprotéique neutre.

3 - Le cloaque

Les observations qui suivent sont extraites d'une publication antérieure (EXBRAYAT, 1996). A la naissance et jusqu'à 12 mois, le cloaque est constitué d'un tube portant deux chambres latéro-dorsales peu développées. La partie antérieure qui reçoit l'intestin, les canaux de Wolff et les canaux de Müller, est tapissée d'un épithélium simple aux sécrétions muqueuses carboxyliques. Les parties moyenne et postérieure sont recouvertes d'un épithélium stratifié composé de cellules indifférenciées, de quelques mucocytes et de cellules possédant une grande vacuole. La portion postérieure est cependant moins riche en mucocytes et la couche apicale kératinisée est souvent en desquamation. A 18 mois, (janvier-février), la partie antérieure présente toujours le même aspect. La partie moyenne et les chambres latérales sont bordées d'un épithélium stratifié recouvert de mucus acide carboxylique issu des nombreuses cellules caliciformes. La partie postérieure correspondant au phallodeum est recouverte d'une couche desquamante comportant encore quelques mucocytes. A 24 mois (juillet-août), les parties antérieure et postérieure ont subi peu de modifications. La partie postérieure est recouverte d'un épithélium en desquamation abondant et les mucocytes sont quasiment absents.

En janvier-février suivant (30 mois), le cloaque présente l'aspect observé chez les adultes en période de reproduction. Les portions antérieure et moyenne sont développées notamment en ce qui concerne les chambres latérales. L'ensemble est tapissé de cellules ciliées et d'un mucus acide carboxylique particulièrement abondant. Des plis constitués de cellules sécrétant un tel mucus sont observés sur la paroi de cette zone. La partie postérieure, le phallodeum, est contenue dans un étui de tissu conjonctif et un manchon musculaire composés de piliers à direction antéro-postérieure. L'épithélium stratifié, riche en kératine, forme d'épaisses expansions qui, lors de la réversion du phallodeum, se révèlent être des aspérités dirigées vers l'extérieur.

IV - CONCLUSION

L'examen approfondi de l'appareil génital mâle de *Typhlonectes compressicauda* indique sans ambiguïté que la maturité sexuelle de cet animal est effective à un âge compris entre deux et trois ans. A la naissance, lorsque le sexe vient juste d'être différencié (ANJUBAULT et EXBRAYAT, 2000, 2004), les testicules et les organes sexuels secondaires caractéristiques des mâles sont reconnaissables mais encore peu développés. La première année est consacrée à la croissance de l'appareil génital. Les structures se développent alors. Au cours de la deuxième année, la croissance se

poursuit, ce qui est montré par l'étude morphométrique. Un premier cycle sexuel est ébauché. On constate, en effet, une première spermatogenèse (inefficace) (EXBRAYAT, 1986 b), le développement des canaux de Müller et, de manière, moins importante, du cloaque en janvier et avril, période de reproduction des adultes (EXBRAYAT, 1986b, EXBRAYAT et SENTIS, 1982). Au cours de la troisième année, les animaux ont atteint leur maturité et le cycle sexuel observé est celui d'un adulte.

Parallèlement à ces aspects morphologiques, l'activité endocrine des testicules a également été étudiée. La présence de testostérone a été mise en évidence, au cours de la première année suivant la naissance dans le tissu conjonctif et les cellule somatiques entourant les spermatogonies, à l'origine des cellules de Sertoli. Dès la deuxième année après la naissance, le marquage bien qu'encore faible est localisé dans les cellules de Leydig et les cellules de Sertoli. Dès la troisième année, le marquage des cellules de Sertoli est intense. Les cellules entourant les spermatogonies et les cellules de Sertoli présentent également un marquage comme chez les adultes (ANJUBAULT et EXBRAYAT, 1999).

Peu de travaux ont porté sur la croissance des appareils génitaux et l'âge de première reproduction chez les Gymnophiones. Chez *Dermophis mexicanus*, WAKE (1977, 1980) observe que les gonades des nouveau-nés sont de simples bandes de tissu, comme chez *Typhlonectes compressicauda*. Un an après la naissance, la spermatogenèse a commencé chez 90 % des animaux et c'est à l'âge de deux ans que les individus présentent des testicules en activité avec des lobes encore réduits avec peu de lobules présentant une spermatogenèse effective. Les jeunes *Dermophis mexicanus* mâles paraissent capables de se reproduire à partir de l'âge de trois ans. Il est intéressant de comparer ces observations avec celles du présent travail. On peut ainsi voir que, chez deux espèces de tailles comparables, soumises au même type de climat mais pourtant phylogénétiquement assez éloignées, et dont l'une est aquatique et l'autre terrestre, on observe des modalités de reproduction parfaitement comparables en ce qui concerne l'acquisition de la maturité sexuelle.

Des comparaisons sont par contre difficiles à établir avec les Anoures et les Urodèles en ce qui concerne l'acquisition de la maturité sexuelle. Ceci est dû, tout d'abord, au manque de connaissances concernant les Gymnophiones. Nous venons de voir, en effet, que seulement deux espèces sur les quelques 170 décrites par TAYLOR (1968) ont été examinées de ce point de vue. L'autre difficulté réside dans le fait que les connaissances concernant les deux autres Ordres d'Amphibiens sont très disparates.

Les Urodèles mâles paraissent atteindre leur maturité à deux ans au moins (voir synthèse bibliographique in DUELLMAN et TRUEB, 1986), bien que chez certaines espèces, la première reproduction soit plus tardive. Chez les Anoures, la maturité sexuelle est acquise à des âges variables selon l'altitude ou le climat, humide ou sec (voir synthèse bibliographique in DUELLMAN et TRUEB, 1986).

Notre étude montre également une évolution du marquage des tissus par des anticorps dirigés contre la testostérone. Au cours de la première année, le marquage est visible à la fois dans le tissu conjonctif et les cellule somatiques entourant les cellules germinales. A partir du moment où les lobes sont individualisés, la marquage paraît localisé dans les cellules de Leydig, d'abord léger au cours de la deuxième année où le cycle se met en place, ce qui laisse supposer que la fonction stéroïdogène est encore peu développée, bien que l'on ne puisse pas exclure un déficit de marquage en lien avec le fixateur utilisé. Le marquage devient particulièrement intense en janvier-février de la troisième année, ce qui est parfaitement comparable à ce qui avait été

observé chez les mâles adultes (ANJUBAULT et EXBRAYAT, 1998). Il est connu que la testostérone exerce des effets sur le développement des caractères sexuels secondaires, et sur le démarrage et le maintien de la spermatogenèse. Nous avons constaté précédemment des corrélations entre le développement du tissu interstitiel, la mise en évidence de la testostérone par immunocytochimie et le cycle sexuel des adultes (ANJUBAULT et EXBRAYAT, 1998). Dans le présent travail, nous avons montré qu'il existait des corrélations entre le développement du tissu interstitiel, le marquage de la testostérone à la première spermatogenèse et le développement des organes de reproduction (canaux de Müller et cloaque). Il est remarquable de noter que pendant la première année suivant la naissance, on n'observe pas de spermatogonies ni le développement des organes sexuels secondaires. Au cours de la deuxième année, la mise en place d'un cycle caractérisé par une quantité réduite de cellules germinales et l'ébauche de variations morphologiques cycliques des canaux de Müller et du cloaque sont corrélées à un marquage peu intense après application d'un anticorps anti-testostérone, localisé dans les cellules de Leydig peu volumineuses. Au cours de la troisième année, les variations des cellules germinales, du tissu interstitiel et des organes sexuels sont parfaitement corrélées et identiques aux variations observées chez les adultes (EXBRAYAT et SENTIS, 1982 ; EXBRAYAT, 1986 a, b, 1985, 1996).

Chez *Typhlonectes compressicauda*, entre la naissance et la maturité sexuelle, on observe une augmentation progressive des cellules de régulation hormonale ainsi qu'un changement de localisation de la testostérone. Pendant la première année, la marquage est localisé dans le tissu conjonctif, rappelant la localisation de l'activité $\delta 5-3\beta$ HSDH des testicules des Urodèles (Lofts, 1974) ou encore dans les nids germinaux des *Typhlonectes compressicauda* femelles (EXBRAYAT, résultats non publiés). Ceci laisse supposer que, dans un premier temps, le tissu conjonctif est impliqué dans la synthèse de testostérone. On observe les mêmes résultats dans les gonades embryonnaires (ANJUBAULT et EXBRAYAT, 2004).

Par ce travail, pour la première fois, est donnée la description complète de l'acquisition de la maturité sexuelle d'un Gymnophione. La mise en évidence de la testostérone – ou d'une hormone qui lui ressemble – permet également de montrer les modalités de la mise en place de la régulation hormonale.

Remerciements. – Nous remercions Marie-Thérèse Laurent pour la confection des coupes histologiques. La collecte des animaux a été rendue possible grâce à l'aide de la Fondation Singer-Polignac.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANJUBAULT E. and EXBRAYAT J.-M., 1998. — Yearly cycle of Leydig-like cells in testes of *Typhlonectes compressicauda* (Amphibia, Gymnophiona) in *Current studies in Herpetology*, Miaud, C. and Guyétant, R. (eds) : 53-58.
- ANJUBAULT E. and EXBRAYAT J.-M., 2000 — Development of gonads in *Typhlonectes compressicauda* (Amphibia, Gymnophiona). XVIIIth Int. Congress of Zool., Athens, *Abstracts* : 51.
- ANJUBAULT E. et EXBRAYAT J.-M., 2004. — Contribution à la connaissance de l'appareil génital de *Typhlonectes compressicauda* (Duméril et Bibron, 1741), Amphibien Gymnophione. I. Gonadogenèse. *Bull. mens. Soc. linn. Lyon*, 73 (10) : 379-392.
- BHATTA G. K., 1987. — Some aspects of reproduction in the apodan amphibia *Ichthyophis*. PhD., Karnata Univ., Dharwad, India, 219 p.
- BRAUER A., 1902. — Beiträge zur Kenntniss der Entwicklung und Anatomie der Gymnophionen. III. Die Entwicklung der Excretionorgane. *Zool. Jahrb. Anat.*, 16 : 1-176.
- DUELLMAN W.E., TRUEB L. 1986. — *Biology of Amphibians*. Mc Graw-Hill Book Company, New York, St Louis, San Francisco, 670 p.
- EXBRAYAT J.-M., 1985. — Cycle des canaux de Müller chez le mâle adulte de *Typhlonectes compressicauda* (Duméril et Bibron, 1841), Amphibien Apode. *C. r. Acad. Sci., Paris*, 298 (1) : 13-18.
- EXBRAYAT J.-M., 1986a. — Le testicule de *Typhlonectes compressicauda* : structure, ultrastructure, croissance et cycle de reproduction. *Mém. Soc. Zool. Fr.*, 43 : 121-132.
- EXBRAYAT J.-M., 1986b. — Quelques aspects de la biologie de la reproduction chez *Typhlonectes compressicauda* (Duméril et Bibron, 1841), Amphibien Apode ; *Thèse Doct. es Sci. Univ. Paris VI*, 308 p.
- EXBRAYAT J.-M., 1992. — Appareils génitaux et reproduction chez les Amphibiens Gymnophiones. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 117 (3) : 291-296.
- EXBRAYAT J.-M., 1996. — Croissance et cycle du cloaque chez *Typhlonectes compressicauda* (Duméril et Bibron, 1841), Amphibien Gymnophione. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 121 (1) : 99-104.
- EXBRAYAT J.-M. et DANSARD C., 1994. — Apport de techniques complémentaires à la connaissance de l'histologie du testicule d'un Amphibiens Gymnophione. *Rev. Fr. Histotechnol.*, 7 (1) : 19-26.
- EXBRAYAT J.-M., DELSOL M. 1985. — Reproduction and growth of *Typhlonectes compressicauda*, a viviparous Gymnophione. *Copeia*, 1985 (4) : 950-955.
- EXBRAYAT J.-M., et SENTIS P., 1982. — Homogénéité du testicule et cycle annuel chez *Typhlonectes compressicauda* (Duméril et Bibron, 1841), Amphibien Apode vivipare. *C. r. Acad. Sci., Paris, sér. III*, 294 : 757-762.
- EXBRAYAT J.-M., DELSOL M. et FLATIN J., 1995. — Nouvelles données sur la biologie de la reproduction des Amphibiens Gymnophiones. In *Traité de Zoologie*, Grassé et Delsol, ed. Tome XIV, fasc. 1 A, Amphibiens, Masson, Paris.
- LOFTS B., 1974. — Reproduction, in *Physiology of the Amphibia* Lofts, B. (ed) : 107-218.
- MARCUS (VON) H., 1939. — Beitrag zur Kenntniss der Gymnophionen. Ueber Keimbahn, Keimdrüsen, Fettkörper und Urogenitalverbindung bei *Hypogeophis*. *Biomorphosis*, 1 : 360-384.
- SARASIN R. et F. 1887-1890. — Zur Entwicklungsgeschichte und Anatomie der ceylonesischen Blindwühle *Ichthyophis glutinosus* L. In *Ergebnisse naturwissenschaftlicher Forschungen auf Ceylon*. C.W. Kreidel's Verlag, Wiesbaden, 26 p.
- SESHACHAR B.R., 1936. — The spermatogenesis of *Ichthyophis glutinosus* (Linn.), I. The spermatogonia and their division. *Z. Zellforsch. Mikr. Anat.*, 24 : 662-706.
- SESHACHAR B.R., 1937. — The spermatogenesis of *Ichthyophis glutinosus* (Linn.), II The meiotic divisions. *Z. Zellforsch. Mikr. Anat.*, 27 : 133-158.

- SESHACHAR B.R., 1942. — Stages in the spermatogenesis of *Siphonops annulatus* Mikan and *Dermophis gregorii* (Blgr) (Amphibia : Apoda). *Proc. Indian Acad. Sci.*, 15 (6) : 23-277.
- SESHACHAR B.R., 1943. — The spermatogenesis of *Ichthyophis glutinosus* (Linn.), III. Spermateleosis. *Proc. Nat. Inst. Sci. India*, 9 (6) : 271-285.
- SPENGEL J.W., 1876. — Das Urogenitalsystem der Amphibien. I. Theil. Der Anatomische Bau des Urogenitalsystem. *Arb. Zool. Inst. Wiursburg*, 3 : 51-114.
- TAYLOR E.H., 1968. — *The Caecilians of the world. A taxonomic revue.* Univ. Kansas Press. Lawrence, 848 p.
- TONUTTI E. 1931. — Beitrag zur Kenntniss der Gymnophionen. XV. Das Genital-system. *Morph. Jahrb.*, 68 : 151-292.
- WAKE M.H., 1968a. — Evolutionary morphology of the Caecilian urogenital system. Part I : the gonads and the fat bodies. *J. Morph.*, 126 : 291-332.
- WAKE M.H., 1968b. — The comparative morphology and evolutionary relationships of the urogenital system of Caecilians. PhD, Univ. South Calif., 288 p..
- WAKE M.H., 1970a. — Evolutionary morphology of the Caecilian urogenital system. Part II : the kidneys and urogenital ducts. *Acta Anat.*, 75: 321-358.
- WAKE M.H., 1970ab. — Evolutionary morphology of the Caecilian urogenital system. Part III : the bladder. *Herpetologica*, 26 (1) : 120-128.
- WAKE M.H., 1972 — Evolutionary morphology of the Caecilian urogenital system. Part IV : the cloaca. *J. Morph.*, 136 (3) : 353-366.
- WAKE M.H., 1977. — The reproductive biology of Caecilians. An evolutionary perspective. *In Reproductive biology of the Amphibia*, S.I. Guttman and D. R. Taylor, (ed), Plenum Press, New York : 73-102.
- WAKE M.H., 1980. — Reproduction, growth and population structure of the Central american *Dermophis mexicanus*. *Herpetologica*, 36 (3) : 244-256.
- WAKE M.H., 1981. — Structure and function of the male mullerian gland in Caecilians (Amphibia: Gymnophiona), with comments on its evolutionary significance *J. Herp.*, 15 (1): 17-22.
- WAKE M.H., 1995. — The spermatogenic cycle of *Dermophis mexicanus*. *J. Herp.*, 29 (1) : 119-122.