

Chapitre 2 : Embryologie des amphibiens

Chez les amphibiens on distingue :

- les Anoures = pas de queue → grenouille
- les Urodèles = avec une queue → salamandre
- les Apodes = absence de pattes

I. Embryologie descriptive

Ex : les œufs d'anoures.

La femelle dépose des œufs vierges entourés d'une gangue, la male est accroché à la femelle et répand ses spermatozoïdes qui pénètrent dans la gangue et dans l'œuf vierge.

A. Les œufs

1. Les œufs vierges

L'œuf est de type Hétérolécithe. Spermiogenèse => spermatide (cellule arrondi) se transforme en cellule allongé avec un flagelle = spermatozoïde.

L'œuf vierge d'Amphibien Anoure ou Urodèle est une cellule arrondie de deux millimètres de diamètre. Il possède un axe de symétrie qui passe par le pôle animal sous lequel se trouve le noyau en métaphase de seconde division de méiose, au sommet de l'hémisphère animal, et par le pôle végétatif, à l'opposé, au sommet de l'hémisphère végétatif. On distingue une couche de cytoplasme cortical superficiel et un cytoplasme interne.

Sous le plasmalemma (membrane plasmique) de l'œuf non fécondé, le cytoplasme cortical ne contient pas de plaquettes vitellines. Il est plus visqueux que le cytoplasme interne avec un cytosquelette constitué d'un réseau de microfilaments d'actine enserrant dans ses mailles des granules corticaux superficiels et des pigments (mélanine) en profondeur. Les granules corticaux sont d'origine golgienne ; ils sont absents chez les Amphibiens Urodèles. Les pigments sont répartis suivant une intensité qui diminue souvent chez certaines espèces, dans l'hémisphère végétatif. Ils sont également absents au voisinage du pôle animal de l'œuf vierge où le noyau est voisin de la membrane cellulaire : c'est la tache de maturation, emplacement où les globules polaires sont expulsés à la suite de la méiose, au cours de la maturation et de la fécondation.

Le cytoplasme interne est hétérogène. C'est le résultat d'une répartition inégale des produits de synthèses élaborés pendant l'ovogenèse. Schématiquement, des ARN stables se répartissent suivant un gradient décroissant du pôle animal au pôle végétatif. A l'inverse, des réserves lipidiques, protéiques et glucidiques formant notamment des plaquettes vitellines suivent un gradient de taille croissante du pôle animal au pôle végétatif et de la périphérie de l'œuf vers le centre, de sorte que le hyaloplasme est peu abondant dans l'hémisphère végétatif. L'analyse globale montre que l'œuf d'Amphibien contient 52,5% d'eau, 34,5% de protéines, 7,5% de graisses, 3 %de glucides, 2%de substances diverses.

1. Cet embranchement contient aussi des espèces vivipares et des espèces à œufs télolécithes.

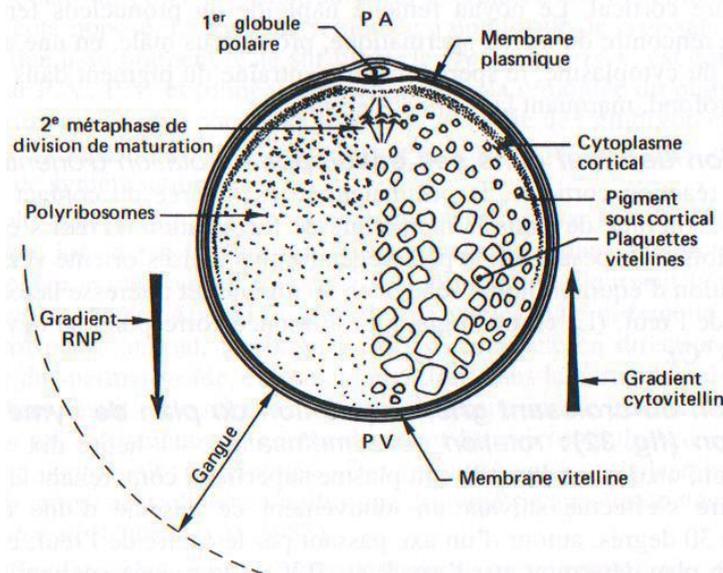


Schéma d'un œuf vierge de grenouille mettant en évidence le pigment cortical présent surtout dans l'hémisphère animal, les gradients de concentration croissante des ribonucléoprotéines, en allant du PV vers PA, et du vitellus, suivant un gradient inverse PA vers PV.

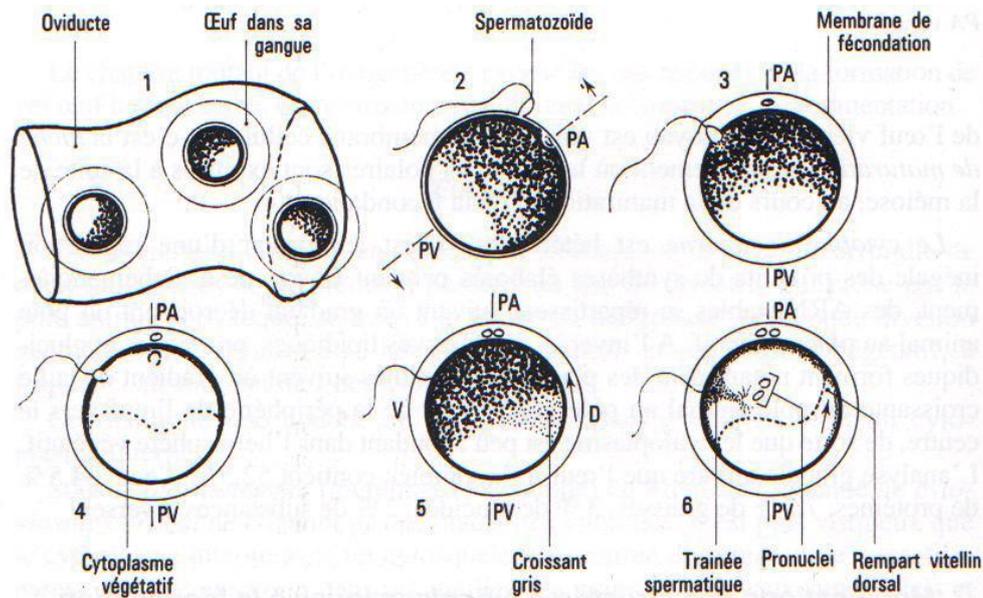
Modifications des structures cytoplasmiques à la fécondation

La pénétration du spermatozoïde dans l'hémisphère animal déclenche des remaniements cytoplasmiques dont la conséquence sera de déterminer le plan de symétrie de l'embryon dans les deux heures qui suivent la fécondation. Le second globule polaire est émis après la pénétration du spermatozoïde, la tache de maturation disparaît par contraction du cytosquelette du feuillet pigmentaire cortical. Le noyau femelle haploïde ou pronucléus femelle se porte à la rencontre du noyau spermatique, pronucléus mâle, en une aire plus profonde du cytoplasme, le spermatozoïde entraîne du pigment dans le cytoplasme profond, marquant la traînée spermatique.

Rétraction de l'œuf dans ses enveloppes:

rotation d'orientation. —Après la réaction corticale, la plasmalemmes est libérée du contact avec la membrane vitelline devenue la membrane de fécondation. L'œuf s'équilibre selon les lois de la pesanteur, le pôle végétatif plus lourd s'oriente vers le bas. Cette rotation d'équilibration s'achève en 30 minutes et intéresse la totalité de la masse de l'œuf. (La chronologie qui est donnée correspond au développement à 18°C).

Formation du croissant gris, acquisition du plan de symétrie de l'embryon : rotation de symétrisation. — 1 heure dix après la fécondation, un déplacement de cytoplasme superficiel comprenant la couche pigmentaire s'effectue suivant un mouvement de bascule d'une ampleur d'environ 30 degrés, autour d'un axe passant par le centre de l'œuf, et orthogonal à un plan déterminé par l'axe P.A.-P.V. et la traînée spermatique. Le sens du déplacement est tel que le pigment descend vers le P.V. Du côté correspondant au point de pénétration du spermatozoïde et remonte vers le P.A. du côté opposé. La zone de remontée a une forme de croissant de teinte grisâtre due à du pigment resté sur place, le croissant gris. C'est dans le plan défini par P.A.-P.V. et traînée spermatique que la remontée du pigment est à son maximum. Ce plan constitue le plan de symétrie de l'embryon et le croissant gris sa région dorsale. Le mouvement superficiel du cortex est appelé rotation de symétrisation.



Rotations d'orientation et de symétrisation dans l'oeuf d'Amphibien. 1 : OEufs dans l'oviducte orientés de façon quelconque. 2 et 3 : Pénétration du spermatozoïde, décollement de la membrane de fécondation, rotation d'orientation. 4-6 : Rétraction superficielle du pigment vers le point de pénétration du spermatozoïde, et formation du croissant gris dorsal. Remaniement profond du cytoplasme végétatif et formation du rempart vitellin dorsal. OEuf vu en coupe sagittale avant (4) et après (6) la rotation de symétrisation.

Chez le xénope, ce mouvement est dirigé par le spermaster qui se développe, lors de la pénétration du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'hémisphère animal autour du centriole spermatique et qui suit la migration du pronucléus mâle. Après la fusion des pronucléi mâle et femelle au centre de l'hémisphère animal, le cortex dorsal se contracte en direction du point d'entrée du spermatozoïde, entraînant un retrait dans la partie dorsale. Le sens de ce mouvement du cortex dorsal est sans doute induit par les interactions entre les microfilaments du cortex dorsal et les microtubules du spermaster qui sont largement développés. Des mouvements cytoplasmiques plus profonds créent aussi dans le vitellus une dissymétrie avec remontée d'un mur vitellin dorsal (Ubbels et al. 1983).

Chez les Urodèles qui sont polyspermiques, on ne connaît pas de relation entre croissant gris et pénétration du spermatozoïde. Il est possible que, dans ce groupe, le plan de symétrisation soit prédéterminé.

B. La segmentation

C'est une segmentation totale et inégale.

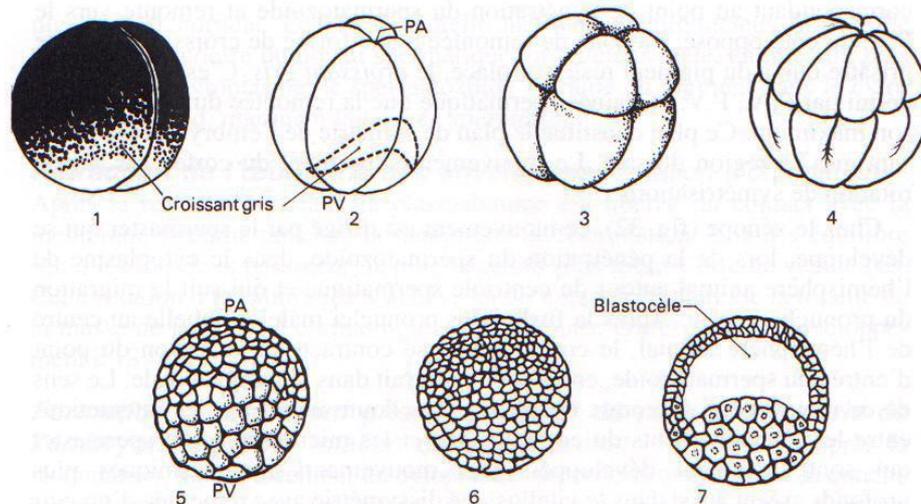
Le développement se déroule à l'intérieur de la membrane de fécondation, jusqu'à l'éclosion.

La durée de la segmentation varie avec les espèces. Chez l'axolotl, un Urodèle, le premier sillon de segmentation qui sépare les deux premiers blastomères apparaît 2h30 après la fécondation et coïncide dans 50 % des cas avec le plan de symétrie bilatérale de l'embryon.

Après une seconde division suivant un plan méridien perpendiculaire au premier et une troisième sus-équatoriale, les blastomères commencent à s'écarter sur leur face interne pour délimiter un

blastocèle qui occupera surtout l'intérieur de l'hémisphère animal. Les 2 plans de division suivants sont méridiens et forment un angle de 45° avec les deux premiers. Les divisions sont d'abord synchrones pendant onze cycles, chaque cycle, dépourvu de phase G1, dure 70 minutes. Ce rythme se ralentit et les divisions deviennent asynchrones, avec allongement de G2 et apparition de G1, après le 11ème cycle qui correspond à la transition blastuléenne ou mi-blastula. Le ralentissement est plus marqué dans l'hémisphère végétatif. Au bout de 30 heures à 18 0C, l'embryon compte environ 10000 cellules et la gastrulation commence.

La chronologie est différente chez le xénope, avec des cycles de 35 minutes et une mi-blastula atteinte à la 9e heure de segmentation. Chez d'autres espèces aux oeufs volumineux, certaines rainettes, elle est par contre beaucoup plus lente.



Segmentation de l'oeuf d'Amphibien représenté dépourvu de sa gangue. 1 à 4 : Stades 2 à 16 ; 5 : Morula ; 6-7 Blastula en vue externe et en coupe.

C. GASTRULATION

Dans cet œuf hétérolécithe, la totalité des cellules contenant des inclusions vitellines est concernée par les mouvements morphogénétiques. La gastrulation dure 24 heures chez le pleurodèle ou l'axolotl, mais seulement 7 heures chez le xénope.

Une zone d'invagination cellulaire ou blastopore se situe sous l'emplacement du croissant gris dont les limites se sont estompées pendant la segmentation. C'est d'abord un sillon incurvé, horizontal, la lèvre dorsale du blastopore qui évolue tandis que les tissus mésodermique et endodermique pénètrent dans la cavité de segmentation et forment une seconde cavité qui s'y emboîte, l'archentéron. La lèvre blastoporale s'incurve, avec son prolongement par les lèvres latérales, puis se referme en un cercle avec l'apparition de la lèvre ventrale du blastopore, entourant le bouchon vitellin constitué par les cellules endodermiques encore visibles à l'extérieur et dont le diamètre se réduit progressivement. Le blastopore prend enfin la forme d'une fente blastoporale verticale lorsque l'invagination est achevée. Cette fente correspond à l'anus chez les Urodèles. Chez les Anoures, elle s'oblitère, l'anus résulte d'une réouverture secondaire.

La formation et l'évolution du blastopore sont le résultat d'un mouvement combiné d'élongation et de recouvrement des tissus de l'hémisphère animal (épibolie) et de la disparition passive des cellules chargées en vitellus de l'hémisphère végétatif (embolie). Les mouvements de l'hémisphère végétatif provoquent une modification du centre de gravité, et un basculement de l'embryon sur la face ventrale. L'axe animal végétatif devient presque horizontal.

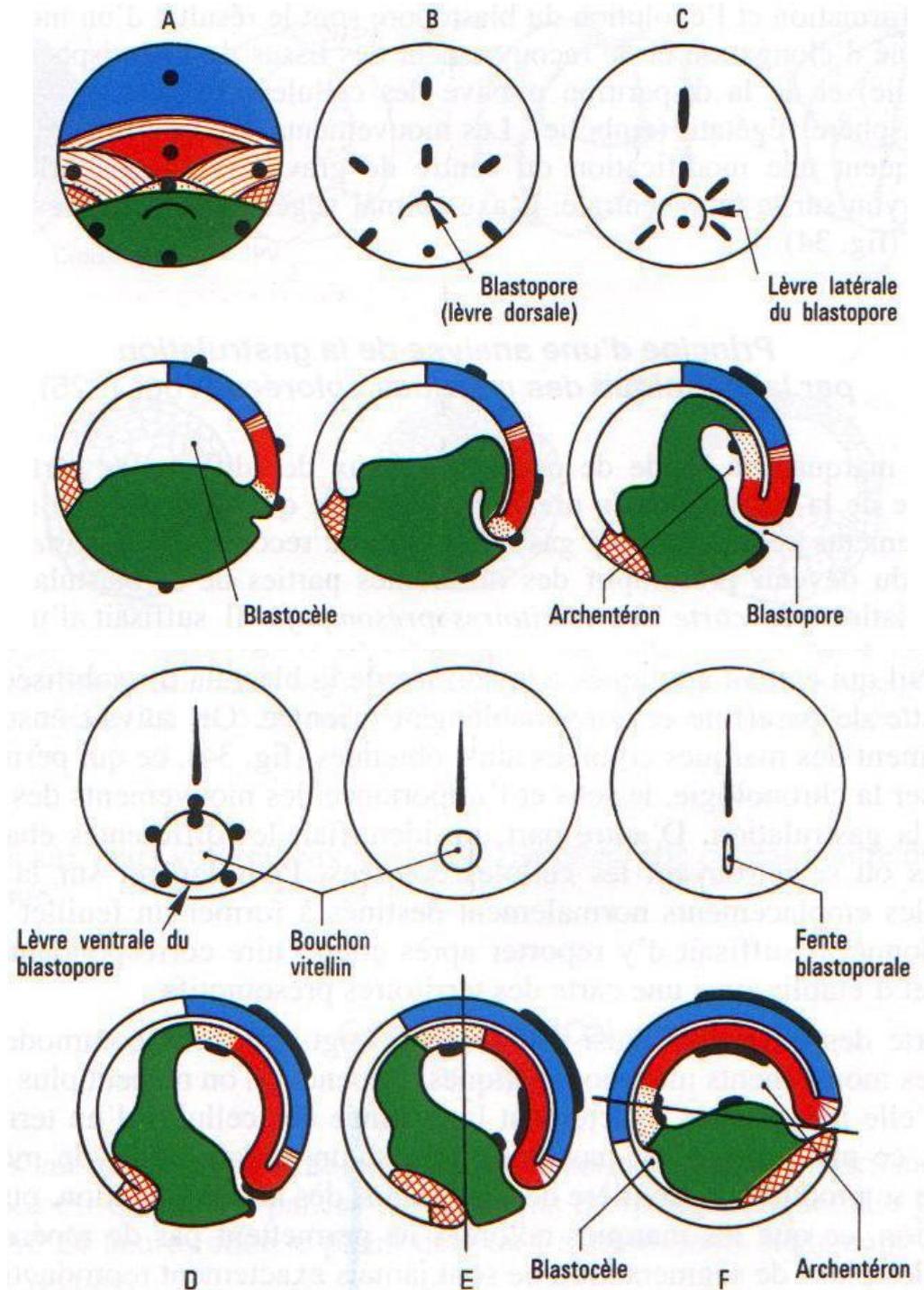
Principe d'une analyse de la gastrulation par la technique des marques colorées (Vogt 1925)

Un marquage à l'aide de colorants vitaux des différentes parties de la surface de la blastula fut la première technique qui ait permis de suivre les mouvements cellulaires à la gastrulation et de reconstituer a posteriori une carte du devenir présomptif des différentes parties de la blastula avant la gastrulation: la carte des territoires présomptifs. Il suffisait d'utiliser de minuscules fragments d'agar agar imprégnés de rouge neutre ou de sulfate bleu de Nil qui étaient appliqués à la surface de la blastula immobilisée dans une logette de paraffine et convenablement orientée. On suivait ensuite le cheminement des marques colorées ainsi obtenues, ce qui permettait de préciser la chronologie, le sens et l'importance des mouvements des tissus pendant la gastrulation. D'autre part, on identifiait les différentes ébauches d'organes où se retrouvent les cellules colorées. Pour repérer sur la jeune blastula les emplacements normalement destinés à former un feuillet ou un organe donné, il suffisait d'y reporter après coup l'aire correspondant à ces organes et d'établir ainsi une carte des territoires présomptifs.

La carte des territoires ainsi dressée par Vogt reste très commode pour décrire les mouvements morphogénétiques. Cependant, on ne peut plus considérer qu'elle indique très exactement la destinée des cellules d'un territoire. En effet, ce marquage n'est pas assez précis; un certain degré de mélange cellulaire se produit à la frontière des territoires, dès la segmentation, puis à la gastrulation, ce que les marques colorées ne permettent pas de repérer. Par ailleurs, les plans de segmentation ne sont jamais exactement reproductibles.

Des travaux réalisés sur diverses espèces, telles que le pleurodèle (Delarue et coll., 1992), le xénope (Dale et Slack, 1987), utilisent des colorants vitaux marqués à la fluorescéine ou à la rhodamine, qui sont injectés à des stades précoces du développement, par exemple dans chacun des blastomères d'une morula au stade 32 cellules du xénope, choisie pour la régularité de sa segmentation. Ils retrouvent à la neurula la position de chacune des cellules filles issues de chaque blastomère, ce qui leur permet de rétablir leur filiation jusqu'à la morula. Il existe certes une relation avec la cartographie classique, mais on constate aussi qu'une fraction des cellules dérivées des blastomères bien identifiés s'est trouvée intégrée, au stade neurula, dans des

ébauches d'organes que l'analyse classique ne prévoyait pas. Les frontières entre les différents territoires sont donc beaucoup moins précises qu'il n'apparaît avec la méthode de Vogt.



Gastrulation d'embryon d'Amphibien. Vues externes dorsales la lèvre blastoporale dorsale (A) se prolonge par des lèvres latérales (B, C) qui se rejoignent par une lèvre ventrale (D) le tout circonscrit un bouchon vitellin qui se réduit (D, E), fait place à une fente blastoporale (F) quand l'endoderme a disparu à l'intérieur. Les vues en coupe sagittale montrent la formation de l'archentéron, la réduction du blastocèle, l'élongation des feuillets ectoblastiques et mésoblastiques. A la fin de la gastrulation, l'embryon bascule sur la face ventrale (F). Des marques colorées, représentées ici en noir, sont déposées à la surface de la blastula. On suit leurs déformations et leurs migrations jusqu'à la fin de la gastrulation.

On peut conclure qu'il n'existe pas pendant la gastrulation de ségrégation rigoureuse entre les cellules issues des territoires cytoplasmiques de l'œuf.

On ne peut qu'apprécier la probabilité pour que telle cellule issue d'une aire cytoplasmique donnée ait telle descendance.

Il faut noter que la carte classique des territoires qui est présentée ici est celle d'un Urodèle. Elle ne convient pas exactement au xénope chez qui les aires présomptives mésodermiques ne sont pas visibles en surface.

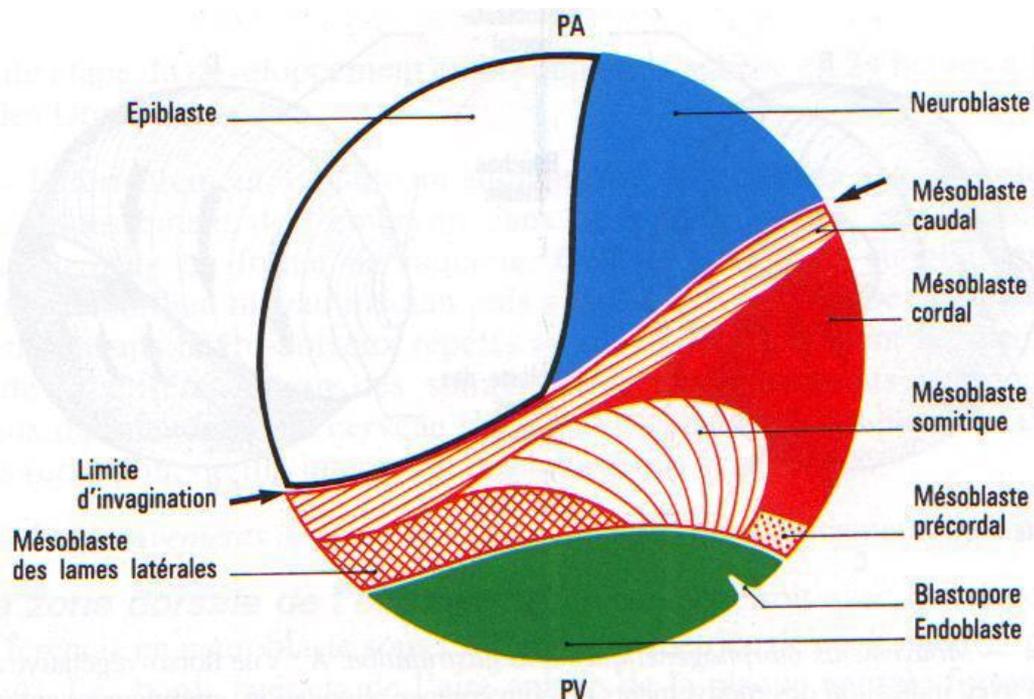
Carte des territoires présomptifs

Elle ne préjuge pas de l'état de détermination des territoires mais n'indique que leur destinée probable. On n'envisagera ici que les grandes subdivisions, bien que des localisations plus précises (organes des sens par exemple) soient connues.

1. L'ectoblaste correspond à peu près à l'hémisphère animal. Il se subdivise en épiblaste ventral qui donnera l'épiderme et ses dérivés (placodes sensorielles notamment) et en neuroblaste dorsal, à l'origine du système nerveux.

2. Le mésoblaste forme une ceinture équatoriale et sous-équatoriale, plus large dorsalement. On identifie dorsalement les territoires de la corde et du mésoderme précordial à l'emplacement du croissant gris; latéralement, les territoires des somites et du mésoderme latéral, puis le mésoderme caudal.

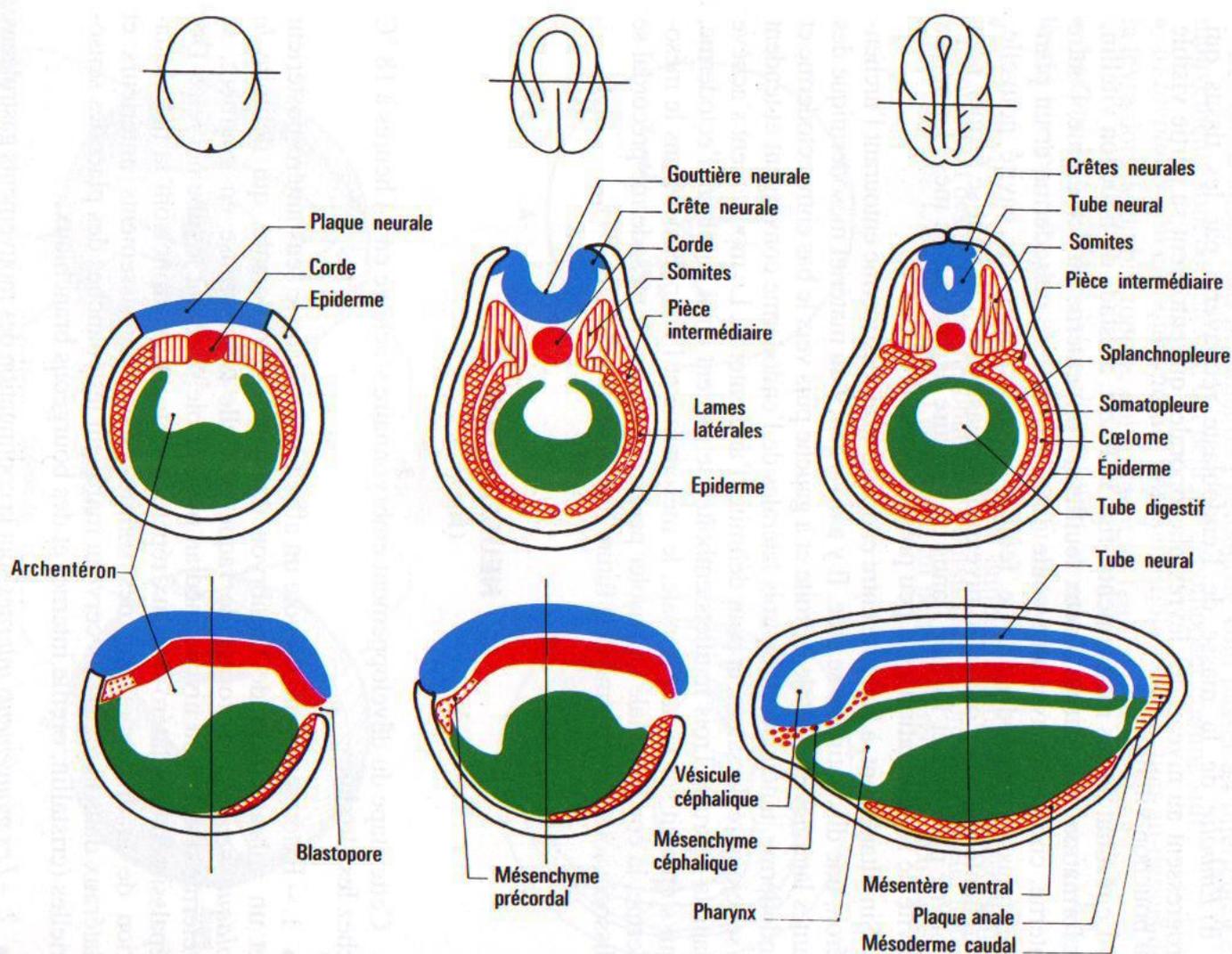
3. L'endoblaste appartient à l'hémisphère végétatif. Il est à l'origine de l'épithélium du tube digestif et de ses dérivés. Il s'y forme les cellules germinales primordiales chez les Anoures.



- Carte des territoires présomptifs d'une blastula d'Urodèle.
Vue latérale correspondant à la vue dorsale de la fig. 34 A.

D. La neurulation (mise en place de la plaque neurale).

Le processus d'induction neurale se fait lors de la gastrulation. Le cordon mésoblaste vient au contact de l'ectoderme et induit celui-ci en plaque neurale (neurectoderme). Le cordon mésoblaste va libérer des molécules qui permettent la différenciation et l'activation des gènes.



Neurulation d'embryon d'Amphibien. 3 stades différents : Plaque neurale, gouttière neurale et tube neural. Haut : vues externes dorsales. Milieu : coupes transversales. Bas : coupes longitudinales.

L'ectoblaste est compétent pour capter les signaux (moléculaires), mais cette compétence est transitoire.

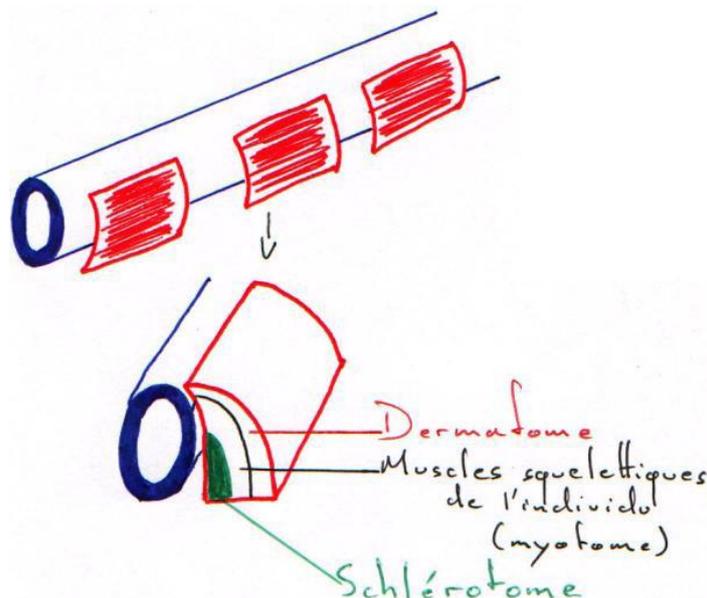
Au début de la neurulation, il y a mise en place de la plaque neurale. On assiste en premier à des mouvements pigmentaires sur la face dorsale qui dessinent une aire en forme de **raquette**.

Ces traînées pigmentaires sont dues à un épaississement du neurectoderme en plaques neurales. Des bourrelets neuraux vont s'épaissir, se soulever puis se souder pour former le tube neural. La fermeture se fait d'abord dans la région du tronc puis dans celle de la queue (région caudale) et enfin, dans la région antérieure. Ce tube nerveux donnera l'encéphale et la moelle

épinière. Ces cellules des crêtes neurales ont des capacités de migration importante grâce à la synthèse de matrice extracellulaire sur laquelle elles migrent.

Ces cellules qui vont migrer vont diffuser dans tout le corps et donner, des mélanophores (cellules sécrétant des pigments) qui donneront sa couleur à l'embryon, les ganglions spinaux (ou rachidiens), les systèmes sympathiques, les glandes endocrines (médullo-surrénales).

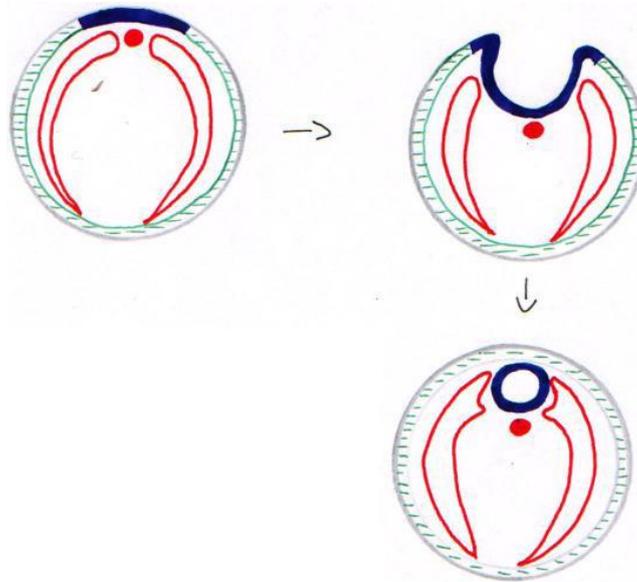
Pendant que se déroule la neurulation, on assiste à une régionalisation du mésoblaste en lame cellulaire pleine formant la voûte et les parois latérales de l'archantéron. Alors que les lames latérales se rejoignent ventralement, le mésoderme dorsal s'individualise, la corde s'isole et le mésoderme dorsal se métamérise en **somites** (blocs métamérisés). La région dorsale externe va donner le **dermatome**(derme de la peau). La région supérieure interne va donner le **myotome**(muscle strié), la partie inférieure interne donnera le **sclérotome**(les vertèbres). La région intermédiaire donnera les gonades et les reins.



Les régions latérales et la région ventrale du mésoderme ne se métamérisent pas et se délaminent en deux feuillets :

- le plus externe, le somatopleure, donnera le squelette des membres, le péricarde et les muscles viscéraux
- la splanchnopleure va donner le cœur, les premières cellules sanguines, la paroi endothéliale des vaisseaux sanguins.

Ces deux feuillets vont constituer une cavité coelomique (cavité générale du cœur).



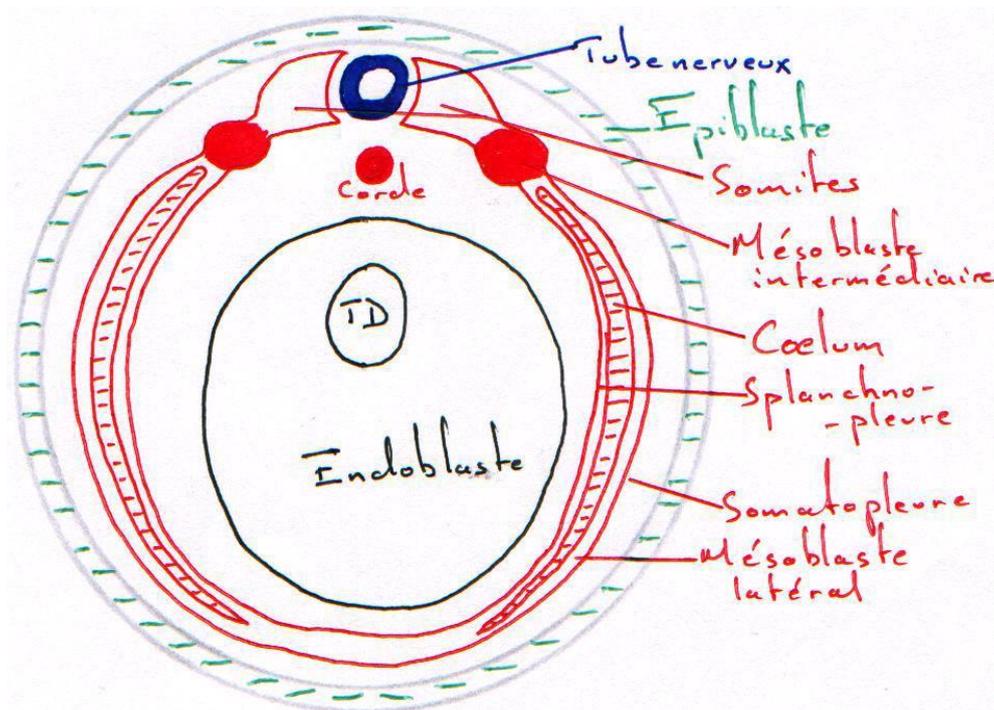
E. La formation du tube digestif.

A la fin de la gastrulation, la masse d'endoblaste constitue le plancher de l'archantéron.

Pendant la neurulation, les bords latéraux de l'endoblaste se soulèvent et viennent se souder dorsalement dans un mouvement inverse à celui du mésoblaste latéral.

L'endoblaste donnera l'épithélium du tube digestif, de l'appareil urinaire et pulmonaire. Celui-ci est en étroite association avec le mésoderme splanchnique. L'endoblaste donnera des glandes annexes comme le foie, le pancréas.

Au cours de la neurulation, le germe s'allonge dans le sens antéro-postérieur. A la fin de cette neurulation, on distingue la tête et la queue : c'est le stade du bourgeon caudal. Divers organes apparaissent dans la région antérieure comme les yeux, les branchies, les ventouses adhésives pour les anoues ou le balancier pour les urodèles.



On assiste à une régionalisation du système nerveux donnant l'encéphale et la moelle épinière. Cet encéphale va devenir inducteur vis à vis de l'ectoblaste. C'est ainsi que le **proencéphale** induit la placode (vésicules) olfactive.

Le **diencéphale** va former 2 invaginations latérales constituant la rétine qui induit la formation du cristallin qui induira, lui-même, la formation de la cornée (cascade d'inductions).

Le **rhombencéphale** induit la placode auditive ou otique. Les tissus et les organes se mettent tous en place.