

Étude comparative de la membrane coquillère chez les souches ovipare et vivipare du lézard *Lacerta vivipara*

BENOÎT HEULIN

Station biologique de Paimpont, 35380 Plelan-Le-Grand, France

Reçu le 9 mars 1989

HEULIN, B. 1990. Étude comparative de la membrane coquillère chez les souches ovipare et vivipare du lézard *Lacerta vivipara*. *Can. J. Zool.* **68**: 1015–1019.

Chez les reptiles, l'évolution de la viviparité nécessite une régression plus ou moins complète de la membrane coquillère des oeufs. Cette régression de la membrane coquillère a pu être étudiée chez le lézard *Lacerta vivipara*, qui présente à la fois des populations à reproduction ovipare et des populations à reproduction vivipare. Dans la reproduction ovipare, les oeufs pondus présentent une membrane coquillère parcheminée dont l'épaisseur moyenne est de 36 μm . Cette membrane est constituée de fibrilles et de calcite qui se répartit sur sa surface externe et dans la matrice interfibrillaire. Dans la reproduction vivipare, on observe une membrane coquillère transparente qui reste interposée entre les tissus maternels et foetaux pendant la gestation. Cette membrane principalement constituée de fibrilles ne présente que de faibles traces de calcite et son épaisseur moyenne est de seulement 9 μm . Cette réduction d'épaisseur et de calcification peut être interprétée comme une adaptation permettant de faciliter les échanges respiratoires à la fin de la gestation, lorsque les besoins en oxygène de l'embryon sont accrus. L'auteur souligne l'intérêt des espèces présentant une bimodalité de reproduction (oviparité et viviparité) pour étudier les mécanismes de l'évolution de la viviparité chez les reptiles.

HEULIN, B. 1990. Étude comparative de la membrane coquillère chez les souches ovipare et vivipare du lézard *Lacerta vivipara*. *Can. J. Zool.* **68**: 1015–1019.

Evolution of viviparity in reptiles has resulted in more or less complete regression of the eggshell membrane. Such a regression has been studied in a lizard, *Lacerta vivipara*, which has both oviparous and viviparous populations. In oviparous reproduction, eggs laid have parchmentlike eggshells with a mean thickness of 36 μm . These eggshell membranes are composed of fibrils and of calcite, which is distributed over the outer surface and in the interfibrillar matrix. In viviparous reproduction, a transparent eggshell membrane remains between the embryonic and maternal tissues throughout pregnancy. This membrane consists mainly of fibrils and has only minor traces of calcite. Its mean thickness is only 9 μm . Reduction of thickness and of calcification is thought to be an adaptation that allows better respiratory exchanges at the end of pregnancy, when embryos require more oxygen. The author emphasizes that species with bimodality of reproduction (oviparity and viviparity) are of considerable interest in research investigating the evolution of viviparity in reptiles.

Introduction

L'évolution de l'oviparité à la viviparité, c'est-à-dire la possibilité de réaliser totalement le développement embryonnaire dans les utérus maternels, s'est produite en plus de 45 occasions distinctes au sein du phylum des Sauriens (Blackburn 1982). La première étape de cette évolution s'est traduite par deux modifications contribuant à faciliter les échanges respiratoires entre la mère et l'embryon : le développement de structures placentaires vascularisées et la réduction de la membrane coquillère enveloppant les oeufs (Packard *et al.* 1977; Guillette 1982, 1987; Xavier et Gavaud 1986). Lors de l'évolution de la viviparité, la régression de la membrane coquillère n'a pas toujours été complète : chez de nombreuses espèces vivipares on peut encore observer une membrane coquillère qui, dans certains cas, reste interposée entre les tissus maternels et foetaux au cours de la gestation (Jacobi 1936; Panigel 1956; Bauchot 1965; Packard *et al.* 1977). Le terme « ovo-vivipare » a parfois

(Brana et Bea 1987; Heulin et Guillaume 1989). Dans les populations vivipares de *Lacerta vivipara*, les oeufs ne sont entourés que d'une très fine membrane coquillère transparente et la totalité du développement embryonnaire s'effectue dans les utérus maternels où se constituent des allanto-placentas rudimentaires (Panigel 1956). Les échanges entre la mère et l'embryon s'effectuent au travers de la membrane coquillère dont l'épaisseur est comprise entre 5 et 10 μm (Jacobi 1936; Panigel 1956). Dans le cas des populations ovipares de *Lacerta vivipara*, les oeufs protégés par une membrane coquillère épaisse et parcheminée sont pondus et incubés dans le milieu naturel (Lantz 1927; Bea 1978; Mellado *et al.* 1981; Brana 1986; Heulin 1988). Aucune étude de la membrane coquillère de la souche ovipare n'a pour l'instant été réalisée.

Nous avons donc entrepris une étude ayant pour but de préciser les différences d'épaisseur et de structure existant entre les deux types de membrane coquillère chez *Lacerta vivipara*.

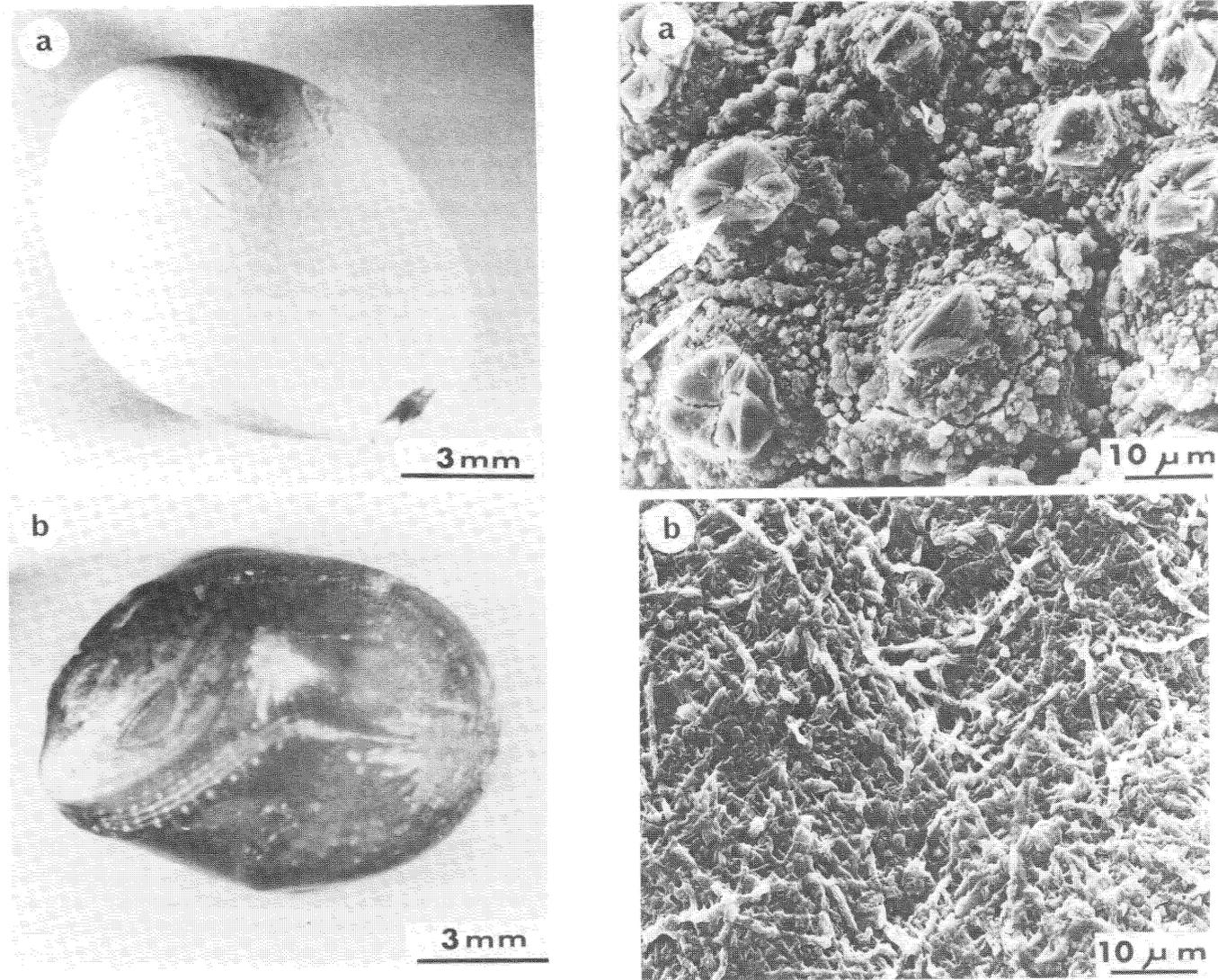


FIG. 1. Aspect externe des membranes coquillères. Fig. 1a. Chez la souche ovipare : membrane coquillère parcheminée de l'oeuf. Fig. 1b. Chez la souche vivipare : fine membrane coquillère transparente enveloppant l'embryon pendant la gestation.

et 12 membranes provenant de cinq portées différentes pour la souche vivipare. Avant observation, les membranes ont subi une déshydratation dans une série de bains d'éthanol et d'acétone, un séchage au point critique dans le CO_2 liquide (dessiccateur Balzers), et une métallisation à l'or (métalliseur JEOL JFC 1100). En outre, quelques membranes ont subi au préalable une décalcification par un passage de 30 min dans un bain d'HCl dilué à 0,1 M. L'apparition d'une réaction d'effervescence s'est produite au cours de ce traitement, ce qui est une preuve que nous avons utilisé pour

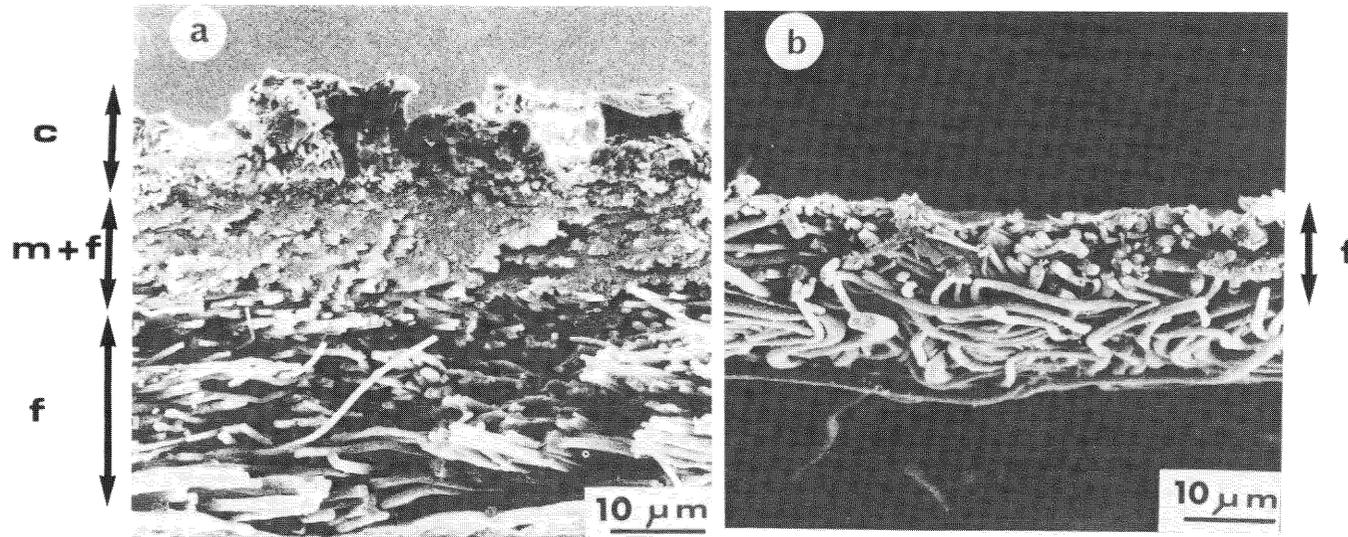


FIG. 3. Vues de fractures des membranes coquillères. Fig. 3a. Chez la souche ovipare : de l'extérieur vers l'intérieur on observe la croute minérale de calcite (*c*), une zone composée de fibrilles incluses dans une matrice (*m+f*) et une zone composée uniquement de fibrilles (*f*). Fig. 3b. Chez la souche vivipare : on observe uniquement une zone de fibrilles (*f*).

moyenne (\pm écart type) calculée est de $36,4 \pm 8,5 \mu\text{m}$ pour les membranes d'ovipares et de seulement $8,7 \pm 3,9 \mu\text{m}$ pour les membranes de vivipares.

La faible effervescence observée lors du traitement à l'HCl 0,1 M indique que les membranes coquillères de la souche vivipare ne contiennent que de faibles traces de CaCO_3 . En revanche, la réaction marquée observée dans le cas des membranes coquillères de la souche ovipare indique que celles-ci présentent de plus importantes quantités de CaCO_3 . L'étude de diffractométrie aux rayons X nous a permis de constater que ce CaCO_3 était minéralisé à l'état de calcite. Aucune trace d'aragonite n'a été décelée. La différence de teneur en CaCO_3 des deux types de membrane est également illustrée par l'examen microscopique des surfaces externes : les membranes coquillères de la souche vivipare ne présentent que de petits cristaux rhomboédriques de calcite disséminés (fig. 2c) tandis que les membranes coquillères de la souche ovipare sont couvertes d'une croute minérale constituée de grosses structures cristallines entre lesquelles s'intercalent de nombreux petits cristaux rhomboédriques (fig. 2a).

Le traitement à l'HCl des membranes coquillères de la souche ovipare fait disparaître la couche minérale de calcite et laisse apparaître un réseau fibrillaire (fig. 2b) tout à fait comparable à celui que l'on peut observer sur les membranes coquillères vivipares non traitées (Fig. 2c). L'examen des sections montre aussi que les membranes coquillères des souches ovipare et

généralement des structures globulaires dans les membranes coquillères de vivipares (fig. 4b).

Discussion

Les principales caractéristiques de structure et de constitution des membranes coquillères de *Lacerta vivipara* sont conformes aux descriptions précédemment effectuées pour d'autres espèces de reptiles. Ainsi, le réseau de fibrilles observé dans les membranes coquillères de *Lacerta vivipara* est une structure qui est connue dans tous les oeufs de reptiles et dont la nature est principalement protéique (Schleich et Kästle 1988). On sait également, comme nous l'avons constaté chez *Lacerta vivipara*, que le CaCO_3 des membranes coquillères est toujours à l'état de calcite chez les Sauriens, les Ophidiens et les Crocodyliens, alors qu'il est habituellement à l'état d'aragonite chez les Chéloniens (Erben 1970; Erben et Newesely 1972; Packard *et al.* 1982; Schleich et Kästle 1988). La matrice interfibrillaire que nous avons observé dans la partie externe de la membrane coquillère de la souche ovipare est une structure qui a déjà été signalée chez quelques espèces de lézards, d'amphisbènes et de serpents (Krampitz *et al.* 1973; Kriesten 1975; Sexton *et al.* 1979; Packard *et al.* 1982; Trauth et Fagerberg 1984; Schleich et Kästle 1988). La composition de cette matrice interfibrillaire est probablement variable d'une espèce à l'autre : elle contient du CaCO_3 chez *Lacerta vivipara* comme chez *Anolis limifrons* et *Anolis auratus* (Sexton *et al.*

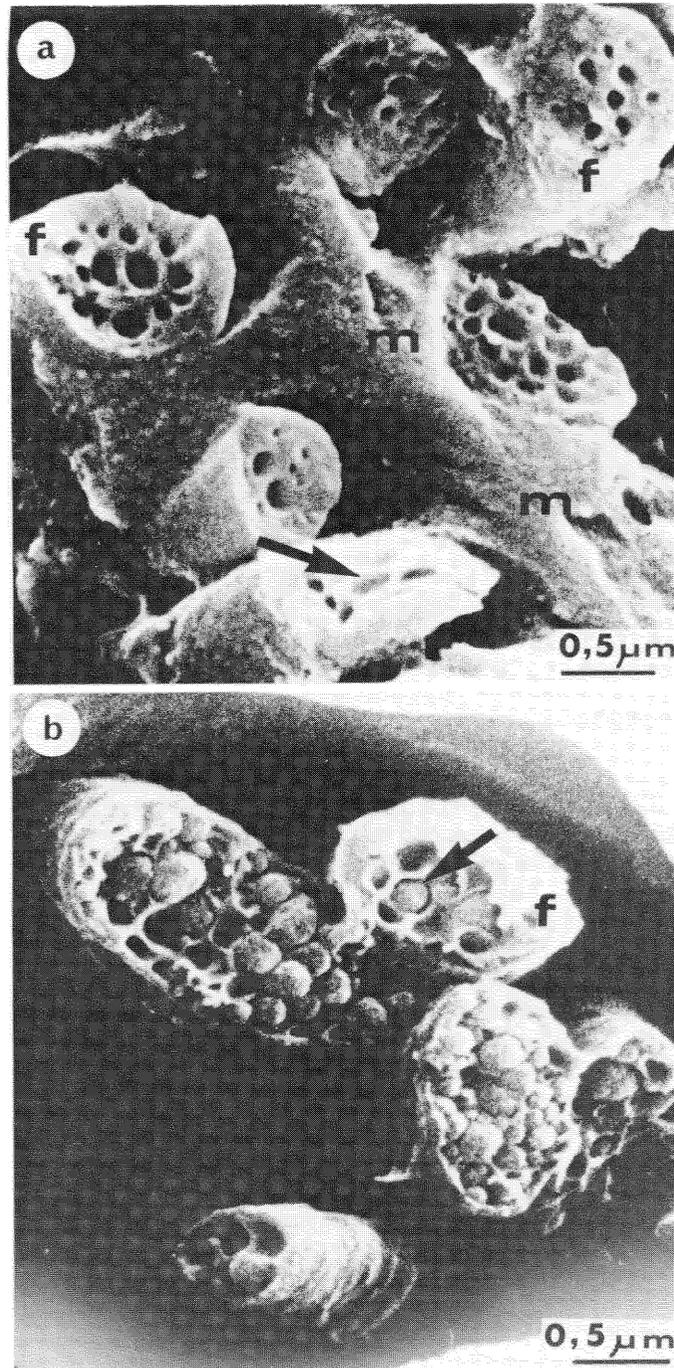


FIG. 4. Détails sur des sections de fibrilles (*f*). Fig. 4a. Chez la souche ovipare : fibrilles de la zone externe incluses dans une matrice

La régression de la membrane coquillière est donc le résultat d'une diminution du nombre et (ou) de l'activité de ces glandes sécrétrices chez la souche vivipare. Chez le lézard mexicain *Sceloporus aeneus*, Guillette (1982) a effectivement pu constater que la sous-espèce vivipare *Sceloporus aeneus bicanthalis* présente une réduction du nombre de glandes oviductaires comparativement à la sous-espèce ovipare *Sceloporus aeneus aeneus*. Par ailleurs, Panigel (1956) a pu montrer que, chez la souche vivipare de *Lacerta vivipara*, l'activité des glandes sécrétrices oviductaires peut être stimulée par l'injection d'oestradiol ou de progestérone. Il sera donc extrêmement utile à l'avenir de rechercher s'il existe d'éventuelles différences des cycles hormonaux de la progestérone et de l'oestradiol entre les souches vivipare et ovipare de *Lacerta vivipara*.

Du point de vue signification fonctionnelle, la modification de la membrane coquillière peut être interprétée en faisant référence aux contraintes environnementales et physiologiques associées aux modes de reproduction ovipare et vivipare. Dans le cas de l'oviparité, l'épaisseur et la calcification de la membrane coquillière contribuent à diminuer les risques de dessiccation et constituent des protections contre les agressions externes, telles que la prédation par les invertébrés ou l'infestation microbienne (Andrews et Sexton 1981; Packard *et al.* 1980; Schleich et Kästle 1988). Après la ponte des oeufs, la respiration des embryons se fait par diffusion gazeuse au travers des couches de fibrilles et de carbonate de calcium. Ce processus de diffusion est suffisamment efficace parce que les oeufs sont en contact avec l'air du site de ponte, c'est-à-dire avec un milieu gazeux qui peut contenir une quantité relativement importante d'oxygène. Au contraire, dans le cas de la viviparité, ces échanges respiratoires s'effectuent beaucoup plus difficilement dans la mesure où ils ont lieu dans l'environnement aqueux de l'utérus, c'est-à-dire dans un milieu qui ne peut contenir que de faibles quantités d'oxygène. Dans de telles conditions, la réduction d'épaisseur et de minéralisation de la membrane coquillière est une condition nécessaire au rapprochement des vaisseaux sanguins maternels et foetaux et, ainsi, à l'amélioration des échanges respiratoires (Packard *et al.* 1977). Il faut toutefois souligner que ce problème des échanges respiratoires ne devient réellement contraignant qu'à certaines phases du développement embryonnaire. On distingue en effet deux étapes dans le développement embryonnaire des reptiles : la phase de différenciation et d'organogénèse, qui ne nécessite pas de grandes quantités d'oxygène, suivie de la phase de croissance exponentielle de l'embryon, qui, au contraire, occasionne un brusque accroissement du métabolisme respiratoire embryonnaire (Packard *et al.* 1977; Guillette 1982; Xavier et Gavaud 1986). Or, il apparaît que c'est précisément au moment de la transition entre ces deux phases, c'est-à-dire entre les stades embryonnaires 20 à 24 (Dufaure et Hubert 1961), qu'intervient la ponte

dans l'activité des glandes oviductaires sécrétant la membrane coquillière. À ce titre, les rares espèces présentant une bimodalité de reproduction comme *Sceloporus aeneus* (Guillette 1982) ou *Lacerta vivipara* devraient constituer des situations expérimentales irremplaçables.

Remerciements

Nous remercions M. Lelannick du centre de microscopie à balayage de l'université de Rennes et M^{me} Esteoule, qui a réalisé l'étude de diffractométrie au laboratoire de géologie. Cette étude s'intègre dans les programmes de recherche de l'Unité de recherche associée n° 97 et du Groupement de recherches coordonnées 82 du Centre national de la recherche scientifique.

- ANDREWS, R. M., et SEXTON, O. J. 1981. Water relation of the eggs of *Anolis auratus* and *Anolis limifrons*. *Ecology*, **62**: 556–562.
- BAUCHOT, R. 1965. La placentation chez les reptiles. *Ann. Biol.* **4**: 547–575.
- BEA, A. 1978. Nota sobre *Lacerta vivipara* en la Peninsula Iberica. *Bull. Inst. Catalan Hist. Nat.* **42**: 123–126.
- BLACKBURN, D. G. 1982. Evolutionary origins of viviparity in the Reptilia. *Amphibia-Reptilia*, **3**: 185–205.
- BRANA, F. 1986. Ciclo reproductor y oviparismo de *Lacerta vivipara* en la Cordillera Cantabrica. *Rev. Esp. Herpetol.* **1**: 273–291.
- BRANA, F., et BEA, A. 1987. Bimodalité de la reproduction chez *Lacerta vivipara*. *Bull. Soc. Herpetol. Fr.* **44**: 1–5.
- DUFAURE, J. P., et HUBERT, J. 1961. Table de développement du lézard *Lacerta vivipara*. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* **50**: 309–328.
- ERBEN, H. K. 1970. Ultrastrukturen und Mineralisation rezenter und fossiler Eischalen bei Vögeln und Reptilien. *Biominalisation*, **1**: 1–66.
- ERBEN, H. K., et NEWESELY, H. 1972. Kristalline Bausteine und Mineralbestand von kalkigen Eischalen. *Biominalisation*, **6**: 32–48.
- FOX, H. 1977. Urogenital system. *Dans Biology of Reptilia*, Vol. 6. *Éditeur*: C. Gans Academic Press, Londres. p. 1–57.
- GIERSBERG, H. 1922. Untersuchungen über Physiologie und Histologie des Eileiters der Reptilien und Vögel: nebst einem Beitrag zur Fasergene. *Z. Wiss. Zool.* **120**: 1–97.
- GUILLETTE, L. J. 1982. The evolution of viviparity and placentation in the high elevation mexican lizard *Sceloporus aeneus*. *Herpetologica*, **38**: 94–103.
- 1987. The evolution of viviparity in Fishes, Amphibians and Reptiles. *Dans Hormone and reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles. Éditeurs*: D. O. Norris et R. E. Jones. Plenum Press, New York. p. 523–562.
- GUILLETTE, L. J., JONES, R. E., FITZGERALD, K. T., et SMITH, H. M. 1980. Evolution of viviparity in the lizard genus *Sceloporus*. *Herpetologica*, **36**: 201–215.
- HEULIN, B. 1988. Données nouvelles sur les populations ovipares de *Lacerta vivipara*. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **306**: 63–68.
- HEULIN, B., et GUILLAUME, C. 1989. Extension géographique des populations ovipares de *Lacerta vivipara*. *Rev. Ecol. Terre Vie*, **44**: 39–45.
- JACOBI, L. 1936. Ovoviviparie bei einheimischen Eidechsen. *Z. Wiss. Zool.* **148**: 401–464.
- KRAMPITZ, G., KRIESTEN, K., et BOHME, W. 1973. Über Aminosäurezusammensetzung und Struktur von Eischalen. *Biominalisation*, **4**: 87–89.
- KRIESTEN, K. 1975. Untersuchungen über Ultrastruktur, Proteinmuster und Aminosäurezusammensetzung der Eischalen von *Testudo elephantopus*, *Caiman crocodilus* und *Iguana iguana*. *Zool. Jahre-Abt. Anat. Ont. Tiere*, **94**: 101–122.
- LANTZ, L. A. 1927. Quelques observations nouvelles sur l'herpétologie des Pyrénées centrales. *Bull. Hist. Nat. Applic.* **8**: 54–61.
- MELLADO, J., OLMEDO, G., et FERNANDEZ QUIROS, C. 1981. Datos sobre la reproducción de *Lacerta vivipara* en la Cordillera Cantabrica. *Doñana Acta Vertebr.* **8**: 300–302.
- PACKARD, G. C., et PACKARD, M. J. 1980. Evolution of the Cleidoic egg among Reptilian antecedents of birds. *Am. Zool.* **20**: 351–362.
- PACKARD, G. C., TRACY, C. R., et ROTH, J. J. 1977. The physiological ecology of reptilian eggs and embryos and the evolution of viviparity within the class reptilia. *Biol. Rev.* **52**: 71–105.
- PACKARD, M. J., BURNS, L. K., HIRSCH, K. L., et PACKARD, G. C. 1982. Structure of shells of eggs of *Callisaurus draconoides*. *Zool. J. Linn. Soc.* **75**: 297–316.
- PANIGEL, M. 1956. Contribution à l'étude de l'ovoviviparité chez les reptiles: gestation et parturition chez le lézard vivipare *Zootoca vivipara*. *Ann. Sci. Nat. Zool.* **18**: 569–668.
- SCHLEICH, H. H. et KÄSTLE, W. 1988. Reptile egg-shells. Scanning electron microscopy atlas. G. Fischer, Stuttgart.
- SEXTON, O. J., VEITH, G. M., et PHILLIPS, D. M. 1979. Ultrastructure of the eggshell of two species of Anoline lizards. *J. Exp. Zool.* **207**: 227–236.
- SHINE, R. 1983. Reptilian reproductive modes: the oviparity-viviparity continuum. *Herpetologica*, **39**: 1–8.
- TRAUTH, S. E., et FAGERBERG, W. R. 1984. Ultrastructure and stereology of the eggshell in *Cnemidophorus sexlineatus*. *Copeia*, **4**: 826–832.
- XAVIER, F., et GAVAUD, J. 1986. Oviparity–viviparity continuum in reptiles, physiological characteristics and relation with environment. *Dans Endocrine regulation as adaptative mechanisms to the environment. Éditeurs*: I. Assenmacher et J. Boissin. Centre national de la recherche scientifique, Paris. p. 79–93.