

bulletin de la société d'HISTOIRE NATURELLE de TOULOUSE

1992

T 128



UNIVERSITE PAUL SABATIER TOULOUSE

Caractéristiques somitiques et premiers stades de la formation des ébauches des membres chez les jeunes embryons de lézard vert (*Lacerta viridis*, Laur.) et d'Orvet (*Anguis fragilis*, L.)

par A. Raynaud *, L. Bonnet** et M. Clergue-Gazeau***

* Laboratoire de Biologie, route de la Glévalde, 81330 Vabre

et Laboratoire de Zoologie, Université Paul-Sabatier, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex.

** Laboratoire de Biologie Quantitative et UPR 8491 CNRS, Université Paul-Sabatier, 31062 Toulouse Cedex.

*** Laboratoire de Zoologie, Université Paul-Sabatier, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex.

RÉSUMÉ

La comparaison de la longueur du tronc et du nombre de somites formés chez de jeunes embryons d'Orvet et de Lézard Vert montre que le découpage des lames segmentaires (mésoderme para-axial pré-somitique) s'est fait différemment chez les deux espèces, aboutissant à l'individualisation d'un nombre plus élevé de somites chez l'Orvet. Les mesures d'épaisseur cranio-caudale des premiers somites chez de jeunes embryons des deux espèces, au même stade de développement montrent que chez les embryons d'Orvet, les somites S_{10} à S_{13} (S_1 étant le premier somite post-otique) sont plus étroits que les somites S_6 à S_9 , alors que chez les embryons de Lézard Vert, une diminution comparable d'épaisseur ne s'observe qu'à hauteur des somites S_{13} ou S_{14} . Ces résultats suggèrent que chez les embryons d'Orvet, les somites S_{10} à S_{13} sont formés d'un nombre plus faible de cellules que les somites S_6 à S_9 qui les précèdent ; c'est peut-être là une des raisons pour lesquelles les somites S_{10} à S_{13} ne forment pas de prolongement ventral chez l'embryon d'Orvet. Les mesures d'épaisseur de la somatopleure dans le territoire du membre antérieur, à hauteur des somites S_6 à S_{13} montrent que la somatopleure ne s'épaissit que face aux somites qui ont envoyé un prolongement ventral dans son territoire ; l'épaississement de cette assise débute à hauteur des somites S_8 et S_9 chez les jeunes embryons d'*Anguis fragilis* et des somites S_{10} , S_{11} et S_{12} chez les jeunes embryons de *Lacerta viridis*.

SUMMARY

Somitic characteristics and early development of the limb bud in young embryos of the green lizard (*Lacerta viridis*, Laur.) and of the slow-worm (*Anguis fragilis*, L.).

A comparison of the length of the trunk and of the number of somites formed in young embryos of *Anguis fragilis* and of *Lacerta viridis* at the same developmental stage shows that the mode of segmentation in the segmental plate (presomitic mesoderm) is different in *Anguis* and in *Lacerta*, leading to the differentiation of a greater number of somites in the embryos of *Anguis fragilis*. The measurements of the cranio-caudal thickness of the first somites in young embryos of the two species at a similar developmental stage show that, in *Anguis* embryos, the somites S_{10} to S_{13} (S_1 being the first post-otic somite) are narrower than the somites S_6 to S_9 , whereas in *Lacerta* embryos, a similar reduction in somitic thickness is only observed at the level of the somites S_{13} or S_{14} . These observations suggest that the somites S_{10} to S_{13} in *Anguis* embryos are formed of a number of cells lower than the number of cells present in the somites S_6 to S_9 . It may be that this reduction in the number of cells constitutes one of the factors responsible for the non-formation of a ventral process by the somites S_{10} to S_{13} or S_{11} to S_{13} in young *Anguis* embryos.

Measurements of the thickness of the somatopleure in the area of the anterior limb bud show that this layer thickens only in front of somites that send a ventral extension in its territory. The thickening of the somatopleure begins at the level of the somites S_8 and S_9 in young embryos of *Anguis fragilis* and at the level of the somites S_{10} , S_{11} and S_{12} in young embryos of *Lacerta viridis*.

INTRODUCTION

L'intervention de certains somites dans les premiers stades du développement du membre a été mise en évidence, depuis une vingtaine d'années chez tous les Vertébrés amniotes. Chez les Reptiles, ce sont de longs prolongements ventraux de ces somites qui pénètrent dans le territoire somatopleural présomptif du membre et stimulent

son développement ; le nombre de somites intervenant dans ces processus est réduit chez les embryons de Reptiles serpentiformes (en particulier chez l'embryon d'*Anguis fragilis*) et cette réduction doit être à l'origine de la réduction des membres chez ces espèces (RAYNAUD et VASSE, 1968, 1969 ; RAYNAUD, 1971, 1972_a, 1972_b, 1974, 1977_a, 1977_b, 1985).

Dans le travail actuel, nous avons cherché à obtenir des renseignements sur la segmentation des cordons mésodermiques para-axiaux (lames segmentaires), le nombre de somites formés chez les jeunes embryons d'Orvet et de Lézard Vert et sur leurs dimensions ; les résultats de mesures suggèrent une explication pour la non-formation de prolongements ventraux par certains somites. De plus, les mesures d'épaisseur transversale de la somatopleure à hauteur des différents somites de la série S₆ à S₁₃ confirment que c'est seulement face aux somites qui envoient des prolongements ventraux dans ses assises, que la somatopleure s'épaissit pour former l'ébauche du membre.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce travail a porté sur une trentaine d'embryons d'Orvet (*Anguis fragilis*, L.) et une vingtaine d'embryons de Lézard Vert (*Lacerta viridis*, Laur.) provenant des élevages réalisés aux laboratoires de Sannois et de Vabre.

Les mesures de longueur du tronc ont été faites sur des photographies, agrandies vingt fois, d'embryons couchés sur leur côté gauche. Les mesures de l'épaisseur cranio-caudale des somites ont été faites sur des embryons récemment fixés, par examen à la loupe binoculaire avec un micromètre oculaire, directement sur le bord dorsal des somites ; nous avons vérifié que la courbure dorsale du corps, au niveau des régions dans lesquelles étaient effectuées les mesures, était semblable chez les deux espèces d'embryons ; ceci aux deux stades embryonnaires étudiés (les résultats des mesures ont d'ailleurs été comparables pour ces deux stades). Les résultats de ces mesures ont été étudiés statistiquement au moyen des tests non-paramétriques de MANN-KENDALL-SNEYERS (SNEYERS, 1975) et de PETTITT (1979) (Tableaux III et IV) et traduits graphiquement par des courbes (Fig. 2).

L'épaisseur de la somatopleure, face aux somites de la série S₆-S₁₄ a été mesurée sur des sections transversales d'embryons à hauteur de la pénétration du prolongement somitique considéré, dans cette assise (les embryons avaient été coupés en série transversale et les sections, de 7,5 µm d'épaisseur, colorées à l'hémalun-éosine).

Enfin, pour déterminer le nombre de vertèbres présacrées de l'Orvet, nous avons dénombré ces vertèbres chez 25 jeunes Orvets (nouveau-nés et jeunes âgés de quelques jours provenant des élevages réalisés à Vabre) éclaircis et colorés *in toto* à l'alizarine S par une méthode mise antérieurement au point par l'un de nous (M. CLERGUE-GAZEAU, *in* RAYNAUD et CLERGUE-GAZEAU, 1986).

Pour tous les embryons étudiés, les stades du développement ont été définis au moyen de critères morphologiques, en particulier d'après l'état de développement des yeux, des fosses olfactives, le degré d'allongement du bourgeon maxillaire supérieur, les arcs viscéraux, les dimensions de la tête et du bourgeon allantoïdien. A ces critères s'ajoute l'âge, en jours et heures d'incubation à partir de l'heure de la ponte, pour les embryons de *Lacerta viridis*.

RÉSULTATS

Dès la fin de l'invagination gastruléenne et dès la formation des premiers somites, on constate que la longueur du tronc est nettement plus grande chez les embryons d'*Anguis fragilis* que chez les embryons de *Lacerta viridis* ; les photographies de la Figure 1 et les chiffres du Tableau I en donnent un exemple. Ainsi, dès la fin de leur mise en place, les organes axiaux et para-axiaux, en particulier les lames segmentaires (cordons mésodermiques présomitiques) sont plus longs chez les embryons d'Orvet que chez les embryons de Lézard Vert (cette constatation a été faite chez une douzaine d'embryons des deux espèces).

	Embryons de <i>Lacerta viridis</i>		Embryon d' <i>Anguis fragilis</i> E ₁ Orv. 741
	E325 LV.B	E354 LV.B	
L	3,65	4,15	6,55
Nombre de somites différenciés chez ces embryons à ce stade	27	29	60

Tableau I. — Longueur (L), en mm, mesurée le long du bord dorsal de l'embryon, entre l'otocyste et la base du bourgeon allantoïdien, chez deux embryons de *Lacerta viridis* et un embryon d'*Anguis fragilis*, au même stade du développement (la segmentation, en somites, des cordons mésodermiques présomitiques n'est pas encore achevée chez ces embryons).

Notons que déjà, à ces stades, les rapports entre la longueur du tronc (ou encore la longueur « tête et tronc ») de l'embryon d'Orvet aux dimensions correspondantes de l'embryon de Lézard sont voisins des rapports obtenus pour les mêmes dimensions chez les animaux adultes. Ainsi, chez l'adulte, le rapport entre la distance de l'extrémité du museau au cloaque chez l'Orvet et la même longueur chez le Lézard Vert est, en moyenne de 20/11,5, c'est-à-dire de 1,73. Chez les embryons nous avons trouvé pour ce rapport, une valeur de 1,65. Les mesures de longueur ont été faites le long du bord dorsal du corps d'embryons photographiés couchés sur le côté gauche, les photographies étant agrandies 20 fois.

Etant donné que chez les embryons de *Lacerta viridis*, entre l'otocyste et le renflement cloacal latéral il se constitue 31 somites, s'il existait une même proportionnalité d'une espèce à l'autre, on devrait trouver chez l'embryon d'*Anguis fragilis*, 52 somites entre l'otocyste et le renflement cloacal latéral. Or, chez l'embryon d'Orvet il se forme de 70 à 75 somites entre l'otocyste et le renflement cloacal latéral. Ces chiffres montrent que le mode de segmentation des lames segmentaires est différent chez les deux espèces : il est plus « serré » chez les embryons d'Orvet et aboutit ainsi à la formation d'un nombre plus élevé de somites. Il s'est donc produit, chez l'embryon d'Orvet, une modification du mécanisme de la somitogenèse et ceci est très probablement valable pour les autres espèces de Reptiles serpentiformes.

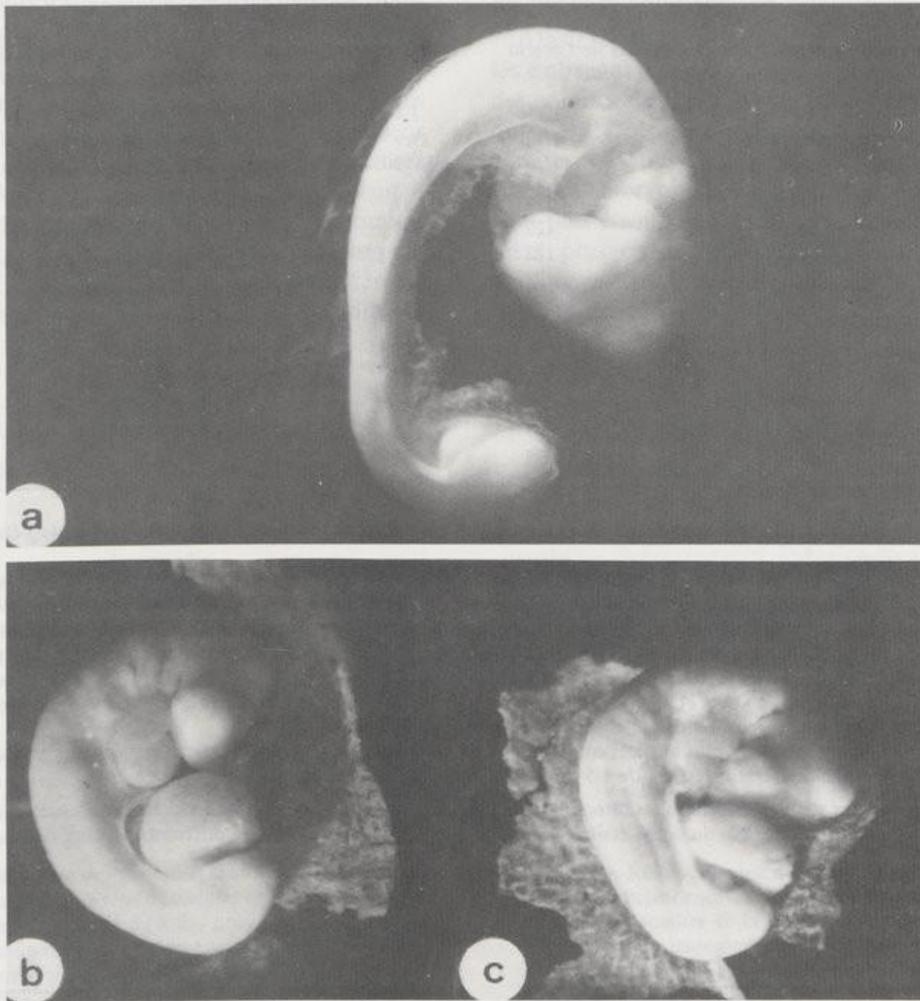


Figure 1. — Photographies, après fixation, d'un jeune embryon d'Orvet (*Anguis fragilis*, L.) (a) et de deux jeunes embryons de Lézard Vert (*Lacerta viridis*, Laur.) (b, c), tous trois au même stade de développement (embryons non pigmentés ; yeux non pigmentés ; bourgeon maxillaire supérieur court, n'atteignant pas encore le bord de l'œil ; le bourgeon allantoïdien de l'embryon d'Orvet a une longueur de 0,5 mm, celui des embryons de Lézard, une longueur de 0,3 mm et 0,5 mm respectivement).

L'embryon d'Orvet est déjà beaucoup plus allongé que les embryons de Lézard ; il possède déjà 60 somites ; les embryons de Lézard en possèdent respectivement 27 et 29. (Embryon d'Orvet : E₁ Orv. 741 et embryons de Lézard : E₃LV B et E₃₅₄ LV B ; voir Tableau I). (Gr. = 20,3 pour chacune des trois photographies).

Cette constatation nous a conduits à comparer les dimensions des premiers somites (de la série S₆ à S₁₅, S₁ étant le premier somite post-otique) chez des embryons de *Lacerta viridis* et d'*Anguis fragilis* à des stades de développement comparables. Le tableau II résume ces mensurations pour l'épaisseur, dans le sens cranio-caudal, des somites S₆ à S₁₅ chez huit embryons appartenant à deux groupes d'âge. Une analyse statistique des résultats de ces mesures a été faite par l'un de nous (L. Bonnet), en utilisant différents tests. Les courbes traduisant les variations d'épaisseur des somites, après lissage exponentiel des valeurs moyennes (avec constante égale à 0,5) sont repré-

sentées sur la figure 2 pour les deux groupes d'embryons ; elles montrent une décroissance générale de l'épaisseur des somites de S₆ à S₁₅ chez les embryons d'*Anguis fragilis* et l'existence d'un palier dans la courbe, pour les embryons de *Lacerta viridis*.

Le test de MANN-KENDALL-SNEYERS permet de déceler une modification dans l'évolution de la tendance de la série et celui de PETTITT (Tableaux III et IV), de localiser l'emplacement du changement de tendance. Les points de rupture se situent entre les somites S₁₀ et S₁₁ chez les embryons d'*Anguis fragilis* et entre les somites S₁₂ et S₁₃

	Groupe I				Groupe II					
	Embryons d' <i>Anguis fragilis</i>		Embryons de <i>Lacerta viridis</i>		Embryons d' <i>Anguis fragilis</i>		Embryons de <i>Lacerta viridis</i>			
	E1 Orv. 741	E1 Orv. 863	E325 LVB	E354 LVB	E4 Orv. IV-90	E6 Orv. XII-90	E3 LV- 87	P21	E2 LV- 87	P3
S ₆	158	144	158	122	187	219	187		187	
S ₇	146	141	146	122	187	187	175		187	
S ₈	146	141	122	122	187	187	175		181	
S ₉	134	122	117	122	156	156	156		175	
S ₁₀	122	110	122	134	156	125	156		181	
S ₁₁	119	97	122	122	137	125	156		181	
S ₁₂	110	95	146	122	125	125	156		181	
S ₁₃	97	85	122	119	137	125	125		156	
S ₁₄	97	85	110	97	112	112	125		125	
S ₁₅	97	97	97	95	94	112	125		125	

Tableau II. — Epaisseur (en μm) des somites de la série S₆-S₁₅ chez deux groupes d'embryons d'Orvet et de Lézard Vert.

Epaisseur cranio-caudale (en μm) de 10 somites du tronc (x) (S₆ à S₁₅, S₁ étant le premier somite post-otique) chez de jeunes embryons d'*Anguis fragilis* et de *Lacerta viridis* appartenant à deux groupes d'âge différents et au même stade de développement dans chacun des groupes.

Pour le groupe I, le stade des embryons est ainsi défini : embryons non pigmentés ; yeux non pigmentés ; fosses olfactives largement ouvertes, en forme de cupule ; le bourgeon maxillaire supérieur est très court, n'atteint pas l'œil. En arrière de l'arc hyoïdien existent deux autres arcs viscéraux. La longueur de tête est de 1,3 mm chez les embryons d'Orvet et de 1,0 mm chez les embryons de Lézard Vert. Le bourgeon allantoïdien atteint 0,3 mm et 0,5 mm de longueur chez les embryons d'Orvet et 0,7 à 0,8 mm chez les embryons de Lézard Vert. Chez les embryons des deux espèces, les premiers somites (S₆-S₉) envoient de larges prolongements dans l'ébauche du membre antérieur.

Les embryons du groupe II sont légèrement plus avancés en développement que ceux du groupe I : la longueur de tête des deux embryons d'Orvet est de 1,7 mm, celle des embryons de Lézard Vert est de 1,5 mm et 1,6 mm respectivement.

(x) Les mesures d'épaisseur des somites ont été faites directement le long du bord dorsal de chaque somite au moyen d'un micromètre oculaire, à un fort grandissement. La courbure dorsale du corps était comparable chez les deux espèces, aux différents niveaux des mesures.

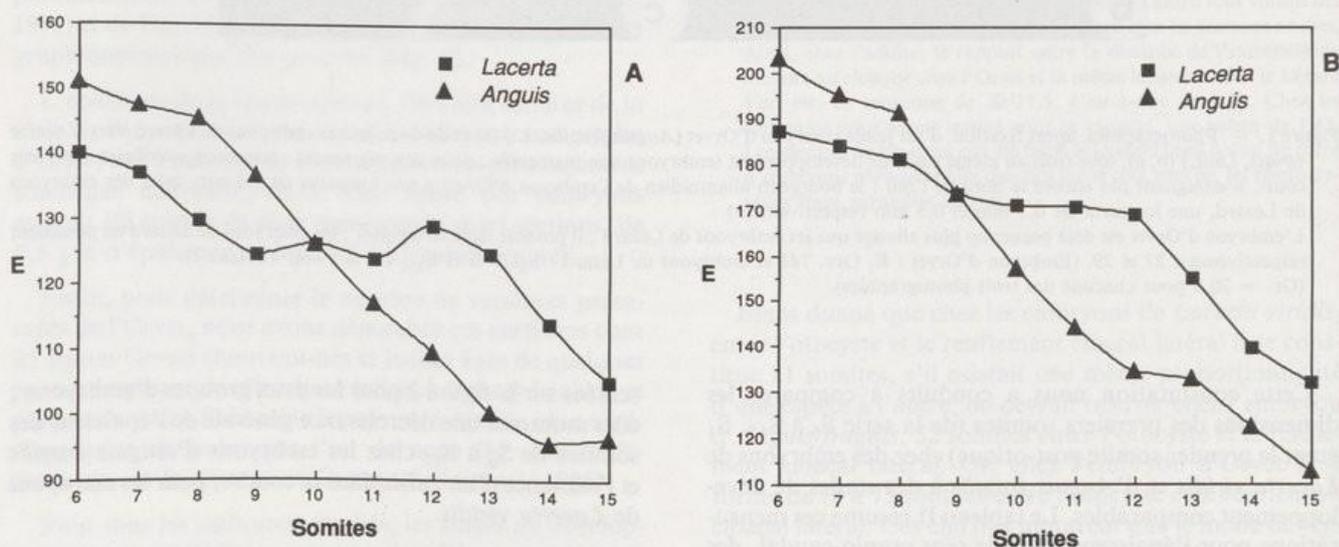


Figure 2. — Courbes de variation de l'épaisseur cranio-caudale (E, en μm) des somites de la série S₆ à S₁₅ chez de jeunes embryons d'Orvet (*Anguis fragilis*, L.) et des somites S₆ à S₁₅ chez de jeunes embryons de Lézard Vert (*Lacerta viridis*, Laur.) à deux stades de leur développement : A : embryons du groupe I du Tableau II ; B : embryons un peu plus âgés (embryons du groupe II du Tableau II). Les courbes ont été établies après lissage exponentiel des valeurs moyennes des mesures avec constante égale à 0,5 (mesures figurant dans le Tableau II). Les stades du développement atteints par les embryons des groupes I et II sont définis dans le Tableau II.

ou S_{13} et S_{14} chez les embryons de *Lacerta viridis*. Ils sont indiqués par des traits horizontaux, sous les chiffres, dans les colonnes du tableau II et ils sont apparents sur les courbes de la Figure 2.

Il est remarquable que ces points qui marquent l'emplacement d'un changement significatif dans l'épaisseur des somites se situent exactement à hauteur des premiers somites qui n'interviennent plus dans le développement du membre : chez les embryons d'Orvet, seuls les somites S_6 à S_9 inclus ou S_6 à S_{10} inclus, participent, par leur prolongement ventral, à la formation du membre antérieur alors que chez l'embryon de Lézard Vert, ce sont les

somites de S_6 à S_{13} qui prennent part au développement du membre antérieur.

Ainsi, les observations et les calculs montrent que chez les embryons d'*Anguis fragilis*, l'épaisseur crânio-caudale des somites décroît à partir du somite S_9 ou S_{10} , tandis qu'une décroissance rapide ne s'observe qu'à partir des somites S_{12} ou S_{13} chez les embryons de *Lacerta viridis*. Chez les embryons d'*Anguis fragilis*, les somites S_{10} à S_{15} sont plus étroits que les somites S_6 à S_9 et ils sont également plus étroits que les somites correspondants des embryons de *Lacerta viridis* au même stade de développement.

Premier groupe d'embryons					
<i>Lacerta viridis</i>			<i>Anguis fragilis</i>		
Numéro du somite	u	P%	Numéro du somite	u	P%
7	1,83	6,77	7	1,83	6,77
8	1,48	13,88	8	2,39	1,65
9	0,85	39,37	9	2,56	1,02
10	1,15	25,07	10	2,61	0,87
11	1,28	20,11	11	2,56	1,02
12	2,17	3,03	12	2,39	1,65
13	2,09	3,62	13	1,57	11,75
14	1,57	11,75	14	0,87	38,40

Deuxième groupe d'embryons					
<i>Lacerta viridis</i>			<i>Anguis fragilis</i>		
Numéro du somite	u	P%	Numéro du somite	u	P%
7	2,12	3,38	7	1,89	5,95
8	2,45	1,41	8	2,45	1,41
9	2,08	3,76	9	2,65	0,79
10	2,01	4,46	10	2,74	0,59
11	2,19	2,83	11	2,56	1,03
12	2,65	0,79	12	2,27	2,32
13	2,45	1,41	13	2,45	1,41
14	1,65	9,92	14	2,12	3,38
15	0,95	34,28	15	1,58	11,41

Tableau III. — Résultats du test de Pettitt pour la localisation de la modification de la tendance dans la série de mesures de l'épaisseur crânio-caudale des somites de la série S_6 à S_{14} pour le premier groupe d'embryons : le changement de tendance se situe entre les somites S_{12} et S_{13} chez les embryons de *Lacerta viridis* et au niveau du somite S_{10} chez les embryons d'*Anguis fragilis* (voir aussi la courbe de la Fig. 2 A).

(u : valeur de la statistique de test, convertie en variable normale réduite ; P% : probabilité d'une valeur supérieure ou égale à u sous hypothèse nulle ; la probabilité est minimale lors du changement de tendance).

Ce résultat, obtenu par des mesures directes sur l'embryon, a été vérifié par des mesures d'épaisseur des somites sur des coupes histologiques d'autres embryons d'Orvet et de Lézard Vert.

Les somites S_{10} à S_{13} de l'embryon d'Orvet sont plus étroits que les somites S_6 à S_9 qui les précèdent ; les autres dimensions, dans un plan transversal, des somites de ces deux séries étant grossièrement comparables, il est probable que les somites S_{10} à S_{13} sont constitués d'un nombre de cellules plus faible que le nombre de cellules formant les somites S_6 à S_9 . C'est là, peut-être, une des causes pour lesquelles ces somites S_{10} à S_{13} ne forment pas chez l'embryon d'*Anguis fragilis* (et sans doute chez les autres embryons de reptiles serpentiformes) de prolongement ventral vers le territoire somatopleural du membre antérieur.

Tableau IV. — Résultats du test de Pettitt pour la localisation de la modification de la tendance dans la série de mesures de l'épaisseur crânio-caudale des somites de la série S_6 à S_{15} pour le deuxième groupe d'embryons : le changement de tendance se situe ici également entre les somites S_{12} et S_{13} chez les embryons de *Lacerta viridis* et au niveau du somite S_{10} chez les embryons d'*Anguis fragilis* (voir aussi la courbe de la Fig. 2 B et la légende du tableau III).

Il est intéressant de noter que déjà en 1952, VAN BEMMELEN avait observé que chez les embryons d'Ophidiens, les somites, à partir du huitième, devenaient plus étroits que les somites précédents et que les somites correspondants du lézard. VAN BEMMELEN attribuait cette réduction de taille à une scission en deux moitiés des somites, chez les embryons d'Ophidiens. Nous n'avons pas observé de subdivision des somites¹ ni des structures les précédant

1. VAN BEMMELEN (1952) admettait que le nombre des somites et leurs dimensions étaient d'abord les mêmes chez les très jeunes embryons de lézards et de serpents, puis, qu'une subdivision des somites du tronc survenait chez les embryons d'Ophidiens, augmentant ainsi le nombre primitif. Nos observations chez les jeunes embryons d'*Anguis* et de *Lacerta* montrent que les cordons mésodermiques présomitiques se découpent d'une manière différente chez les deux espèces ; il n'y a pas d'égalité du nombre des somites mais formation, dès le début, d'un nombre plus élevé de somites chez l'embryon d'*Anguis*.

chez les jeunes embryons d'Orvet : il y a eu, chez cette espèce, découpage en segments transversaux plus étroits, des lames segmentaires, à partir d'un certain niveau (somite S_9 ou somite S_{10}).

Une série d'observations et d'expériences antérieures ont montré (RAYNAUD et VASSE, 1968 ; RAYNAUD, 1971, 1977_a, 1985) que chez les embryons de Reptiles, les ébauches des membres se développent seulement face aux somites qui envoient des prolongements ventraux dans le territoire somatopleural présomptif du membre. Nous avons décrit les transformations qui surviennent dans la somatopleure après la pénétration du prolongement somitique et

qui suggèrent que ce prolongement déclenche l'épaississement de ce feuillet, le soulèvement de l'ébauche du membre et probablement la formation des épaississements épiblastiques qui conduisent à la constitution de la crête apicale épiblastique (RAYNAUD et VASSE, 1968_a, 1968_b, 1969 ; RAYNAUD, 1971). Pour compléter ces données, nous avons effectué ici des mesures de l'épaisseur de la somatopleure au niveau de chacun des prolongements des somites S_6 à S_{14} chez des embryons de *Lacerta viridis*, des prolongements somitiques S_6 à S_{10} et des somites S_{11} à S_{14} chez les embryons d'*Anguis fragilis* ; leur résultat figure dans le tableau V pour les deux groupes d'embryons examinés. Ces chiffres mettent bien en évidence le fait que la

Embryons du groupe I									
Embryon de <i>Lacerta viridis</i> (E 252 LV.A)					Embryon d' <i>Anguis fragilis</i> (E5 Orv. 743)				
Numéro du somite		E (μ m)			Numéro du somite		E (μ)		
pr. S_6		51,8			pr. S_6		59,5*		
pr. S_7		35,4			pr. S_7		44,1		
pr. S_8		57,6			pr. S_8		47,9		
pr. S_9		63,3			pr. S_9		42,2		
pr. S_{10}		78,7			pr. S_{10}		36,4		
pr. S_{11}		78,7			S_{11}		40,3		
pr. S_{12}		71,0			S_{12}		32,6		
pr. S_{13}		63,3			S_{13}		32,6		
S_{14}		47,9			S_{14}		35,4		

Embryons du groupe II									
Embryons de <i>Lacerta viridis</i> E (μ m)					Embryons d' <i>Anguis fragilis</i> E (μ m)				
N° du pr. somitique ou du somite	E 330 LVA	E 202 ALV	N° du pr. somitique ou du somite	E3 Orv. 741	E11 Orv. 342	E12 Orv. 342	E10 Orv. 342	E8 Orv. 859	E4 Orv. 741
pr. S_6	53,7	51,8	pr. S_6	76,8	115*	115*	107,5*	67,2	134*
pr. S_7	53,7	74,8	pr. S_7	84,4	115*	115*	107*	94,0	134*
pr. S_8	67,1	74,8	pr. S_8	97,9	99,8	115	107	96,0	96,0
pr. S_9	72,9	78,7	pr. S_9	90,2	92,1	103,4	105	92,1	94,0
pr. S_{10}	88,2	94,0	pr. $S_{10}^{(1)}$	72,9	69,0	80,6	84,8	72,9	74,8
pr. S_{11}	97,8	101,7	S_{11}	61,4	57,6	61,4	67,1	67,0	55,6
pr. S_{12}	78,7	109,4	S_{12}	59,5	51,8	67,1	55,6	48,3	40,1
pr. S_{13}	51,8	105,5	S_{13}	47,9	47,9	51,8	55,8	40,3	40,1
S_{14}	40,3	63,3	S_{14}	44,1	44,1	51,8	44,1	39,3	40,0

(1) ou S_{10}

Tableau V. — Epaisseur moyenne (E) (en μ m), dans un plan transversal, de la somatopleure face aux prolongements ventraux des somites S_6 - S_{13} et du somite S_{14} chez des embryons de *Lacerta viridis* ; des prolongements des somites S_6 - S_{10} et des somites S_{11} - S_{14} chez des embryons d'*Anguis fragilis*. (Dans chacun des groupes I et II, les embryons d'Orvet et de Lézard sont à des stades de développement comparables).

Les embryons d'Orvet et de Lézard figurant dans les groupes I et II de ce tableau V sont des embryons jeunes, non pigmentés ; leurs yeux ne sont pas pigmentés, les fosses olfactives, en forme de cupule, sont largement ouvertes ; le bourgeon maxillaire supérieur est court, il n'atteint pas l'œil ou se termine près de son bord interne, dorsal ; en arrière de l'arc hyoïdien on aperçoit deux autres arcs viscéraux. Ces embryons ont été classés d'après la longueur du bourgeon allantoïdien ou la longueur de la tête. Les embryons du groupe I sont plus jeunes que ceux du groupe II : l'embryon d'Orvet (E5 Orv. 743) a une longueur de tête de 1,4 mm et un bourgeon allantoïdien de 0,2 mm ; l'embryon de *Lacerta viridis* (E 252 LVA) a une longueur de tête de 1,6 mm. Dans le groupe II, les embryons d'Orvet ont un bourgeon allantoïdien de 0,5 à 0,7 mm de longueur et une longueur de tête de 1,4 à 1,5 mm ; les embryons de *Lacerta viridis* ont une longueur de tête de 1,6 à 1,7 mm et sont âgés de 3 à 3,5 jours d'incubation (à 23,5° C).

* Chez les embryons d'Orvet, cette partie de la somatopleure dans laquelle pénètrent les prolongements des somites S_6 et S_7 n'est pas limitée, du côté interne, par la cavité coelomique ; son épaisseur, figurant dans le tableau, représente la distance, dans un plan transversal, entre sa surface et le pronéphros ; les mesures à ce niveau ne doivent donc pas être comparées à celles effectuées à des niveaux postérieurs (à hauteur de S_8 - S_{14}).

somatopleure ne s'est épaissie qu'en face des somites qui ont envoyé un prolongement ventral dans le territoire somatopleural présomptif de l'ébauche du membre : en face des somites S_6 à S_{13} inclus, chez les embryons de *Lacerta viridis*, et seulement en face des somites S_6 à S_9 ou S_6 à S_{10} chez les embryons d'*Anguis fragilis*. Ces mesures montrent, en outre, que chez les jeunes embryons (Groupe I du Tableau V), l'épaississement de la somatopleure débute à hauteur des somites S_{10} à S_{12} chez l'embryon de *Lacerta viridis* et des somites S_8 et S_9 chez les embryons d'*Anguis fragilis*. Chez les embryons plus âgés (Groupe II du Tableau V), l'épaisseur maxima de la somatopleure s'observe à hauteur des somites S_{10} à S_{12} pour les embryons de *Lacerta viridis* et des somites S_8 et S_9 chez les embryons d'*Anguis fragilis*. L'allongement du membre débute donc à ces niveaux chez les jeunes embryons.

Un autre point mérite d'être examiné : étant donné que l'augmentation du nombre des vertèbres conduit à une réduction du nombre des somites intervenant dans le développement initial du membre, nous avons cherché à déterminer l'amplitude des variations du nombre des vertèbres présacrées chez les embryons d'Orvet ; pour cela, nous avons dénombré les vertèbres dans un groupe de 25 jeunes Orvets de nos élevages (Orvets nouveau-nés et âgés de quelques jours), fixés au formol et dont le corps a été éclairci et coloré à l'alizarine. Le nombre de ces vertèbres varie de 61 à 65 inclus, dans ce groupe, avec une dominance de la valeur de 64 (Tableau VI). Le nombre de somites impliqués dans le développement du membre (somites formant des prolongements ventraux) est de 4 ou de 5 chez l'Orvet. L'étude histologique montre qu'il y a environ cinq fois plus d'embryons chez lesquels 5 somites (S_6 à S_{10}) forment des prolongements ventraux que d'embryons chez lesquels seulement 4 somites (S_6 à S_9) interviennent dans la formation du membre ; la différence tient au comportement du somite S_{10} qui, dans le premier cas pénètre légèrement, par son extrémité ventrale, dans la somatopleure du membre ou essaime un groupe de cellules dans cette assise et qui, dans le second cas, se termine près de la somatopleure sans y pénétrer. D'après les chiffres du tableau VI

on est conduit à envisager que ce seraient les embryons possédant moins de 64 vertèbres qui devraient posséder 5 somites intervenant dans le développement du membre et que les embryons ayant un nombre de vertèbres supérieur à 64 ne devraient posséder que 4 somites impliqués dans le développement du membre².

DISCUSSION

Les mesures de dimensions du tronc et des somites que nous avons effectuées dans ce travail sur de jeunes embryons d'Orvet (*Anguis fragilis*, L.) et de Lézard Vert (*Lacerta viridis*, Laur.) ont conduit aux constatations suivantes :

a) Chez l'embryon d'Orvet, dès leur formation, les cordons mésodermiques para-axiaux (lames segmentaires) sont plus longs que ceux de l'embryon de Lézard Vert au même stade de développement ; et les lames segmentaires se découpent en un nombre de somites proportionnellement plus élevé que chez l'embryon de Lézard Vert. Le mécanisme de la somitogenèse est donc, à ce point de vue, différent chez l'embryon d'Orvet et chez l'embryon de Lézard Vert.

b) Il existe des différences dans les dimensions des somites de la série S_6 à S_{14} (S_1 étant le premier somite postotique) chez les embryons des deux espèces : l'analyse statistique des résultats des mesures montre que les somites S_{10} à S_{13} de l'embryon d'Orvet sont plus étroits dans le sens crânio-caudal, que les somites S_6 à S_9 qui les précèdent et plus étroits que les somites homologues de l'embryon de Lézard Vert au même stade de développement. Il est probable que chez l'Orvet, les somites S_{10} à S_{14} comportent un nombre de cellules inférieur au nombre de cellules formant les somites S_6 à S_9 . Cette réduction du nombre des constituants cellulaires de ces somites S_{10} , S_{11} , S_{12} et S_{13} de l'Orvet pourrait constituer une des causes de la non-formation de prolongements ventraux, par ces somites. Jusqu'à présent, les facteurs responsables de la formation ou de la non-formation par un somite, de ce prolongement ventral, étaient inconnus ; seules des hypothèses avaient pu être formulées (parmi celles-ci, il faut rappeler le modèle théorique, incorporant des données de la biologie moléculaire élaboré par GASC et RENOUS (1989). L'étude actuelle permet d'envisager qu'au moins l'un des facteurs en cause puisse être lié à la présence ou à l'absence d'une certaine population cellulaire dans le somite. Cette constatation est importante étant donné le rôle que jouent les prolongements somitiques dans le développement initial du membre.

2. GASC (1966) a signalé que chez l'Orvet (*Anguis fragilis*, L.) le nombre des vertèbres présacrées varie de 62 à 68, avec une nette dominance du nombre de 64. Dans notre échantillon de 25 jeunes Orvets (en provenance de l'Est du département du Tarn), le type à 64 vertèbres domine également, mais de peu puisqu'il y a 5 individus possédant 63 vertèbres, 5 en possédant 62, 4 en possédant 65 et 6 en possédant 64. Ces chiffres n'indiquent pas une fixation, par la sélection, de deux lignées d'individus ayant un nombre de vertèbres nettement différent.

Nombre de vertèbres présacrées chez de jeunes Orvets

Nombre de vertèbres présacrées	Nombre d'Orvets possédant ce nombre de vertèbres
60	1
61	4
62	5
63	5
64	6
65	4

Tableau VI. — Variation du nombre de vertèbres présacrées dans un groupe de 25 jeunes Orvets (*Anguis fragilis* L.). (Orvets nouveau-nés ou âgés de quelques jours, en provenance de l'Est du département du Tarn).

c) Les mesures, sur des sections transversales du tronc des embryons, d'épaisseur de la somatopleure face aux divers somites de la série S_6 à S_{15} montrent que la somatopleure ne s'est épaissie nettement qu'en face des somites qui ont envoyé un prolongement dans cette assise. Cette observation corrobore l'hypothèse émise antérieurement (RAYNAUD et VASSE, 1968_a et 1968_b; RAYNAUD, 1971) suggérant que le somite et son prolongement seraient à l'origine des modifications (multiplication des cellules, basophilie, etc.) qui conduisent au premier développement du membre. Les mesures effectuées dans ce travail montrent que l'épaississement de la somatopleure est maximum face aux somites S_8 et S_9 chez l'embryon d'Orvet et aux somites S_{10} à S_{12} chez l'embryon de Lézard Vert. Ce résultat s'accorde avec les données résultant de la numération des mitoses dans la somatopleure : leur nombre est nettement plus élevé à hauteur des somites S_8 et S_9 que plus caudalement (RAYNAUD, 1972_a) ; il est également en accord avec les observations faites chez des embryons d'autres espèces ; à titre d'exemple, VASSE et PIEAU (1970) ont noté une densité de cellules mésoblastiques basophiles particulièrement élevée dans la somatopleure de l'embryon de Tortue Mauresque (*Testudo graeca*, L.), au niveau des somites S_8 à S_{11} ; elle pourrait traduire une plus grande concentration en facteur somitique à ces niveaux.

A nos observations se rattachent d'autres constatations : chez les embryons d'Oiseaux et de Mammifères, on n'observe pas, au niveau des somites du membre, les longs prolongements somitiques ventraux qui existent chez les Reptiles : ce sont des cellules isolées ou de petits groupes cellulaires qui migrent à partir du dermo-myotome et s'insinuent dans la somatopleure du membre¹. Toutefois, EDE et EL GADI (1986) ont observé que chez l'embryon mutant « Talpid³ » de Poulet, dermatome et myotome reliés pénètrent dans la somatopleure de l'aile, au stade 21-22 HH ; les aspects histologiques de cette pénétration rappellent ceux observés chez les Reptiles. Et, chez ce mutant, la palette du membre est large, la crête apicale est plus étendue que chez l'embryon normal et les membres sont polydactyles. Or, les observations effectuées chez l'embryon d'Orvet suggèrent que les prolongements somitiques induisent, directement ou indirectement, les épaississements épiblastiques qui donneront naissance à la crête apicale. Dès lors, n'y aurait-il pas un lien entre la pénétration des prolongements somitiques dans la somatopleure du membre, déterminant peut-être une influence somitique plus intense et les particularités du développement de l'autopode du mutant Talpid³ ? STEPHENS et Mc NULTY (1981) ont montré que des barrières (feuilles de Tantale) placées le long de certains somites perturbaient la morphogenèse de l'aile de l'embryon de Poulet, en particulier le développement du squelette axial et la formation de certains doigts. De

même, chez l'embryon de Souris, une influence du somite sur le développement du squelette du membre et la présence de cellules somitiques dans le cartilage de l'humérus ont été notées (AGNISH et KOCHHAR, 1977). Les observations effectuées chez les embryons de Reptiles tels que l'Orvet (*Anguis fragilis* L.) suggérant une influence des prolongements somitiques sur la différenciation de la crête apicale épiblastique conduisent à se demander si cette influence somitique n'interviendrait pas, également, dans la spécification des doigts, à côté d'autres facteurs, en particulier, ceux mis en évidence chez les embryons d'Oiseaux : la diffusion d'une substance morphogène d'information positionnelle à partir d'une région d'activité polarisante (ZPA), le rôle des zones de nécrose (ANZ), etc. (TICKLE, SUMMERBELL et WOLPERT, 1975 ; HINCHLIFFE et GUMPEL-PINOT, 1981 ; ROWE et FALLON, 1981). Ces interprétations déduites des particularités de la morphogenèse du membre de l'Orvet devront être soumises à une analyse expérimentale.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été effectuée grâce à l'aide de la Fondation Singer-Polignac. Nous tenons à remercier vivement M. le Professeur Etienne Wolff pour ses conseils et l'appui qu'il nous a apporté en vue de l'organisation matérielle de nos recherches ; ainsi que M. le Professeur E. Angelier pour les facilités qu'il nous a accordées dans son laboratoire de Zoologie, à l'Université Paul Sabatier.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agnish (N.D.) et Kochhar (D.M.). 1977. — The role of somites in the growth and early development of Mouse limb buds. *Devel. Biol.*, 56 : 174-183.
- Bemmelen (J.F. van). 1952. — Lichaamsverlenging slang en Hagedis. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch.*, série C, 55 : 215-237.
- Christ (B.), Epperlein (H.H.), Flöel (H.) et Wilting (J.). 1991. — The somite muscle relationship in the avian embryo, pp. 265-271. In : « Developmental patterning of the Vertebrate limb », Hinchliffe (J.R.), Hurler (J.M.) et Summerbell (D.), edit. Plenum Press, New York, 1991.
- Ede (D.A.) et El Gadi (A.G.). 1986. — Somitic modifications of developmental acts in chick and mouse somite development, pp. 209. In : « Somites in developing embryos », Belarlis (R.), Ede (D.A.) and Lash (J.W.), edit., Plenum Press, New York, 1986.
- Gasc (J.P.). 1966. — Les rapports anatomiques du membre pelvien vestigial chez les squamates serpentiformes. I. *Anguis fragilis* (Anguillidae, Lacertilia) et *Python sebae* (Boidea, Ophidia). *Bull. Mus. natn. Hist. Nat.*, 2^e série, 37 : 916-925.
- Gasc (J.P.) et Renous (S.). 1989. — Les données ontogénétiques peuvent-elles expliquer l'origine évolutive des squamates apodes ? *Géobios, Mémoire spécial*, 12 : 173-186.
- Hinchliffe (J.R.) et Gumpel-Pinot (M.). 1981. — Control of maintenance and anteroposterior skeletal differentiation of the anterior mesenchyme of the chick wing bud by its posterior margin (the ZPA). *J. Embryol. exp. Morphol.*, 62 : 63-82.
- Pettitt (A.N.). 1979. — A non - parametric approach to the change - point problem. *Appl. Statist.*, 28 : 126-135.

3. Chez les Reptiles, les prolongements somitiques dérivent de la pointe ventrale des dermo-myotomes. Chez l'embryon de Poulet, il semble que les cellules myogènes qui migrent dans l'ébauche du membre dérivent du bord latéral du dermo-myotome (CHRIST et al., 1991).

- Raynaud (A.). 1971. — Nouvelles observations sur l'intervention des prolongements des somites dans la morphogenèse précoce des membres chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *C.R. Acad. Sci., Paris*, 272 : 311-314.
- Raynaud (A.). 1972a. — Morphogenèse des membres rudimentaires chez les Reptiles : un problème d'Embryologie et d'Évolution. *Bull. Soc. Zool. France*, 97 : 469-485.
- Raynaud (A.). 1972b. — Culture *in vitro* de tronçons de corps de jeunes embryons de Reptiles ; expériences d'ablation et de greffes de somites. *C.R. Acad. Sci., Paris, série D*, 275 : 1171-1174.
- Raynaud (A.). 1974. — Données embryologiques sur la rudimentation des membres chez les Reptiles. *Bull. Soc. Hist. nat. Toulouse*, 110 : 26-40.
- Raynaud (A.). 1977a. — Les différentes modalités de la rudimentation des membres chez les embryons de Reptiles serpentiformes, pp. 201-212. In : Colloque intern. C.N.R.S., n° 266, « Mécanismes de la rudimentation des organes chez les embryons de Vertébrés » (A. Raynaud, édit.), Les éditions du C.N.R.S., Paris.
- Raynaud (A.). 1977b. — Somites and early morphogenesis of Reptile limbs, pp. 373-385. In : « Vertebrate limb and somite morphogenesis », Ede (D.A.), Hinchliffe (J.R.) and Balls (M.) edit., Cambridge University Press.
- Raynaud (A.). 1985. — Development of limbs and embryonic limb reduction, chap. 3, pp. 59-148. In : « Biology of the Reptilia », Gans (C.) et Billett (F.) edit., vol. 15, Wiley and Sons, New York.
- Raynaud (A.) et Clergue-Gazeau (M.). 1986. — Identification des doigts réduits ou manquants dans les pattes des embryons de lézard vert (*Lacerta viridis*, Laur) traités par la cytosine-arabinofuranoside. Comparaison avec les réductions digitales naturelles des espèces de Reptiles serpentiformes. *Arch. Biol. (Bruxelles)*, 97 : 279-299.
- Raynaud (A.) et Vasse (J.). 1968a. — Les relations entre les somites et les ébauches des membres chez les embryons de Reptiles. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 266 : 2157-2159.
- Raynaud (A.) et Vasse (J.). 1968b. — Les relations entre les somites et les ébauches des membres antérieurs chez l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis* L.). *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, 57 : 227-254.
- Raynaud (A.) et Vasse (J.). 1969. — Les relations entre les somites et la crête de Wolff, chez les embryons de Reptiles. *Arch. biol. (Bruxelles)*, 80 : 95-120.
- Rowe (D.A.) et Fallon (J.F.). 1981. — The effect of removing posterior apical ectodermal ridge of the chick wing and leg on pattern formation. *J. Embryol. exp. Morphol.*, 65(suppl.) : 309-325.
- Sneyers (R.). 1975. — Sur l'analyse statistique des séries d'observations. Note technique n° 143, O.M.M., n° 415, Genève.
- Stephens (T.D.) et McNulty (T.R.). 1981. — Evidence for a metameric pattern in development of the chick humerus. *J. Embryol. exp. Morphol.*, 61 : 191-205.
- Tickle (C.), Summerbell (D.) et Wolpert (L.). 1975. — Positional signalling and specification of digits in chick limb morphogenesis. *Nature (London)*, 254 : 199-202.
- Vasse (J.) et Pieau (C.). 1970. — Les premiers stades de la formation de l'ébauche du membre antérieur chez l'embryon de tortue mauresque (*Testudo graeca* L.). *Annls Embryol. Morph.*, 3 : 399-409.

ERRATUM

Article A. Raynaud et M. Clergue-Gazeau : « Effets de la cytosine-arabinofuranoside sur le développement de la ceinture pelvienne et de la région cloacale externe des embryons de lézard vert (*Lacerta viridis*, LAUR) in *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*, 127, 1991, 43-45,

Figure 3c : Il y a eu interversion de deux abréviations : P doit être remplacé par P.II., et réciproquement.