

RÉDUCTION EXPÉRIMENTALE DES MEMBRES CHEZ LES EMBRYONS DE *LACERTA VIRIDIS* ET FORMATION DES MEMBRES RUDIMENTAIRES CHEZ LES REPTILES SERPENTIFORMES

par

ALBERT RAYNAUD*

RÉSUMÉ

La cytosine arabinofuranoside, substance inhibitrice de la synthèse de l'ADN, introduite dans l'œuf de *Lacerta viridis*, à divers stades de son développement provoque des réductions variées des membres, en particulier des réductions digitales. Administrée aux stades de 9 à 11 jours de l'incubation, cette substance inhibe la formation ou arrête la croissance de certains rayons digitaux dans l'autopode. Les similitudes entre les types de réduction digitale ainsi obtenus expérimentalement et ceux rencontrés dans la nature sont mises en évidence ainsi que les similitudes entre les stades ontogénétiques précoces, dans les deux cas. Cette étude comparative suggère qu'à la suite de la dégénérescence de la crête apicale, un arrêt (ou un ralentissement) transitoire de la synthèse d'ADN dans le mésoblaste du bourgeon du membre, à des stades définis du développement embryonnaire a dû constituer un des facteurs intervenant dans les stades terminaux de la régression évolutive des membres des reptiles serpentiformes.

ABSTRACT

Cytosine arabinofuranoside, a potent inhibitor of DNA synthesis, administered into the egg of *Lacerta viridis* at different stages of its development induced various limb reductions, particularly digital reductions. At stages of 9 to 11 days of incubation, this agent inhibits the formation or arrests the growth of certain digital rays in the autopod of the limb. Similarities between the pattern of experimentally induced and that of the naturally realized digital reductions in serpentiform reptiles are brought to light, as well as the similarities between the early stages of the ontogenesis of the limb in the two cases. This comparative study leads to the suggestion that after the retrogression of the apical ridge, a transitory arrest of the DNA synthesis in the mesoblastic cells of the limb bud, at definite stages of the embryonic development might play a role in the terminal stages of the evolutionary regression of the limb, in serpentiform reptiles.

MOTS-CLÉS : EMBRYOLOGIE, RÉDUCTION DES MEMBRES, LÉZARDS, SERPENTS, ÉVOLUTION.

KEY-WORDS : EMBRYOLOGY, LIMB REDUCTION, LIZARDS, SNAKES, EVOLUTION.

* Laboratoire de Zoologie, Université Paul Sabatier, 118, Route de Narbonne, F-31062 Toulouse.

L'interprétation de la structure et du mode de formation des membres réduits des reptiles serpentiformes reposait essentiellement jusqu'à présent sur des données d'anatomie comparée et sur l'ontogenèse de ces membres. Il nous est apparu que cette méthode d'étude présentait des lacunes et que pour une meilleure compréhension des mécanismes de l'évolution régressive des membres des reptiles, il était nécessaire de réaliser expérimentalement, au laboratoire, les grands types de réduction du membre présents chez les reptiles serpentiformes.

Nous résumons ici les résultats de deux séries de recherches complémentaires : d'une part, la réalisation, par voie chimique, de la rudimentation du membre chez les embryons de *Lacerta viridis*, espèce non frappée de

régression évolutive ; d'autre part, les résultats essentiels de l'analyse des mécanismes de l'arrêt du développement des membres d'embryons de diverses espèces de reptiles serpentiformes. La confrontation des résultats de ces deux catégories d'études et en particulier la comparaison de certaines étapes de la formation des doigts chez les embryons des deux séries, conduit à une interprétation des mécanismes entrant en jeu dans la réduction embryonnaire des membres chez les espèces de reptiles frappées de régression, dans la nature. Ainsi commence-t-on à entrevoir quelles sont les modifications des mécanismes de la morphogenèse embryonnaire normale du membre qui ont conduit à la réalisation des grands types de structure des membres réduits des reptiles serpentiformes.

1. LA RÉDUCTION EXPÉRIMENTALE DES MEMBRES, PAR VOIE CHIMIQUE, CHEZ L'EMBRYON DE *LACERTA VIRIDIS*

Nous avons utilisé, pour ces expériences, la cytosine-1- β -D-arabinofuranoside (Ara-C), analogue structural de la cytosine, dont l'activité tératogène a été mise en évidence chez les embryons d'oiseau et de mammifères. Cette substance agit au niveau cellulaire en inhibant la synthèse de l'ADN ; cet effet résulte d'une inhibition de l'ADN polymérase et du déficit provoqué, en un nucléotide (Furth & Cohen 1968 ; Inagaki, Nakamura & Wakisaka 1969) ; cette action entraîne la mort des cellules en phase S du cycle et le blocage du cycle à la limite G1-S.

Introduite dans le sac vitellin de l'œuf de *Lacerta viridis* entre les jours 6 et 12 de l'incubation (à 25-26°C), l'Ara-C a déterminé des modifications importantes du développement des membres des embryons (Raynaud 1981a, 1981b, 1982 ; Raynaud & Clergue-Gazeau 1984) ; agissant à un stade précoce du développement, elle inhibe le développement du bourgeon du membre, provoquant l'amélie, l'hémimélie ou diverses réductions associées fréquemment à un arrêt total de la différenciation de l'ébauche de l'autopode. Introduite dans l'œuf entre les stades de 9 à 12 jours de l'incubation et aux doses de 20 μ g à 40 μ g par œuf, l'Ara-C provoque surtout des modifications de la morphogenèse des mains et des pieds, essentiellement des réductions digitales (ectrodactylie, adactylie) ; des doses plus élevées conduisent à l'ectropodie. L'expérience a porté sur 125 embryons de *Lacerta viridis* traités par des doses de 17 à 60 μ g d'Ara-C entre les stades de 6 à 12 jours d'incubation et sur 89 embryons témoins. L'étude de la structure des pattes et de la formule digitale a été effectuée chez 93 des embryons traités. De plus, une vingtaine d'embryons traités à l'Ara-C ont été sacrifiés dans les jours suivant l'injection pour connaître les effets précoces de l'Ara-C sur l'ébauche du membre.

Les principaux types de pattes ectrodactyles et ectropodes obtenus dans cette expérience sont les suivants :

— Pattes tétradactyles, à doigts de longueur normale ou raccourcie (pl. 1, fig. 3 à 6). 20 embryons, parmi les 93 traités possèdent au moins une patte tétradactyle.

— Pattes tridactyles ; ici, une longue série de formes a été obtenue allant depuis des pattes à trois doigts de taille sensiblement normale (pl. 2, fig. 2) ou à trois doigts réduits à peu près dans les mêmes proportions, jusqu'à des pattes possédant un doigt central assez long, flanqué de part et d'autre d'un doigt de longueur variable, moyenne ou courte (pl. 3, fig. 1), parfois réduit à son métatarsien.

— Pattes bidactyles, à doigts de longueur variable (pl. 2, fig. 3), possédant ou ne possédant pas de griffes.

— Pattes monodactyles (pl. 2, fig. 4), le doigt persistant étant en général assez long.

— Pattes adactyles.

— Pattes ectropodes : cette modification est assez fréquemment obtenue par action de doses élevées d'Ara-C ; le zeugopode composé des deux os longs se termine généralement en une pointe ne comportant qu'un élément médian du carpe ou du tarse ; dans ce cas, le membre a acquis une structure styliforme (dans certains cas, celle-ci peut être due à la persistance d'un seul métacarpien ou d'un seul métatarsien prolongeant un carpe ou un tarse réduits).

Une des constatations intéressantes résultant de cette étude est que le même type de réduction digitale frappe fréquemment les quatre membres des embryons traités. Ainsi, la tétradactylie aux 4 pattes a été obtenue chez 8 embryons parmi les 38 embryons traités à l'Ara-C entre les stades de 6 à 10 jours, soit avec une fréquence de 21 % pour ces stades ; la bidactylie aux 4 pattes a été obtenue chez 4 embryons sur 57 embryons traités entre les stades de 6 à 11 jours ; la monodac-

tylie aux 4 pattes a été obtenue chez 4 embryons sur 37 traités à ces stades (fréquence : 10,8 %). De plus, nous avons obtenu la tétradactylie aux deux pattes antérieures et la pendadactylie aux deux pattes postérieures (pl. 2, fig. 1) chez 5 embryons sur les 66 traités entre les stades de 7 à 11 jours 14 h., soit avec une fréquence de 7,5 % pour ces stades de traitement ; la tétradactylie aux deux pattes antérieures et la tridactylie aux deux pattes postérieures a été obtenue chez deux embryons sur 55 traités entre les stades de 7 et de 9 jours. L'ectopodie aux quatre pattes a été obtenue chez 15 embryons sur 74 traités entre les stades de 6 jours à 11 jours 14 h., soit avec une fréquence de 20,2 % à ces stades.

L'étude de la position et de la longueur relative des doigts restants, celle du squelette après éclaircissement et coloration du cartilage et des os (Raynaud 1981 ; Raynaud & Clergue-Gazeau 1986) ont permis d'identifier les doigts réduits ou manquants dans les pattes des embryons traités. Voici les principales conclusions de cette étude :

Lorsqu'un doigt fait défaut aux mains ou aux pieds (cas de tétradactylie) des embryons traités, c'est toujours le doigt I (correspondant au pouce ou au gros orteil) qui est absent (pl. 1, fig. 6) ; lorsque deux doigts font défaut aux pieds des embryons traités, ce sont en général les doigts I et V, rarement les doigts I et II ; il semble en être de même aux mains.

Dans les pieds bidactyles, les doigts I et II sont totalement absents ; le doigt V est également absent aux mains mais il existe un reste de son métatarsien. Lorsqu'un seul doigt persiste aux mains et aux pieds, c'est le doigt IV.

A la réduction digitale est associée, en général, une réduction du nombre des phalanges ; ainsi, dans les pattes tétradactyles, nous avons obtenu des doigts présentant une phalange de moins que les doigts homologues des embryons témoins (il semble qu'il y ait eu, ici, fusion des deux phalanges précédant la phalange qui porte la griffe). Dans les autres types de pattes, tri., bi. ou monodactyles, plusieurs phalanges et même la griffe peuvent faire défaut aux doigts restants.

2. LA FORMATION DES MEMBRES RUDIMENTAIRES CHEZ LES REPTILES SERPENTIFORMES

Les recherches anciennes relatives au développement des membres rudimentaires des reptiles portaient seulement sur les stades avancés de la formation de ces membres ; à partir de 1960, nous avons entrepris avec divers collaborateurs (en particulier avec les membres de l'ER 121 du C.N.R.S) l'étude des stades précoces de la formation des membres chez diverses espèces de reptiles serpentiformes.

2.1. Développement des membres rudimentaires de l'orvet (*Anguis fragilis* L.).

Si l'orvet adulte est dépourvu de membres, des

Comment se réalisent ces réductions digitales sous l'effet de la cytosine-arabinofuranoside ?

Lorsque cette substance est administrée précocement, elle provoque une forte réduction du nombre des cellules mésoblastiques dans le bourgeon du membre, en particulier dans l'autopode ; on pourrait admettre ici, comme cela a été envisagé pour les membres réduits sous l'effet de la colchicine chez les Amphibiens (Alberch & Gale 1983), que la réduction de la masse cellulaire mésoblastique retentisse sur la différenciation des doigts et entraîne la perte d'éléments du squelette. On peut aussi envisager que l'Ara-C bloque la synthèse des ARN_m dans les cellules survivantes (comme cela a été observé dans certains cas (Chuang & Chuang 1976) et supprime l'expression des informations génétiques contrôlant normalement la formation des doigts (Raynaud 1981a, 1982) ; on pourrait aussi envisager un effet de l'Ara-C par l'intermédiaire de la zone d'activité polarisante de l'ébauche du membre, mais nous ne disposons pas encore d'informations sur le rôle possible d'une telle zone chez les reptiles.

Lorsque la cytosine-arabinofuranoside est introduite dans l'œuf de *Lacerta viridis* à un stade plus avancé (9^e au 11^e jour de l'incubation) de son développement, elle agit en prévenant la formation ou en arrêtant la croissance des rayons digitaux dans l'autopode ; dans la palette des membres des embryons sacrifiés à l'âge de 16 à 17 jours, la condensation mésoblastique représentant les ébauches potentielles des cinq rayons digitaux est présente mais les ébauches de certains rayons ne se sont pas allongées ou bien elles ont été arrêtées dans leur croissance ; le doigt IV est en général présent, accompagné ou non par d'autres doigts de longueur en général réduite. L'examen histologique montre que cet arrêt de la croissance de certains rayons digitaux est dû à la dégénérescence de nombreuses cellules mésoblastiques et à un blocage de la division cellulaire ; ces deux phénomènes résultent, comme cela a bien été établi chez les mammifères, de l'inhibition de la synthèse d'ADN, par l'Ara-C.

ébauches de membres antérieurs et de membres postérieurs se forment puis régressent, chez l'embryon. L'étude de leur développement conduit aux constatations suivantes.

Il existe chez les embryons d'orvet, une déficience somitique, quantitative et qualitative, au niveau des somites qui participent à la formation du membre ; ainsi, seuls 4 et 5 somites (ce sont les somites S⁶ à S¹⁰, S₁ étant le premier somite post-optique) envoient des prolongements ventraux dans le territoire somatopleural de la future ébauche des membres antérieurs ; chez

les reptiles à membres bien développés, il y a toujours 8 somites (S_6 à S_{13}) qui envoient des prolongements dans le territoire du membre. On sait, depuis les observations faites chez l'embryon d'oiseau que les somites exercent une action inductrice initiale déterminant la formation du membre ; ainsi, chez l'embryon de *Lacerta viridis*, après ablation de certains somites de la série S_1 - S_{13} , le membre ne se développe que face aux somites laissés en place (Raynaud 1972). Il manque donc, et dès l'origine, au membre de l'orvet, une partie postérieure (avec les nerfs, les vaisseaux, les muscles, etc, correspondants) correspondant à celle qui, chez l'embryon d'une espèce à membres bien développés se soulève en face des somites S_{10} à S_{13} . D'autre part, chez l'orvet, les cellules des extrémités distales de ces prolongements somitiques présentent de nombreux lysosomes, une ségrégation de leurs constituants nucléaires et beaucoup d'entr'elles dégèrent précocement. Ces constatations suggèrent une déficience fonctionnelle de ces prolongements somitiques, très précoce (au moins dès le stade du bourgeon allantoidien de 0,4 mm de longueur).

Il existe chez les embryons d'orvet, une déficience fonctionnelle de la crête apicale épiblastique qui s'édifie au sommet du bourgeon du membre. Cette crête est toujours peu développée et incomplètement différenciée ; elle manque, en particulier, des jonctions "gap" qui sont nombreuses dans la crête apicale du membre de l'embryon de lézard à membres bien formés (Raynaud, Brabet & Adrian 1979) et permettent un fonctionnement coordonné des cellules de la crête. Cette absence de jonctions "gap" dans la crête apicale des ébauches des membres de l'orvet est à rapprocher de l'absence de ces mêmes jonctions dans la crête apicale de l'embryon mutant "wingless" du poulet (Sawyer 1982) ; et cette absence suggère une activité métabolique affaiblie, pour la crête, c'est-à-dire une influence inductrice déficiente vis-à-vis du mésoblaste du bourgeon du membre. L'étude cytophotométrique conduit à une interprétation semblable (Raynaud, Jeanny & Gontcharoff 1977).

D'autre part, la crête apicale épiblastique de l'ébauche du membre de l'orvet dégénère précocement, prématurément : à un stade précédant d'environ huit jours le stade auquel la crête dégénère chez un embryon de *Lacerta viridis* ; cette dégénérescence due au développement de foyers d'autolyse dans le cytoplasme des cellules de la crête prive l'ébauche du membre de l'orvet

des substances normalement élaborées par la crête apicale, qui assurent la croissance et la différenciation ultérieures de l'ébauche du membre. Effectivement, 48 heures après la dégénérescence de la crête apicale, le bourgeon de membre de l'orvet commence à régresser, ses cellules mésodermiques dégèrent, le bourgeon s'affaisse et disparaît.

Déficience somitique et dégénérescence prématurée de la crête apicale doivent constituer deux facteurs importants responsables de l'arrêt du développement des membres de l'orvet ; il est possible que la déficience somitique initiale retentisse sur la fonction du mésoblaste du membre et soit ainsi à l'origine de la différenciation incomplète et de la dégénérescence de la crête apicale. On pourrait aussi envisager que dans ce phénomène d'involution intervienne une zone d'activité polarisante de l'ébauche du membre mais nous manquons de données sur la présence et le rôle d'une telle zone, chez les reptiles.

2.2. La formation des membres rudimentaires chez d'autres espèces de reptiles serpentiformes.

Les recherches effectuées chez l'embryon d'ophisaure (Rahmani 1974, 1977), celles effectuées chez diverses espèces de *Scelotes* sud-africains (en collaboration avec Gasc, Pieau, Vasse, Van den Elzen, Renous ; voir bibliographie in Raynaud 1977b, 1985), celles effectuées chez les embryons de python réticulé (Raynaud 1972c), ont permis de généraliser les constatations faites chez l'embryon d'orvet : on peut dire qu'au cours du développement des membres rudimentaires des reptiles serpentiformes, deux phénomènes essentiels interviennent : une déficience somitique et une déficience accompagnée d'une dégénérescence plus ou moins accentuée et plus ou moins précoce, de la crête épiblastique de l'ébauche du membre. On sait que chez l'embryon de poulet, l'excision chirurgicale de la crête apicale entraîne l'arrêt de la différenciation et de la croissance du bourgeon de membre ; selon le stade auquel est réalisé cette ablation, on obtient des membres plus ou moins complets, plus ou moins bien structurés et différenciés (Saunders 1948 ; Summerbell 1974) ; on peut donc admettre que selon le stade auquel dégénère la crête apicale dans l'ébauche du membre d'un Reptile serpentiforme, ce membre sera plus ou moins complet, rudimentaire ou pourra même n'avoir qu'une existence transitoire chez l'embryon (Raynaud 1962, 1963, 1972a, 1974, 1977a, 1984, 1985).

3. SIMILITUDES ENTRE LES MODIFICATIONS DE LA MORPHOGENÈSE DES MEMBRES INDUITES PAR LA CYTOSINE-ARABINOFURANOSIDE ET LES MODIFICATIONS DE LA MORPHOGENÈSE ET DE LA STRUCTURE DES MEMBRES RÉDUITS DES REPTILES SERPENTIFORMES.

Au moyen de l'Ara-C il a été possible de reproduire chez les embryons de *Lacerta viridis*, un grand nombre des types de réduction digitale que présentent les espèces naturelles de reptiles serpentiformes ; nous

avons obtenu des embryons ayant des pattes tétradactyles, tridactyles, bidactyles, monodactyles, adactyles ; nous avons obtenu des embryons ayant des pattes antérieures tétradactyles et des pattes postérieures

pentadactyles, des embryons ayant des pattes antérieures tétradactyles et des pattes postérieures tridactyles ; nous avons aussi réalisé le membre styliforme. Tous ces types de réduction se rencontrent dans la nature, par exemple dans les genres *Leptosiaphos* (voir Perret 1982), *Bachia* (Dixon 1973; Presch 1975), *Scelotes*, *Tetradactylus* (Fitzsimons 1943), *Chalcides* (Pasteur 1981), etc. Les photographies présentées mettent en évidence quelques-unes de ces similitudes du type de structure (comparer, par exemple, les figures 5 et 6, planche 2 et 1 et 2, planche 3).

Mais l'étude comparative de l'ontogenèse des membres expérimentalement réduits et du développement des membres rudimentaires de quelques espèces de reptiles serpentiformes apporte d'autres informations. Nous avons montré ci-dessus que chez les embryons de *Lacerta viridis* traités par des doses de 20 µg à 40 µg d'Ara-C aux stades de 9 à 12 jours d'incubation, le développement de certains rayons digitaux était arrêté : dégénérescence cellulaire et arrêt de la prolifération mitotique entraînent l'absence de formation ou l'arrêt de l'allongement de ces ébauches digitales ; or, chez les embryons de certaines espèces de *Scelotes* que nous avons étudiées, nous avons observé des phénomènes semblables ; ainsi, chez les embryons de *Scelotes gronovii*, on observe à un certain stade du développement de l'ébauche du membre, la présence d'une condensation mésoblastique en colonne représentant l'ébauche d'un doigt IV (pl. 3, fig. 5) ; à la base de cette colonne existe un massif cellulaire formant de chaque côté, une légère protubérance qui doit être interprétée comme une ébauche d'un rayon digital (rayon III d'un côté, rayon V de l'autre) totalement arrêté dans son développement ; la configuration de cette ébauche de

patte monodactyle est tout à fait semblable à celle de l'ébauche de patte monodactyle obtenue par action de l'Ara-C chez l'embryon de *Lacerta viridis* (pl. 3, fig. 4). De plus, de nombreuses dégénérescences cellulaires s'observent aussi dans les ébauches des membres arrêtées plus ou moins tôt dans leur développement, chez diverses espèces de reptiles serpentiformes.

Ces comparaisons suggèrent que les dégénérescences cellulaires et les arrêts de développement observés dans certains constituants mésoblastiques des ébauches des membres des reptiles serpentiformes pourraient résulter d'un arrêt ou d'un ralentissement transitoires de la synthèse d'ADN dans ces cellules mésoblastiques, à certains stades, bien définis, du développement embryonnaire. Cet arrêt présumé de la synthèse d'ADN pourrait résulter de la déficience fonctionnelle de la crête apicale épiblastique, chez ces espèces. Les expériences effectuées chez l'embryon de poulet (Reiter & Solursh 1982) et sur les régénérats de membres d'amphibiens (Globus, Vethmany-Globus & Lee 1980) ont en effet montré que la crête apicale exerçait une activité mitogène vis-à-vis du mésoblaste sous-jacent et suscitait une synthèse d'ADN dans les cellules mésoblastiques. La dégénérescence de la crête apicale, ou sa déficience fonctionnelle, chez les embryons de reptiles serpentiformes causeraient la suppression de ces activités.

Ainsi, déficience de la crête apicale épiblastique et arrêt temporaire de la synthèse d'ADN dans le mésoblaste de l'ébauche du membre, à des stades précis de son développement embryonnaire semblent constituer deux facteurs importants entrant en jeu dans les étapes terminales du mécanisme déterminant la régression évolutive des membres, chez les reptiles serpentiformes.

4. ONTOGENÈSE RÉDUCTRICE DU MEMBRE ET ONTOGENÈSE DE L'ÉTAT SERPENTIFORME

L'étude que nous venons de résumer montre comment, à partir d'une ébauche indifférenciée de bourgeon de membre d'un embryon de Reptile quadrupède, il est possible d'obtenir directement, par l'entrée en jeu des mécanismes morphogénétiques que nous venons d'analyser, les divers degrés de réduction de la patte et des doigts : le bourgeon de membre est une ébauche malléable qui peut être modelée, par des inhibitions variées, en divers types de pattes réduites, tétra..., tri., bi., ou monodactyles, etc. formant des séries graduelles de réduction. Ces séries correspondent à celles qui se rencontrent dans la nature, chez les espèces serpentiformes et qui traduisent le degré d'intensité et la nature des modifications qui affectent la partie du génome contrôlant le développement du membre ; ces modifications génétiques se sont exprimées au cours des étapes de la morphogenèse du membre, au niveau de la fonction somitique, de celle de la crête apicale ou encore, peut-être au niveau d'une zone à activité polarisante, etc... C'est un mécanisme embryonnaire qui réalise la réduction du membre et ce mécanisme a donné

naissance à tous les types de membres rudimentaires qui se rencontrent dans la nature et sans doute à d'autres types qui, non viables ont été éliminés par la sélection naturelle.

Un autre problème se pose maintenant à l'embryologiste : existe-t-il, au cours de l'ontogenèse, des relations entre la réduction des membres et les autres modifications de l'organisme concourant à la réalisation d'un état serpentiforme ?

Déjà l'embryologie suggère l'existence d'une relation entre l'allongement du corps et la réduction des membres : chaque fois que le nombre des somites augmente, provoquant ainsi un allongement du corps, le nombre de somites qui participe à la formation initiale du membre est réduit chez l'embryon (Raynaud 1972a). S'il existe, comme cela paraît probable, un rapport de causalité entre ces deux phénomènes, cette corrélation morphogénétique permettrait d'expliquer la présence des membres réduits chez des reptiles à corps

allongé sans avoir à faire intervenir l'ancienne notion, d'origine lamarckienne, de régression des membres par non-usage, au cours de la vie adulte. Notons aussi que l'augmentation du nombre des somites rend compte de l'augmentation du nombre des vertèbres, des côtes, des nerfs, des vaisseaux correspondants, de l'allongement de la cavité coelomique et de celui de toutes les ébauches d'organes prenant naissance sur son feuillet dorsal (Raynaud 1977a, 1985). Ainsi se constitue un reptile à corps allongé, au nombre de vertèbres, de côtes, etc., augmenté, aux membres réduits, c'est-à-dire un organisme serpentiforme au sens strict du terme.

Le problème qui se pose maintenant est celui de l'origine des autres modifications qui sont présentes, associées aux précédentes, chez les espèces serpentiformes que l'on rencontre dans la nature : complexité de certains dispositifs osteo-musculaires en rapport avec la locomotion rampante, modifications crâniennes, modification des organes des sens, des ceintures, etc. Se sont-elles produites corrélativement ou indépendamment, simultanément ou secondairement ? (Raynaud 1977a, 208) ; ce problème a été posé au cours d'une étude comparative des membres et des ceintures de l'orvet et du lézard vert (Raynaud, Gasc, Renous & Pieau 1975). Il est évident qu'une réponse ne pourra être donnée à ces questions que lorsque des recherches embryologiques plus complètes auront établi l'origine exacte des diverses modifications qui s'observent chez les espèces serpentiformes. Nous venons de voir comment l'embryologie suggère une relation entre l'allongement du corps et la réduction des membres. L'embryologie expérimentale a mis en évidence une autre corrélation, cette fois entre les membres et le système nerveux ; la suppression de l'ébauche du membre, chez l'embryon de *Lacerta viridis* entraîne la disparition des colonnes

motrices (motoneurones) dans la moelle épinière, à hauteur des ceintures (Raynaud & Clairambault 1978) ; cette corrélation permet d'interpréter certaines différences existant dans la structure de la moelle, entre les espèces pourvues de membres et les espèces serpentiformes ; elle a sans doute joué un rôle important dans le passage de la marche à la reptation, à la suite de la régression embryonnaire des membres. Il y a aura lieu, également de rechercher les conséquences que peut avoir l'augmentation du nombre des somites sur l'organisation de la partie postérieure du crâne, sur celle des ceintures, etc. Les corrélations entre les ébauches embryonnaires sont sans doute assez nombreuses ; il appartiendra à l'embryologie de les mettre en évidence ; ce n'est qu'une fois ce travail effectué que l'on pourra décider si certaines caractéristiques des organismes serpentiformes sont ou non liées à la réduction des membres.

D'autre part, il reste possible que les modifications génétiques initiales (mutations, répressions, perte de gènes) à l'origine de l'organisme serpentiforme aient pu intéresser un groupe de gènes, des gènes ayant des effets pléiotropiques, des gènes "intégrateurs", etc et modifier ainsi plusieurs parties de l'organisme non liées par des corrélations morphogénétiques.

Quoiqu'il en soit, les données ontogénétiques actuellement recueillies dans ce rapport nous permettent déjà d'entrevoir comment ont pu se réaliser chez l'embryon, à la fois la régression des membres et les premières transformations de l'organisme conduisant à un reptile serpentiforme.

Ainsi, à côté de l'apport important d'autres méthodes d'étude (génétique, anatomie comparée, etc.), les données ontogénétiques qui viennent d'être résumées dans ce rapport nous paraissent essentielles pour la compréhension de l'organisme serpentiforme.

BIBLIOGRAPHIE

- ALBERCH P. & GALE E.A. (1983) — Size dependance during the development of the amphibian foot. Colchicine-induced digital loss and reduction. *J. Embryol. exp. Morph.*, Oxford, **76** : 177-197.
- CHUANG R.Y. & CHUANG L.F. (1976) — Inhibition of RNA polymerase as a possible anti-leukemic action of cytosine arabinoside. *Nature*, London, **260** : 549-550.
- DIXON J.R. (1973) — A systematic review of the teiid lizard genus *Bachia* with remarks on *Heterodactylus* and *Anatosaurosa*. *Univ. Kansas Mus. Nat. Hist. Misc. Publi.*, **57**: 1-47.
- FITZSIMONS V.K. (1943) — The Lizards of South-Africa. *Transvaal Museum Memoir*, Pretoria, **1** : 1-528.
- FURTH J.J. & COHEN S.S. (1968) — Inhibition of mammalian DNA polymerase by the 5-triphosphate of 1-β-D arabinofuranosyladenine. *Canc. Res.*, Baltimore, **28** : 2061-2067.
- GLOBUS M., VETHAMANY-GLOBUS S. & LEE Y.C.I. (1980) — Effect of apical epidermal cap on mitotic cycle and cartilage differentiation in regeneration in the newt *Notophthalmus viridescens*. *Devel. Biol.*, New York, **75** : 358-372.
- INAGAKI A., NAKAMURA T. & WAKISAKA G. (1969) — Studies on the mechanism of action of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine as an inhibitor of DNA synthesis in human leukemic leukocytes. *Canc. Res.*, Baltimore, **29** : 2169-2176.
- PASTEUR G. (1981) — A survey of the Species Groups of the old world Scincid Genus *Chalcides*. *J. Herpet.*, U.S.A., **5** : 1-16.

- PERRET J.-L. (1982) — Le sous-genre *Leptosiaphos* (*Lacertilia*, *Scincidae*) et ses implications. *Bull. Soc. Neuchatel. Sci. nat.*, **105** : 107-121.
- PRESCH W. (1975) — The evolution of Limb reduction in the teiid lizard genus *Bachia*. *Bull. South. Calif. Acad. Sci.*, **74** : 113-121.
- RAHAMANI T.M.Z. (1974) — Le développement et la régression des bourgeons de membres antérieurs chez l'Ophissaure (*Ophisaurus apodus*, Pallas). *Ann. Embryol. Morph.*, Paris, **7** : 159-170.
- RAHAMANI T.M.Z. (1977) — L'arrêt du développement des membres chez les embryons d'Ophissaure (*Ophisaurus apodus*, Pallas). In "Mecanismes de la rudimentation des organes chez les embryons de Vertébrés". Colloque internatn. C.N.R.S. n° 266, *Editions du C.N.R.S.*, Paris : 193-200.
- RAYNAUD A. (1962) — Etude histologique de la structure des ébauches des membres de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis*) au cours de leur développement et de leur régression. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **254** : 4505-4507.
- RAYNAUD A. (1963) — La formation et la régression des ébauches des membres de l'embryon d'Orvet (*Anguis fragilis*, L.). Observations effectuées sur les ébauches des membres postérieurs. *Bull. Soc. Zool. France*, **88** : 299-324.
- 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*, **275** : 1171-1174.
- RAYNAUD A. (1972c) — Etude embryologique de la formation des appendices postérieurs et de la ceinture pelvienne chez le python réticulé (*Python reticulatus*). *Mém. Mus. Nation. Hist. Paris*, Sér. A (Zool.), **76** : 1-31.
- 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 diverses modalités de la rudimentation des membres chez les embryons de Reptiles. In "Mecanismes de la rudimentation des organes chez les embryons de Vertébrés". Colloque internatn. C.N.R.S. n° 266, *Editions du C.N.R.S.*, Paris : 201-217.
- RAYNAUD A. (1977b) — Somites and early morphogenesis of Reptile limbs. In Ede, Hinchliffe and Balls (eds.), *Vertebrate limb and somite morphogenesis*. *Cambridge University Press*, London : 373-385.
- RAYNAUD A. (1981a) — Les modifications de la morphogenèse des membres déterminées par la Cytosine-arabinofuranoside chez les embryons de Léopard vert (*Lacerta viridis*, Laur.). *C.R. Acad. Sci. Paris*, Sér. 3, **292** : 1063-1067.
- RAYNAUD A. (1981b) — La réduction du nombre des doigts aux mains et aux pieds, chez les embryons de Léopard vert (*Lacerta viridis*, Laur.) sous l'effet de la cytosine-arabinofuranoside. *C.R. Acad. Sci. Paris*, Sér. 3, **293** : 383-387.
- RAYNAUD A. (1982) — Effets de la cytosine-arabinofuranoside sur le développement des embryons de Reptiles (*Lacerta viridis*, Laur. et *Anguis fragilis*, L.). *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, Paris, **71** : 127-146.
- RAYNAUD A. (1984) — On the factors responsible for the arrest of development of limbs in the embryos of a serpentine Lizard, *Anguis fragilis*, L. In "Recent trends in Life Sciences" Gopalakrishna, Singh & Saxena (eds.). *Manu Publications*, Kanpur (Inde) : 133-146.
- RAYNAUD A. (1985) — Development of limbs and embryonic limb reduction. Chap. 3, In "Biology of the Reptilia" C. GANS & F. BILLET (eds.), (Vol. 15). *Wiley & Sons*, New-York : 59-148.
- RAYNAUD A. & CLAIRAMBAULT P. (1978) — Effets de l'ablation des membres postérieurs sur l'organisation des cornes ventrales de la moelle épinière, dans la région lombaire, chez les embryons de Léopard vert (*Lacerta viridis*, Laur.). *C.R. Acad. Sci. Paris*, Sér. D, **286** : 113-116.
- RAYNAUD A. & CLERGUE-GAZEAU M. (1984) — Ectropodie par voie chimique chez l'embryon de *Lacerta viridis* et formation des membres styloformes chez les Reptiles. *C.R. Acad. Sci. Paris*, Sér. 3, **298** : 457-460.
- RAYNAUD A. & CLERGUE-GAZEAU M. (1986) — Identification des doigts réduits ou manquants dans les pattes des embryons de Léopard vert (*Lacerta viridis*, Laur.) traités par la cytosine-arabinofuranoside. Comparaison avec les réductions digitales naturelles des espèces de Reptiles serpentineformes. *Arch. Biol.*, Bruxelles, **97** : 279-299.
- RAYNAUD A., BRABET J. & ADRIAN M. (1979) — Etude ultrastructurale comparative de la crête apicale des ébauches des membres des embryons d'Orvet (*Anguis fragilis*, L.) et de Léopard vert (*Lacerta viridis*, Laur.). *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, Paris, **68** : 301-332.
- RAYNAUD A., JEANNY C. & GONTCHAROFF M. (1977) — Données histochimiques et cytophotométriques sur la crête apicale, les cellules mésoblastiques et les prolongements somitiques de l'ébauche des membres des embryons de Reptiles (*Lacerta viridis*, Laur. et *Anguis fragilis*, L.). *Arch. Anat. micr. Morph. exp.*, Paris, **66** : 73-96.
- RAYNAUD A., GASC J.-P., RENOUS S. & PIEAU C. (1975) — Etude comparative, embryologique et anatomique, de la région pelvi-cloacale et de sa musculature chez le Léopard vert (*Lacerta viridis*, Laur.) et l'Orvet (*Anguis fragilis*, L.). *Mem. Mus. nation. Hist. nat.*, Paris, Sér. A (Zool.), **95** : 1-62.
- REITER R.S. & SOLURSH M. (1982) — Mitogenic property of the apical ectodermal ridge. *Develop. Biol.*, New-York, **93** : 28-35.
- SAUNDERS Jr. W. (1948) — The proximo-distal sequence of origin of the parts of the chick wing and the role of ectoderm. *J. exp. Zool.*, Philadelphie, **108** : 363-403.
- SAWYER L.M. (1982) — Fine structural analysis of limb development in the wingless mutant chick embryo. *J. Embryol. exp. Morph.*, Oxford, **68** : 69-86.
- SUMMERBELL D. (1974) — A quantitative analysis of the effect of excision of the AER from the chick limb-bud. *J. Embryol. exp. Morph.*, Oxford, **32** : 651-660.

PLANCHE 1

- Fig. 1-2 — Deux stades du développement embryonnaire normal des membres du lézard vert (*Lacerta viridis*). Chez un embryon âgé de 24 j. 16 h. (à 26°C), pesant 184, 0mg (fig. 1), les doigts sont encore réunis par une membrane, en partie incisée ; ils sont libres chez l'embryon de la fig. 2, âgé de 30 jours, pesant 234, 0mg. (Gr. = 10 pour la fig. 1 et Gr. = 7,6 pour la fig. 2).
- Fig. 3-4 — Vues latérales d'un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 22 j. 8 h., pesant 149 mg ; cet embryon avait été traité par 30 μ g d'Ara-C au 7^e jour de l'incubation (à 26° C). Les 4 pattes sont tétradactyles et l'embryon présente une morphologie externe normale. (Gr. = 8,5 pour les deux photographies).
- Fig. 5 — Tétradactyles aux 4 pattes chez un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 35 jours, pesant 219,5 mg ; cet embryon avait été traité par 20 μ g d'Ara-C au 8^e jour de l'incubation (à 26°C). Le doigt I fait défaut aux mains et aux pieds ; au pied, on voit la position normale du doigt V (D.V.) inséré en arrière des autres et contigu au doigt le plus long (doigt IV). A l'exception des membres, l'embryon présente une morphologie normale. (Gr. = 11,6).
- Fig. 6 — Squelette, en vue dorsale, du pied droit d'un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 38 jours et quelques heures (à 26°C), pesant 317,5 mg ; cet embryon avait été traité au stade de 11 jours de l'incubation, par 70,0 μ g d'Ara-C. La photographie montre la présence du métatarsien V (Mt.V) dont la morphologie particulière et la position permettent d'identifier le doigt V (D.V.), toujours contigu au doigt le plus long (doigt IV (D.IV)). (D.II : doigt II). (Gr. = 19,4).

PLATE I

- Fig. 1 and 2 — Two stages of the normal development of the limbs in *Lacerta viridis*. In an embryo aged 24 days 16 hours (incubation at 26°C), weighing 184.0 mg (fig. 1), the digits are still united by an interdigital membrane and the limb paddle shows sinuous edges. The digits are free in the embryo of the fig. 2, aged 30 days, weighing 234 mg. (M \times 10 for fig. 1 and M \times 7.6 for fig. 2).
- Fig. 3 and 4 — Views of right and left sides of an embryo of *Lacerta viridis* aged 22 days 8 hours, weighing 149 mg, that was treated at the stage of six days and some hours, by 30 μ g of Ara-c ; this embryo has four digits on hands and feet and no other external abnormalities. (M. \times 8.5 for the two photographs.).
- Fig. 5 — An embryo of *Lacerta viridis* aged 35 days, weighing 219.5 mg that was treated at the stage of 7 days some hours of incubation (at 26°C) by 20 μ g of Ara-C. The four legs are tetradactylous : digit I is lacking in hands and feet. On feet, the digit V is easily recognizable, near the longest one (digit IV). Note that the embryo has no other external abnormalities (M \times 11.6).
- Fig. 6 — Dorsal view of the skeleton of the right foot of an embryo of *Lacerta viridis*, aged 38 days and some hours (incubation at 26°C), weighing 317.5 mg. This embryo was treated at the stage of 11 days of the incubation by 70 μ g of Ara-C. The photograph shows the metatarsal V (Met. V) whose position and characteristic morphology permit the identification of the digit V (D.V.), always adjacent to the longest digit, the digit IV (D.IV) (D.II : digit II) (M \times 19.4).

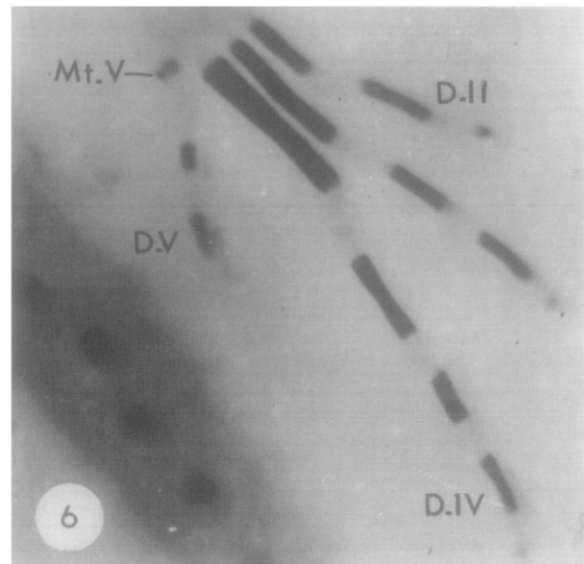
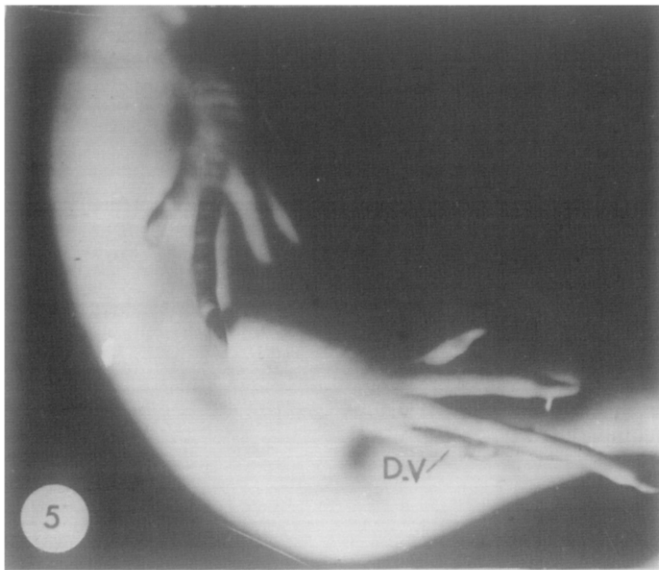
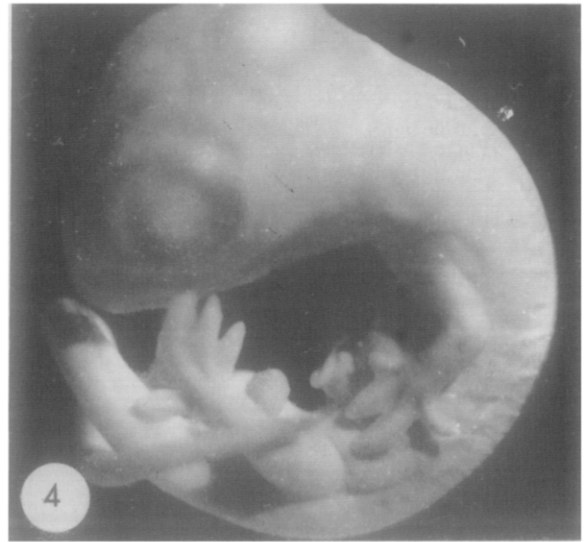
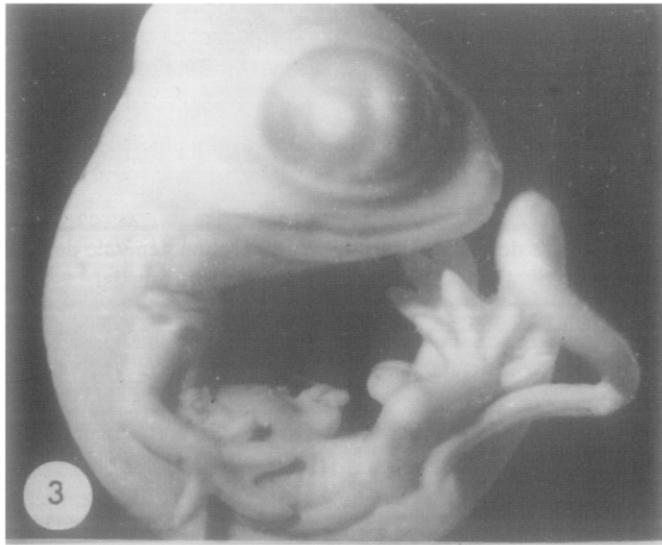
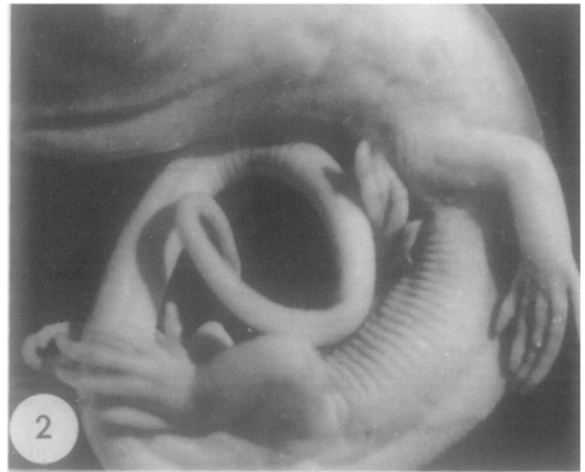
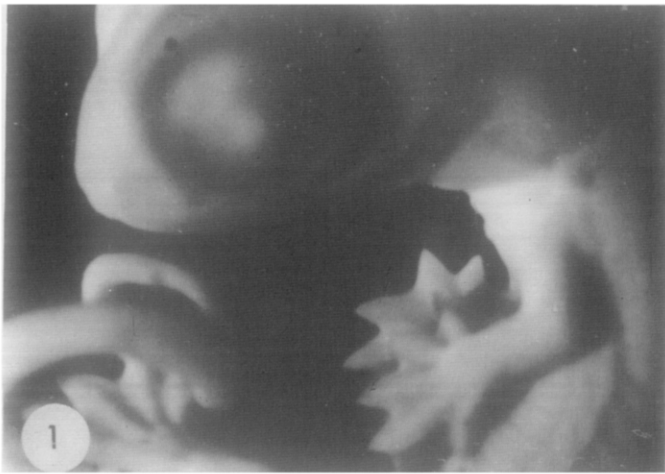


PLANCHE 2

- Fig. 1 — Tétradactylie aux pattes antérieures, pentadactylie aux pattes postérieures chez un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 28 j. 14 h. (à 26°C), pesant 178,6 mg ; cet embryon a été traité par 40 μ g d'Ara-C au stade de 11 jours 15 h., à l'exception des membres, sa morphologie est normale (Gr. = 9).
- Fig. 2 — Tridactylie aux 4 pattes chez un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 24 j. 19 h., pesant 149,2 mg ; cet embryon a été traité par 30 μ g d'Ara-C au septième jour de l'incubation (Gr. = 10,4).
- Fig. 3 — Bidactylie aux pattes antérieures chez un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 34 j. 21 h., pesant 214,0 mg., traité au stade de 11 jours 2 h., par 40 μ g d'Ara-C (Ici, également, noter la morphologie externe normale de l'embryon, à l'exception des membres (Gr. = 8,4).
- Fig. 4 — Monodactylie chez un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 29 jours, (à 26°C), pesant 243,1 mg ; cet embryon avait été traité par 40 μ g d'Ara-C au stade de 11 jours 4 h. Le doigt persistant est le doigt IV. Morphologie externe de l'embryon, normale (à l'exception des membres). (Gr. = 8).
- Fig. 5 — Patte postérieure, styloforme, monodactyle, d'un *Scelotes gronovij* adulte, d'Afrique du Sud. La patte est terminée par une griffe. (Gr. = 12,2).
- Fig. 6 — Patte styloforme (flèche), monodactyle, d'un embryon de *Lacerta viridis*, âgé de 34 jours (à 26°C), pesant 193,3 mg ; cet embryon avait été traité par 20 μ g d'Ara-C au huitième jour de l'incubation. La configuration générale de cette patte, expérimentalement obtenue est tout à fait semblable à celle de la patte du *Scelotes* de la figure 5. (Gr. = 31,5).

PLATE 2

- Fig. 1 — An embryo of *Lacerta viridis* aged 28 days 14 hours (incubation at 26°C), weighing 178.6 mg, that was treated, at stage of 11 days 15 hours, by 40 μ g of Ara-C ; this embryo has four digits on each hand and five digits on each foot and no other external abnormalities (M \times 9).
- Fig. 2 — An embryo of *Lacerta viridis* aged 24 days 19 hours, weighing 149.2 mg that was treated by 30 μ g of Ara-C at the stage of six days of incubation. The four legs have, each, three digits (M \times 10.4).
- Fig. 3 — An embryo of *Lacerta viridis* aged 34 days 21 hours, weighing 214.0 mg, that was treated by 40 μ g of Ara-C at the stage of 11 days 2 hours. There are only two digit on each hand. Here also, note the absence of other external abnormalities (M \times 8.4).
- Fig. 4 — An embryo of *Lacerta viridis* aged 29 days, weighing 243.1 mg, that was treated by 40 μ g of Ara-C at the stage of 11 days 4 hours of incubation (at 26°C). This embryo has only one digit on hands and the digit present is the digit IV. Note the absence of other external abnormalities (M \times 8).
- Fig. 5 — Posterior, styloform leg (arrow) of a *Scelotes gronovii*, from South-Africa. The leg, monodactylous, bears a claw (M \times 12.2).
- Fig. 6 — Styloform, monodactylous leg (arrow) of an embryo of *Lacerta viridis* aged 34 days (incubation at 26°C), weighing 193.3 mg, that was treated by 20 μ g of Ara-C at the stage of 7 days of the incubation. The morphology of this leg is similar to that of the leg of a *Scelotes gronovii* (compare to fig. 5) (M \times 31.5).

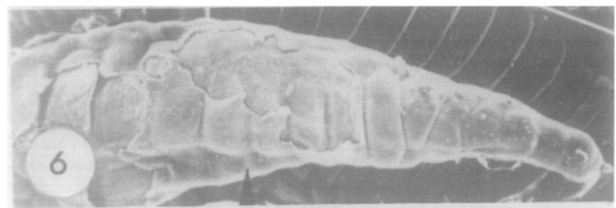
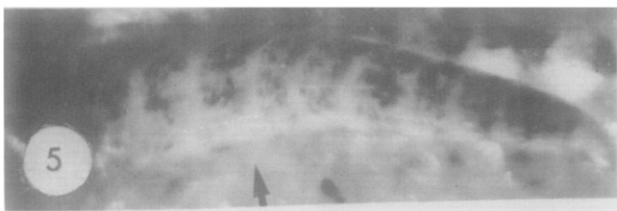
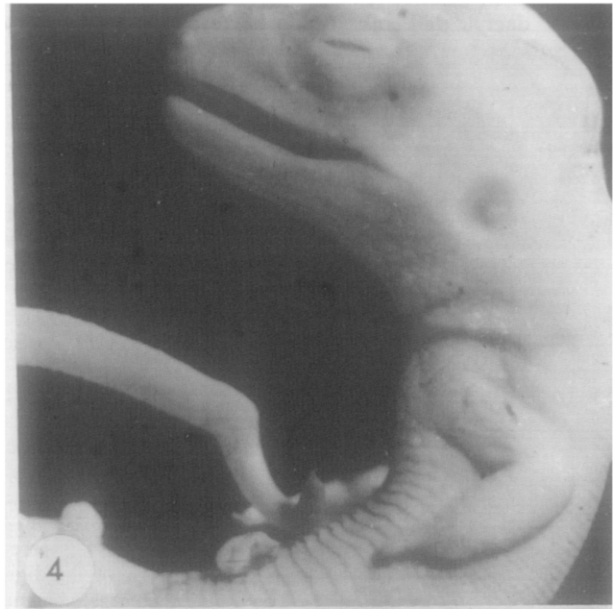
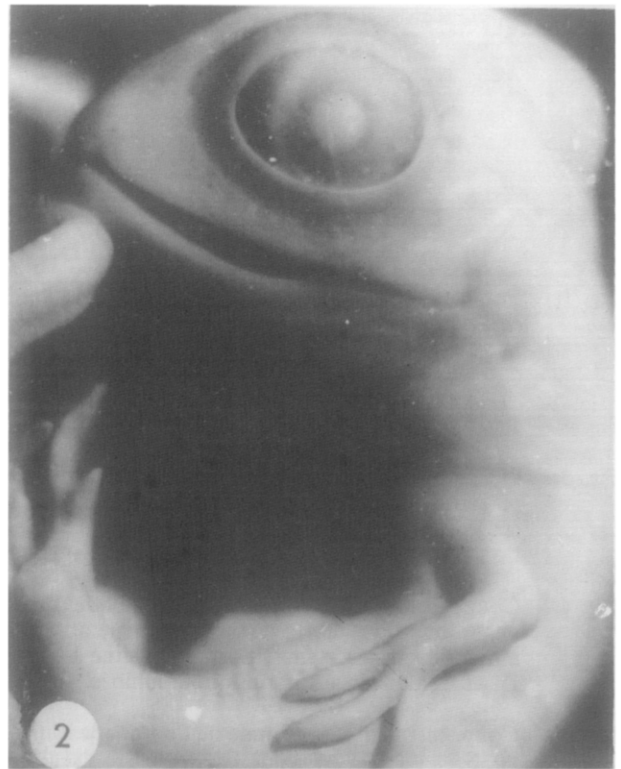


PLANCHE 3

- Fig. 1 — Patte tridactyle possédant un doigt médian long (doigt IV) flanqué de deux doigts courts (doigts III et V), chez un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 26 jours 23 h. (à 26°C) traité au stade de 9 jours 6 h. par 60 μ g d'Ara-C. La configuration générale de cette patte est semblable à celle de la patte d'un Léopard serpentiforme Sud-Africain, le *Tetradactylus eastwoodae* (fig. 2). (Gr. = 16,3).
- Fig. 2 — Patte postérieure d'un Scincidé Sud-Africain, le *Tetradactylus eastwoodae* (d'après Fitzsimons 1943). (Gr. = 23).
- Fig. 3 — Coupe histologique sagittale de l'autopode d'une patte d'un embryon de *Lacerta viridis* âgé de 15 jours 11 h., traité au stade de 10 jours 16 h., par 40 μ g d'Ara-C. Le doigt IV est bien développé (D.IV) ; les doigts III (D.III) et V (D.V) ont été arrêtés dans leur croissance. Cette structure de l'autopode de cette ébauche de patte explique la formation des pattes tridactyles du type visible sur la photographie de la fig. 1. (s.m. : sinus marginal). (Gr. = 165).
- Fig. 4 — Coupe histologique sagittale de l'autopode d'une ébauche de patte d'un embryon de *Lacerta viridis* traité au stade de 10 jours, par 40 μ g d'Ara-C, sacrifié à l'âge de 14 jours 10 heures. Ici, seul le doigt IV (D.IV) est formé ; il y a monodactylie ; le massif cellulaire situé à la base du doigt correspond aux emplacements des ébauches des doigts III et V, dont la formation a été inhibée par l'Ara-C. (s.m. : sinus marginal). (Gr. = 165).
- Fig. 5 — Coupe histologique sagittale de l'autopode d'une ébauche de la patte monodactyle d'un embryon de *Scelotes gronovii*, Scincidé Sud-Africain. Ici, également, seul le doigt IV est présent (D.IV) ; il est flanqué à sa base de deux protubérances représentant les ébauches des doigts III et V qui ne se sont pas développés. Le mode de formation de la patte de cette espèce naturelle de léopard serpentiforme est donc très voisin du mode de formation de la patte monodactyle de l'embryon de *Lacerta viridis* traité à l'Ara-C, visible sur la fig. 4. (s.m. : sinus marginal). (Gr. = 252).

PLATE 3

- Fig. 1 — A tridactylous leg, with a long, median digit (digit IV) and two short digits (digits III and V), in an embryo of *Lacerta viridis* aged 26 days 23 hours (incubation at 26°C), that was treated at the stage of 9 days 6 hours, by 60 μ g of Ara-C. The general structure of this leg is similar to that of the leg of a snake-like, South-African lizard, the *Tetradactylus eastwoodae* (see fig. 2) (M \times 16.3).
- Fig. 2 — Posterior leg of a *Tetradactylus eastwoodae*, a Scincid, South-African lizard (from Fitzsimons 1943) (M \times 23).
- Fig. 3 — Histological, sagittal section of the autopod of a limb bud of an embryo of *Lacerta viridis* aged 15 days 11 hours, that was treated at the stage of 10 days 16 hours, by 40 μ g of Ara-C. The digital ray IV (D.IV) is well formed ; the growth of the digits III (D.III) and V (D.V) has been arrested. The structure of this autopod explains the formation of one tridactylous leg similar to that represented on the fig. 1 (s.m. : marginal sinus) (M \times 165).
- Fig. 4 — Histological, sagittal section of the autopod of an embryo of *Lacerta viridis* aged 14 days 10 hours, that was treated, at the stage of 10 days, by 40 μ g of Ara-C. Here, the digit IV alone is formed (D.IV) ; the leg is monodactylous. The cellular blastem present at the base of the digit occupies the site of the anlagen of digit III and V, whose formation was inhibited by Ara-C (s.m. : marginal sinus) (M \times 165).
- Fig. 5 — Histological, sagittal section of the autopod of the limb bud of an embryo of *Scelotes gronovii*, showing the presence of only a digital ray, the ray IV (D.IV). Around the base of this digit IV, there are two short processes, the anlagen, arrested in their development, of the digits III and V. The mode of formation of the leg of this natural species of serpentiform lizard is, then, very similar to that of the monodactylous leg of the embryo of *Lacerta viridis* treated by Ara-C represented on the photograph of the fig. 4 (s.m. : marginal sinus) (M \times 252).

