

**L'ŒUF DE ROUSSETTE (*SCYLIORHINUS CANICULA*)
INCUBÉ AU LABORATOIRE:
UN MATÉRIEL DE RECHERCHE POUR
L'EMBRYOLOGISTE, L'ÉTHOLOGISTE, LE PHYSIOLOGISTE**

*Jean MELLINGER**

*Laboratoire de Biologie Animale, Faculté des Sciences, Université de Reims, B.P. 347, 51062 REIMS CEDEX, France.

RÉSUMÉ:

La petite roussette, *Scyliorhinus canicula* (L.), est la principale espèce de poissons Chondrichthyens ovipares disponible le long des côtes européennes de l'océan Atlantique, ainsi qu'en Méditerranée. La femelle pond en toutes saisons des œufs très riches en vitellus, dont l'incubation au laboratoire est facile, bien que leur développement prenne des mois. Sauf la segmentation, qui se déroule dans les oviductes, il est possible de suivre le développement *in vivo* en continu, grâce à la transparence de la coque, ce qui constitue un avantage exceptionnel de ce type de Poissons par rapport à d'autres animaux ayant des œufs de grande taille. Dès que la vésicule vitelline est complètement vascularisée, l'incubation peut être poursuivie hors de la coque. On peut ainsi déterminer à quel stade se trouve l'embryon, enregistrer son comportement en continu, et réaliser des études très variées. Le but de cet article est de fournir une mise au point bibliographique des recherches déjà entreprises sur ce matériel biologique.

ABSTRACT:

Catshark (*Scyliorhinus canicula*) eggs incubated in the laboratory: a research material for embryologists, ethologists, and physiologists.

The lesser spotted dogfish, *Scyliorhinus canicula* (L.), is the more readily available species among oviparous chondrichthyan fishes along the European coasts of the Atlantic Ocean, as well along the Mediterranean's. Females lay heavily yolked eggs year-round, which can be easily incubated in the laboratory. However, their development takes several months. Except for segmentation, which occurs while the eggs are still retained in the oviducts, development can be observed continuously *in vivo*, owing to the transparency of the eggshell, and this is an exceptional opportunity to investigators, never found in the other animals that are producing eggs of similar sizes. Moreover,

as soon as the vitelline circulation is completely established around the yolk, incubation can easily proceed outside the eggshell. This allows to identify the desired stages, to get continuous records of embryo behaviour, and to perform a range of investigations. This paper reviews research that has been using this biological material.

MOTS CLÉS: *Scyliorhinus canicula*, œuf, incubation, développement, épibolie, gastrulation, embryon, vitellus, lipides, comportement, thyroïde, hypophyse, TSH, biométrie, éclosion, osmorégulation, différenciation sexuelle, testicule, respiration, digestion, écailles placoides, locomotion, cœur, foie.

KEY WORDS: *Scyliorhinus canicula*, egg, incubation, development, epiboly, gastrulation, embryo, yolk, lipid, behaviour, thyroid, hypophysis, TSH, biometry, osmoregulation, sex differentiation, testis, respiration, digestion, placoid scales, locomotory activity, heart, liver.

INTRODUCTION:

Le type d'œufs le plus primitif des Vertébrés actuels est dit "hétérolécithe", c'est-à-dire relativement riche en vitellus mais encore holoblastique. Son diamètre est de l'ordre du millimètre. Ce type d'œufs caractérise les lamproies, les Dipneustes, les Actinoptérygiens primitifs (Chondrostéens, Polyptérimiformes, l'Holostéen *Amia calva*) et les Amphibiens. Son développement produit une larve: larve ammocète des lamproies, larves à branchies externes des Dipneustes, Polyptérimiformes et Amphibiens.

Les autres Vertébrés, même les plus primitifs (myxines, Chondrichthyens, cœlacanthe), ont acquis des œufs "téolécithes", très riches en vitellus puisque leur diamètre est de l'ordre du centimètre et peut atteindre 15 cm chez le squal *Centrophorus granulosus*. Le stade larvaire est escamoté: c'est un développement "direct". La segmentation, méroblastique, aboutit à la formation d'un blastoderme; les autres modalités de l'embryogenèse sont également adaptées à la présence d'une énorme quantité de vitellus. La fécondation est généralement polyspermique. Seuls les Mammifères Thériens (Marsupiaux et Euthériens) en sont revenus à une segmentation holoblastique, ayant perdu la faculté d'accumuler un vitellus abondant: leurs œufs "alécithes" ont un diamètre de l'ordre du 1/10ème de millimètre, comparable à celui des œufs oligolécithes de beaucoup d'Invertébrés marins, primitifs. Cette particularité est en accord avec leur viviparité placentaire purement matrotrophe, complétée par l'allaitement. Le cas des Téléostéens est assez spécial: bien que méroblastiques, leurs œufs sont généralement de faible diamètre (1 mm) et produisent des larves. Leur fécondation est strictement monospermique, une innovation qu'ils partagent avec les Holostéens actuels, et qui est liée à l'élaboration d'un unique micropyle dans l'enveloppe de l'œuf ("chorion").

Après les Placodermes, fossiles, les Chondrichthyens sont les plus primitifs des Vertébrés à mâchoires (Gnathostomes). Il s'agit d'un taxon monophylétique, dont le mode de reproduction présente des caractéristiques

originales: enveloppes de l'œuf très complexes (coque, gelée), sécrétées par les glandes nidamentaires, où se produit la fécondation; insémination des femelles grâce aux ptérygopodes des mâles. La plupart des espèces sont vivipares. Les formes ovipares comprennent les Holocéphales, les Heterodontidae, les Rajidae, la plupart des Scyliorhinidae, la plupart des Hemiscyllidae et quelques autres Orectolobiformes. Parmi eux, on peut distinguer des ovipares primitifs, qui pondent leurs œufs par paires (*gémellarité*), dès que les coques sont achevées, et des formes ovipares qui ne respectent plus cette règle: *multioviparité*, assortie d'une rétention plus longue des œufs dans les oviductes, ce qui peut être considéré comme une transition vers la viviparité (WOURMS et coll. 1988).

Les œufs et les embryons dont la taille est relativement grande offrent aux expérimentateurs certaines facilités: mesures et prélèvements individuels, analyses biochimiques plus aisées, microchirurgie. L'idéal consiste dans l'utilisation d'œufs volumineux, transparents, faciles à manipuler, du moins lorsqu'il s'agit de les inspecter pour déterminer le stade du développement. Il faut pouvoir disposer d'un tel matériel en toutes saisons. C'est ce que permettent les œufs de roussettes, mis à la disposition des chercheurs par la Station Biologique de Roscoff. Ceux de la petite roussette, *Scyliorhinus canicula* (L., 1758), sont les plus abondants, à tel point que WINTREBERT (1920 a) en avait fait un "animal de laboratoire". VIVIEN (1954) en a montré tout l'intérêt pour l'embryologie expérimentale et l'endocrinologie comparée; dans son laboratoire, THIÉBOLD (1964) a étudié la différenciation du sexe, également décrite par CHIEFFI (1959). L'élevage de cette espèce depuis l'œuf jusqu'à l'adulte a été réussi dans un aquarium en circuit fermé (COLLENOT 1969 a et b). L'étude des œufs de la grande roussette, *Scyliorhinus stellaris* (L., 1758) n'en est qu'à ses débuts (MELLINGER et WRISEZ 1989).

MATÉRIEL ET MÉTHODES:

Les œufs de la petite roussette (*Scyliorhinus canicula*), un poisson Chondrichthyen ovipare, sont fournis en toutes saisons par la Station Biologique de Roscoff et peuvent être facilement incubés au laboratoire dans des conditions bien définies (eau de mer artificielle, salinité de 35 ‰, température de 15°C, obscurité), en vue d'observer l'ensemble des stades du développement embryonnaire et de réaliser diverses expériences. L'œuf tolère la lumière ambiante, mais lorsqu'on le conserve à l'obscurité sa coque ne se pigmente pas, ou très peu. Elle est particulièrement transparente autour de certains œufs. Mais il est toujours possible d'enlever à l'aide d'une lame de rasoir la couche externe de la coque, pour obtenir une petite "fenêtre" parfaitement transparente, en vue d'observations plus précises. Des détails concernant l'aquariologie sont fournis par MELLINGER et coll. (1986), BALLARD et coll. (1993). Les œufs pondus en captivité sont d'une qualité inférieure (MELLINGER 1983).

Il existe au moins deux populations de roussettes, qui diffèrent profondément du point de vue biométrique, y compris en ce qui concerne la taille des ovocytes mûrs et des coques: celle de Méditerranée et celle de l'océan Atlantique et de la Manche (LELOUP et OLIVEREAU 1951, MELLINGER et coll. 1984 b). Il ne faut pas les confondre lorsqu'on procède

à des études sur les embryons. Même si la longueur totale du corps des embryons, à un stade donné, diffère assez peu, leurs poids sont très différents. A partir de 1984, la fourniture d'œufs par nos correspondants du littoral méditerranéen étant devenue problématique, nous avons fait appel à la Station Biologique de Roscoff. Il existe à proximité de Roscoff, au port du Diben (nord de Morlaix, pointe de Primel), une pêche commerciale de roussettes assez abondante en toutes saisons. Les œufs prêts à être pondus, dont les filaments ("vrilles" postérieures) apparaissent au cloaque des femelles, sont faciles à retirer, sans qu'il soit nécessaire d'ouvrir le ventre du poisson. Comme la plupart des femelles pêchées sont mûres et qu'elles produisent des œufs presque en continu, la récolte est abondante lors des grands arrivages. Les femelles sont mortes, mais les œufs survivent parfaitement durant 1-2 jours, au minimum. Après leur extraction, on les place dans de l'eau de mer, à une température de 10 à 16°C, pour le transport. Aux premiers stades, leurs besoins respiratoires sont pratiquement nuls, ce qui permet l'expédition par colis isotherme, dans un faible volume d'eau de mer filtrée.

L'étanchéité et la grande résistance mécanique de la coque permettent la manipulation des œufs hors de l'eau sans aucune difficulté et sans mortalité, pourvu qu'on les remette dans de l'eau de mer à la bonne température toutes les quelques minutes. Nous n'avons jamais réussi à incuber des œufs après avoir pratiqué une ouverture dans leur coque. La putréfaction est très rapide, et porte d'abord sur la gelée (mucopolysaccharides). VIVIEN (1954) a obtenu une certaine survie grâce aux antibiotiques. KOPSCH (1950) a opéré en chambre humide, avec un succès très limité. Il est possible que la putréfaction soit moins à craindre en eau de mer courante, naturelle, dans les laboratoires marins, mais les tentatives ont été rares et n'ont pas fait l'objet de publications, sauf celle de VANDEBROEK (1936), dont la méthode d'élevage suscite quelques doutes.

ANALYSE DES TRAVAUX PUBLIÉS:

1 - Table du développement

La possibilité d'observer directement le développement *in vivo* a commencé d'être exploitée. Une table du développement a été mise au point (BALLARD et coll. 1993). On en trouvera un résumé ci-joint (tableau 1). Cette table reprend la suite des stades déjà décrits par MELLINGER et coll. (1984 a), puis MELLINGER coll. (1986), et la complète par une description des premiers stades du développement. Elle présente l'intérêt, compte tenu des critères utilisés (par exemple, le nombre de poches et de fentes branchiales), d'une possible généralisation aux autres Sélaciens. La plupart des stades sont reconnaissables *in vivo*.

2 - Préclosion et éclosion

La coque est vidée de sa gelée par l'action de la "glande de l'éclosion" (OUANG TE YIO 1931) et s'ouvre (*préclosion*) dès 85-115 jours après l'oviposition. L'embryon, qui mesure 40 mm de longueur totale, dispose alors d'un abri sûr, imputrescible, ventilé à travers les quatre fissures proches des angles de la coque. L'espace intérieur disponible correspond exactement aux

besoins de sa croissance finale. De plus, l'ouverture d'éclosion, située à l'extrémité quadrangulaire de la coque, est complètement dégagée de toute la gelée très ferme qui l'obturait. Ses lèvres restent encore fermées par une pellicule assez peu résistante, que l'embryon parvenu au terme de son développement est capable de déchirer lors de l'éclosion.

L'étude respirométrique de DIEZ et DAVENPORT (1987) a bien montré la nécessité d'une ventilation de la coque à travers les fissures, pour répondre aux besoins croissants de l'embryon en oxygène durant la seconde période du développement, où sa croissance devient exponentielle. Il présente toutefois une certaine tolérance à l'hypoxie, qui disparaîtra à la naissance.

En dépit des résultats d'expériences assez anciennes, montrant que la paroi de la coque est perméable aux électrolytes de l'eau de mer et à l'urée, certains auteurs faisant autorité ont soutenu que la coque joue le rôle d'une barrière de perméabilité pour ces solutés, et que cela faciliterait l'osmorégulation des embryons, ou même les en dispenserait complètement. A la suite des expériences de HORNSEY 1978, FOULLEY et MELLINGER 1980 a, b, 1981, il est définitivement prouvé que la coque est perméable à l'eau, aux électrolytes et aux petites molécules jusqu'à environ 2 kDa (voir aussi KORMANICK, 1993). De plus, la composition chimique de l'eau contenue dans la coque, en particulier dans la gelée interne, est la même que celle de l'eau de mer ambiante (MELLINGER et coll. 1986; KORMANIK, 1993). Il en découle que le "système embryonnaire" (blastodique ou embryon, plus le vitellus et ses enveloppes) doit assurer à tous les stades du développement son osmorégulation (ionorégulation incluse). Comme on le sait, cette fonction comporte chez les Chondrichthyens une forte rétention de l'urée. De ce point de vue, la préclosion n'ajoute aucune contrainte d'environnement.

L'éclosion a lieu 170-220 jours après l'oviposition. La taille du corps atteint 98 à 119 mm, mais se situe le plus souvent autour de 107 mm. L'éclosion spontanée n'a lieu qu'à l'obscurité (MELLINGER et coll. 1986), et son déroulement n'a jamais été observé. On ignore tout des mécanismes nerveux ou endocrines qui la déterminent. Elle est précédée de peu par l'éruption des écailles placoïdes ordinaires et des dents (MELLINGER et coll. 1984 b, 1986). Il existe déjà, chez l'embryon, des écailles placoïdes "primaires" (FORD 1921, BUDKER 1944, MELLINGER et WRIZEZ 1993) dont les fonctions, en particulier le rôle éventuel dans l'éclosion (GROVER 1974), demeurent hypothétiques.

Après la préclosion, l'embryon croît plus rapidement et remplit complètement l'intérieur de la coque à la fin du développement. Il existe une coaptation évidente entre la forme de l'embryon à terme et celle de l'intérieur de la coque. Pour forcer l'ouverture d'éclosion, il faut que la tête de l'embryon soit engagée dans la partie plate de la coque, du côté de cette ouverture, sous peine de mort. Il prend appui sur sa queue, recourbée dans l'autre extrémité de la coque, qui est arrondie. Le passage emprunté est étroit; la rupture d'une portion supplémentaire de la coque, entre l'ouverture d'éclosion et les fissures antérieures, particulièrement longues, contribue à l'élargissement de ce passage. On peut se demander quels sont les réflexes qui permettent à l'embryon d'adopter finalement, à de rares exceptions près, cette position dans

la coque, quelle que soit l'extrémité de l'œuf par laquelle on le suspend dans l'aquarium. Ce comportement, vital, mériterait une étude détaillée.

Les Chondrichthyens ovipares sont les seuls Métazoaires chez lesquels les enveloppes de l'œuf s'ouvrent d'une manière anticipée, longtemps avant l'éclosion.

3 - Résorption du vitellus et bilan du développement

Les modalités de l'utilisation du vitellus ont été précisées (MELLINGER et coll. 1986; MELLINGER et WRISEZ 1989; LECHENAULT et coll. 1993). La digestion du vitellus a lieu essentiellement dans l'intestin spirale, comme chez le cœlacanthe (FRICKE et FRAHM, 1992). C'est au moment de la préclosion que le vitellus commence à pénétrer dans le canal vitellin et l'intestin. Auparavant, sa résorption est nulle ou, du moins, pondéralement imperceptible à cause de la variabilité naturelle du poids du vitellus (en poids sec, 0,8-1,5 g). Cette observation rectifie des résultats obtenus autrefois sur les roussettes de Tamaris-sur-Mer (ALLUCHON-GÉRARD et MELLINGER 1971). En fait, il s'agit d'une évidence qui nous avait échappé: le poids sec des embryons tout juste préclos ne dépasse pas 30 mg, ce qui ne peut pas correspondre à la consommation d'une fraction significative du vitellus, même en tenant compte de la déperdition due à la production d'anhydride carbonique et d'urée avant la préclosion (MELLINGER et WRISEZ 1983; MELLINGER et coll. 1986).

L'opération de transfert du vitellus dans l'embryon occupe toute la seconde moitié du développement. Elle est facilitée par la formation et le gonflement d'une énorme vésicule vitelline interne (VVI) à partir de la paroi du canal vitellin, dans la cavité abdominale. A l'éclosion, le transfert est terminé, de telle sorte qu'il ne reste plus qu'une trace de la vésicule vitelline externe (VVE). Cet achèvement est impératif: le franchissement par l'embryon, en force, des lèvres de l'ouverture d'éclosion, risquerait de briser la fragile VVE.

Le nouveau-né contient encore 10% du vitellus initial, en poids sec (DELAHAYE et coll. 1991; WRISEZ et coll. 1993), stocké provisoirement dans la VVI, qui sera vidée au bout d'une semaine. Ce stockage permet sans doute, en même temps, une éclosion sans dommages et un apprentissage de la chasse par le nouveau-né.

La digestibilité du vitellus est totale. Non seulement l'œsophage est obturé (voir plus loin, §4), mais le vitellus est confiné dans l'intestin spirale ou la VVI durant tout le développement, grâce à une occlusion temporaire du rectum, mise en place bien avant la préclosion (MELLINGER et coll. 1985, 1986, 1987). Sa réouverture se produit peu de temps avant la naissance.

Le bilan chimique du développement est de -20,6% en poids sec (RANZI 1932), ou de -16,8% (MELLINGER et coll. 1986). La somme des poids de carbone et d'hydrogène baisse de 26% (MELLINGER et coll. 1986). En supposant que la perte d'azote, relativement faible, corresponde uniquement à de l'urée, perdue par l'embryon, 0,92 mmol d'urée auraient ainsi disparu par diffusion hors de l'embryon et de la coque (DELAHAYE et coll. 1992).

4 - Fécondation, segmentation, épibolie, formation de l'embryon

Le blastodisque résulte de la segmentation méroblastique, limitée à la "cicatricule" orangée (*disque germinatif*) d'environ 1,5 mm de diamètre qui marque l'emplacement du pôle animal de l'œuf. Cette masse lenticulaire de cytoplasme, chargé de vitellus fin (granules de 3 à 8 μm , formant un gradient), est entourée d'une zone étroite, insegmentée, de vitellus blanc, dont les plaquettes sont plus grandes mais moins volumineuses que dans le reste du vitellus, dont la teinte est jaune-verdâtre.

Lors de la fécondation, la membrane vitelline est traversée par plusieurs dizaines de spermatozoïdes, au niveau de la cicatricule. Nous avons compté 30 à 50 noyaux spermatiques (LECHENAULT et MELLINGER 1993). Deux ou trois d'entre eux s'approchent du noyau de l'ovocyte (*vésicule germinative*), proche de la surface. Un seul d'entre eux, bien entendu, participe à l'amphimixie. La segmentation commence immédiatement après. Elle produit des noyaux nettement plus gros (diploïdes) que ceux d'origine spermatique (haploïdes), bien qu'ils soient mélangés dans le disque germinatif indivis de l'œuf aux premiers stades. Les noyaux spermatiques effectuent également quelques mitoses successives, mais leurs descendants disparaissent peu à peu, et ne sont nullement à l'origine du syncytium vitellin comme un ancien auteur l'avait soutenu. Nous avons donc redécrit le début du développement, en fixant des œufs prélevés dans les glandes nidamentaires (LECHENAULT et MELLINGER 1993)

La segmentation est largement syncytiale. C'est avec retard que les premiers blastomères s'individualisent, en surface, et leur nombre ne correspond donc jamais à celui des noyaux d'origine zygotique. Lorsque la coque de l'œuf et ses "vrilles" sont achevées, et que l'oviposition a lieu, la segmentation est terminée: la place du disque germinatif est occupée par un amas lenticulaire de plusieurs centaines de blastomères. Le vitellus blanc dans lequel il se trouve enchâssé contient encore, à sa partie supérieure, des noyaux libres d'origine zygotique, qui représentent l'ébauche du *syncytium vitellin*. Ils continuent de se diviser, vont subir des endomitoses et présenter des fusions au sein de petits groupes, de telle sorte que le syncytium sera constitué de noyaux géants, lobés.

Après la ponte, ou peu de temps avant (Stade 4, voir le tableau 1), la symétrie bilatérale apparaît: la cavité sous-germinale est visible de l'extérieur sous la forme d'un petit *croissant postérieur* qui marque l'emplacement du futur *écusson embryonnaire* à l'arrière du blastodisque. La cavité est bien entendu remplie d'un liquide, provenant du cytoplasme de l'œuf, et le croissant représente la zone d'affleurement de ce compartiment liquide sous une portion amincie du blastodisque, réduite à une membrane dont la nature exacte reste à établir (partie du syncytium vitellin ?). Le croissant s'agrandit (St. 5), puis rétrécit (St. 6), et disparaît (St. 7, pratiquement identique au st. 3).

Cette régression marque le début de l'épibolie: le vitellus blanc est recouvert par le blastodisque à l'arrière (St. 8), puis entièrement (St. 9). Le rebord postérieur du blastodisque s'épaissit (St. 10), devient proéminent (St. 11), et une encoche se creuse à ce niveau, exactement dans l'axe de symétrie bilatérale (St. 12). Ainsi se forme l'écusson embryonnaire, qui se présente

comme un épaississement en forme d'arcade, bien délimité vers l'avant, mais relié latéralement au rebord du blastodisque par deux bourrelets atténués.

Au stade 12, les deux bourrelets latéraux se rapprochent, et le sillon médian qui se forme ainsi s'allonge vers l'avant, donnant un *axe embryonnaire* très net (St. 13). La gastrulation, dont le mécanisme demeure inconnu, se déroule au même moment: les divers feuilletts embryonnaires sont mis en place; une *cavité digestive* se creuse par-dessous, largement ouverte vers l'arrière.

L'organogenèse commence ensuite. Les bourrelets, qui n'ont pas encore la valeur de bourrelets médullaires, s'étalent en une *plaque céphalique* vers l'avant de l'axe embryonnaire (St. 14), ce qui, d'une part, annonce la neurulation (St. 15-17) et, d'autre part, correspond à la différenciation de la région antérieure du corps (probablement, la région céphalo-branchiale). La petite roussette adulte possède 85-90 paires de myotomes, que l'on voit se former chez l'embryon dans un ordre déterminé, de l'avant vers l'arrière, et uniquement dans la région du tronc (MELLINGER et coll. 1984 a). Les premières ébauches myomériques (*somltes*) apparaissent dès le stade 13, mais ces ébauches ne sont visibles de l'extérieur qu'à partir du stade 15 (Fig. 1, destinée à corriger la fig. 4 de BALLARD et coll. 1993).

Les régions du corps visibles aux stades 14-17 correspondent uniquement à la région céphalo-branchiale et à la partie la plus antérieure du tronc. Les *lobes postérieurs* (Fig. 1) correspondent à la partie postérieure des deux bourrelets dont le rapprochement et la croissance ont permis la mise en place de l'axe embryonnaire. Ils encadrent l'orifice de la cavité digestive, mais celle-ci n'est pas visible en vue dorsale. Leur fusion aboutit (St. 17) à la formation d'un vaste compartiment corporel fermé, qui comprend à la fois le tube neural, la cavité digestive, et le *canal neurentérique*, ainsi délimité (MELLINGER et coll. 1986). Lors de sa formation, ce compartiment clos contient de l'eau de mer. La modification chimique du milieu intérieur de ce compartiment n'a pas été étudiée, mais on constate qu'il est protégé contre la pénétration de l'eau de mer par la formation d'une occlusion permanente de l'œsophage (St. 19), avant la perforation de la bouche et des premières fentes branchiales ((St. 21) (MELLINGER et coll. 1984 a, 1985, 1986, 1987). Le canal neurentérique sera colmaté plus tard, vers le stade 23.

La partie postérieure du tronc, puis la queue, se forment aux stades 18 à 26-27. Comme chez les Amphibiens, un "bourgeon caudal", mais qui est en réalité, ici, un *bourgeon tronco-caudal*, croît vers l'arrière, en multipliant les paires de somites, et en rallongeant les autres organes axiaux (corde dorsale, tube neural, etc.), ainsi que le canal neurentérique (au début), mais non pas le tube digestif. Ce dernier se termine par un accollement de son endoblaste à l'ectoblaste médioventral, pour former la *membrane coacale*, bien délimitée dès le stade 21. Mais cette membrane ne se perforera qu'au moment de la préclosion (St. 31).

La chambre cloacale, endoblastique, est fortement dilatée par le liquide provenant de la *glande rectale*, excrétrice ("glande à sel"), dont on note le développement précoce (MELLINGER et coll. 1985, 1986, 1987). A ce liquide s'ajoutera sans doute de l'urine, à partir d'un certain stade, encore indéterminé. La signification de l'occlusion rectale est donc double : elle empêche la sortie du vitellus intestinal, mais aussi le refoulement dans

l'intestin du contenu liquide de cette véritable *vessie cloacale*, transitoire. Cette vessie fonctionne jusqu'à l'éclosion. Une étude plus poussée de ces voies excrétrices, et de l'excrétion embryonnaire dans son ensemble, reste à faire.

5 - Formation de la vésicule vitelline externe et respiration embryonnaire

Dès la formation de l'axe embryonnaire (St. 13), on peut considérer que le blastodisque a fourni, d'une part, l'*embryon* représenté par cet épaissement, et d'autre part, un *blastoderme*, qui représente l'ébauche de la VVE. L'épibolie correspond à la formation de la VVE, et n'a rien à voir avec la convergence et la gastrulation, qui concernent la formation de l'embryon et l'organogénèse. Elle aboutit à l'inclusion de la masse vitelline dans la VVE.

L'épibolie se déroule depuis le stade 10 jusqu'aux stades 25-26, qui marquent aussi la fin de la formation des six paires de fentes branchiales (événement compris). Comme chez les Téléostéens, on peut caractériser les étapes de l'épibolie en indiquant le pourcentage de la surface du vitellus recouverte. Mais, ici, comme le rebord antérieur du blastoderme progresse plus vite que ses autres parties, c'est lui seul qui sert de repère visuel, et il apparaît très clairement à l'œil nu (MELLINGER et coll. 1986). La région du pôle végétatif de l'œuf est enveloppée par le blastoderme avant que ne se forme finalement l'*ombilic vitellin*, postérieur, dont la surface va se réduire progressivement. Lorsqu'il est complètement fermé, la suture verticale du blastoderme forme une *ligne rouge* très visible sous la partie postérieure de l'embryon. Cette couleur est certainement due aux ébauches sanguines, localisées le long du rebord du *blastoderme* en fin d'épibolie.

Contrairement au cas des Téléostéens, dont le mode de développement (épibolie, convergence dorsale, gastrulation, formation du sac vitellin) fait encore l'objet de discussions, les Chondrichthyens possèdent en effet une *annexe embryonnaire*, la VVE et son *pédicule vitellin*, parfaitement distincte du corps de l'embryon.

La formation de la VVE passe par deux étapes. On obtient d'abord une VVE avasculaire. Les ébauches sanguines apparues lors de sa fermeture, du côté postérieur, dessinent les contours d'une *aire vasculaire* en forme de raquette dont le manche est marqué par la ligne rouge et dont le tamis (en supposant qu'il s'agisse d'une raquette de tennis !) entoure l'embryon. L'aire vasculaire s'étend progressivement, durant les stades 25 à 29-30, jusqu'à ce que la VVE soit complètement vascularisée. Cette extension part de la face postérieure du vitellus, vers la face antérieure, et l'*ombilic vasculaire* final se referme à l'avant, non loin du pôle végétatif, dans la bifurcation de l'*artère vitelline* qui longe le rebord antérieur de l'aire vasculaire. La *veine vitelline* se forme à la place de la ligne rouge. Un réseau de capillaires de plus en plus fins et serrés s'établit entre l'artère et la veine, tout autour du vitellus.

Contrairement aux Téléostéens, qui ne présentent que des réseaux admirables veineux autour de leur "sac vitellin", par ailleurs intra-abdominal et uniquement constitué par le syncytium vitellin, les Chondrichthyens ont donc une circulation vitelline artério-veineuse, comme les Vertébrés Amniotes. Le cas du cœlacanthe est identique. Tous les feuilletts

embryonnaires sont présents dans la paroi de la VVE achevée, où l'on observe sur les coupes histologiques: à l'extérieur, l'ectoblaste, renforcé par une couche fibreuse très épaisse, dont l'origine et la structure fine restent à étudier (LECHENAULT et coll 1993), mais probablement dérivée du mésoblaste; un mésoblaste sans coelome extraembryonnaire; et, vers l'intérieur, une simple assise de cellules endoblastiques chargées de glycogène. L'endoblaste est directement en contact avec la surface du vitellus, où sont logés les noyaux du syncytium vitellin. Mais les cellules endoblastiques ne présentent pas d'aspects évoquant une activité digestive, sauf à proximité du pédicule vitellin et seulement au moment de l'achèvement du transfert du vitellus vers la VVI et l'intestin.

Cette circulation peut difficilement être considérée comme étant destinée à la résorption du vitellus, puisqu'elle se développe longtemps avant la préclosion, et que le vitellus ne semble pas être digéré ailleurs que dans l'intestin spirale, sauf pour une fraction tout à fait négligeable. La signification de la circulation vitelline semble essentiellement respiratoire. Le système embryonnaire utiliserait trois échangeurs respiratoires successifs: la VVE, les filaments externes produits par certaines lamelles branchiales avant la préclosion, et enfin les branchies lamelleuses, définitives. Ces dernières se développent complètement lors de la résorption des filaments. L'apparition de la pulsation rythmique du pharynx, lorsque l'embryon atteint environ 65 mm de longueur, marque l'entrée en fonction des branchies définitives.

6 - Motricité embryonnaire et cardiaque

En dehors des stades du développement, la transparence de l'œuf est favorable à l'étude de la motricité embryonnaire (WINTREBERT 1920 b, HARRIS 1955, HARRIS et WHITING 1954) et à l'observation des battements cardiaques (HUGGEL 1961).

Les premiers mouvements de contraction du corps sont observés à la fin du stade 17, lorsque l'embryon mesure près de 4 mm et possède une vingtaine de somites. Ils sont unilatéraux, rythmiques, aneuxaux. Ils nous rappellent que les muscles striés squelettiques des Vertébrés ont à l'origine une activité autonome, que l'innervation directe, sans relai ganglionnaire, par les motoneurones, peut faire disparaître ensuite, du moins si l'on en croit les auteurs anciens qui ont examiné cette question par la simple observation et par des expériences très superficielles.

La mise en œuvre de techniques électrophysiologiques modernes, combinées avec des études pharmacologiques et ultrastructurales, permettrait d'approfondir la connaissance des mécanismes de la motricité aneurale et le rôle du système nerveux dans la genèse des premiers comportements moteurs. Il faut noter que les contractions aneurales se limitent, apparemment, aux myotomes, qui seront ensuite innervés par des nerfs rachidiens. La musculature branchiale, dérivée des plaques latérales du mésoblaste dans la région pharyngienne, est également striée et squelettique, mais son innervation est due aux nerfs crâniens. Elle ne semble pas manifester auparavant de contractilité aneurale.

C'est également sur ce type de matériel qu'on a découvert le rôle, dans le développement du système nerveux, de "neurones pionniers", transitoires,

les cellules de Rohon-Beard, qui assurent la fonction sensitive avant l'apparition des neurones ganglionnaires rachidiens.

7 - Les phospholipides vitellins comme sources d'énergie pour l'embryon

Les lipides représentent à peu près 20% du poids sec des réserves vitellines chez les roussettes (MELLINGER et coll. 19898, MELLINGER et WRITSEZ 1989). Chez *S. canicula*, après 90-100 jours de développement à 13°C, DIEZ et DAVENPORT (1990 a) en ont trouvé 19%, 56% de protéines solubles dans la soude 1M, et 0,1% de glucides. D'après DELHAYE et coll. (1992), 20 à 35% des lipides sont présents sous forme homophasique, c'est-à-dire de gouttelettes d'huile, très fines, dispersées entre les plaquettes vitellines, qui contiennent le reste : lipides hétérophasiques, dont font sans doute partie les 41,6% de phospholipides estimés par dosage du phosphore.

Au cours du développement, l'embryon utilise en moyenne 46% des lipides totaux comme source d'énergie, avec une préférence marquée pour les phospholipides (-71%). Compte tenu du contenu énergétique supérieur des lipides, on peut estimer qu'ils fournissent à l'embryon près de 70% de l'énergie consommée, le reste étant dû aux protéines.

Bien que cela soit souvent répété, même dans des publications récentes (DIEZ et DAVENPORT 1990 b), il est inexact de considérer uniquement les phospholipides vitellins comme des précurseurs pour la biogenèse des membranes biologiques au cours du développement: ils représentent une source d'énergie fondamentale.

8 - Rôle de la glande thyroïde dans le développement

L'étude de la croissance des divers lobes de l'adénohypophyse et leur examen au microscope électronique à transmission chez les embryons et les nouveau-nés a permis de confirmer l'importance de la préclosion comme étant une étape importante dans la maturation fonctionnelle du système endocrinien (ALLUCHON-GÉRARD 1982). Mais la folliculigénèse thyroïdienne et la biosynthèse des hormones iodées commencent encore plus tôt (ALLUCHON-GÉRARD 1979). Des cellules thyrotropes ont été mises pour la première fois en évidence chez un Chondrichthyen, en provoquant, par la thyroïdectomie chirurgicale de nouveau-nés de roussette, l'apparition de "cellules de thyroïdectomie" quelques semaines plus tard, et en montrant que la catégorie cellulaire correspondante est caractérisée, à l'état normal, par la présence de petits granules (ALLUCHON-GÉRARD et MELLINGER 1978, ALLUCHON-GÉRARD 1978).

Comme on l'avait déjà supposée quinze ans auparavant, ces "cellules à TSH" sont essentiellement localisées dans le lobe ventral de l'hypophyse, isolé du système porte hypophysaire et des fibres nerveuses d'origine hypothalamique. Mais il faut souligner que cette observation avait toujours échoué chez les adultes, et qu'elle est due à l'emploi de jeunes roussettes produites par l'incubation des œufs au laboratoire. Par ailleurs, tous les spécialistes admettent à présent que le lobe ventral des Chondrichthyens est le siège de la fonction gonadotrope, et que l'hormone hypophysiotrope correspondante (GnRH), bien identifiée, ne peut l'atteindre que par la voie

systemique. La présence d'un TRH reste à découvrir chez ces Vertébrés primitifs.

CONCLUSIONS:

La diversité biologique des Poissons est particulièrement manifeste dans les modalités de leur reproduction et de leur développement. Les Téléostéens sont l'objet de la presque totalité des recherches. A l'opposé de ce taxon récent, riche en espèces mais relativement uniforme du point de vue anatomique et physiologique, les Chondrichthyens présentent des particularités remarquables, encore peu étudiées. Leur grande taille, et la difficulté ou l'impossibilité de leur reproduction en captivité, ont limité les recherches expérimentales consacrées à ce type de Poissons. L'œuf de roussette est un matériel commode, qui a permis de corriger quelques idées reçues et d'aboutir à donner une interprétation cohérente pour un certain nombre d'observations, souvent anciennes et disparates, comme celle des occlusions digestives transitoires. La voie est ouverte pour des recherches plus approfondies.

BIBLIOGRAPHIE

ALLUCHON-GÉRARD M.J. 1978. Electron microscopic study of post-thyroidectomy changes in the ventral lobe of the adenohypophysis in very young spotted dogfish (*Scyllium canicula*, Chondrichthyes). Gen. Comp. Endocrinol., **36**, 585-597.

ALLUCHON-GÉRARD, M.J. 1979. Morphogenèse ultrastructurale et différenciation fonctionnelle du follicule thyroïdien de la roussette. Arch. Anat. micr. Morph. exp., **68**, 43-60.

ALLUCHON-GÉRARD M.J. & MELLINGER J. 1971. Mise en évidence de plusieurs phases distinctes dans la croissance embryonnaire de la roussette (*Scyllium canicula* Cuv.) Ann. Embryol. Morphogen., **24**, 19-35.

ALLUCHON-GÉRARD M.J. & MELLINGER J. 1978. Observation de "cellules de thyroïdectomie" au microscope électronique dans le lobe ventral de l'hypophyse d'un Poisson Chondrichthyen, la Roussette *Scyllium canicula* Cuv. C. r. Acad. Sci., Paris, **286D**, 1511-1514.

ALLUCHON-GÉRARD M.J. 1982. Hypophyse et thyroïde chez l'embryon et le nouveau-né de la roussette (*Scyllium canicula* Cuv., Chondrichthyens): contribution à l'étude de leur développement et de leurs fonctions. Thèse Dr. Sci. Nat., Univ. Reims, 316 p. fac-simile et dactyl.

BALLARD W.W., MELLINGER J. & LECHENAULT H. 1993. A series of normal stages of *Scyliorhinus canicula* the lesser spotted dogfish (Chondrichthyes: Scyliorhinidae). J. Exp. Zool., **267**, 318-336.

BUDKER P. 1944. Sur les écailles primitives des Sélaciens et les "carènes" longitudinales des Orectolobidae (Note préliminaire). Bull. Soc. zool. Fr., **69**, 80-87.

CHIEFFI G. 1959. Sex differentiation and sex reversal in elasmobranch fishes. Arch. Anat. micr. Morph. exp., **48 bis**, 21-36.

COLLENOT G. 1969 a. Etude biométrique de la croissance relative des ptérygopodes chez la roussette *Scyliorhinus canicula* L. Cah. Biol. Mar., **10**, 309-323.

COLLENOT G. 1969 b. Apparition et évolution de l'activité endocrine du testicule de *Scyliorhinus canicula* L. (Elasmobranch). Ann. Embryol. Morphogen., **2**, 461-477.

- DELHAYE E., LECHENAULT H., WRISEZ F., LERAY C., HAYE B. & MELLINGER J. 1991. Localisation, composition et utilisation des lipides vitellins chez *Scyliorhinus canicula* (L.). Bull. Soc. zool. Fr., **117**, 149-156.
- DIEZ J.M. & DAVENPORT J. 1987. Embryonic respiration in the dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.). J. mar. biol. Ass. U.K., **67**, 249-261.
- DIEZ J.M. & DAVENPORT J. 1990 a. Energy exchange between the yolk and embryo of dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.) eggs held under normoxic, hypoxic and transient anoxic conditions. Comp. Biochem. Physiol., **96B**, 825-830.
- DIEZ J.M. & DAVENPORT J. 1990 b. Embryonic fatty acid composition as a function of yolk fatty acid composition in eggs of the lesser spotted dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.). Lipids, **25**, 724-728.
- FORD E. 1921. A contribution to our knowledge of the life-histories of the dogfishes landed at Plymouth. J. mar. biol. Ass. U.K., **12**, 468-505.
- FOULLEY M.M. & MELLINGER J. 1980 a. Etude chronologique, structurale et biométrique de l'œuf et de son développement chez la petite roussette (*Scyliorhinus canicula*) élevée en eau de mer artificielle. Reprod. Nutr. Dévelop., **20**, 1835-1848.
- FOULLEY M.M. & MELLINGER J. 1980 b. La diffusion de l'eau tritiée, de l'urée-¹⁴C et d'autres substances à travers la coque de l'œuf de roussette, *Scyliorhinus canicula*.. C. r. Acad. Sci., Paris, **290D**, 427-430.
- FOULLEY M.M., WRISEZ F. & MELLINGER J. 1981. Observations sur la perméabilité asymétrique de la coque de l'œuf de roussette (*Scyliorhinus canicula*). Reprod. C. r. Acad. Sci., Paris, **293D**, 389-394.
- FRICKE H. & FRAHM J. 1992. Evidence for lecithotrophic viviparity in the living coelacanth. Naturwissenschaften, **79**, 476-479.
- GROVER C.A. 1974. Juvenile denticles of the swell shark *Cephaloscyllium ventriosum*: function in hatching. Can. J. Zool., **52**, 359-363.
- HARRIS J.E. 1955. The development of the swimming movements in the embryo of the dogfish, *Scyliorhinus canicula*. Ann. Acad. Scient. Fenn., série A, IV (Biol.), **29**, 2-11.
- HARRIS J.E. & WHITING H.P. 1954. Structure and function in the locomotory system of the dogfish embryo. The myogenic stage of movement. J. Exp. Biol., **31**, 501-524.

- HORNSEY D.J. 1978. Permeability coefficients of the egg-case membrane of *Scyliorhinus canicula* L. *Experientia*, **34**, 1596-1597.
- HUGGEL H. 1961. Zur Morphologie der Herzbildung bei den Salmoniden und Scyliorhinideen, mit einer Stadieneinteilung für die Embryonalphase des Herzens. *Rev. suisse Zool.*, **68**, 111-119.
- KOPSCH F. 1950. Bildung und Längenwachstum des Embryons, Gastrulation und Konkreszens bei *Scyllium canicula* und *Scyllium catulus*. *Z. mikr.-anat. Forsch.*, **56**, 1-101.
- KORMANIK G.A. 1993. Ionic and osmotic environment of developing elasmobranch embryos. *Environ. Biol. Fish.*, **38**, 233-240.
- LECHENAULT H. & MELLINGER J. 1993. Dual origin of yolk nuclei in the lesser spotted dogfish, *Scyliorhinus canicula* (Chondrichthyes). *J. Exp. Zool.*, **265**, 669-678.
- LECHENAULT H., WRISEZ F. & MELLINGER J. 1993. Yolk utilization in *Scyliorhinus canicula*, an oviparous dogfish. *Environ. Biol. Fish.*, **38**, 241-252.
- LELOUP J. & OLIVEREAU M. 1951. Données biométriques comparatives sur la Roussette (*Scyllium canicula* L.) de la Manche et de la Méditerranée. *Vie et Milieu*, **2**, 182-209.
- MELLINGER J. 1983. Egg-case diversity among dogfish, *Scyliorhinus canicula* (L.): a study of egg laying rate and nidamental gland secretory activity. *J. Fish Biol.*, **22**, 83-90.
- MELLINGER J. 1994. L'action des hormones thyroïdiennes sur le développement, la croissance et la métamorphose des Poissons. *Bull. Soc. zool. Fr.* (soumis pour publication).
- MELLINGER J. & WRISEZ F. 1983. L'urée osmotiquement active dans l'embryon et le vitellus de la roussette (*Scyliorhinus canicula*) et le problème de l'uréodépendance des protéines des Chondrichthyens. *Ichthyophysiol. Acta*, **7**, 119-141.
- MELLINGER J., WRISEZ F. & ALLUCHON-GÉRARD M.J. 1984 a. Recherches en vue de l'établissement d'une table du développement de la petite roussette, *Scyliorhinus canicula* (L.), poisson Sélacien. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **109**, 3-18.
- MELLINGER J., WRISEZ F. & ALLUCHON-GÉRARD M.J. 1984 b. Caractères biométriques distinctifs de l'embryon et de ses annexes chez la roussette (*Scyliorhinus canicula*) de la Manche, comparée à celle de la Méditerranée, et détermination précise du stade d'éclosion. *Cahiers Biol. Mar.*, **25**, 305-317.

- MELLINGER J., WRISEZ F., ALLUCHON-GÉRARD M.J. & GOUSSOT C. 1985. Consommation du vitellus et occlusions digestives transitoires chez l'embryon de roussette, *Scyliorhinus canicula*. *Ichthyophysiol. Acta*, **9**, 243-262.
- MELLINGER J., WRISEZ F. & ALLUCHON-GÉRARD M.J. 1986. Developmental biology of an oviparous shark, *Scyliorhinus canicula*. *In: Indo-Pacific Fish Biology*, ed. by T. Uyeno, R. Arai, T. Taniuchi & K. Matsuura, p. 310-332. *Ichthyol. Soc. Japan*, Tokyo.
- MELLINGER J., WRISEZ F. & DESSELLE J.C. 1987. Transitory closures of esophagus and rectum during elasmobranch development: models for human congenital anomalies ? *Archs. Biol., Bruxelles*, **98**, 209-230.
- MELLINGER J., WRISEZ F., LERAY C. & HAYE B. 1989. A comparison of egg and newborn lipids in the oviparous dogfishes, *Scyliorhinus canicula* and *S. stellaris* (Chondrichthyes). Preliminary data. *Biol. Struct. Morphogenesis*, **2**, 44.
- MELLINGER J. & WRISEZ F. 1989. Biologie et physiologie comparées du développement de deux Sélaciens ovipares, les roussettes *Scyliorhinus canicula* et *Scyliorhinus stellaris*. Evolution de la matière sèche, de l'eau et des ions (Cl⁻, Na⁺, K⁺) dans le vitellus de *S. canicula* au cours du développement. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **114**, 51-62.
- MELLINGER J. & WRISEZ F. 1993. Etude des écailles primaires de l'embryon de la roussette *Scyliorhinus canicula* (Chondrichthyes, Scyliorhinidae) au microscope électronique à balayage. *Ann. Sci. Nat., Zoologie*, **14**, 13-22.
- OUANG TE YIO 1931. La glande de l'éclosion chez les Plagiostomes. *Ann. Inst. Océanogr.*, **10**, 281-370.
- RANZI S. 1932. Le basi fisio-morfologiche dello sviluppo embrionale dei Selaci. Parte I. *Pubbl. Staz. zool. Napoli*, **12**, 209-290.
- THIÉBOLD J. 1964. Contribution à l'étude de l'organogenèse urogénitale et de son déterminisme chez un Poisson Elasmobranch: la petite roussette *Scyliorhinus canicula* (L.). *Bull. biol. Fr. Belg.*, **98**, 253-347.
- VANDEBROEK G. 1936. Les mouvements morphogénétiques au cours de la gastrulation chez *Scyllium canicula*. *Archs. Biol., Bruxelles*, **47**, 499-582.
- VIVIEN J. 1954. Quelques exemples de l'utilisation du germe et de l'embryon de Sélacien dans les recherches expérimentales concernant la

régulation, les paragenèses et la physiologie embryonnaire. Arch. Anat. Histol. Embryol., **37**, 163-174.

WINTREBERT P. 1920 a. L'embryon de *Scylliorhinus canicula* L. Gill considéré comme animal de laboratoire. Bull. Soc. zool. Fr., **45**, 331-341.

WINTREBERT P. 1920 b. La contraction rythmée aneurale des myotomes chez les embryons de Sélaciens. I. *Scylliorhinus canicula*. Arch. Zool. génér. exp., **60**, 221-460.

WINTREBERT P. 1922. Le stade K de Balfour chez les embryons de Sélaciens (*Scylliorhinus canicula* L. Gill.); sa division nécessaire aux points de vue anatomique et physiologique. C. r. Soc. Biol., Paris, **87**, 351-356.

WRITSEZ F., LECHENAULT H., LERAY C., HAYE B. & MELLINGER J. 1993. Fate of yolk lipid in an oviparous elasmobranch fish, *Scylliorhinus canicula* (L.). In: Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development, ed. by B.T. Walther & H.J. Fyhn, p. 315-322. University of Bergen, Bergen.

WOURMS J.P., GROVE B.D. & LOMBARDI J. 1988. The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. In: Fish Physiology, ed. by W.S. Hoar and D.J. Randall, **11B**, p. 1-134. Academic Press, San Diego.

Ceufs trouvés dans les oviductes

Stade 1 : de la fécondation jusqu'à 100 blastomères

Stade 2 : plus de 100 blastomères, encore saillants

Stade 3 : blastomères très nombreux, non saillants ; coque complètement formée

Ceufs généralement pondus ; stades précédant l'épibolie

Stade 4 : croissant postérieur limité à moins de la moitié du blastodisque

Stade 5 : croissant postérieur étendu à la moitié du blastodisque, ou plus

Stade 6 : croissant postérieur réduit

Stade 7 : croissant postérieur disparu; épibolie non encore amorcée

Début d'épibolie ; formation de l'embryon

Stade 8 : le blastodisque masque le vitellus blanc dans son secteur caudal

Stade 9 : le blastodisque masque complètement le vitellus blanc

Stade 10 : blastodisque épaissi sur son rebord caudal, sans surplomb

Stade 11 : surplomb caudal, qui consiste en un repli épithélial

Stade 12 : écusson embryonnaire, formant une encoche caudale dans le blastodisque

Stade 13 : axe embryonnaire, sans plaque céphalique

Stade 14 : axe embryonnaire muni d'une plaque céphalique un peu plus large

Stade 15 : neurula, à plaque neurale complètement ouverte

Stade 16 : neurula, à tube neural clos dans sa région moyenne

Métamérisation pharyngienne ; achèvement de la production de somites

Stade 17 : première paire de poches branchiales visibles par transparence ; tube neural clos

Stade 18 : poches branchiales n°1 et 2 présentes ; encoche buccale peu profonde (vue de profil)

Stade 19 : poches branchiales n° 1-3 ; encoche buccale profonde

Stade 20 : poches branchiales n° 1-4 ; pharynx encore imperforé

Stade 21 : fentes branchiales n°2 et orifice buccal

Stade 22 : fentes branchiales n°1 et 2

Stade 23 : fentes branchiales n°1-3

Stade 24 : fentes branchiales n°1-4 ; la bouche prend la forme d'un losange

Stade 25 : fentes branchiales n°1-5

Stade 26 : fentes branchiales n°1-6, munies d'ébauches de filaments branchiaux, sauf les n° 1 et 6 ; série complète de somites

Développement des filaments branchiaux externes, avant la prééclosion

Stade 27 : apparition d'ébauches de filaments branchiaux dans les fentes n°1 (futurs événements) ; bouche encore losangique

Stade 28 : bouche de forme ovale, allongée transversalement

Stade 29 : fente buccale de forme arquée (mandibule proéminente)

Stade 30 : apparition des quatre rangées d'écaillés primaires caudales, à l'état d'ébauches proéminentes (visibles sous la loupe binoculaire) ; pas d'ébauche de rostre ; les interruptions du repli cutané sagittal derrière les ébauches des nageoires dorsales et anale sont à angle obtus

Stade 31 : ébauche du rostre, formant un angle droit avec l'axe du corps ; la prééclosion survient habituellement au milieu de ce stade ; les interruptions du repli cutané sagittal forment des angles aigus

De la préclosion jusqu'à l'éclosion

Stade 32 : l'ébauche du rostre s'allonge, au-delà de 90° ; diamètre de la VVE non encore réduit, bien que le transfert du vitellus ait commencé

Stade 33 : réduction nette du diamètre de la VVE

Stade 34 : VVE vidée de son vitellus, réduite à un "bouton" ou disparue ; l'embryon est immobilisé dans la coque, qu'il remplit complètement

Tableau 1 : *Table du développement de la roussette (d'après BALLARD et coll., 1993).*