

LES RÉSERVES LIPIDIQUES DE L'ŒUF DES POISSONS

Par Jean MELLINGER (*)

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION	64
Définition du vitellus	64
Constituants du vitellus.....	65
Autres sources de nutriments utilisées durant le développement	66
<i>Réserves extraovulaires</i>	66
<i>Matière organique parentale</i>	66
<i>Transport actif transtégumentaire de substances organiques (osmotrophie)</i> ...67	
Délimitation du sujet.....	68
I. — LOCALISATION DES RÉSERVES LIPIDIQUES DANS L'ŒUF	68
II. — COMPOSITION DU VITELLUS EN ACIDES GRAS.....	72
III. — MISE EN PLACE DES LIPIDES AU COURS DE LA VITELLOGENÈSE.....	76
Localisation de la vitellogénine et de ses dérivés	76
Avantages des lipides homophasiques.....	78
Origine des réserves lipoprotéiques	79
Théorie de la nature lysosomique des vésicules vitellines	79
Modalités de la « vitellogenèse ».....	80
<i>Espèces étudiées</i>	80
<i>La phase prévitellogénique</i>	81
<i>La phase « vitellogénique »</i>	81
<i>Origine de l'huile</i>	83
DISCUSSION ET CONCLUSIONS	83
REMERCIEMENTS.....	85
RÉFÉRENCES.....	85
RÉSUMÉ - ABSTRACT	90

Mots-clés : poissons, œuf, lipides, vitellus, vitellogenèse, acides gras, compartiments cellulaires.

Key words : fish, egg, lipids, yolk, vitellogenesis, fatty acids, cell compartments.

(*) Université de Reims Champagne-Ardenne, Faculté des Sciences, Laboratoire de Biologie Animale, B.P. 347, F-51062 Reims Cedex, France.

INTRODUCTION

Définition du vitellus

Les ovules des Métazoaires sont des cellules hautement différenciées, qui remplissent plusieurs fonctions distinctes : (1) l'attraction des spermatozoïdes, (2) l'amphimixie, (3) la monospermie ou, lorsqu'il y a polyspermie, l'inactivation et l'élimination des noyaux spermatiques surnuméraires, (4) la segmentation de l'œuf, par une suite ininterrompue de mitoses, (5) la mise en réserve de matière organique destinée à la nutrition de l'embryon et, éventuellement, de la jeune larve. Ces réserves nutritives constituent le *vitellus*, et leur accumulation au cours de la dernière phase de l'ovogenèse, avant la méiose, est appelée la *vitellogenèse*. Sauf chez les Spongiaires et certains Cnidaires, semble-t-il, ces cellules ne sont pas nues mais revêtues d'une paroi protectrice, paraplasmaïque, la « membrane vitelline » (« chorion » des Téléostéens, « membrane pellucide » des Mammifères, etc.).

L'accroissement du volume de l'ovocyte I des Métazoaires répond donc à deux exigences tout à fait différentes du développement : l'augmentation préalable du volume cytoplasmique en vue d'assurer l'enchaînement très rapide des mitoses de segmentation de l'œuf, et la mise en réserve, dans ce cytoplasme, d'une quantité suffisante de substances organiques pour nourrir l'embryon et, souvent, la jeune larve. La segmentation ramènera finalement les blastomères à une taille comparable à celle des cellules somatiques de l'animal.

La monospermie est obtenue par des moyens multiples et variés, mis en œuvre au moment de l'*activation* de l'œuf, parmi lesquels on note l'exocytose du contenu mucopolysaccharidique de grains de sécrétion particuliers, les *granules corticaux*. Cette sécrétion réduit le volume de l'œuf et fait apparaître le *liquide périvitellin* entre l'œuf et la membrane vitelline. L'ovocyte élabore ses granules corticaux, en synthétisant leurs membranes et leur contenu spécifique. Cette biogenèse a souvent lieu en même temps que la vitellogenèse, ce qui peut conduire à des confusions. Ainsi, le grand volume de ces granules chez les Téléostéens, où ils apparaissent à certains stades de l'ovogenèse comme des « alvéoles corticales », les a fait considérer à tort comme une composante du vitellus de ces poissons.

Les molécules constitutives du vitellus de l'œuf sont diverses : protéines, acides aminés libres, lipides, glucides, lactate. Ce dernier joue un rôle essentiel aux premiers stades du développement d'un poisson ovipare bien étudié, le choquemort *Fundulus heteroclitus* (PAYNTER et coll., 1991). Cultivés *in vitro*, les œufs de la souris (*Mus musculus*) et d'autres Mammifères exigent du pyruvate (BRINSTER, 1973). Seules les substances organiques préalablement stockées dans l'ovocyte et effectivement utilisées pour la nutrition du descendant font partie du vitellus, à l'exclusion de celles dont le rôle est purement informatif (ADN, ARN et protéines associées). L'application de cette définition peut soulever quelques difficultés dans la mesure où certains constituants typiques du cytoplasme des ovocytes seraient plurifonctionnels ou n'auraient pas de fonctions nutritives (MAZABRAUD et coll., 1992 ; BAERT et coll., 1992).

Constituants du vitellus

Comme toute autre cellule, les ovocytes des Vertébrés élaborent certainement des constituants cytoplasmiques, mais les *lipoprotéines* du vitellus sont prélevées dans le sang, et leur stockage correspond à ce qu'on appelle la « vitellogenèse exogène ». Hormis le cas des Oiseaux, la lipoprotéine dominante, ou même la seule qui soit incorporée par les ovocytes, est la *vitellogénine*, une lipoglycophosphoprotéine élaborée par les hépatocytes (cf. MELLINGER, 1994). Fixée par un récepteur membranaire spécifique, puis séquestrée dans des vésicules d'endocytose et dans les *vésicules vitellines* qui en dérivent (*plaquettes vitellines*, ou *globules vitellins*, ou *vacuole vitelline* unique résultant de leur fusion chez beaucoup de Téléostéens), la vitellogénine subit des clivages enzymatiques. Les produits de stockage, ou *vitellines*, résultant de sa transformation sont la *lipovitelline* (riche en lipides associés), la *phosvitine* et les *phosvettes* (riches en phosphoryles). En dehors de cette endocytose pilotée par un récepteur spécifique, l'ovocyte incorpore diverses protéines plasmatiques banales. Ainsi, on a trouvé dans le vitellus des Téléostéens des immunoglobulines d'origine maternelle, auxquelles on attribue une fonction de défense immunitaire non spécifique (TAKEMURA, 1993).

Le vitellus comporte des constituants plus ou moins hydrosolubles, tels que les acides aminés libres, dont la distribution entre les divers compartiments cellulaires est inconnue, et le glycogène, dont les micelles constituent des particules caractéristiques, visibles au microscope électronique dans le hyaloplasme. Les autres constituants, lipides et protéines, sont contenus dans des inclusions, visibles au microscope photonique. Leur structure et leur composition, chez les poissons, ont été décrites dans un article précédent (MELLINGER, 1994), qui traite également de l'*hydratation préovulatoire* des ovocytes de Téléostéens. Elle affecte essentiellement leur vitellus. Cette hydratation est responsable de la flottabilité des œufs pélagiques marins, de la formation de la vacuole vitelline, et de la présence d'une grande quantité d'acides aminés libres, dont les multiples fonctions ont été récemment démontrées par Hans Jörgen FYHN et ses collaborateurs à l'Université de Bergen (Norvège) (cf. MELLINGER, 1994). L'apparition d'œufs pélagiques en milieu marin, parfois même en eau douce, représente l'un des phénomènes les plus remarquables de l'évolution des Téléostéens.

Autres sources de nutriments utilisées durant le développement

Réserves extraovulaires

Je n'envisage ici que le cas des réserves organiques ovulaires, ou vitellus. Certains animaux disposent pour leur développement de *réserves organiques extraovulaires*, comme celles contenues dans le blanc d'œuf des Oiseaux.

Matière organique parentale

Cela dit, les sources de matière organique utilisées pour le développement des Métazoaires ne se limitent pas au vitellus. Plusieurs sources différentes peuvent être exploitées successivement au cours du développement d'un même animal. Lorsqu'il s'agit du vitellus, c'est une *lécithotrophie* ; lorsque ces substances sont fournies directement au descendant par la mère ou le père, c'est une *maternotrophie*, ou une *paternotrophie*¹ ; enfin, il arrive fréquemment que de petites molécules organiques présentes à l'état très dilué dans le milieu aquatique, généralement des acides

¹ Néologisme.

aminés, soient absorbées par le tégument du descendant pour sa nutrition (*osmotrophie*).

Au cours d'un développement embryonnaire purement lécithotrophe, une partie des substances organiques vitellines disparaissent, par suite de leur oxydation complète (respiration) ou partielle (excrétion des produits terminaux du catabolisme des substances azotées), en fonction des besoins énergétiques, osmotiques et plastiques de l'embryon. Cela correspond à une baisse du poids sec du *système embryonnaire*, défini comme étant l'embryon plus son vitellus résiduel et ses annexes, diminution qui varie de 20 à 50% chez les Sélaciens (RANZI, 1932 ; CAPAPÉ et coll., 1990).

Un transfert direct de substances organiques de la mère à l'embryon caractérise la viviparité *matrotrophe* (WOURMS, 1981 ; WOURMS et coll., 1988), terme auquel j'ai substitué celui de *maternotrophe*, plus euphonique (MELLINGER, 1989). La notion de maternotrophie s'applique à l'incubation¹ des œufs aussi bien qu'à la viviparité. Lorsque l'incubation est dévolue au mâle et comporte également la fourniture de matière organique aux embryons, on peut adopter le terme de paternotrophie ; cette éventualité pourrait se présenter chez certains hippocampes.

Chez la grande majorité des Reptiles Squamates placentaires, il semble que le placenta n'absorbe que de l'eau et des électrolytes (STEWART et coll., 1990 ; STEWART, 1992), ce qui n'entre pas dans ma définition de la maternotrophie. La notion de maternotrophie ne s'applique donc pas à n'importe quel type de substances d'origine maternelle. L'absorption d'eau et d'électrolytes, qui proviennent de l'environnement ou des réserves extraovulaires, est un phénomène banal dans le développement des espèces purement lécithotrophes, et il n'y a pas lieu de lui attribuer une signification particulière chez les espèces vivipares.

Chez les maternotrophes, le bilan chimique du développement, établi aussi bien en poids sec qu'en matière organique, est en règle générale fortement positif. Sauf dans le cas d'une réduction de la quantité de vitellus, en tant que conséquence évolutive de la maternotrophie (œuf alécithe des Thériens), les espèces maternotrophes présentent généralement une première phase du développement qui est purement lécithotrophe, mais la notion de maternotrophie ne prend en considération que le bilan final du développement, à la fois chimique et bioénergétique. La comparaison de la moyenne des poids secs des œufs fraîchement ovulés à celle des néonates de la même espèce est généralement suffisante pour établir ce bilan, compte tenu du pourcentage très minoritaire des électrolytes dans les poids secs (CAPAPÉ et coll., 1990). Cependant, il arrive aussi que le poids sec et la quantité de matière organique du nouveau-né soient identiques à celle de l'œuf, ou que le déficit soit modéré (moins de 20%). Dans cette

¹ L'incubation est une forme de soins aux œufs, propre aux espèces ovipares, qui consiste à les conserver, durant leur développement, en contact avec les téguments d'un des parents (incubation cutanée) ou dans certaines cavités internes du corps (cavité buccale des Poissons, sacs vocaux ou estomac des Anoures, cavité coelomique des Holothurides, cavité péribranchiale des ascidies composées). Cette acception du mot "incubation", admise par les spécialistes, y compris en anglais, diffère du sens classique qui est celui de la couvaison des œufs, c'est-à-dire du réchauffement des œufs par l'un des parents ou par les deux parents, principalement chez les Oiseaux.

La viviparité est la modalité de la reproduction définie par le développement des œufs dans l'ovaire (Téléostéens) ou les voies génitales femelles, jusqu'à un stade postérieur à l'éclosion, c'est-à-dire à la rupture des enveloppes de l'œuf, qu'il s'agisse d'enveloppes primaires (membrane vitelline, chorion des Téléostéens et des Insectes, zone pellucide des Mammifères Thériens, "membrane de fécondation") ou d'enveloppes secondaires, sécrétées par les voies génitales. Le terme "ovoviviparité" est désuet.

dernière éventualité, le simple examen du bilan chimique du développement ne permet pas de conclure à l'absence de matrotrophie.

Transport actif transtégumentaire de substances organiques (osmotrophie)

On a récemment démontré, chez certaines larves d'invertébrés marins, que le transport actif transtégumentaire de petites molécules organiques, présentes à de très faibles concentrations dans l'eau de mer, constitue pour elles un apport en matière organique non négligeable et même prédominant (JAECKLE et MANAHAN, 1989). Il ne semble pas que ce troisième type de nutrition, qu'on peut qualifier d'osmotrophie, puisse jouer un rôle appréciable dans le développement des poissons (SIEBERS et ROSENTHAL, 1977 ; FLÜCHTER, 1974 ; BÉDARD et LALANCETTE, 1989 ; FAUCONNEAU et coll., 1989). Ainsi, l'absorption de ¹⁴C-alanine par la larve de turbot (*Scophthalmus maximus*) est purement intestinale. Elle est observée chez les larves ayant déjà acquis le comportement caractéristique de boisson d'eau de mer. Cet acide aminé est utilisé tel quel dans la biosynthèse des protéines corporelles de la larve, plutôt que comme un substrat dans les oxydations métaboliques (KORSGAARD, 1991).

Délimitation du sujet traité

La grande majorité des poissons actuels sont ovipares, et les seuls lipides dont ils disposent pour leur développement, avant le début de l'ingestion d'aliments par les larves, sont ceux du vitellus. Aucune espèce vivipare n'est utilisée en pisciculture ou en aquaculture, et l'étude expérimentale de la nutrition embryonnaire de ces poissons est difficile. Dans cet exposé, je me limiterai aux poissons ovipares, sauf dans la description cytologique du vitellus des Chondrichthyens.

Les travaux concernant les lipides vitellins portent essentiellement sur les Téléostéens. Ils se sont multipliés depuis quelques années, compte tenu de l'intérêt particulier des acides gras polyinsaturés pour la physiologie, la pathologie et l'aquaculture (NEURINGER et coll., 1988 ; DEHMER, 1990 ; KAUSHIK, 1990 ; KELLY, 1991 ; INNIS, 1991 ; CONNOR et coll., 1992 ; MEYDANI, 1992 ; OKUYAMA, 1992 ; BAZAN et coll., 1993 ; ANDERSON, 1994). Des mises au point ont été publiées sur les lipoprotéines des poissons (CHAPMAN, 1980 ; BABIN et VERNIER, 1989), et sur les lipides des Téléostéens d'eau douce (HENDERSON et TOCHER, 1987).

Cet article fait suite à une première mise au point (MELLINGER, 1994). La localisation et la nature des lipides vitellins y ont été décrites dans l'optique d'une étude de la flottabilité des œufs des Téléostéens. J'y reviendrai ici plus en détail (I et II). Les modalités cytologiques de la mise en place de ces réserves feront l'objet d'un autre chapitre (III). Un troisième article de mise au point traitera ultérieurement de l'utilisation des lipides vitellins au cours du développement embryonnaire et postembryonnaire des poissons.

I. — LOCALISATION DES RÉSERVES LIPIDIQUES DANS L'ŒUF

L'ovogenèse et la structure de l'œuf des poissons ont été décrites par GURAYA (1986), mais sa monographie concerne essentiellement les Téléostéens. Les inclusions vitellines de ces poissons ont fait l'objet de nombreuses descriptions, soit sur des ovocytes ou des œufs entiers, vivants, soit sur des coupes histologiques à la paraffine, où la conservation des inclusions lipidiques n'est pas assurée. Ces mauvaises conditions d'observation, et la complexité des modifications liées à

l'ovogenèse, en particulier chez les Téléostéens marins à œufs pélagiques, ont abouti, jusqu'à une période récente, à de graves confusions. L'usage récent de résines hydrophiles au méthacrylate de glycol comme milieu d'inclusion pour l'histologie est à recommander (MAYER et coll., 1988).

La teneur des œufs en eau varie beaucoup d'une espèce à l'autre (52-85% d'après KAITARANTA et ACKMAN, 1981 ; 53,7-93% d'après les données réunies par HEMING et BUDDINGTON, 1988), et c'est donc le poids sec qui constitue la seule référence valable pour comparer les proportions de lipides « totaux » (LT, Tableau 1). Malheureusement, les valeurs concernant les pourcentages de LT sont faussées par la présence du chorion, dont le poids sec peut représenter une part très importante du poids sec total de l'œuf (23% chez le turbot, d'après RAINUZZO et coll., 1994).

Le tableau 1 résume nos connaissances sur la teneur en lipides du vitellus des Téléostéens. On a seulement indiqué les principales classes de lipides, les teneurs en acides gras libres, mono- et diglycérides étant négligeables.

TABLEAU 1
Principales classes lipidiques des œufs de Téléostéens

Espèces	Milieu	Type d'œuf	LT	PL	TG	Chol	EC	Cires	Réf.
hareng (<i>Clupea harengus</i>)	EM	démersal	15	69	15	8	1	0	(4)
" "	ES	démersal	-	86	8	5	<--0-->		(1)
rotengle (<i>Rutilus rutilus</i>)	ED	démersal	-	78	13	6	<--0-->		(1)
silure africain (<i>Clarias gariepinus</i>)	ED	démersal	21	75	12	10	3	0	(12)
capelan (<i>Mallotus villosus</i>)	EM	endogée	26	51	30	3	7	0	(4)
truite arc-en-ciel (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	ED	endogée	-	50	47	3	<--0-->		(1)
corégone (<i>Coregonus albula</i>)	ED	démersal	-	32	65	1	<--2-->		(1)
"orange roughy" (<i>Hoplostethus atlanticus</i>)	EM	flottant	-	27	50	13	5	3	(5)
morue (<i>Gadus morhua</i>)	EM	flottant	13	72	12	6	4	0	(4)
aiglefin (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>)	EM	flottant	11	71	8	9	4	0	(4)
colin, lieu noir (<i>Pollachius virens</i>)	EM	flottant	15	66	14	11	2	0	(4)
lote (<i>Lota lota</i>)	ED	démersal	-	13	4	1	<--82-->		(1)
merlu austral (<i>Merluccius hubbsi</i>)	EM	flottant	20	14	42	<---6---		28	(9)
merlan (<i>Merlangus merlangus</i>)	EM	flottant	11	61	7	12	4	0	(4)
bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	EM	flottant	31	23	33	5		39	(6)
bar rayé (<i>Morone saxatilis</i>) - huile	ED	flottant	-	0	10	0	<--90-->		(2)
" " - reste du vitellus	ED	flottant	-	79	6	3	<---5---		(2)
grogneur rouge (<i>Sciaenops ocellatus</i>)	EM	flottant	34	33	32	<---6---		29	(3)
"Murray cod" (<i>Maccullochella peelii</i>)	ED	démersal	-	13	42	10	4	31	(8)
"golden perch" (<i>Macquaria ambigua</i>)	ED	flottant	-	5	21	4	7	63	(8)
"Macquarie perch" (<i>M. australasica</i>)	ED	démersal	-	9	46	8	3	34	(8)
"Australian bass" (<i>M. novemaculeata</i>)	EM	démersal	-	20	34	7	8	31	(8)
"silver perch" (<i>Bidyanus bidyanus</i>)	ED	semi-flottant	-	11	47	6	5	31	(8)
perche (<i>Perca fluviatilis</i>)	ED	démersal	-	14	1	1	<--84-->		(1)
grand lançon (<i>Ammodytes lancea</i>)	EM	démersal	20	23	46	5	23	0	(4)
turbot (<i>Scophthalmus maximus</i>)	EM	flottant	21	47	28	6	18	0	(11)
flétan (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>)	EM	flottant	12	71	13	10	4	0	(7)
sole du Sénégal (<i>Solea senegalensis</i>)	EM	flottant	12	33	31	9	23	0	(10)

Expression des résultats : LT (lipides totaux) en % du poids sec, les autres données (PL : phospholipides ; TG : triglycérides ; Chol : cholestérol ; EC : esters de cholestérol ; Cires : cérides) en % par rapport aux LT. Valeurs arrondies. On a omis les acides gras libres, diglycérides, etc., en général négligeables. Le biotope était soit l'eau de mer (EM), soit l'eau douce (ED), et dans un seul cas l'eau saumâtre (ES).

Références (Réf.) : (1) KAITARANTA et ACKMAN, 1981 ; (2) ELDRIDGE et coll., 1983 ; (3) VETTER et coll., 1983 ; (4) TOCHER et SARGENT, 1984 ; (5) BODY, 1985 ; (6) DEVAUCHELLE et COVES, 1988 ; (7) FALK-PETERSEN et coll., 1989 ; (8) ANDERSON et coll., 1990 ; (9) MÉNDEZ et coll., 1992 ; (10) VÁZQUEZ et coll., 1994 ; (11) RAINUZZO et coll., 1994 ; (12) VÉRRETH et coll., 1994.

Les *gouttelettes d'huile* contiennent des lipides dits « neutres » (triglycérides, diglycérides, cholestérol et ses esters, cérides), par opposition aux lipides polaires (phospholipides). Chez les Téléostéens, ces inclusions sont inconstantes. Leur abondance et leur composition varient beaucoup d'une espèce à l'autre, mais elles sont en principe entièrement constituées de *lipides homophasiques*.

Les phospholipides sont stockés dans les vésicules vitellines, avec une petite proportion des triglycérides, et peut-être d'autres lipides neutres. Tous ces lipides sont étroitement associés à des protéines, plus précisément à la lipovitelline : ce sont des *lipides hétérophasiques*.

Chez le bar rayé (*Morone saxatilis*), une espèce anadrome, parfois confinée en eau douce, et dont les œufs flottent en eau douce, l'énorme goutte d'huile représente près de la moitié du poids frais de l'œuf, l'eau seulement 53,7%, et les lipides totalisent 52% du poids sec (ELDRIDGE et coll., 1981). Cette espèce représente un cas extrême, parmi les données rassemblées par HEMING et BUDDINGTON (1988). Le grogneur rouge (*Sciaenops ocellatus*) ne peut pas frayer en eau saumâtre bien qu'il fréquente les estuaires, car ses œufs sombrent dans une eau de salinité inférieure à 25‰ ; leur teneur en eau n'a pas été déterminée, mais semble proche de 93%, ce qui correspondrait à 33,7% de lipides par rapport au poids sec (2,36% dans l'œuf frais) (VETTER et coll., 1983). Les autres données recueillies par HEMING et BUDDINGTON (1988), dans leur revue, mentionnent que les œufs pélagiques contiennent 13-20% de lipides (toujours par rapport au poids sec), tandis que les œufs benthiques en contiennent 5-36%. Il semble donc que la gamme des différences spécifiques soit bien plus large que celle indiquée dans le travail de LØNNING et coll. (1988), effectué sur les principales espèces des côtes norvégiennes, et que la distinction entre les œufs pélagiques et les autres soit en général beaucoup moins tranchée que celle suggérée par ces derniers auteurs. Nous allons voir qu'il en est de même pour la composition des lipides vitellins.

Selon les espèces, la classe prédominante de lipides est celle des phospholipides (PL), des triglycérides (ou triacylglycérols, TG), ou des cérides (« Cires »), bien que ces derniers n'aient généralement pas été séparés des esters de cholestérol (EC) (Tableau 1). Les analyses réalisées par ANDERSON et coll. (1990) sur une série d'espèces australiennes révèlent la présence uniforme de cérides à raison d'un tiers, et même au taux de 63% chez la « perche dorée » (*Macquaria ambigua*, syn. *Plectroplites ambiguus* ; Percichthyidae), qui est une espèce dont les œufs flottent à la surface de l'eau douce, son biotope.

Bien que les données dont nous disposons actuellement ne portent que sur un petit nombre d'espèces de Téléostéens, il est clair que la composition lipidique du vitellus est très variable d'une espèce à l'autre, sans qu'on puisse établir, dans la majorité des cas, de correspondance entre ces variations et celles de la structure microscopique des œufs, de leur flottabilité, ou du biotope dans lequel s'effectue le frai. On peut se demander si les énormes variations constatées dans les pourcentages des deux grandes catégories chimiques de lipides (neutres, polaires) sont dues uniquement à une variation des volumes respectifs des deux compartiments représentés par les gouttelettes d'huile (lipides homophasiques) et les vésicules vitellines (lipides hétérophasiques). La rareté des expériences de fractionnement cellulaire ne permet pas de répondre.

La simple inspection de ce tableau infirme l'idée, encore couramment exprimée, d'une utilisation spécifique des phospholipides vitellins pour la biogenèse des membranes cellulaires. TOCHER et coll. (1985) avaient suggéré que les œufs

pélagiques marins dont le développement est relativement rapide (moins de vingt jours), et qui sont particulièrement riches en phospholipides, pourraient utiliser ceux-ci directement pour former des membranes ; mais leurs propres résultats sur le hareng, et la prédominance des triglycérides dans l'œuf de turbot, contredisent cette hypothèse (RAINUZZO et coll., 1994).

Chez la petite roussette (*Scyliorhinus canicula*) et la grande roussette (*S. stellaris*), Chondrichthyens ovipares, on trouve en moyenne 20% de lipides (FUJII, 1960 ; MELLINGER et coll., 1989 ; DIEZ et DAVENPORT, 1990). Les plaquettes vitellines des Chondrichthyens ont été observées sur des coupes histologiques par de nombreux auteurs. GRODZINSKI (1958) les a isolées in vitro chez l'émissole *Mustelus canis*, révélant la présence de lipides dans la maille cristalline, en obtenant leur démixtion. Mais il n'a pas signalé de gouttelettes d'huile indépendantes des plaquettes. La présence de nombreuses gouttelettes d'huile, dispersées entre les plaquettes, a été figurée pour la première fois par GURAYA (1978, 1986), chez *Scoliodon sorrakowah*. Ces gouttelettes sont également abondantes dans l'œuf de la petite roussette, où ce compartiment représente 20 à 35% de la masse lipidique. Elles y sont toujours de petite taille, et sont dispersées entre les plaquettes. Par rapport à son poids sec, le vitellus de la petite roussette contient 20,5% de lipides, dont 41,6% sont des phospholipides (DELHAYE et coll., 1992).

II. — COMPOSITION DU VITELLUS EN ACIDES GRAS

La valeur nutritive des lipides est essentiellement déterminée par leur teneur en acides gras variés, dont certains sont « essentiels » du fait que l'animal est incapable d'assurer leur biosynthèse. Certains acides gras sont obtenus par biosynthèse à partir des produits carbonés les plus simples du métabolisme énergétique : anhydride carbonique (CO₂, sous forme de bicarbonate) et acétyle (sous la forme d'acétyl-coenzyme A, Ac-CoA). Cette biosynthèse, qui a lieu dans le cytosol, implique l'enchaînement d'unités en C₂, et les principaux acides gras ainsi obtenus sont l'acide myristique (C₁₄) et l'acide palmitique (C₁₆).

Pour obtenir toute la gamme des acides gras nécessaires à la vie des cellules et à la formation des différents tissus, d'autres systèmes d'enzymes procèdent ensuite à l'élongation de ces chaînes hydrocarbonées jusqu'à C₁₈, C₂₀, C₂₂ et même au-delà, et à la mise en place de doubles liaisons, une opération appelée désaturation. Les deux types de réactions seraient préférentiellement localisées, d'une part dans les mitochondries en ce qui concerne l'élongation, d'autre part dans les membranes du réticulum endoplasmique en ce qui concerne la désaturation (fraction cellulaire des « microsomes »). Les acides gras obtenus se trouvent incorporés aux phospholipides membranaires, et redistribués sous cette forme dans tous les systèmes membranaires de la cellule.

Dans un deuxième temps, des réactions incessantes d'acylation-désacylation de ces phospholipides se déroulent dans l'ensemble des membranes cellulaires, permettant d'incorporer ces acides gras aux lipides neutres, cytosoliques. Enfin, les « têtes » polaires des phospholipides sont elles-mêmes échangeables d'une classe à l'autre, ce qui permet l'interconversion de certains glycérophospholipides : phosphatidylcholines (PC), phosphatidyléthanolamines (PE) et phosphatidylsérines (PS). La biosynthèse des sphingolipides emprunte d'autres voies (THOMPSON, 1992).

Dans le système d'élongation mitochondrial, les acyles sont portés par le CoA, alors qu'ils l'étaient par une protéine spéciale, l'ACP (en anglais, "acyl carrier protein"), dans l'élongation cytosolique. Les élongations se font par l'extrémité portant le groupement -COOH distal, qui contient l'atome de carbone n°1. Les désaturations ont lieu en des points précis de la chaîne, et aboutissent presque toujours à une isomérisation *cis*, qui dévie la chaîne de 30° à chacune des doubles liaisons. La désaturation est une réaction d'oxydation, qui utilise l'oxygène et une chaîne de transporteurs d'électrons. La première double liaison est mise en place entre le 9ème et le 10ème atome de carbone : l'enzyme responsable est une 9 désaturase, et le principal produit de cette réaction, obtenu à partir du stéarate-CoA, est l'acide oléique (C_{18:1}), couramment désigné par l'abréviation 18:1(n-9), ou plus simplement 18:1n-9, dont l'ion correspondant a pour nom chimique *cis*- 9-octadécaénoate. Accessoirement, de l'acide palmitoléique (16:1n-7, ou *cis*- 9-hexadécaénoate) se trouve également synthétisé, à partir de l'acide palmitique. La notation n-x désigne le nombre x de carbones situés entre le CH₃- terminal (n ième carbone) et la première double liaison rencontrée du même côté de la chaîne carbonée.

Les doubles liaisons suivantes sont ensuite créées par d'autres désaturases, en respectant un intervalle de trois carbones entre les doubles liaisons voisines. Les désaturases des plantes peuvent opérer entre la première double liaison et le méthyle terminal, aussi bien que sur le début de la chaîne carbonée. Au contraire, les animaux ne peuvent désaturer que le début de la chaîne, du côté du carboxyle. Leurs acides gras forment donc des *séries* distinctes (n-9, n-6, n-3, etc.), entre lesquelles aucune conversion n'est possible.

Des réactions de rétroconversion, ainsi que l'habituelle voie de dégradation (β -oxydation itérative, intramitochondriale), peuvent raccourcir la chaîne des acides gras.

C'est grâce à la consommation de plantes chlorophylliennes, et d'autres animaux, que les animaux se procurent les acides gras polyinsaturés servant de précurseurs des séries n-6 et n-3. Dans la plupart des cas, y compris celui des Mammifères, il s'agit de l'acide linoléique 18:2n-6 (*cis-cis*- 9, 12-octadécadiénoate) et de l'acide - linoléique 18:3n-3. (*tout cis*- 9, 12, 15-octadécatriénoate). Leur rôle dans l'alimentation humaine est fondamental. L'absence du premier de ces *acides gras essentiels* (18:2n-6) produit une carence grave chez l'adulte. Au contraire, l'importance du second (18:3n-3) est longtemps passée inaperçue, du fait qu'il n'est nécessaire qu'en faible quantité, essentiellement au cours du développement et de la croissance, de telle sorte que son transfert placentaire couvre en grande partie les besoins (GURR, 1988 ; NEURINGER et coll., 1988 ; DEHMER, 1990 ; KELLY, 1991 ; INNIS, 1991 ; CONNOR et coll., 1992 ; MEYDANI, 1992 ; OKUYAMA, 1992 ; BAZAN et coll., 1993 ; ANDERSON, 1994).

Chez des carnivores spécialisés, comme le chat et le lion, les désaturases 6 et 5 sont presque inactives, de telle sorte que l'acide arachidonique 20:4n-6 est pour ces Mammifères un acide gras essentiel. Comme nous le verrons dans une mise au point ultérieure, l'exigence en acides gras essentiels des poissons marins porte sur des acides gras polyinsaturés de la série n-3 comme l'acide eicosapentaénoïque 20:5n-3 et l'acide docosohexaénoïque 22:6n-3.

Le tableau 2 montre quelles sont les voies de l'élongation-désaturation dans les diverses séries d'acides gras chez l'animal, et quels sont les acides gras les plus fréquents.

TABLEAU 2
Acides gras obtenus par élongation et désaturation

Séries d'acides gras

		n-5	n-7	n-9	n-6	n-3
Désaturases	9	14:0	16:0	18:0		
	6	14:1	16:1 à 20:1	18:1 à 24:1	18:2 à 22:2	18:3 à 22:3
	5			18:2 20:2	18:3 à 22:3	18:4 20:4
	4			20:3 22:3	20:4 22:4	20:5 22:5
				22:4	22:5	22:6

Les analyses publiées pour les œufs d'espèces marines donnent l'impression d'une grande uniformité en ce qui concerne les profils d'acides gras. Il faut cependant tenir compte d'une variation assez considérable des résultats suivant la méthode d'extraction utilisée (DIVAKARAN et OSTROWSKI, 1989), et d'autres facteurs d'ordre technique. Il existe aussi des variations naturelles, par exemple au cours de la période de reproduction. Chez la morue (*Gadus morhua*), la détermination du profil des acides gras œuf par œuf au cours de la période de frai de deux femelles en élevage (ULVUND et GRAHL-NIELSEN, 1988) a montré que l'abondance de certains d'entre eux varie suivant la taille de la femelle mais surtout qu'elle décline durant le frai, en particulier pour les acides gras dominants insaturés 18:1n-9 (-26%), 20:5n-3 (-23%) et 22:6n-3 (-29%). Le pourcentage d'acide palmitique (16:0), également dominant, diminue beaucoup moins fortement (-4%), de même que celui de l'acide gras polyinsaturé 22:5n-3 (-1%), qui est minoritaire (environ 1,5%).

Le profil des acides gras dans les lipides totaux des œufs de Téléostéens varie selon les espèces, mais demeure relativement constant au sein d'une même espèce, alors que leur profil dans les tissus des adultes dépend en partie de l'alimentation. En général, il semble que la richesse du vitellus en acides gras polyinsaturés (AGPI) soit supérieure à celle des divers organes (KAITARANTA et ACKMAN, 1981). Chez les espèces d'eau douce, on a trouvé dans l'œuf 42 à 53% d'AGPI, parmi lesquels 30 à 42% d'AGPI de la série n-3, et 3 à 13% de la série n-6. Lorsque les phospholipides prédominent (rotengle : 78%), les AGPI sont relativement peu abondants (42%), et inversement (corégone : PL 32%, AGPI 53%) ; la situation opposée caractériserait les tissus, et également les œufs des espèces marines (HENDERSON et TOCHER, 1987).

TOCHER et SARGENT (1984) ont mis en évidence l'abondance particulière des AGPI de la série n-3 dans les œufs de Téléostéens marins : le rapport pondéral n-3/n-6 est de l'ordre de 200. Ils abondent à la fois dans les lipides neutres et les phospholipides. Les phospholipides sont formés surtout de PC, et en second lieu de PE, mais les acides gras sont semblables dans ces deux classes de phospholipides. Par contre, les PI présentent un profil en acides gras différent, marqué par la richesse en 18:0 et 20:4n-6 (acide arachidonique), le rapport n-3/n-6 étant voisin de 1,8. On connaît bien l'importance de cette classe de phospholipides dans la biosynthèse de nombreuses substances physiologiquement actives, servant de messagers intercellulaires et intracellulaires. Chez le flétan (*Hippoglossus hippoglossus*), les phospholipides sont particulièrement riches en AGPI, et ceux de la série n-3 en représentent 90%.

Chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*, autrefois *Salmo gairdneri*), la mise en œuvre expérimentale de régimes pauvres en AGPI a permis de modifier la composition des œufs et provoque de graves anomalies du développement (WATANABE et coll., 1984 ; LERAY et coll., 1985). L'étude de MOODIE et coll. (1989) sur le doré (*Stizostedion vitreum*), un Percidé nord-américain, a mis en évidence le même phénomène dans une population naturelle.

Cerdá (J.), Carrillo (M.), Zanuy (S.), Ramos (J.), De La Higuera (M.), 1994. - Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reproductive performance and egg and larval quality. *Aquaculture*, **128, 345-361. - Essai de 2 aliments différant par les % de protéine (P) et glucides (G), mais lipides 13 et 14%: P 51/G 10 contre P34/G 32. Bars reproducteurs de 2 ans. Surtout chez les femelles, l'excès de G entraîne une mauvaise croissance, sans altérations

histologiques des ovaires ni modification de la composition globale. Les femelles de ce groupe ont une ponte plus étalée, sans pic, et une moindre fécondité. De composition non modifiée, ces œufs sont pourtant de faible qualité (éclosabilité, difformités larvaires > 50%) et souvent non flottants (alors que le diamètre du globule est inchangé !). Mais la qualité des œufs est également inférieure chez les témoins, par rapport aux reproducteurs sauvages.

Silversand (C.), Haux (C.), 1995. - Fatty acid composition of vitellogenin from four teleost species. *J. Comp. Physiol. B*, **164, 593-599. - Première analyse systématique des AG liés (comment ?) à Vg, isolée du plasma sanguin de femelles traitées par l'œstradiol. Vg contient toujours 16-18% de lipides, avec env. 50% de DHA et EPA. Les autres AG sont assez semblables d'une espèce à l'autre, mais chacune à sa formule propre, précise, alors que le profil des AG du foie sont variables d'une femelle à l'autre et entre les espèces. La "lipidation" de la Vg implique donc une sélection des AG.

L'huile des œufs de trois espèces a été séparée du reste du vitellus sous la forme d'une fraction cellulaire pure, ce qui a permis d'en déterminer le profil en acides gras. Chez le bar rayé (*Morone saxatilis*), on trouve à peu près les mêmes acides gras dans ces deux fractions cellulaires, sauf en ce qui concerne les 16:0, 18:0, 20:4n-6 et 22:6n-3, plus rares dans l'huile, et 16:1n-7, 18:1n-9, nettement plus abondants dans la fraction huileuse (ELDRIDGE et coll., 1983). L'huile des œufs du doré (*Stizostedion vitreum*) est composée à 55% de TG, et le reste pour moitié de cérides et d'esters de cholestérol ; les acides gras dominants sont 22:6n-3 (22%), 18:1n-9 (17%), 16:1n-9 (11%) et 16:0 (7%), alors que ceux du vitellus entier sont les 16:0 (18-21%), 22:6n-3 (15-30%), 18:1n-9 (9-11%) et 18:0 (5-6%) (MOODIE et coll., 1989). Enfin, chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), étudiée par LÉGER et coll. (1981), l'huile, essentiellement formée de TG, contient 20% d'acides gras saturés, 13% de n-7, 21% de n-9, 14% de n-6 (9,5% de 18:2) et 31% de n-3 (21% de 22:6 et 6% de 20:5) ; cette composition diffère très peu de celle du reste du vitellus.

Lorsque les œufs sont riches en cérides, il suffit de déterminer le profil en acides gras de ces derniers pour connaître approximativement celui de l'huile. Les œufs du gourami *Trichogaster cosby* et du muge *Mugil cephalus* contiennent plus de 70% de cérides, avec pour acides gras dominants 18:1n-9 (51%), 18:2n-6 (13,5%) et 16:1n-9 (11%), tandis que les alcools gras dominants sont 16:0 (45%) et 18:1 (30%) (SAND et SCHLENCK, 1969). Dans les cérides de la « perche dorée » (*Macquaria ambigua*), on trouve, dans l'ordre décroissant, les alcools 16:0 (56%), 18:1 (21%) et 14:0 (4,5%), avec les acides gras 18:1 (61%), 18:2 (11%) et 16:1 (10%) (ANDERSON et coll., 1990). L'absence des très longues chaînes polyinsaturées dans ce profil plaiderait en faveur d'une utilisation purement énergétique des acides gras de cette huile.

En conclusion, pour les œufs de Téléostéens, il existe une grande diversité spécifique dans le profil des acides gras. Les différences de composition entre les deux stocks lipidiques, l'un homophasique (huile), l'autre hétérophasique (contenu des vésicules vitellines), ne sont pas systématiques. Chaque espèce semble avoir adopté une formule particulière, mais l'instabilité constatée dans la composition du vitellus de l'œuf de morue au cours du frai montre qu'il faut se garder de conclure sur ce point tant que d'autres études n'auront pas été faites, sur un nombre d'espèces suffisant. Enfin, on peut relever, aussi bien dans l'huile que dans les vésicules vitellines, la présence d'acides gras considérés comme essentiels, et dont l'origine ne peut donc être qu'alimentaire.

Chez les Sélaciens, il est frappant de constater que les acides gras prédominants dans les lipides vitellins sont les mêmes chez la petite roussette (MELLINGER et coll., 1989 ; DIEZ et DAVENPORT, 1990 ; DELHAYE et coll., 1992) et chez un centrophore (*Centrophorus* sp. ; PEYRONEL et coll., 1984), deux espèces pourtant bien éloignées du point de vue phylogénétique. Même leurs pourcentages molaires sont assez proches, soit respectivement 24% et 22% pour l'acide palmitique (16:0), 17% et 21% pour l'acide oléique (18:1n-9), 23% et 18% pour l'acide docosohexaénoïque (22:6n-3). Les acides gras mineurs sont les mêmes dans les deux cas. Le profil des acides gras est le même chez le nouveau-né entier de roussette. Chez le centrophore, où seul le foie a été analysé, la plupart des 50 acides gras identifiés par PEYRONEL et coll. (1984) y conservent des pourcentages molaires identiques à ceux qu'ils présentaient dans l'œuf, sauf en ce qui concerne 22:6n-3 dont le % baisse déjà au cours du développement embryonnaire et devient particulièrement faible chez les individus de 55-60 cm de longueur (2-3%), puis semble remonter ensuite, jusqu'à 8%. Au contraire, le pourcentage de l'acide oléique tend à augmenter dans le foie, au cours de la croissance du centrophore.

III. — MISE EN PLACE DES LIPIDES AU COURS DE LA VITELLOGÉNÈSE

Localisation de la vitellogénine et de ses dérivés

Sur les trois sortes d'inclusions vitellines des poissons (glycogène, gouttelettes d'huile, et réserves lipoprotéiques contenues dans les vésicules vitellines), seule la troisième semble exister dans les œufs de toutes les espèces. L'origine exclusivement hépatique de la vitellogénine et son accumulation spécifique par les ovocytes I étant bien établies, on se trouve donc en présence de deux stocks de lipides vitellins : les lipides homophasiques des gouttelettes, et les lipides hétérophasiques des vésicules vitellines. Les premiers seraient endogènes, les seconds exogènes, mais la question d'un échange éventuel de constituants entre ces deux compartiments se pose, dans la mesure où des acides gras considérés comme essentiels ont été identifiés, en quantités non négligeables, dans l'huile des œufs de plusieurs espèces (§ II). D'autre part, si l'origine et la destination de la partie polypeptidique de la vitellogénine ne font guère de doute, celles des lipides qui lui sont liés n'ont pas encore fait l'objet d'études expérimentales précises.

Chez le bar (*Dicentrarchus labrax*), l'obtention d'anticorps spécifiques contre la vitellogénine purifiée à partir du sang a permis de la doser dans le plasma sanguin, et de détecter les sites antigéniques correspondants sur des coupes de foie et d'ovaires (MAÑANÓS et coll., 1994 a et b). Dans l'ovocyte, ces sites sont localisés uniquement dans les vésicules vitellines. Sachant que le clivage protéasique de la vitellogénine dans ces vésicules donne naissance à des protéines distinctes, la lipovitelline et la phosvitine, on en conclut à la conservation des sites antigéniques sur ces vitellines.

Chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), TYLER (1993) a montré que l'incorporation de la vitellogénine dans les ovocytes commence très tôt, mais qu'elle devient subitement très active lorsque le diamètre ovocytaire atteint 1 mm : la vitellogénine serait alors la seule protéine accumulée dans le vitellus. Elle forme la moitié des protéines de l'ovocyte ; par la suite, ce rapport pondéral dépasse 60%. Les observations de SIRE et coll. (1994), en microscopie électronique, fixent le début de l'endocytose au stade 1 mm, à partir duquel ils détectent la vitellogénine ou ses dérivés, par un même anticorps, à la fois dans les endosomes (vésicules

d'endocytose, en général reconnaissables à leur revêtement externe fibreux), et dans les nombreux corps multivésiculaires (CMV), qui sont présents depuis le stade 150 µm dans l'ovocyte de cette espèce. Les corps multivésiculaires et d'autres organites lysosomiques contribueraient à la formation des vésicules vitellines, selon une théorie déjà ancienne mais qui reste à confirmer (SELMAN et coll., 1993, p. 209). Une telle abondance de CMV ne se retrouve pas chez les autres espèces étudiées jusqu'ici, et les relations entre les endosomes, les CMV et les vésicules vitellines demeurent obscures.

La vitellogénine et ses dérivés constituent une famille de protéines phylogénétiquement définie. Elles seraient universellement présentes ou du moins très largement répandues chez les Métazoaires (BYRNE et coll., 1989 ; SLATER et coll., 1991). Toutefois, on connaît un cas de substitution par d'autres protéines (Diptères supérieurs : TREWITT et coll., 1992). Les Mammifères Thériens actuels sont-ils incapables de produire de la vitellogénine ? Il est probable que les formes les plus primitives de Thériens produisent encore un peu de vitellogénine, mais personne ne semble l'avoir recherchée.

Jusqu'à présent, la position des lipides dans la maille cristalline de la lipovitelline n'a été déterminée que chez la lamproie argentée (*Ichthyomyzon unicuspis*) (réfs. in MELLINGER, 1994). La séquence de la vitellogénine de cette lamproie a été déterminée. Les vitellines qui en proviennent sont identifiées. Il s'agit de deux lipovitellines différentes, les autres protéines dérivées étant absentes. Les lipides associés à ces lipovitellines sont principalement des phospholipides, représentés par quelque 35 molécules par maille. Ils prennent place dans une grande cavité de la micelle protéique et forment une bicouche lipidique, dont l'orientation est déterminée avec précision, grâce à la formation de liaisons hydrophobes avec la lipovitelline. Les têtes polaires des phospholipides sont au contact de l'eau incluse dans la cavité et de l'eau extérieure. Mais, comme d'autres lipovitellines, celles de la lamproie contiennent également un certain pourcentage de triglycérides.

Récemment, l'organisation des cristaux lipoprotéiques des plaquettes vitellines a été analysée pour la première fois chez un Gnathostome, le chien de mer aiguillat *Squalus acanthias*, un poisson Chondrichthyen (ROMEK et KILARSKI, 1993).

Avantages des lipidiques homophasiques

En principe, les réserves lipidiques présentent trois avantages particuliers lorsqu'on les compare aux autres réserves de l'œuf : (1) leur teneur en énergie métabolisable très supérieure à celle des autres molécules, (2) leur faible encombrement dans la cellule qui les stocke, et (3) leur faible densité par rapport à l'eau, qui peut présenter un intérêt pour la flottabilité de la femelle d'un poisson et, dans le cas d'œufs pélagiques, pour la flottabilité des œufs.

Cette dernière fonction est obligatoire pour les œufs flottants en eau douce, que seuls un petit nombre d'espèces de Téléostéens produisent, alors qu'elle est absente, ou limitée à un rôle auxiliaire, dans le cas des nombreux Téléostéens marins dont les œufs et les larves sont pélagiques. En effet, la flottabilité en milieu marin résulte essentiellement d'une très forte hydratation du vitellus (cf. MELLINGER, 1994).

Par définition, le stockage intracellulaire des lipides homophasiques se fait à l'état déshydraté, alors que celui du glycogène exige beaucoup d'eau. Cette caractéristique des lipides homophasiques, combinée à leur haute densité énergétique, fait qu'un gramme de ces lipides contient au moins six fois plus d'énergie métabolisable qu'un gramme de glycogène.

Les phospholipides constituent sans doute une forme de stockage d'énergie moins dense, du moins lorsqu'ils sont confinés dans les membranes cellulaires. Mais, dans les œufs, leur association aux vitellines pourrait se révéler plus intéressante du point de vue de la densité énergétique. Cette hypothèse n'a pas encore été testée.

Origine des réserves lipoprotéiques

Chez la truite en vitellogenèse, la concentration du phosphore dans le sérum sanguin reflète exactement les variations de la concentration des protéines sériques, alors qu'on observe un certain décalage dans la teneur en phosphore des vésicules vitellines, par rapport à leur contenu protéique ; l'analyse des lipides de ces vésicules, qui ont été isolées des ovocytes sous la forme d'une fraction appelée « complexe protéolipidique » par RIAZI et FRÉMONT (1988), confirme l'existence d'un retard dans l'accumulation des phospholipides par rapport aux triglycérides, et révèle celle d'ultimes variations dans la proportion de cholestérol en fin d'ovogenèse. Les aspects cytologiques et moléculaires de ces changements progressifs dans la composition des vésicules vitellines de truite sont encore inconnus, mais suggèrent la possibilité, soit d'une accumulation de constituants différents de la vitellogénine et de ses dérivés, comme chez les Oiseaux (RIAZI et FRÉMONT, 1988), soit d'une variation dans la composition des lipides associés à la vitellogénine (FRÉMONT et RIAZI, 1988).

Cette question n'a semble-t-il été abordée chez aucune autre espèce de poissons. Au contraire, un consensus plutôt réducteur tend à assimiler la vitellogenèse des Vertébrés inférieurs, en particulier celle des Téléostéens, à l'accumulation et au clivage protéasique de la vitellogénine. Or, les meilleures évaluations reconnaissent que le pourcentage pondéral de ces protéines par rapport aux protéines de l'ovocyte mûr de la truite ne dépasse guère 60% (TYLER, 1993). Il est donc possible que des produits lipoprotéiques différents de la vitellogénine et de ses dérivés soient accumulés dans l'œuf des poissons.

Théorie de la nature lysosomique des vésicules vitellines

L'huile est déposée directement dans le hyaloplasme, et non pas dans des vésicules membranaires. Au contraire, les autres inclusions vitellines (plaquettes vitellines, globules vitellins, vacuole vitelline) sont pourvues d'une membrane périphérique. Ce sont donc des organites cellulaires, d'un type particulier, pour lequel j'ai proposé au début de cet article la dénomination collective de vésicules vitellines. On les a considérées comme une catégorie particulière de lysosomes, mais la question n'est pas encore résolue (voir par exemple MALLYA et coll., 1992, YOKOTA et coll., 1993, pour ce qui concerne les oursins).

A l'appui de cette théorie, dans le cas des Téléostéens, on peut citer les observations de MURAKAMI et coll. (1992), qui ont isolé la vacuole vitelline de l'œuf du medaka (*Oryzias latipes*) sous la forme d'une fraction cellulaire, qu'ils ont analysée. Elle contient 80% de l'activité phosphatase acide de l'œuf. Cette enzyme serait responsable de la mobilisation du phosphate contenu dans la phosphovite.

Chez la truite (*Oncorhynchus mykiss*), une catégorie particulière, et assez énigmatique, d'organites lysosomiques, les corps multivésiculaires (CMV), se forment en grand nombre dans l'ovocyte encore dépourvu de vitellus (dès le stade 150 µm) et se multiplient ensuite dans le cytoplasme périphérique. Ils contiennent les enzymes typiques des lysosomes : la phosphatase acide et la cathepsine D, dont les activités augmentent parallèlement dans l'ovocyte jusqu'au stade 2 mm, puis

diminuent. A partir du début de l'endocytose de la vitellogénine, celle-ci se trouve colocalisée avec les enzymes précitées, non seulement dans les CMV, mais dans tous les autres organites où on la trouve, ainsi que ses dérivés : vésicules vitellines (globules vitellins), vacuole vitelline. Les auteurs de ces observations (SIRE et coll., 1994) proposent que la cathepsine D participe à l'activation du proenzyme de la cathepsine L, responsable de la résorption du vitellus au cours du développement. En effet, comme l'a montré TYLER (1993), les dérivés de la vitellogénine stockés dans le vitellus de la truite ne subissent aucune attaque enzymatique, alors que chez de nombreuses autres espèces on peut détecter une protéolyse partielle, considérée comme responsable de l'hydratation préovulatoire (cf. MELLINGER, 1994).

Modalités de la « vitellogenèse »

Espèces étudiées

A l'exception d'une courte note non illustrée (LUKINA, 1987), la vitellogenèse des Chondrichthyens n'a pas encore été décrite cytologiquement. Il ne semble pas que les gouttelettes d'huile fusionnent au cours du développement des ovocytes, dans les rares espèces où elles ont été aperçues.

Bien qu'on ait publié d'innombrables descriptions de l'ovogenèse des Téléostéens, seules quelques espèces ont fait l'objet d'une étude cytologique complète, portant sur tous les stades, et faisant usage du microscope électronique ou de méthodes histologiques permettant d'identifier, d'une part les lipides homophasiques, et d'autre part les alvéoles corticales ou granules corticaux. Ce sont : la blennie *Blennius pholis* (SHACKLEY et KING, 1977), le choquemort *Fundulus heteroclitus* (SELMAN et WALLACE, 1986), le medaka *Oryzias latipes* (IWAMATSU et coll., 1988), le bar *Dicentrarchus labrax* (MAYER et coll., 1988), la morue *Gadus morhua* (KJESBU et KRYVI, 1989), et le danio *Brachydanio rerio* (SELMAN et coll., 1993). Au moment de l'ovulation, les ovocytes de ces différentes espèces ont un diamètre assez voisin : 1,35 mm (blennie), 1,7-1,8 mm (choquemort), 1,2 mm (medaka), 1,1 mm (bar) ou 0,75 mm (danio). Dans trois espèces (choquemort, medaka, danio), les auteurs ont également identifié par l'électrophorèse les sous-unités protéiques mises en place dans l'ovocyte, et étudié la production d'hormones stéroïdes par les follicules ovariens aux divers stades de leur croissance, ainsi que leur capacité de répondre à une hormone gonadotrope.

Chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), comme chez d'autres Salmonidés, il semble que la taille des œufs mûrs (3,5-5 mm de diamètre) et l'épaisseur du chorion compromettent la fixation et la confection de coupes complètes, de telle sorte que les études cytologiques demeurent incomplètes. Les indications dont je dispose sont dues à SIRE et coll. (1994).

La phase prévitellogénique

Au début de l'ovogenèse, avant le dépôt des premières couches du chorion (C) et avant la formation des premiers granules corticaux (« alvéoles » cytoplasmiques, A), des premières gouttelettes d'huile (H) et des premiers granules de vitellines ou de vitellogénine (V), on assiste à la multiplication des nucléoles à la périphérie du noyau. Dans la couche de cytoplasme proche du noyau apparaissent des structures riches en ARN : « nuages », corps de Balbiani ou « anneau périnucléaire », qui est son équivalent chez la morue, le merlan poutassou (*Micromesistius poutassou*), et la carpe argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) (réfs. dans KJESBU et KRYVI, 1989 ; voir aussi GURAYA, 1986). Toutes ces structures sont encore énigmatiques, et leur rôle dans la mise en place des sécrétions précitées est douteux.

La phase « vitellogénique »

La phase suivante est considérée comme hormonodépendante. Sa désignation comme étant la « vitellogenèse » pose un problème sémantique, car deux constituants seulement (H, V) sur les quatre possibles (H,V,C,A) font partie du vitellus. Il s'agit donc, en réalité, de la *phase de différenciation terminale de l'ovocyte*. Et cela d'autant plus que deux des constituants (C, V) sont d'origine hépatique, et que le rôle de l'ovocyte consiste essentiellement à réaliser l'incorporation de la vitellogénine par endocytose, et à permettre en même temps le dépôt péricellulaire des constituants du chorion. Les cellules folliculeuses collaborent avec l'ovocyte dans cette dernière tâche.

Voyons dans quel ordre apparaissent ces constituants dans chacune des espèces étudiées : C-H-V-A chez la blennie, C-A-H-V chez le choquemort, CH-A-V chez le medaka, H-C-V-A chez le bar, et C-A-V chez la morue (dépourvue d'huile), et aussi chez le danio (où les auteurs n'indiquent pas à quel moment l'huile se forme). L'existence de telles différences entre les espèces montrent bien qu'il est impossible de décrire une suite de stades identiques pour la « vitellogenèse » de ces Téléostéens, bien que leurs œufs aient des diamètres semblables.

Le début de l'activité d'endocytose, qui permet l'incorporation de la vitellogénine, est détectable peu de temps avant l'apparition des premiers granules vitellins. L'ovocyte mesure alors 135 µm chez la blennie, 340 µm chez le danio, entre 250 et 400 µm chez le bar, le medaka et le choquemort. Cette activité est particulièrement bien visible chez le bar, la face interne de la membrane plasmique étant entièrement garnie de petites vésicules d'endocytose, captant la vitellogénine.

Au début, aucune de ces vésicules ne se détache pour former un granule vitellin. Puis on assiste à l'individualisation et à la croissance de granules dont la taille augmente régulièrement de la périphérie cellulaire vers le centre. Pour expliquer cette croissance, encore incomprise, des fusions successives entre tous ces organites ont été invoquées. Le processus de fusion aboutit à la formation d'une vacuole vitelline unique chez le bar, le medaka et le choquemort, mais ce dernier conserve aussi des globules isolés dans la mince couche de cytoplasme qui entoure la vacuole. L'hydratation préovulatoire porte sur le contenu de toutes les inclusions lipoprotéiques, quel que soit le degré de leur fusionnement.

La disposition des trois types d'inclusions cytoplasmiques (H, A, V) diffère aussi d'une espèce à l'autre. Les gouttelettes d'huile apparaissent le plus souvent contre l'enveloppe nucléaire. A un stade ultérieur, elles peuvent former une couche interne bien individualisée par rapport aux alvéoles et aux granules vitellins. Elles finissent par se disperser, par confluer en un petit nombre de gouttelettes, ou même en une seule (bar), ou encore par former un réseau occupant tout l'espace entre les globules vitellins (blennie). Toutefois, chez le bar, les premières gouttelettes apparaissent à la périphérie du cytoplasme, et les autres apparaissent ensuite dans le reste du cytoplasme. Enfin, l'absence d'huile chez la morue correspond à une agénèse complète de ce constituant.

Les alvéoles, destinées à la formation des granules corticaux, proviennent de l'appareil de Golgi. Sauf chez la morue, le terme d'alvéoles « corticales » est tout à fait impropre, car l'ovocyte de nombreuses espèces passe par un stade où ces grains de sécrétion particuliers envahissent tout le cytoplasme (medaka, choquemort, danio), en évitant toutefois de pénétrer dans la couche la plus interne lorsque celle-ci se trouve déjà occupée par une couche de gouttelettes d'huile (blennie). Le cas du bar est également très particulier de ce point de vue, puisque son ovocyte ne forme pas d'alvéoles, mais sécrète directement des granules

corticaux, qui apparaissent d'emblée à la périphérie du cytoplasme et, comme nous l'avons déjà signalé, chez cette espèce, c'est le dernier type d'inclusions mis en place. Dans les espèces où les alvéoles deviennent corticales vers la fin de la vitellogenèse, on assiste à un chassé-croisé entre elles-mêmes et les vésicules vitellines, ces dernières occupant d'abord la périphérie du cytoplasme de l'ovocyte, puis se faisant refouler vers le centre.

Chez la morue, grâce aux comptages d'organites effectués par KJESBU et KRYVI (1989), on sait que les alvéoles continuent de se multiplier, tandis que le nombre de vésicules vitellines diminue considérablement par le jeu des fusions successives, mais sans aller jusqu'à la formation d'une vacuole unique. Au début, ces inclusions correspondent à de véritables plaquettes vitellines, leur contenu étant cristallin. On observe ensuite la disparition de cette structure au moment de l'hydratation préovulatoire, ce qui les convertit en globules vitellins. Curieusement, la structure cristalline disparaît aussi chez le danio, sans que l'existence d'une protéolyse partielle et d'une hydratation soient bien démontrées chez ce poisson (SELMAN et coll., 1993).

Chez la truite adulte, le diamètre de l'ovocyte passe de 40-50 μm (printemps) à 3,5-5 mm (hiver suivant). Les alvéoles corticales apparaissent au stade 400 μm . Des gouttelettes d'huile sont alors présentes, en petit nombre, mais leur évolution n'a pas été décrite. Nous avons vu que l'endocytose commence au stade 1 mm. Les vésicules vitellines, dont la structure cristalline n'a semble-t-il jamais été observée, sont donc des globules vitellins, qui subiraient des fusions successives jusqu'à la formation d'une vacuole vitelline centrale, entourée de globules résiduels, comme chez le choquemort.

Origine de l'huile

Les gouttelettes d'huile sont souvent considérées comme une fraction endogène du vitellus, compte tenu de la précocité de leur apparition par rapport aux vésicules vitellines. Ces dernières contiennent des lipides dont l'origine exogène peut être admise sans difficulté. Mais qu'en est-il de l'huile ?

Pour prouver son origine endogène, il faudrait vérifier la présence des enzymes nécessaires à la biosynthèse des acides gras dans les ovocytes, aux stades correspondants de la vitellogenèse, mesurer les taux d'incorporation de précurseurs, et examiner si la composition en acides gras de cette huile correspond bien aux capacités de biosynthèse de l'ovocyte lui-même. Toutefois, le profil des acides gras dans l'huile devrait être déterminé avant l'apparition des vésicules vitellines, pour écarter l'éventualité d'un échange d'acides gras entre ces deux catégories d'inclusions vitellines.

Personne n'a publié les résultats de telles recherches. Mais cette théorie est contredite par les résultats d'analyse de l'huile cités plus haut (§ II), qui révèlent la présence d'acyles tels que le linoléate (18:2n-6) et le docosohexaénoate (22:6n-3), en principe d'origine alimentaire. Il est donc vraisemblable que les gouttelettes d'huile des ovocytes de poissons se forment par le dépôt de lipides « neutres » élaborés par l'ovocyte à partir de précurseurs venant du plasma sanguin, et en particulier d'acides gras transportés par des protéines telles que les séralbumines ou, à défaut, par certaines lipoprotéines.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le rôle des réserves énergétiques et plus particulièrement des lipides dans la survie des larves de poissons Téléostéens en aquaculture a été mis en évidence expérimentalement, par exemple chez le grand corégone (*Coregonus cupeaformis*), et, dans les conditions naturelles, ce facteur pourrait intervenir tout autant que celui de la disponibilité des proies (BROWN et TAYLOR, 1992).

Mais ce rôle énergétique est accompagné par celui de la fourniture de molécules spécifiques servant de précurseurs dans l'élaboration des membranes au cours du développement, en particulier dans le système nerveux central et la rétine. Ces molécules sont principalement les acides gras polyinsaturés des séries n-6 et n-3. Certains d'entre eux sont également les précurseurs de substances très actives dans la régulation de la coagulation, des processus inflammatoires et immunitaires.

Les larges variations observées dans la composition des œufs de poissons du point de vue des classes de lipides ne semblent pas compensées par une certaine uniformité des profils en acides gras, bien au contraire. Cette constatation nous oriente vers une étude des adaptations spécifiques des divers poissons, autant que de leur phylogénèse. Plutôt que de limiter les comparaisons interspécifiques à des considérations sur la taille des œufs, il conviendrait de tenir compte de ces différences de composition lipidique pour définir, en particulier, les stratégies reproductives des différentes espèces.

L'effort d'analyse pourrait porter en premier lieu sur les lipides de la vitellogénine et des lipovitellines pures, dans différentes espèces. Existe-t-il une relation stœchiométrique entre les différents lipides liés à la vitellogénine et à ses dérivés ? Quelle est l'origine de ces lipides ? Sont-ils modifiés pendant le stockage des vitellines ?

L'existence de deux compartiments cellulaires distincts pour stocker les lipides vitellins, le premier formé d'huile pure, l'autre servant au stockage des réserves lipoprotéiques, et en particulier des lipovitellines, pose une série de problèmes non résolus.

Ces compartiments diffèrent-ils par leurs profils en acides gras ? Oui, si l'on en juge d'après les rares analyses publiées, mais qui ne concernent que des espèces dont l'œuf renferme une quantité d'huile extraordinaire (doré, bar rayé). Les acides gras sont-ils échangeables entre ces deux compartiments, lorsqu'ils coexistent à certains stades de la vitellogenèse ?

Compte tenu de l'absence de gouttelettes d'huile dans les œufs marins pélagiques de certaines espèces comme la morue, peut-on attribuer des fonctions distinctes à ces lipides, dans le développement embryonnaire et larvaire ? L'observation du développement de certaines espèces en élevage permet de donner au moins des réponses partielles. On constate que la consommation de l'huile est tardive : elle n'est résorbée, en règle générale, qu'après l'épuisement presque complet des réserves de vitellus non huileux, par exemple chez le flétan. Cette réserve, qu'on peut considérer a priori comme ayant un rôle énergétique plutôt que plastique, est donc utilisée au moment crucial du passage des larves à une nutrition purement exotrophe, rendue possible par l'apparition du comportement de chasse. Ce qui suscite une autre question : l'absence de ce type de réserves dans les œufs d'un certain nombre d'espèces est-elle compensée par la fourniture d'autres sources d'énergie ?

La situation inverse, celle où l'huile est surabondante, caractérise les œufs capable de flotter en eau douce, ainsi que les œufs adaptés à des diapauses en milieu desséché (Cyprinodontes ovipares annuels). La rapidité du développement (48 heures à 18°C) des œufs du bar rayé (*Morone saxatilis*) serait rendue possible par l'abondance de cette réserve énergétique (ELDRIDGE et coll., 1983). Nous n'avons que peu de renseignements pour les autres espèces. La grosse goutte d'huile qui se forme dans les œufs du poisson annuel *Nothobranchius guentheri*, formée de triglycérides à raison de 73%, assure leur survie en cas de diapause prolongée (BRIND et coll., 1982). Sa composition en acides gras n'est pas connue.

La grande diversité des aspects cytologiques de la vitellogenèse chez les Téléostéens ressort clairement de l'étude approfondie des six espèces que j'ai comparées entre elles : blennie, choquemort, medaka, bar, morue et danio. La nature des inclusions cytoplasmiques des ovocytes de ces poissons étant mieux comprise qu'autrefois, on peut espérer que d'autres espèces feront également l'objet de descriptions aussi complètes, par exemple les truites et les saumons.

Malgré la multiplication des recherches consacrées à l'identification de la vitellogénine et à l'étude cinétique de son endocytose, on n'a pas encore analysé en détail le mécanisme de la formation des vésicules vitellines et des inclusions qui en dérivent. D'autre part, on ne prend habituellement en considération que cet aspect particulier de la vitellogenèse, ce qui fait négliger l'étude de la mise en place et du rôle des gouttelettes d'huile, alors même que leur contenu énergétique est bien souvent supérieur à celui des réserves lipoprotéiques, non seulement chez des espèces comme le bar rayé, mais chez celles qui produisent des œufs démersaux, comme la roussette *Scyliorhinus canicula* (DELHAYE et coll., 1992).

Remerciements

Monsieur Claude LERAY (CNRS, Strasbourg) a bien voulu accepter de relire le manuscrit de cette mise au point et m'a fait bénéficier de son expérience dans le domaine des lipides. Je lui adresse très amicalement mes remerciements. Des corrections m'ont également été suggérées par un lecteur anonyme, que je remercie pour toute l'attention qu'il a portée à mon travail.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON (A.J.), ARTHINGTON (A.H.), ANDERSON (S.), 1990. — Lipid classes and fatty acid composition of the eggs of some Australian fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **96B**, 267-270.
- ANDERSON (G.J.), 1994. — Developmental sensitivity of the brain to dietary n-3 fatty acids. *J. Lipid Res.*, **35**, 105-111.
- BABIN (P.J.), VERNIER (J.M.), 1989. — Plasma lipoprotein in fish. *J. Lipid Res.*, **30**, 467-489.
- BAERT (J.L.), BRITEL (M.), SAUTIÈRE (P.), MALECHA (J.), 1992. — Ovohemerythrin, a major 14-kDa yolk protein distinct from vitellogenin in leech. *Eur. J. Biochem.*, **209**, 563-569.
- BAZAN (N.G.), RODRIGUEZ DE TURCO (E.B.), GORDON (W.C.), 1993. — Pathways for uptake and conservation of docosohexaenoic acid in photoreceptors and synapses: biochemical and autoradiographic studies. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **71**, 690-698.
- BÉDARD (D.), LALANCETTE (.L.M), 1989. — Etude du développement larvaire de l'éperlan, *Osmerus mordax*, en eau pure et dans deux milieux de matière organique, le glucose et l'acétate. *Aquaculture*, **80**, 351-362.

- BODY (D.R.), 1985. — The composition of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) roe lipids. *J. Sci. Food. Agric.*, **36**, 679-684.
- BROWN (R.W.), TAYLOR (W.W.), 1992. — Effects of egg composition and prey density on the larval growth and survival of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis* Mitchell). *J. Fish Biol.*, **40**, 381-394.
- BRIND (J.L.), ALANI (E.), MATIAS (J.R.), MARKOFSKY (J.), RIZER (R.L.), 1982. — Composition of the lipid droplet in embryos of the annual fish *Nothobranchius guentheri*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**, 915-917.
- BRINSTER (R.L.), 1973. — Nutrition and metabolism of the ovum, zygote and blastocyst. In: O. Greep (ed.), *Handbook of Physiology*, Section 7, Volume II, Part 2, pp. 165-185. Williams & Wilkins, Baltimore (USA).
- BYRNE (B.M.), GRUBER (M.), AB (G.), 1989. — The evolution of egg yolk proteins. *Prog. Biophys. molec. Biol.*, **53**, 33-69.
- CAPAPÉ (C.), QUIGNARD (J.P.), MELLINGER (J.), 1990. — Reproduction and development of two angel sharks, *Squatina squatina* and *S. oculata* (Pisces: Squatinidae), off Tunisian coasts: demi-delayed vitellogenesis, lack of egg capsules, and lecithotrophy. *J. Fish Biol.*, **37**, 347-356.
- CHAPMAN (M.J.), 1980. — Animal lipoproteins: chemistry, structure, and comparative aspects. *J. Lipid Res.*, **21**, 789-853.
- CONNOR (W.E.), NEURINGER (M.), REISBICK (S.), 1992. — Essential fatty acids: the importance of n-3 fatty acids in the retina and brain. *Nutrition Reviews*, **50**, 21-29.
- DEHMER (G.J.), 1990. — Another piece of the fish oil puzzle. *Circulation*, **82**, 639-642.
- DELHAYE (E.), LECHENAULT (H.), WRISEZ (F.), LERAY (C.), HAYE (B.), MELLINGER (J.), 1992. — Localisation, composition et utilisation des lipides vitellins chez *Scylliorhinus canicula* (L.). *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **117**, 149-156.
- DEVAUCHELLE (N.), COVES (D.), 1988. — The characteristics of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) eggs: description, biochemical composition and hatching performances. *Aquat. Living Resour.*, **1**, 223-230.
- DIEZ (J.M.), DAVENPORT (J.), 1990. — 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.
- DIVAKARAN (S.), OSTROWSKI (A.C.), 1989. — Fatty acid analysis of fish eggs without solvent extraction. *Aquaculture*, **80**, 371-375.
- ELDRIDGE (M.B.), JOSEPH (J.D.), TABERSKI (K.M.), SEABORN (G.T.), 1983. — Lipid and fatty acid composition of the endogenous energy sources of striped bass (*Morone saxatilis*) eggs. *Lipids*, **18**, 510-513.
- ELDRIDGE (M.B.), WHIPPLE (J.A.), ENG (D.), 1981. — Endogenous energy sources as factors affecting mortality and development in striped bass (*Morone saxatilis*) eggs and larvae. *Rapp. P.-V. Réun. Cons. Int. Explor. Mer*, **178**, 568-570.
- FALK-PETERSEN (S.), SARGENT (J.R.), FOX (C.), FALK-PETERSEN (I.B.), HAUG (T.), KJØRSVIK (E.), 1989. — Lipids in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs from planktonic samples in northern Norway. *Mar. Biol.*, **101**, 553-556.
- FAUCONNEAU (B.), KAUSHIK (S.J.), BLANC (J.M.), 1989. — Uptake and metabolism of dissolved compounds in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) fry. *Comp. Biochem. Physiol.*, **93A**, 839-843.
- FLÜCHTER (J.), 1974. — Laboratory rearing of common sole (*Solea solea* L.) under controlled conditions at high density with low mortality. In: J.H.S. Blaxter (ed.), *The Early Life History of Fish*, pp. 725-730. Springer-Verlag, Berlin (etc.).
- FRÉMONT (L.), RIAZI (A.), 1988. — Biochemical analysis of vitellogenin from rainbow trout (*Salmo gairdneri*): fatty acid composition of phospholipids. *Reprod. Nutr. Dév.*, **28**, 939-952.

- FUJII (T.), 1960. — Comparative biochemical studies on the egg-yolk proteins of various animal species. *Acta Embryol. Morph. Exp.*, **3**, 260-285.
- GRODZINSKI (Z.), 1958. — The yolk of the dogfish. *Acta Biol. Cracov.*, **1**, 55-68.
- GURAYA (S.S.), 1978. — Maturation of the follicular wall of nonmammalian vertebrates. In: R.E. Jones (ed.), *The Vertebrate Ovary*, pp. 261-239. Plenum Press, New York.
- GURAYA (S.S.), 1986. — *The Cell and Molecular Biology of Fish Oogenesis*. Karger, Basel, 223 p.
- GURR (M.I.), 1988. — Comparative aspects of nutrient metabolism: lipid metabolism. In: K. Blaxter & I. Macdonald (eds.), *Comparative Nutrition*, pp. 73-90. John Libbey, London.
- HEMING (T.A.), BUDDINGTON (R.K.), 1988. — Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: W.S. Hoar & D.J. Randall (eds.), *Fish Physiology*, 11A, pp. 407-446. Academic Press, San Diego.
- HENDERSON (R.J.), TOCHER (DR), 1987. — The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.*, **26**, 281-347.
- INNIS (S.M.), 1991. — Essential fatty acids in growth and development. *Prog. Lipid Res.*, **30**, 39-103.
- IWAMATSU (T.), OHTA (T.), OSHIMA (E.), SAKAI (N.), 1988. — Oogenesis in the medaka *Oryzias latipes* - stages of oocyte development. *Zool. Sci.*, **5**, 353-373.
- JAECKLE (W.B.), MANAHAN (D.T.), 1989. — Feeding by a 'nonfeeding' larva: uptake of dissolved amino acids from seawater by lecithotrophic larvae of the gastropod *Haliotis rufescens*. *Mar. Biol.*, **103**, 87-94.
- KAITARANTA (J.K.), ACKMAN (R.G.), 1981. — Total lipids and lipid classes of fish roe. *Comp. Biochem. Physiol.*, **69B**, 725-729.
- KAUSHIK (S.J.), 1990. — Importance des lipides dans l'alimentation des poissons. *Aqua Revue*, **29**, 9-16.
- KELLY (F.J.), 1991. — The metabolic role of n-3 polyunsaturated fatty acids: relationship to human disease. *Comp. Biochem. Physiol.*, **98A**, 581-585.
- KJESBU (O.S.), KRYVI (H.), 1989. — Oogenesis in cod, *Gadus morhua* L., studied by light and electron microscopy. *J. Fish Biol.*, **34**, 735-746.
- KORSGAARD (B.), 1991. — Metabolism of larval turbot *Scophthalmus maximus* (L.) and uptake of amino acids from seawater studied by autoradiographic and radiochemical methods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **148**, 1-10.
- LÉGER (C.), FRÉMONT (L.), MARION (D.), NASSOUR (I.), DESFARGES (M.F.), 1981. — Essential fatty acids in trout serum lipoproteins, vitellogenin and egg lipids. *Lipids*, **16**, 593-600.
- LERAY (C.), NONNOTE (G.), ROUBAUD (P.), LÉGER (C.), 1985. — Incidence of n-3 essential fatty acid deficiency on trout reproductive process. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **25**, 567-581.
- LØNNING (S.), KJØRSVIK (E.), FALK-PETERSEN (I.B.), 1988. — A comparative study of pelagic and demersal eggs from common marine fishes in northern Norway. *Sarsia*, **73**, 49-60.
- LUKINA (N.A.), 1987. — En russe : Ultrastructural study of the early oogenesis in the dogfish *Squalus acanthias* (résumé anglais). *Tsitologiya (USSR)*, **29**, 531-536.
- MALLYA (S.K.), PARTIN (J.S.), VALDIZAN (M.C.), LENNARZ (W.J.), 1992. — Proteolysis of the major yolk glycoproteins is regulated by acidification of the yolk platelets in sea urchin embryos. *J. Cell Biol.*, **117**, 1211-1221.
- MAÑANÓS (E.), ZANUY (S.), LE MENN (F.), CARRILLO (M.), NÚÑEZ (J.), 1994 a. — Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) vitellogenin. I - Induction, purification and partial characterization. *Comp. Biochem. Physiol.*, **107B**, 205-216.
- MAÑANÓS (E.), NÚÑEZ (J.), ZANUY (S.), CARRILLO (M.), LE MENN (F.), 1994 b. — Sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) vitellogenin. II - Validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Comp. Biochem. Physiol.*, **107B**, 217-223.

- MAYER (I.), SHACKLEY (S.E.), RYLAND (J.S.), 1988. — Aspects of the reproductive biology of the bass, *Dicentrarchus labrax* L. I. An histological and histochemical study of oocyte development. *J. Fish Biol.*, **33**, 609-622.
- MAZABRAUD (A.), WEGNEZ (M.), DENIS (H.), 1992. — Origin of several abundant proteins of amphibian oocytes. *J. Mol. Evol.*, **35**, 546-550.
- MELLINGER (J.), 1989. — Reproduction et développement des Chondrichthyens. *Océanis*, **15**, 283-308.
- MELLINGER (J.), 1994. — La flottabilité des œufs de Téléostéens. *L'Année Biologique*, **sous presse**.
- MELLINGER (J.), WRITSEZ (F.), LERAY (C.), HAYE (B.), 1989. — A comparison of egg and newborn lipids in the oviparous dogfishes, *Scyliorhinus canicula* and *S. stellaris* (Chondrichthytes). Preliminary data. *Biol. Struct. Morphogenesis*, **2**, 44.
- MÉNDEZ (E.), FERNÁNDEZ (M.), PAZO (G.), GROMPONE (M.A.), 1992. — Hake roe lipids: composition and changes following cooking. *Food Chem.*, **45**, 179-181.
- MEYDANI (S.N.), 1992. — Modulation of cytokine production by dietary polyunsaturated fatty acids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **200**, 189-193.
- MOODIE (G.E.E.), LOADMAN (N.L.), WIEGAND (M.D.), MATHIAS (J.A.), 1989. — Influence of egg characteristics on survival, growth and feeding in larval walleye (*Stizostedion vitreum*). *Can. J. Fisheries Aquat. Sci.*, **46**, 516-521.
- MURAKAMI (M.), IUCHI (I.), YAMAGAMI (K.), 1992. — Isolation of intact yolk spheres of fish embryos, which contain the majority of lysosomal acid phosphatase responsible for yolk phosphoprotein metabolism. *Zool. Sci.*, **9**, 891-895.
- NEURINGER (M.), ANDERSON (G.J.), CONNOR (W.E.), 1988. — The essentiality of the n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Ann. Rev. Nutr.*, **8**, 517-541.
- OKUYAMA (H.), 1992. — Minimum requirement of n-3 and n-6 essential fatty acids for the function of the central nervous system and for the prevention of chronic disease. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **200**, 174-176.
- PAYNTER (K.T.), DIMICHELE (L.), HAND (S.C.), POWERS (D.A.), 1991. — Metabolic implications of Ldh-B genotype during early development in *Fundulus heteroclitus*. *J. Exp. Zool.*, **257**, 24-33.
- PEYRONEL (D.), ARTAUD (J.), IATRIDES (M.C.), RANCUREL (P.), CHEVALIER (J.L.), 1984. — Fatty acid and squalene compositions of Mediterranean *Centrophorus* spp. egg and liver oils in relation to age. *Lipids*, **19**, 643-648.
- RAINUZZO (J.R.), REITAN (K.I.), JØRGENSEN (L.), OLSEN (Y.), 1994. — Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **107A**, 699-710.
- RANZI (S.), 1932. — Le basi fisio-morfologiche dello sviluppo embrionale dei Selaci. Parte I. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, **12**, 209-290.
- RIAZI (A.), FRÉMONT (L.), 1988. — Serum vitellogenin and yolk proteolipid complex composition in relation to ovarian growth in rainbow trout *Salmo gairdneri* (Rich.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **89B**, 525-529.
- ROMEK (M.), KILARSKI (W.), 1993. — The lipoprotein crystals in yolk platelets of a shark, *Squalus acanthias* (Selachii). *Folia Histochem. Cytobiol.*, **31**, 139-145.
- SAND (D.M.), SCHLENK (H.), 1969. — The polyunsaturated alcohols in wax esters of fish roe. *Lipids*, **4**, 303-304.
- SELMAN (K.), WALLACE (R.A.), 1986. — Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus*. *Amer. Zool.*, **26**, 173-192.
- SELMAN (K.), WALLACE (R.A.), SARKA (A.), XIAOPING QI, 1993. — Stages of oocyte development in the zebrafish, *Brachydanio rerio*. *J. Morph.*, **218**, 203-224.
- SHACKLEY (S.E.), KING (P.E.), 1977. — Oögenesis in a marine teleost, *Blennius pholis*. *Cell Tiss. Res.*, **181**, 105-128.
- SIEBERS (D.), ROSENTHAL (H.), 1977. — Amino acid absorption by developing herring eggs. *Helgoländer Meeresunters.*, **29**, 464-472.

- **Silversand (C.), Haux (C.), 1995. - Fatty acid composition of vitellogenin from four teleost species. *J. Comp. Physiol. B*, **164**, 593-599.
- SIRE (M.F.), BABIN (P.J.), VERNIER (J.M.), 1994. — Involvement of the lysosomal system in yolk protein deposit and degradation during vitellogenesis and embryonic development in trout. *J. Exp. Zool.*, **269**, 69-83.
- SLATER (E.P.), REDEUILH (G.), BEATO (M.), 1991. — Hormonal regulation of vitellogenin genes: an estrogen-responsive element in the *Xenopus* A2 gene and a multihormonal regulatory region in the chicken II gene. *Mol. Endocrinol.*, **5**, 386-396.
- STEWART (J.R.), BLACKBURN (D.G.), BAXTER (D.C.), HOFFMAN (L.H.), 1990. — Nutritional provision to embryos in a predominantly lecithotrophic placental reptile, *Thamnophis ordinoides* (Squamata: Serpentes). *Physiol. Zool.*, **63**, 722-734.
- STEWART (J.R.), 1992. — Placental structure and nutritional provision to embryos in predominantly lecithotrophic viviparous reptiles. *Amer. Zool.*, **32**, 303-312.
- TAKEMURA (A.), 1993. — Changes in an immunoglobulin M (IgM)-like protein during larval stages in tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture*, **115**, 233-241.
- THOMPSON (G.A., Jr.), 1992. — *The Regulation of Membrane Lipid Metabolism*. CRC Press, Boca Raton (etc.), 230 p. (2nd ed.).
- TOCHER (D.R.), SARGENT (J.R.), 1984. — Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some northwest European marine fish. *Lipids*, **19**, 492-499.
- TOCHER (D.R.), FRASER (A.J.), SARGENT (J.R.), GAMBLE (J.C.), 1985. — Lipid class composition during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus*, L.). *Lipids*, **20**, 84-89.
- TREWITT (P.M.), HEILMANN (L. J.), DEGRUGILLIER (S.S.), KUMARAN (A.K.), 1992. — The boll weevil vitellogenin gene: nucleotide sequence, structure, and evolutionary relationship to nematode and vertebrate vitellogenin genes. *J. Mol. Evol.*, **34**, 478-492.
- TYLER (C.), 1993. — Electrophoretic patterns of yolk proteins throughout ovarian development and their relationship to vitellogenin in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **106B**, 321-329.
- ULVUND (K.A.), GRAHL-NIELSEN (O.), 1988. — Fatty acid composition in eggs of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fisheries Aquat. Sci.*, **45**, 898-901.
- VÁZQUEZ (R.), GONZÁLEZ (S.), RODRÍGUEZ (A.), MOURENTE (G.), 1994. — Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larvae and first-feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). *Aquaculture*, **119**, 273-286.
- VERRETH (J.), CUSTERS (G.), MELGER (W.), 1994. — The metabolism of neutral and polar lipids in eleuthero-embryos and starving larvae of the African catfish *Clarias gariepinus*. *J. Fish Biol.*, **45**, 961-971.
- VETTER (R.D.), HODSON (R.E.), ARNOLD (C.), 1983. — Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Can. J. Fisheries Aquat. Sci.*, **40**, 627-634.
- WATANABE (T.), TAKEUCHI (T.), SAITO (M.), NISHIMURA (K.), 1984. — Effect of low protein-high caloric or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **50**, 1207-1215.
- WOURMS (J.P.), 1981. — Viviparity: the maternal-fetal relationship in fishes. *Amer. Zool.*, **21**, 473-515.
- WOURMS (J.P.), GROVE (B.D.), LOMBARDI (J.), 1988. — The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. In: W.S. Hoar and D.J. Randall (eds.), *Fish Physiology*, 11B, pp. 1-134. Academic Press, San Diego.
- YOKOTA (Y.), KATO (K.H.), MITA (M.), 1993. — Morphological and biochemical studies on yolk degradation in the sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Zool. Sci.*, **10**, 661-670.

RÉSUMÉ. - L'ovule des Métazoaires est une cellule hautement différenciée, plurifonctionnelle. En règle générale, il accumule dans son cytoplasme des réserves de matière organique, appelées vitellus, qui servent à couvrir, en partie ou en totalité, les besoins énergétiques, plastiques et même osmotiques des embryons et, éventuellement, des larves. Chez les poissons, en particulier les Téléostéens, principal objet de cette mise au point, la phase finale de l'ovogenèse désignée comme étant la « vitellogenèse » correspond, non seulement à la mise en place du vitellus, mais aussi de l'enveloppe primaire de l'œuf et des granules corticaux. Il existe une variabilité considérable dans l'importance relative des deux compartiments cytoplasmiques (huile, vésicules vitellines) où sont stockés les lipides vitellins, dans la composition de ces lipides, et dans le déroulement de la vitellogenèse, selon les espèces de Téléostéens. En fait, compte tenu des erreurs contenues dans les travaux anciens, il existe très peu d'espèces pour lesquelles on dispose d'une description cytologique correcte de la vitellogenèse. Si l'origine des vésicules vitellines et de leur contenu, les dérivés de la vitellogénine, est assez bien connue, celle des lipides associés (lipides hétérophasiques) l'est moins. La possibilité d'une incorporation d'autres lipoprotéines dans ces vésicules, comme chez les oiseaux, est envisageable, en particulier chez les Salmonidés. Enfin, l'origine des acides gras des lipides homophasiques (huile) est certainement exogène, du moins en partie, puisqu'on y trouve des acides gras essentiels, que l'ovocyte est sans doute incapable de synthétiser.

ABSTRACT. - *Lipid storage in fish eggs.* - The oocyte of Metazoa is a highly differentiated cell type, which has to fulfil several functions. It generally stores various organic molecules that are used as a fuel, as building blocks, and even as osmolytes by the embryo and, whenever present, by the larva: I propose that the name "yolk" should refer to these particular components of the egg. In fish taxa, especially in teleosts, which are the main subject of this review, the terminal phase of oogenesis, commonly named "vitellogenesis", not only shows the first appearance of cytoplasmic yolk inclusions, but also deposition of the primary egg envelope and formation of cortical granules, both products that have nothing to do with yolk. Among teleosts, there is much variation in the relative amounts of lipids stored into both cytoplasmic compartments which accommodate them, i.e. oil vs. yolk vesicles, and in their chemical composition, and also in the sequence of cytological events during "vitellogenesis". Moreover, putting aside former cytological descriptions which didn't correctly identify all yolk inclusions and all stages of vitellogenesis, we only can rely on a handful of papers, describing oogenesis in only six species. Experimental work on the biosynthesis of the polypeptidic moiety of vitellogenin, and its capture and transformation by oocytes, is now well advanced, but the origin and fate of the associated lipids (heterophasic yolk lipids) is less clear. The possible incorporation of other lipoproteins into yolk vesicles, as occurs in birds, cannot be ruled out in fish, especially in salmonids. With regard to fatty acids contained in the oily part of yolk (homophasic lipids), for which an endogenous origin had been proposed before, the available evidence strongly favors an exogenous origin for them, since they include essential fatty acids, which most probably cannot be synthesized by oocytes.
