

OBSERVATIONS RELATIVES AU DÉVELOPPEMENT AU LABORATOIRE D'EMBRYONS ET D'INDIVIDUS JUVÉNILES DE *SCYLIORHINUS CANICULA* L.

par

Germaine Collenot

Laboratoire d'Histologie et d'Anatomie comparées, Faculté des Sciences de Paris
et Station Biologique de Roscoff.

Résumé

La durée du développement des œufs de Roussette jusqu'à l'éclosion est variable et l'âge des embryons décompté à partir du moment de la ponte ne peut fournir une idée précise du degré de développement atteint par l'embryon. La taille est, en revanche, un excellent critère.

Les jeunes peuvent être élevés au-delà de l'éclosion. Maintenus à une température variant entre 13 et 16°C, ils mesurent 95 à 110 mm à l'éclosion, 15 cm à un an, 20 à 25 cm à 2 ans, 30 à 35 cm à 3 ans et environ 45 cm à 4 ans.

L'ouverture des boutonnières de la coque qui permet l'entrée de l'eau de mer à l'intérieur de l'œuf, se produit pour des embryons mesurant de 35 mm à 40 mm. Elle marque une étape importante du développement.

En 1878 paraissait le travail de Balfour concernant le développement des Sélaciens dans lequel l'auteur définissait une série de stades universellement connus. A cette table de développement, divers auteurs ont apporté des compléments : Wintrebert (1922) subdivisa le stade K.

Il convient de remarquer que ces stades sont définis uniquement en fonction de l'anatomie des animaux et que seuls les premiers stades du développement ont été définis. Pour cette raison il nous a paru intéressant de suivre le développement des embryons jusqu'à l'éclosion, de réaliser l'élevage des jeunes et de relier les étapes morphologiques du développement à des modifications du mode de vie ou à des données physiologiques.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Techniques histologiques.

Les embryons ont été fixés au Bouin, inclus à la paraffine et débités en coupes sériées de 5 μ . Les coupes ont été colorées à l'hémato-

xyline-éosine. En vue de l'étude des mucopolysaccharides, les méthodes suivantes ont été employées : coloration par le réactif de Schiff après oxydation périodique (PAS ou Hotchkiss - Mac Manus), coloration au bleu de toluidine et au bleu Alcian (pH 3 à pH 4,6), méthode de l'acétylation réversible, blocage des fonctions acidiques par la méthylation-désulfatation (procédé de Fischer et Lillie) et déblocage par saponification (procédé de Lillie). Le glycogène a été recherché par la méthode de Hotchkiss - Mac Manus, les contrôles ont été effectués par la digestion par l'amylase salivaire et la maltase.

Les phosphatases alcalines ont été recherchées suivant la méthode de Gomori - Takamatsu sur coupes de tissu frais réalisées au cryostat, fixées 10 minutes au formol tamponné et traitées par l'alcool-acétone.

Les lipides ont été colorés par le noir Soudan sur coupes de tissu frais réalisées au cryostat et fixées au formol-calcium de Baker, les noyaux ont été colorés par la laque aluminique de rouge solide.

Techniques d'élevage.

Les œufs de Roussette proviennent de femelles pêchées dans la Manche occidentale et gardées en élevage à la Station Biologique de Roscoff. Les œufs recueillis se sont développés soit à Paris dans un aquarium à circuit fermé alimenté en eau de mer provenant de Roscoff (températures comprises entre 13 et 16°C) ou bien en eau courante à la Station Biologique de Roscoff (1) (les variations de température de l'eau des bacs d'élevage sont indiquées dans le Tableau I).

TABLEAU I
Températures extrêmes de l'eau des bacs d'élevage
relevées au cours de l'année 1962

Janvier	8° -10°	Juillet	16° -17°5
Février	8° -10°	Août	16°5-17°
Mars	9° -11°	Septembre	15°5-17°
Avril	10°5-13°	Octobre	14° -15°5
Mai	12°5-14°	Novembre	12° -14°
Juin	13° -16°	Décembre	9° -12°

Certains de ces œufs ont été datés à la ponte et suivis jusqu'à l'éclosion afin d'établir la durée approximative du développement jusqu'à ce stade en eau de mer courante.

Après l'ouverture des boutonnières de la coque kératinisée, les embryons qui vivent dans un courant d'eau de mer peuvent se développer en dehors de leur coque. Vivien (1941) a signalé qu'il était possible d'élever les embryons sortis de leur coque, en circuit fermé, dans de l'eau filtrée. Ce système, appliqué en eau courante à Roscoff, ne nous a pas donné de résultats satisfaisants. La filtration de l'eau de mer, particulièrement riche en bactéries, a entraîné une pullulation microbienne importante qui, associée à des mycoses, a provoqué l'infection des sacs vitellins. Il est possible de sortir de leur coque

(1) Je remercie M. le Professeur Teissier qui a bien voulu m'accueillir à la Station biologique de Roscoff ainsi que le personnel de la Station pour le soin apporté à l'expédition des animaux et à la surveillance des élevages.

les embryons de plus de 50 mm en agrandissant les boutonnières de l'extrémité aplatie et de les y remettre après leur observation sous anesthésie (MS 222 Sandoz). La coque reprend sa forme primitive grâce à l'élasticité de ses parois kératinisées et la communication avec l'extérieur est sensiblement analogue à celle des œufs normaux. Les œufs ainsi ouverts se développent normalement en eau courante non filtrée.

Après l'éclosion, les jeunes ont été élevés à Paris durant plusieurs années. La première année, les jeunes sont nourris de merlan finement haché ou de morceaux de *Nephthys*. Les plus âgés sont nourris de merlan finement coupé au couteau. A l'éclosion, les jeunes sont peu affamés car ils possèdent une vésicule vitelline interne ; celle-ci disparaît plus ou moins rapidement entre le 10^e et le 15^e jour chez des animaux non alimentés, maintenus à la température de 18°. Certains acceptent mal la première prise de nourriture et le gavage n'apporte pas de remède : ces animaux dépérissent et finissent par mourir. A Roscoff, il ne nous a pas été possible d'élever des jeunes pendant plusieurs années ; au cours de deux hivers rigoureux, la température de l'eau des bacs s'étant abaissée au-dessous de 5°, les animaux ont cessé de se nourrir et, malgré le gavage, la plupart d'entre eux sont morts. Dans un aquarium à circuit fermé dont la température est maintenue entre 13° et 16°, l'élevage est possible dans des bacs de grande taille (140 litres). Les poissons se nourrissent abondamment et leur croissance est régulière. Toutefois, la mortalité est très importante. La taille à l'éclosion varie entre 95 et 110 mm, à la fin de la première année les animaux mesurent environ 15 cm, puis à 2 ans, de 20 à 25 cm, à 3 ans, de 30 à 35 cm et à 4 ans, environ 45 cm.

RÉSULTATS

Depuis les travaux de Balfour (1878), puis ceux de Wintrebert et de Ouang Te Yio (1931), on sait que l'embryon se développe dans une capsule cornée d'abord complètement close. Au stade 0 de Balfour (Ouang Te Yio, 1931), l'intérieur de la coque entre en communication avec le milieu extérieur grâce à l'ouverture d'orifices qui ont la forme de boutonnières ; jusqu'à ce stade, ces orifices étaient obstrués par une substance gélatineuse que Wintrebert a appelée le « gluten ». L'ouverture de ces boutonnières résulte de la digestion du « gluten » par les diastases de la glande de l'éclosion, qui est une différenciation transitoire de l'épiderme frontal de l'embryon (Ouang Te Yio, 1931).

Les mouvements de l'embryon, qui mesure alors de 35 à 40 mm, créent une circulation à l'intérieur de la coque, l'eau de mer pénètre progressivement par les boutonnières et se mélange au milieu intérieur de l'œuf qu'elle finit par chasser ; l'embryon vit alors dans un courant d'eau de mer. En même temps que se réalise l'ouverture des boutonnières de la coque, le vitellus s'engage dans le cordon ombilical puis il passe dans l'intestin. Il se forme alors une vésicule interne qui s'accroît aux dépens de la vésicule vitelline externe qui diminue de volume (Beard, 1896). La vésicule vitelline interne est encore très

importante à l'éclosion (100 à 120 mg) et permet aux jeunes de vivre sur leurs réserves pendant 10 à 15 jours. A partir du stade 50 mm, la vésicule vitelline externe régresse progressivement et son irrigation sanguine se raréfie, elle est réduite chez les animaux de 75 à 80 mm et disparaît au stade 90 mm.

Les filaments branchiaux commencent à se développer dès la formation des fentes branchiales (stade K de Balfour, 1878 et Wintrebert, 1922). Ils atteignent leur taille maximum au stade 45 mm, ensuite ils régressent à mesure que les branchies définitives se développent et ils ont disparu chez les embryons de 70 à 75 mm.

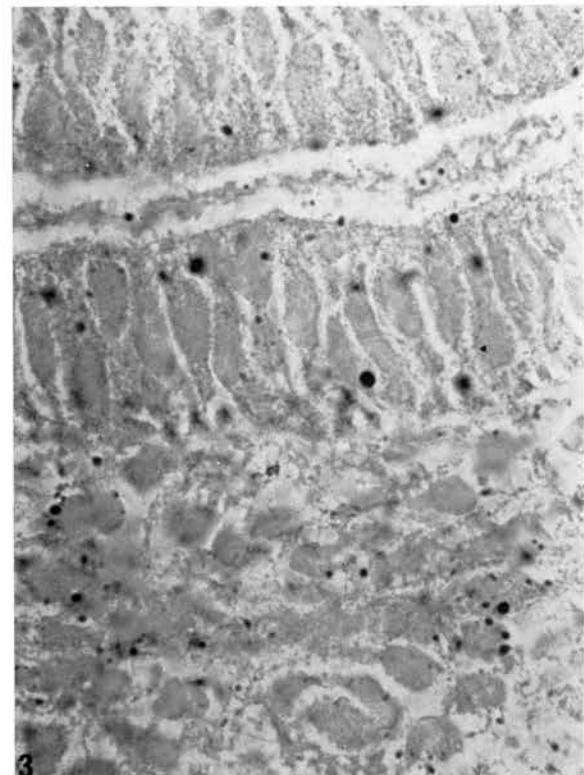
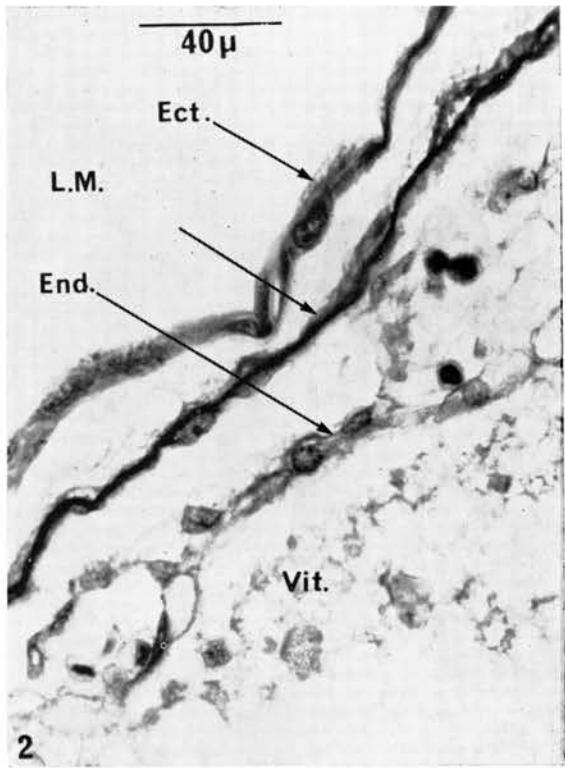
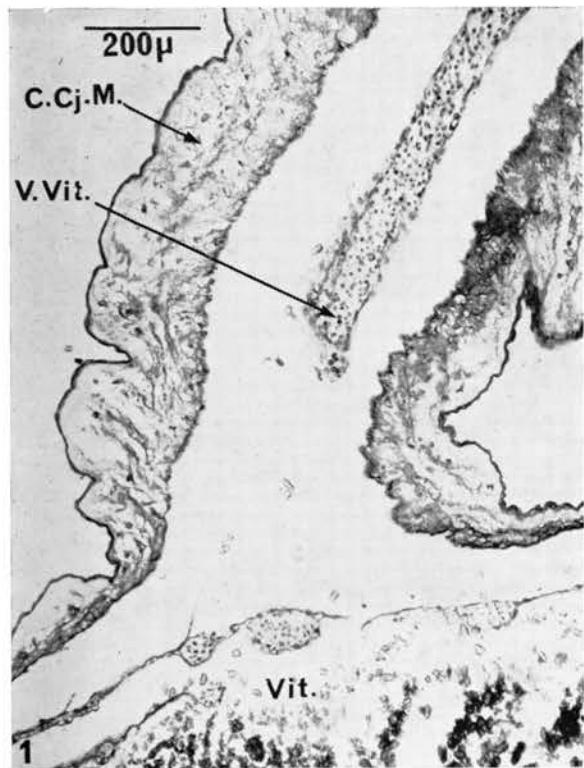
A Roscoff, la durée du développement depuis la ponte jusqu'à l'éclosion varie selon la température : 95 à 120 jours pour les œufs pondus au mois de mai et 230 à 250 jours pour les œufs pondus en septembre et octobre. La durée du développement varie également pour des œufs pondus à la même date (168 à 191 jours pour 18 œufs pondus entre le 2 et le 7 juillet 1961). Ces variations ne sont pas surprenantes ; en effet, l'éclosion n'est pas un phénomène bien défini et les animaux peuvent vivre hors de leur coque, bien avant l'éclosion. Il suffit d'une perturbation, une faible variation dans l'oxygénation de l'eau par exemple, pour que des éclosions prématurées se produisent. Par ailleurs, un autre fait important est à signaler : les embryons n'ont pas toujours atteint le même stade de développement au moment de la ponte. Les œufs pondus dans les jours qui suivent la capture des femelles le sont souvent prématûrement. De ce fait, l'âge des embryons, décompté à partir du moment de la ponte, ne peut fournir une idée précise du degré de développement atteint par un embryon. En revanche, la taille est un excellent critère, utilisé par de nombreux expérimentateurs (Chieffi, 1959 et Thiébold, 1964).

L'examen de nombreux œufs a permis de préciser les modalités de l'ouverture de la coque et de relier ce processus à certaines étapes du développement.

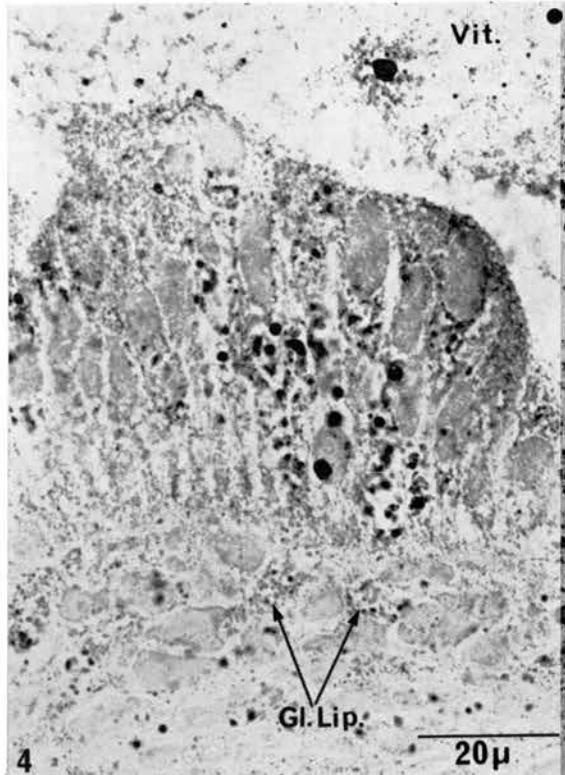
L'ouverture des boutonnières apparaît dans les œufs dont les embryons mesurent de 35 à 40 mm. Les extrémités des œufs moins avancés dans leur développement sont remplies d'une masse gélatineuse. L'étude de ce bouchon gélatineux par les méthodes histochimiques classiques a permis d'établir qu'il s'agissait d'un mélange de mucopolysaccharides. Les coupes de ce bouchon gélatineux, après fixation au Bouin, ont été traitées suivant la méthode de l'acétylation réversible. La réaction au PAS donne une teinte pourpre très intense

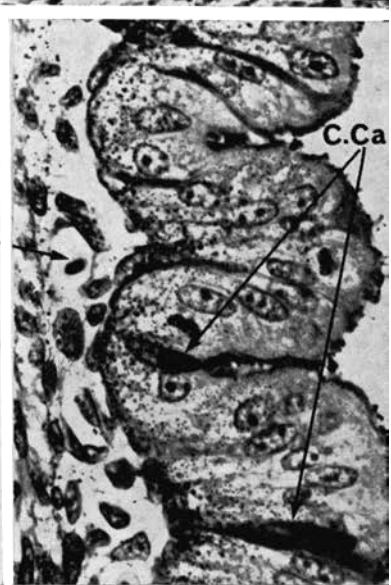
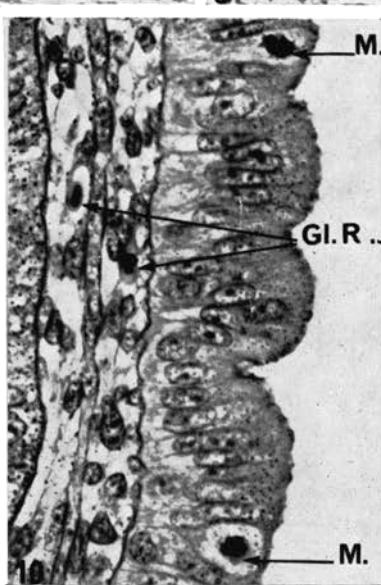
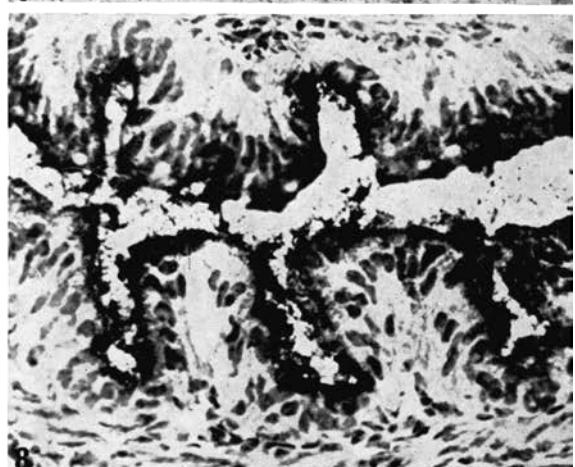
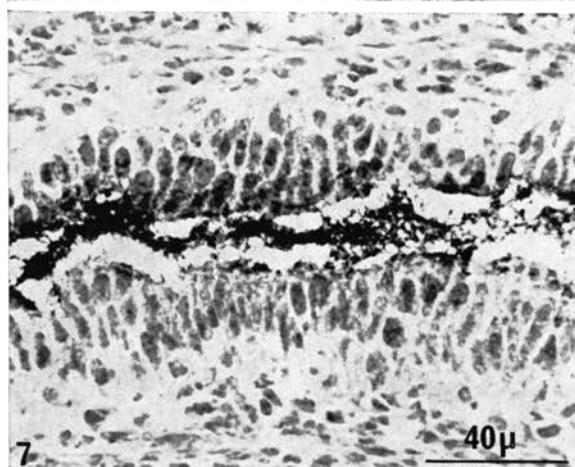
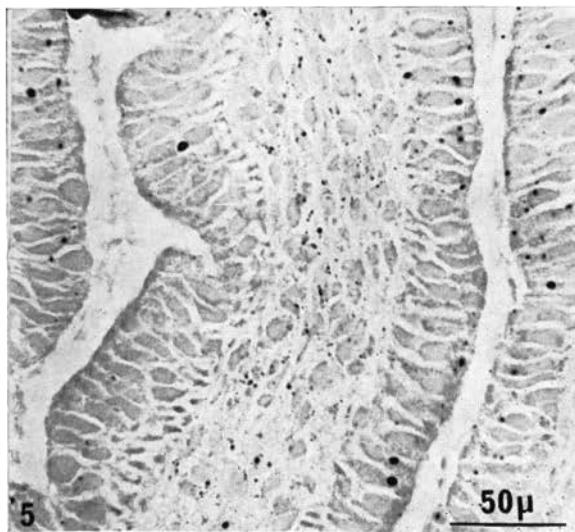
PLANCHE I

1. Coupe longitudinale du cordon ombilical au niveau de sa jonction avec la vésicule vitelline externe.
C.Cj.M. : couche conjonctive métachromatique ; V.Vit. : vaisseau vitellin ; Vit. : vitellus.
2. Coupe de la paroi de la vésicule vitelline externe.
Ect. : ectoderme ; L.M. : lame métachromatique ; End. : endoderme ; Vit. : vitellus.
- 3 et 4. Mise en évidence des lipides par le noir Soudan dans les coupes d'intestin d'embryons de 34 mm (3) et de 44 mm (4). Coloration nucléaire par la laque de rouge solide.
Gl. lip. : globules lipidiques ; Vit. : vitellus.
L'échelle de la figure 3 est indiquée sur la figure 4.



3





qui disparaît après acétylation et réapparaît après saponification ; cette réaction met en évidence un mucopolysaccharide neutre. Au voisinage des boutonnières, on peut observer de fines travées légèrement métachromatiques après traitement au bleu de toluidine (pH 3 à 4,2) ou colorées par le bleu Alcian (pH 2 à 4). Ces réactions caractérisent les mucopolysaccharides acides. Si on applique les mêmes techniques aux coupes de la glande nidamentaire qui élabore les enveloppes de l'œuf, on observe que la zone A — dite albumineuse — donne une intense réaction au PAS (Threadgold, 1957), qui disparaît après acétylation et réapparaît après saponification. Les cellules des couches superficielles des tubules de cette zone comportent des inclusions métachromatiques ou colorables par le bleu Alcian. Bien que cette zone soit dite albumineuse dans les travaux anciens, elle ne contient pas de protéines histochimiquement décelables (Vovelle, 1965). Quant à la zone B, zone très réduite, elle présente une métachromasie intense au bleu de toluidine (Threadgold, 1957) ; elle est fortement colorée par le bleu Alcian en milieu acide. Les autres zones, C, D et E, élaborent les divers constituants de la coque (Threadgold, 1957 et Vovelle, 1965).

La substance muqueuse qui obstrue les boutonnières de la coque est un mélange de mucopolysaccharides complexes, comprenant en majeure partie des mucopolysaccharides neutres sécrétés par la zone A de la glande nidamentaire et pour une faible part, des mucopolysaccharides acides.

En même temps que s'ouvrent les boutonnières de la coque, le vitellus s'engage dans le cordon ombilical puis passe dans l'intestin. La paroi du cordon ombilical est épaisse, les cellules de cette paroi sont très dilatées avec un cytoplasme peu dense comportant un produit de sécrétion métachromatique après coloration par le bleu de toluidine (pH 3), (Pl. I, 1). Au niveau de la vésicule vitelline externe, la paroi du cordon vitellin se réduit et elle est en continuité avec une mince lame métachromatique (Pl. I, 2), qui s'étend sous l'ectoderme. La métachromasie qui caractérise les mucopolysaccharides acides, disparaît après action de la hyaluronidase ; elle disparaît également après méthylation et elle réapparaît après action de la potasse. Ces réactions caractérisent l'acide hyaluronique et les mêmes techniques appliquées à des coupes de cordon ombilical humain nous ont donné des résultats

PLANCHE II

5 et 6. Mise en évidence des lipides par le noir Soudan dans les coupes d'intestin d'embryons de 34 mm (5) et de 44 mm (6). Coloration nucléaire par la laque de rouge solide.

P.V. : plaque vitelline.

7 et 8. Mise en évidence de l'activité phosphatasique alcaline suivant la méthode de Gomori-Takamatsu dans les coupes d'intestin d'embryons de 44 mm (7) et de 52 mm (8).

9, 10 et 11. Coupes d'intestin d'embryons colorées suivant la méthode de Hotchkiss-Mac Manus. Coloration nucléaire par l'hématoxyline de Groat.

9 : intestin d'embryon de 37 mm.

10 : intestin d'embryon de 44 mm.

GL.R. : globules rouges ; M. : mitose.

11 : intestin d'embryon de 52 mm.

GL.R. : globules rouges ; C.Ca : cellules caliciformes à mucus.

L'échelle de la figure 6 est indiquée sur la figure 5.

L'échelle des figures 8, 9, 10 et 11 est indiquée sur la figure 7.

identiques. Cette observation est en accord avec celle de Mc Connachie et Ford (1965) chez l'embryon de *Raja binoculata*.

La paroi épaisse du cordon ombilical délimite une lumière réduite occupée par l'artère et la veine vitellines et par le canal ombilical

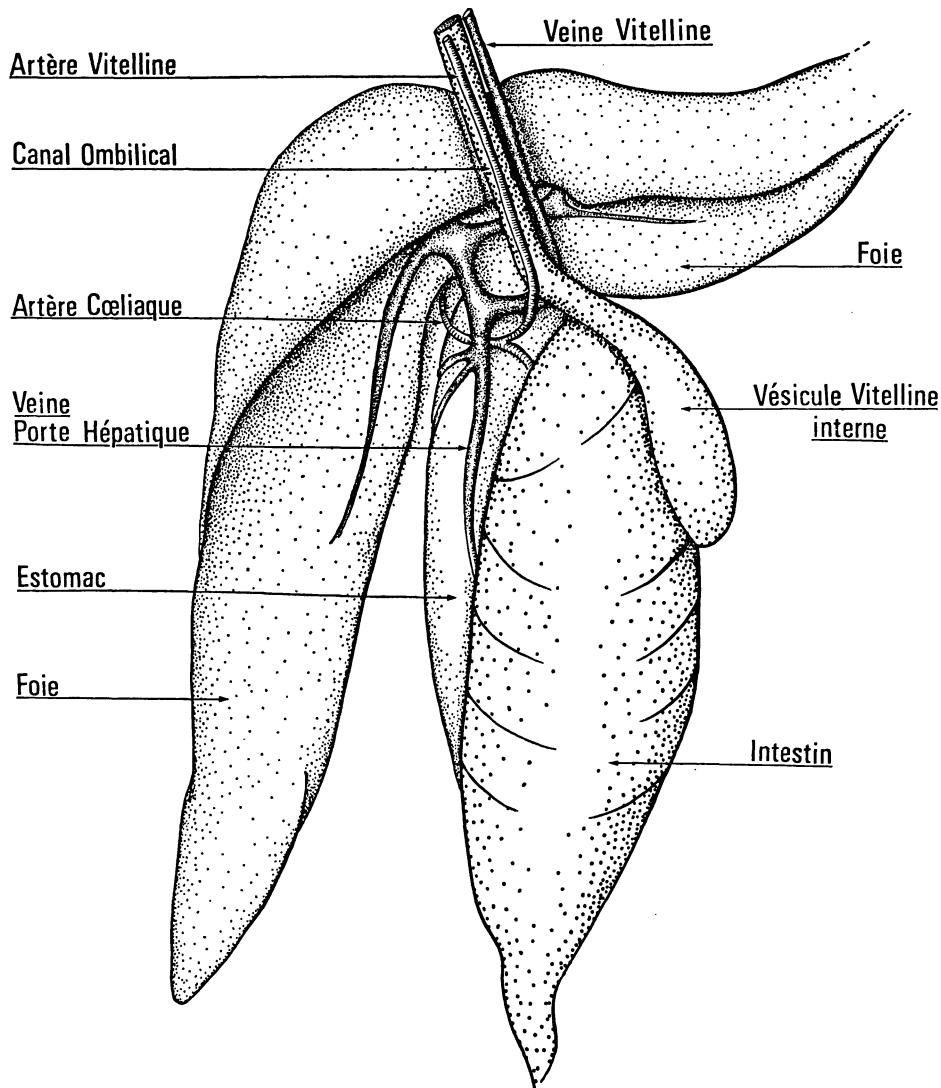


FIG. A

Irrigation de la vésicule vitelline externe chez un embryon de 50 mm.

Les lobes du foie ont été représentés relevés, l'intestin et la vésicule vitelline interne rabattus sur le côté droit.

communiquant avec l'intestin qui est plein de vitellus chez les embryons dont la coque est ouverte. Ce canal est visible ventralement à la surface du foie longé par l'artère vitelline qui se détache de l'artère coeliaque et par la veine vitelline qui conduit le sang à la veine porte hépatique (Fig. A). Le canal ombilical débouche à la

partie antérieure de l'intestin, au niveau de sa jonction avec l'estomac pylorique et c'est là que se forme, chez les embryons de 40 mm, dès le passage du vitellus dans l'intestin, un renflement qui constitue l'ébauche de la vésicule vitelline interne (Fig. B).

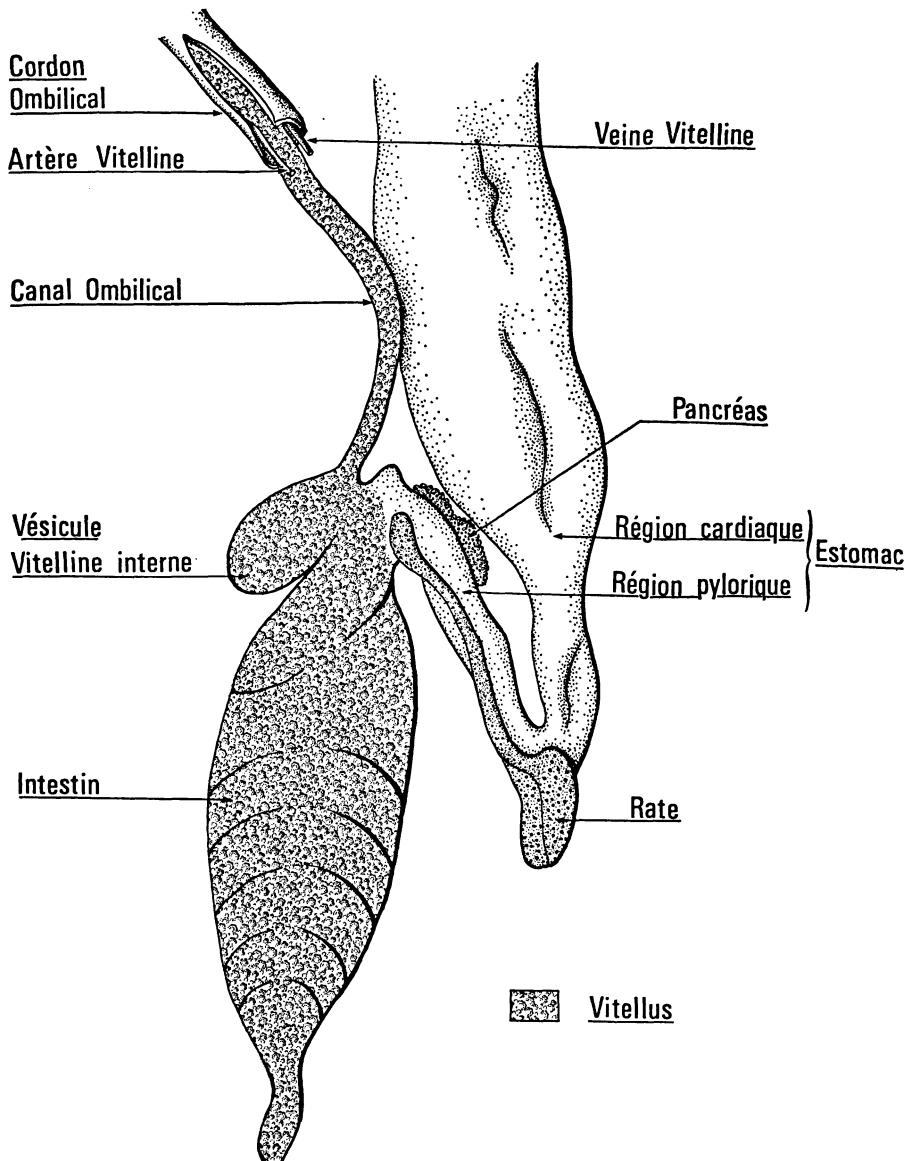


FIG. B
Relation entre le tube digestif et la vésicule vitelline externe chez un embryon de 50 mm.

L'estomac a été déplacé vers la droite.

Chez les embryons de 35 à 40 mm dont la coque est ouverte, on peut observer la présence de vitellus dans le cordon ombilical et dans l'intestin. Sur des dissections d'embryons anesthésiés, le vitellus

est observable dès son passage dans l'intestin grâce à la biréfringence des gouttelettes lipidiques bien visibles à travers la mince paroi intestinale, elles soulignent le bord des spires de la valvule spirale. Sur des coupes d'embryon de 35 mm (dont la coque est fermée), faites au cryostat, fixées et colorées au noir Soudan, on peut observer que les cellules de la muqueuse intestinale, comme tous les autres tissus, comportent des inclusions lipidiques en général volumineuses et également réparties et qu'il n'y a pas de vitellus dans la lumière de l'intestin (Pl. I et II, 3 et 5). Chez les embryons de 40 à 45 mm dont la coque est ouverte, la lumière intestinale contient du vitellus visible sous la forme d'abondantes gouttelettes lipidiques ; les plaquettes vitellines sont très rares. Les cellules de l'épithélium intestinal et celles du tissu conjonctif sous-jacent sont très riches en fines inclusions lipidiques (Pl. I et II, 4 et 6), et il y a absorption des lipides au niveau de l'épithélium intestinal.

Sur les coupes d'embryons de 30 à 35 mm à coque fermée, traitées suivant la méthode de Hotchkiss (PAS), la muqueuse intestinale apparaît sans villosités, formée d'un épithélium dont les cellules sont toutes semblables, dépourvues de bordure en brosse et très riches en glycogène. Le tissu conjonctif sous-jacent est pauvre en fibres et sans vascularisation apparente, ses éléments sont disposés sans orientation préférentielle (Pl. II, 9). La réaction des phosphatases alcalines est négative après une heure d'incubation.

Chez les embryons de 44 à 47 mm, les villosités s'ébauchent, les cellules épithéliales sont plus hautes que dans le cas précédent, on observe de nombreuses mitoses, la bordure en brosse apparaît légèrement positive après coloration par le PAS. Il n'y a pas de cellules à mucus (Pl. II, 10). La réaction des phosphatases alcalines est positive seulement au niveau du contenu intestinal qui, par ailleurs, est très riche en inclusions glycogéniques (Pl. II, 7).

Chez les embryons de 50 à 52 mm, les cellules caliciformes à mucus apparaissent, les villosités se différencient (Pl. II, 11). Les cellules épithéliales sont allongées, moins riches en glycogène que chez les embryons plus jeunes, leur partie supérieure est le siège d'une activité phosphatasique alcaline intense (Pl. II, 8), la bordure en brosse est intensément colorée après PAS. A ce stade, la muqueuse a acquis les éléments fondamentaux de sa structure, éléments que l'on retrouve plus accentués chez les embryons plus âgés.

Discussion

Balfour a écrit : « Les éléments nutritifs du sac vitellin sont portés à l'embryon en partie par le canal ombilical et pénètrent par conséquent dans l'intestin, en partie par les vaisseaux sanguins du mésoblaste du sac ». Chez *Scyllium*, Beard (1896) a observé le passage du vitellus et sa digestion dans l'intestin des embryons de 32 mm, ainsi que la formation d'une vésicule vitelline interne aux dépens de la vésicule vitelline externe. Ultérieurement, chez *Scylliorhinus canicula*, Macé (1936) a conclu qu'il n'y avait pas absorption au niveau de l'intestin étant donnée l'absence de plaquettes vitellines dans les

coupes d'intestin. Or, les éléments nutritifs contenus dans la lumière intestinale comportent du glycogène et d'abondantes inclusions lipidiques provenant de la désagrégation des plaquettes vitellines au niveau du sac vitellin ; les plaquettes vitellines y sont très rares. C'est pourquoi, après une coloration topographique sur coupes faites après inclusion à la paraffine, la lumière intestinale apparaît pratiquement vide chez les embryons de 40-45 mm. Or, chez ces animaux, l'épithélium intestinal ainsi que le tissu conjonctif sous-jacent sont très riches en matériel soudanophile ; ceci indique une absorption de lipides au niveau de la muqueuse intestinale. Cette observation est en accord avec celle de Te Winkel (1943) chez *Squalus acanthias*. Cet auteur a montré que la digestion et l'absorption intestinale du vitellus commencent chez les embryons de 65-70 mm (les animaux mesurent à la naissance 250-300 mm). Chez l'embryon de Roussette, l'apparition des phosphatases alcalines et l'individualisation de la bordure en brosse sont plus tardives, elles font suite à une phase de multiplication cellulaire liée à la formation des villosités. Ainsi, on peut penser que la digestion intestinale du vitellus n'est pas un processus qui apparaît d'emblée, dès le passage du vitellus dans l'intestin, comme l'ont admis Beard et Te Winkel, mais que la différenciation de la muqueuse intestinale se fait progressivement, après l'ouverture de la coque et l'arrivée du vitellus. Ainsi, l'absorption des éléments nutritifs libérés par la dégradation des plaquettes vitellines précède l'apparition des processus digestifs proprement dits. A partir du stade de 55 à 60 mm, l'épithélium intestinal est différencié du point de vue histologique. Ainsi que l'a montré Beard, chez les animaux plus âgés, à mesure que la vésicule vitelline externe se réduit et que son irrigation sanguine régresse, la digestion du vitellus au niveau de l'intestin remplace progressivement la nutrition par le réseau sanguin vitellin. Chez les animaux de plus de 80 mm, ou bien la vésicule vitelline externe est réduite à une poche non vascularisée ou bien elle a disparu et, pour ces animaux, la digestion intestinale du vitellus mis en réserve dans la vésicule vitelline interne est la seule source de substances nutritives.

Ces résultats peuvent être comparés à ceux obtenus par Moog (1950) chez l'embryon de Poulet *in vivo*. Cet auteur a montré que la différenciation fonctionnelle du petit intestin (allongement des cellules, présence de glycogène, apparition de la bordure en brosse et des phosphatases alcalines) se produit dans les jours qui précèdent l'éclosion (16^e au 20^e jour d'incubation). Chez l'embryon de Roussette, la différenciation de la muqueuse intestinale s'ébauche après l'ouverture de la coque, durant la pénétration progressive de l'eau de mer à l'intérieur de l'œuf. Par ailleurs, Moog et Richardson (1955), en expérimentant sur l'embryon *in vivo* et Hayes (1965) en culture *in vitro*, ont montré que la différenciation de la muqueuse intestinale peut être obtenue précocement par administration de corticostéroïdes. Moog et Richardson (1955) suggèrent que cette « différenciation est normalement contrôlée par les sécrétions des glandes surrénales de l'embryon lui-même ». Ces derniers résultats permettent de poser le problème de l'intervention de l'interrénale dans la différenciation de la muqueuse intestinale chez l'embryon de Roussette. Il convient de noter, à ce sujet, que la $\Delta 5 - 3 \beta$ — hydroxystéroïde déshydrogénase,

qui intervient dans la biosynthèse des hormones stéroïdes, apparaît au niveau de l'interrénale bien avant l'ouverture de la coque. En effet, nous avons observé que cet enzyme y est déjà abondant chez les embryons de 12 mm.

Il est intéressant de remarquer que c'est également dans les embryons de 30 à 40 mm que s'achève la différenciation des gonades (Chieffi, 1959 et Thiébold, 1964). Enfin, Vivien et Rechenmann (1954) ont montré que l'organisation définitive des vésicules thyroïdiennes apparaît chez les embryons de 35 mm.

CONCLUSION

Le stade 35-40 mm (ouverture de la coque) marque la fin de la phase embryonnaire proprement dite, à laquelle succède une étape intermédiaire caractérisée par la pénétration progressive de l'eau de mer à l'intérieur de l'œuf. Cette période représente en quelque sorte une éclosion ménagée, assurant à l'embryon une transition entre le milieu intérieur de l'œuf fermé et l'eau de mer. C'est durant cette phase que s'ébauche la différenciation de l'épithélium intestinal et que commence l'absorption intestinale du vitellus. Ce mode de nutrition remplace l'apport des éléments nutritifs fournis par le sac vitellin, il se prolonge au-delà de l'éclosion grâce à l'existence de la vésicule vitelline interne et il assure ainsi aux jeunes une période d'adaptation à la vie libre et à la recherche de la nourriture.

Summary

The time elapsed between the laying of the eggs of the Dogfish and their hatching is highly variable and the age of the embryos computed from the day of laying gives an erroneous estimate of their stage of development. On the other hand, body-length measurements are an excellent age-indicator.

After hatching, the breeding of the youngs is possible. By keeping them to a temperature between 13 to 16°C, they measure 95 to 110 mm when hatching, 15 cm when one-year old, 20 to 25 cm at two, 30 to 35 cm at three and approximately 45 cm at four-years old.

When the embryos reach 35 to 40 mm, the shell button-holes split open and thus allow the intake of sea-water into the egg-capsule. Until then these button-holes were choked up with a mucous stopper, the major components of which being neutral mucopolysaccharides secreted by the A-zone of the nidamental gland.

In the thickened coat of the yolk stalk and in the external tissue of the yolk sack hyaluronic acid is present.

Inside the yolk stalk lumen, the yolk artery, the yolk vein and the yolk duct are to be found. The yolk artery parts from the coeliac artery, the yolk vein carries the blood back to the portal vein, and the yolk duct is connected to the intestine and to the internal yolk sack.

In the 35 to 40 mm-long and open-capsuled embryos, the yolk proceeds through the yolk stalk towards the intestine where lipids are absorbed and into the internal vesicle where they are stored.

The beginning of the internal epithelium differentiation takes place just after the splitting open of the egg-capsule when the embryos are 40 to 50 mm in length.

Zusammenfassung

Die Entwicklungsdauer der Eier des Katzenhais bis zum Schlüpfen ist variabel und der Entwicklungsgrad der Embryonen kann nicht genau bestimmt werden, wenn man den Moment der Eiablage als Ausgangspunkt nimmt. Die Grösse des Embryos dagegen ist ein ausgezeichnetes Kriterium.

Die Jungen können auch nach dem Schlüpfen aufgezogen werden. Wenn sie in einer Temperatur von 13° bis 16° gehalten werden, messen sie beim Schlüpfen 95 bis 110 mm, im Alter von einem Jahr 15 cm, mit zwei Jahren 20 bis 25 cm, mit drei Jahren 30 bis 35 cm und mit vier Jahren ungefähr 45 cm.

Wenn die Embryonen 35 bis 40 mm gross sind, treten in der Schale Öffnungen auf, die Meerwasser ins Innere der Schale treten lassen. Vor diesem Moment sind diese Öffnungen mit einem Schleimpfropf geschlossen, der vor allem neutrale Mucopolysaccharide enthält, die aus der Zone A der nidamentären Drüse stammen.

Die verdickte Wand der Nabelschnur sowie die Membran des äusseren Dottersacks enthalten Hyaluronsäure.

Das Lumen der Nabelschnur enthält die Dotterarterie, die sich von der Coelomarterie abtrennt und zur Dottervene führt, die das Blut zur Pfortader und zum Nabelkanal führt, der mit den Eingeweiden und mit dem inneren Dottersack in Verbindung steht.

Bei Embryonen von 35 bis 40 mm, deren Schale geöffnet ist, gelangt der Dotter in die Nabelschnur und in die Eingeweide, wo die Lipide absorbiert werden, sowie in den inneren Dottersack, wo die Lipide in Reserve gelagert werden.

Das Eingeweideepithelium beginnt seine Differenzierung bei Embryonen von 40 bis 50 mm, in der Periode nach der Eröffnung der Schale.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- BALFOUR, F.M., 1876. — The development of Elasmobranch fishes. *J. Anat. and Phys.*, 10, pp. 517-570.
- BALFOUR, F.M., 1878. — A monograph on the development of Elasmobranch fishes. London, Mac Millan.
- BEARD, J., 1896. — The yolk-sac, yolk and merocytes in *Scylium* and *Lepidosteus*. *Anat. Anz.*, 12, pp. 334-347, d'après Te Winkel.
- CHIEFFI, G., 1959. — Sex differentiation and experimental reversal in Elasmobranch fishes. *Arch. Anat. micr. Morphol. expér. Fr.*, 48 bis, pp. 21-36.
- COLLENOT, G. et OZON, R., 1964. — Mises en évidence biochimique et histochimique d'une Δ_5 - β -hydroxystéroïde déshydrogénase dans le testicule de *Scyliorhinus canicula* L. *Bull. Soc. Zool. France*, 89, pp. 577-587.
- DODD, J.M., DODD, M.H.I., GODDARD, C.K., 1959. — Force under feeding fish-experimental conditions. *Nature*, suppl., G.B., 184, pp. 1660-1661.
- GABE, M. et MAROJA-PIERSON, M., 1956. — Rôle du facteur temps dans l'acétylation réversible suivant Mc Manus et Cason. *Ann. Histochemistry*, 1, pp. 181-190.
- HAYES, R.L., 1965. — The maturation of cortisone-treated embryonic duodenum *in vitro*. I. The villus. *J. Embryol. exp. Morph.*, 14, pp. 161-168.
- HAYES, R.L., 1965. — The maturation of cortisone-treated embryonic duodenum *in vitro*. II. The striated border. *J. Embryol. exp. Morph.*, 14, pp. 169-179.
- LISON, L., 1960. — Histochemistry and cytochemistry animales. Gauthier-Villars éd., Paris.
- MACÉ, S., 1936. — Résorption du vitellus chez deux Sélaciens. *Trav. Stat. Biol. Roscoff*, 14, pp. 91-107.
- MC CONNACHIE, P.R. and FORD, P., 1965. — Histochemistry of the elasmobranch yolk stalk. *Canadian J. of Biochem.*, 43, pp. 128-130.
- MC MANUS, J.F.A. et CASON, J., 1950. — Carbohydrate histochemistry studied by acetylation techniques. I - Periodic acid methods. *J. exp. Med.*, 91, pp. 651-656.
- MOOG, F., 1950. — The functional differentiation of the small intestine. I - The accumulation of alkaline phosphomonoesterase in the duodenum of the chick embryo. *J. exp. Zool.*, 115, pp. 109-130.
- MOOG, F. and RICHARDSON, D., 1955. — The functional differentiation of adrenocortical hormones on differentiation and phosphatase synthesis in the duodenum of the chick embryo. *J. exp. Zool.*, 130, pp. 29-51.

- OUANG TE YIO, 1931. — La glande de l'éclosion chez les Plagiostomes. *Ann. Inst. Océan. Paris*, 10, pp. 283-370.
- TE WINKEL, L.E., 1943. — Observations on later phases of embryonic nutrition in *Squalus acanthias*. *J. Morph. Philadelphia*, 73, pp. 177-205.
- THIÉBOLD, J., 1964. — Contribution à l'étude de l'organogénèse urogénitale et de son déterminisme chez un Poisson Elasmobranche : la petite Roussette *Scylliorhinus caniculus* L. *Bull. Biol. France Belgique*, 88, pp. 255-347.
- THREADGOLD, L.D., 1957. — A histochemical study of the shell gland of *Scylliorhinus caniculus*. *J. Histochem. and Cytochem.*, 5, pp. 159-166.
- VIVIEN, J.H., 1941. — Contribution à l'étude de la physiologie hypophysaire dans ses relations avec l'appareil génital, la thyroïde, les corps suprarénaux chez les Poissons et Téléostéens, *Scylliorhinus canicula* et *Gobius paganellus*. *Bull. Biol. France Belgique*, 75, pp. 257-309.
- VIVIEN, J.H. et RECHENMANN, R., 1954. — Etude sur la fonction thyroïdienne de l'embryon de Sélaïen. *C.R. Soc. Biol.*, 47, pp. 170-172.
- VOVELLE, J., 1965. — Sur la présence de groupes -SH et -S-S- dans la sécrétion de la glande nidamentaire chez *Scylliorhinus canicula* L. *C.R. Acad. Sc. Paris*, 260, pp. 5945-5947.
- WINTREBERT, P., 1922. — Le stade K de Balfour chez les embryons de Sélaïen, sa division nécessaire aux points de vue anatomique et physiologique. *C.R. Soc. Biol.*, 87, pp. 351-356.