

Année 2006



**REALISATION D'UN ATLAS INTERACTIF
D'HISTOLOGIE TOPOGRAPHIQUE
DU POISSON MEDAKA
(*Oryzias latipes*)**

THESE

Pour le

DOCTORAT VETERINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le.....

par

Anne-Laure, Marie, Emmanuelle BAUCHET

Née le 24 janvier 1980 à Blois (Loir-et-Cher)

JURY

Président : M.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL

Membres

Directeur : M. FONTAINE

Professeur à l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

Assesseur : M. DEGUEURCE

Professeur à l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur COTARD Jean-Pierre

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard

Professeurs honoraires: MM. BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, LE BARS Henri, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Adjoint : M. DEGUEURCE Christophe, Professeur

<p>-UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur* Mlle ROBERT Céline, Maître de conférences M. CHATEAU Henri, Maître de conférences</p> <p>-UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE , MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur</p> <p>-UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE M. BRUGERE Henri, Professeur Mme COMBRISSEON Hélène, Professeur* M. TIRET Laurent, Maître de conférences</p> <p>-UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur * M. TISSIER Renaud, Maître de conférences M. PERROT Sébastien, Maître de conférences</p> <p>-UNITE DE BIOCHIMIE M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences M. BELLIER Sylvain , Maître de conférences</p>	<p>- UNITE D'HISTOLOGIE , ANATOMIE PATHOLOGIQUE M. CRESPEAU François, Professeur M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme BERNEX Florence, Maître de conférences Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences</p> <p>-DISCIPLINE : PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES M. MOUTHON Gilbert, Professeur</p> <p>-UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET CLINIQUE M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur Melle ABITBOL Marie, Maître de conférences</p> <p>-DISCIPLINE : ETHOLOGIE M. DEPUTTE Bertrand, Professeur</p> <p>-DISCIPLINE : ANGLAIS Mme CONAN Muriel, Ingénieur Professeur agrégé certifié</p>
---	--

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département : M. FAYOLLE Pascal, Professeur - Adjoint : M. POUCHELON Jean-Louis , Professeur

<p>- UNITE DE MEDECINE M. POUCHELON Jean-Louis, Professeur* Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. BLOT Stéphane, Maître de conférences M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY Christelle, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE CLINIQUE EQUINE M. DENOIX Jean-Marie, Professeur M. AUDIGIE Fabrice, Maître de conférences* Mme GIRAUDET Aude, Professeur contractuel Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel M. PICCOT-CREZOLLET Cyrille, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Maître de conférences* (rattachée au DPASP) M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Melle CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP) Melle LEDOUX Dorothée, Maître de conférences Contractuel (rattachée au DPASP)</p>	<p>- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. MOISSONNIER Pierre, Professeur Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mlle RAVARY Béangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences contractuel M. HIDALGO Antoine, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE RADIOLOGIE Mme BEGON Dominique, Professeur* Mme STAMBOULI Fouzia, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE D'OPHTALMOLOGIE M. CLERC Bernard, Professeur* Melle CHAHORY Sabine, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES M. CHERMETTE René, Professeur M. POLACK Bruno, Maître de conférences* M. GUILLLOT Jacques, Professeur Mme MARIIGNAC Geneviève, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE DE NUTRITION-ALIMENTATION M. PARAGON Bernard, Professeur * M. GRANDJEAN Dominique, Professeur</p>
--	--

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences

<p>-UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES M. BENET Jean-Jacques, Professeur* Mme HADDAD/ H0ANG-XUAN Nadia, Maître de conférences Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences</p> <p>-UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : BIOSTATISTIQUES M. SANAA Moez, Maître de conférences</p>	<p>- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Maître de conférences*</p> <p>- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences* Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences M. ADJOU Karim, Maître de conférences</p>
--	---

Mme CALAGUE, Professeur d'Education Physique

* Responsable de l'Unité

AERC : Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur

De la Faculté de Médecine de Créteil,
Qui a présidé ce jury de thèse,

A Monsieur le Professeur FONTAINE

De l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui a proposé le sujet de cette thèse,
Et qui a accepté de la diriger,

A Monsieur le Professeur DEGUEURCE

De l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Qui a accepté de relire cette thèse,

A Mesdames CHATEAU-JOUBERT et HUET

Ingénieures d'étude,
Au service d'anatomie pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour leur soutien, leurs idées et leurs aides techniques,

A Monsieur ALLOUCHE

Du service informatique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort,
Pour son aide à la conception du site internet,

A Monsieur EDERY

Directeur de recherches détaché de l'INSERM,
Responsable de l'animalerie médaka au Muséum National d'Histoire Naturelle,
Pour avoir accepté de participer au projet et de fournir des poissons,

Je vous adresse mes plus vifs remerciements.

REALISATION D'UN ATLAS INTERACTIF D'HISTOLOGIE TOPOGRAPHIQUE DU POISSON MEDAKA (*Oryzias latipes*)

NOM et Prénom : BAUCHET Anne-Laure

Le médaka est un petit poisson téléostéen originaire d'extrême orient utilisé en expérimentation animale et particulièrement en embryologie, en génétique et en écotoxicologie, où il est apprécié pour sa petite taille, sa facilité d'élevage, ses particularités biologiques et l'expérience acquise dans son utilisation. Si son développement embryonnaire est bien décrit, peu de données sont disponibles sur l'anatomie du poisson adulte. Afin de combler ce manque, un atlas d'histologie topographique du médaka a été conçu.

A partir de quatre animaux mâles et femelles, âgés de deux mois, des coupes histologiques longitudinales et transversales ont été réalisées, sélectionnées et prises en photos. Grâce aux données bibliographiques disponibles sur l'anatomie des poissons, les organes ont été identifiés et les images légendées (10 coupes longitudinales, 24 coupes transversales et 11 gros plans) ont servi de base à la réalisation d'un site internet, qui sera mis en ligne sur le site de l'ENVA et référencé.

L'étude des coupes a également permis de mettre en évidence des particularités anatomiques du poisson médaka et des repères anatomiques externes pour la réalisation de coupes transversales d'organes.

Ce travail ne constitue que la première étape d'une étude plus approfondie sur l'anatomie et l'histologie du poisson médaka.

Mots clés : Poisson, medaka, *Oryzias latipes*, anatomie, histologie topographique, internet.

Jury :

Président : Pr.

Directeur : Pr. FONTAINE

Assesseur : Pr. DEGUEURCE

Invité : M. EDERY

Adresse de l'auteur : 89 rue du Château, 75014 PARIS.

DESIGN OF A MEDAKA FISH (*Oryzias latipes*) INTERACTIVE DIGITAL ATLAS OF TOPOGRAPHIC HISTOLOGY

SURNAME and first name: BAUCHET Anne-Laure

Medaka is a small teleostean fish from the Far East used as a laboratory animal particularly in embryology, genetics and ecotoxicology. It is appreciated for its small size, easy breeding, biologic characteristics and acquired experience in its use. A lot of data are available about its embryonic development but only few data exist about adult anatomy. For this reason a digital atlas of topographic histology was designed.

From four male and female animals of the age of two months, longitudinal and transverse sections were performed, selected and photographed. Thanks to fish anatomy bibliographic data, organs were identified and picture captions added. These pictures were the base for the design of an internet site. This site will be online on the Alfort veterinary school internet site and will be registered in the web.

Study of the sections has permit to underline few medaka anatomic particularities and external anatomic hallmarks to perform organ transverse sections.

The work is the first step of a more exhaustive study about medaka anatomy and histology.

Keywords: fish, medaka, *Oryzias latipes*, anatomy, topographic histology, internet.

President : Pr.

Director : Pr. FONTAINE

Assessor : Pr. DEGUEURCE

Guest : M. EDERY

Author's address: 89 rue du Château, 75014 PARIS

ABBREVIATIONS

APS: Acide Périodique- réactif de Schiff

DEN: Diéthylnitrosamine

ENVA: Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

HCl: Acide Chlorhydrique

HES: Hématoxyline-Eosine-Safran

MNHN: Muséum National d'Histoire Naturelle

O.: genre Oryzias

S.O.: Sans Objet

SRY: Sex-determining Region Y

TABLE DES MATIERES

Introduction	3
Partie 1 : Le poisson médaka	5
LE POISSON MEDAKA : ORIGINE, POSITION SYSTEMATIQUE ET BIOLOGIE	5
LE POISSON MEDAKA : UN MODELE ANIMAL	14
Partie 2 : Conception de l'atlas interactif d'histologie topographique du médaka adulte .23	
REALISATION DES COUPES ET OBTENTION DES PHOTOS	23
IDENTIFICATION DES ORGANES A PARTIR D'ELEMENTS DE L'ANATOMIE DES TELEOSTEENS .27	
TRAITEMENT DES IMAGES ET REALISATION DU SITE INTERNET	44
Partie 3 : Observation des coupes et particularités anatomiques du poisson médaka	49
MORPHOLOGIE EXTERNE DU POISSON MEDAKA, MUSCULATURE ET PEAU	49
APPAREIL BRANCHIAL ET VASCULAIRE	50
APPAREIL DIGESTIF ET VESSIE GAZEUSE	57
APPAREIL URINAIRE	64
APPAREIL REPRODUCTEUR	66
SYSTEME NERVEUX	69
LES ORGANES DES SENS	70
GLANDES ENDOCRINES	73
ORGANES LYMPHOHEMATOPOÏETIQUES	75
Conclusion	81
Bibliographie	83

INTRODUCTION

Originnaire d'extrême orient, le médaka, *Oryzias latipes*, est un petit poisson téléostéen commun de la faune aquatique des cours d'eau et des rivières japonaises. Dépourvu d'intérêt économique, sa petite taille étant peu adaptée à une consommation alimentaire par l'Homme, son nom n'a jamais été unifié. Il existe en effet 5000 dénominations pour ce petit poisson en japonais, un record pour cette langue (41) et preuve de l'intérêt particulier qui lui est porté. Le nom le plus répandu est néanmoins « médaka » qui peut s'écrire en alphabet syllabique « Mé-da-ka » ou en écriture traditionnelle. Les idéogrammes désignant le médaka sont alors « œil » et « grand », faisant référence au développement important des yeux sur le tête de ce poisson (48). (Figure 1)

Figure 1 : Ecriture syllabique (à gauche) et traditionnelle (à droite) du nom médaka en langue japonaise par Ishida Kayoko.



Facile à obtenir et à élever, le médaka est utilisé depuis le début du siècle dernier en expérimentation animale au Japon. Dès 1913, il a été l'objet d'études sur la transmission des gènes, la détermination du sexe et la pigmentation (41, 48). C'est d'ailleurs le premier poisson

chez lequel ont été validées les lois mendéliennes de l'hérédité par TOYAMA en 1916 et chez lequel AIDA a établi en 1921 une hérédité partielle liée au chromosome Y (48).

Depuis une vingtaine d'années, ce poisson est également devenu un animal de laboratoire aux Etats-Unis et en Europe. L'essor de ce modèle est surtout lié au développement de l'embryologie, de la génétique et de l'écotoxicologie (48).

A la faveur d'un stage de deuxième année de master d'écotoxicologie à l'USM505 « Ecosystèmes et interactions toxiques » du Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) et au laboratoire d'anatomie pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort (ENVA), j'ai été amenée à travailler avec le médaka. L'objet de mes recherches était l'étude de la toxicité aiguë de la microcystine-LR, toxine de cyanobactérie, sur le foie du poisson médaka adulte (3). Ce travail, en grande partie basé sur des études anatomopathologiques, exigeait de nombreuses dissections et observations microscopiques des organes. Des données sur l'anatomie et l'histologie du médaka étaient nécessaires.

Or, s'il existe de nombreuses études sur le développement embryonnaire du médaka (2, 10, 43, 22, 46, 32, 50, 51, 24, 8), peu d'informations sont disponibles sur le poisson adulte (49).

Afin, de combler ce manque fut émise l'idée de réaliser un atlas d'histologie topographique du médaka sous la forme d'un site internet, accessible au plus grand nombre.

Cet atlas a plusieurs objectifs : il permettra une meilleure connaissance du modèle et en particulier un abord plus rapide des lames en apportant des repères histologiques et il pourra être un outil appréciable pour les étudiants voulant se familiariser avec le médaka et en particulier sa dissection. Enfin, ce travail constitue une première étape vers des études histologiques plus poussées des constituants cellulaires de chaque organe.

La réalisation de l'atlas a été effectuée en plusieurs étapes. Tout d'abord, des coupes de médaka ont été réalisées. Ensuite, à partir des données disponibles sur l'anatomie des poissons, les organes ont été identifiés. Enfin, les images ont été traitées, légendées et le site internet a été conçu.

Ces différentes étapes sont retracées dans ce texte de thèse.

La première partie est consacrée à des informations générales sur le médaka et son utilisation comme modèle animal. La seconde partie détaille les différentes étapes de la conception du site internet. Enfin la troisième partie souligne quelques particularités anatomiques du médaka qui ont pu être déduites de l'observation des coupes.

Partie 1 : LE POISSON MEDAKA

La répartition géographique, la place dans la classification systématique et la biologie du médaka sont les premiers thèmes de recherche qui ont été abordés dès le début du siècle dernier au Japon (48, 49). Son utilisation comme modèle animal dans divers domaines de la recherche est plus récente, et date d'une vingtaine d'années seulement en Europe et en Amérique du Nord (48).

Dans cette première partie, nous détaillerons d'abord l'origine, la position systématique et la biologie du médaka avant de faire le point sur son utilisation comme modèle animal.

I. LE POISSON MEDAKA : ORIGINE, POSITION SYSTEMATIQUE ET BIOLOGIE

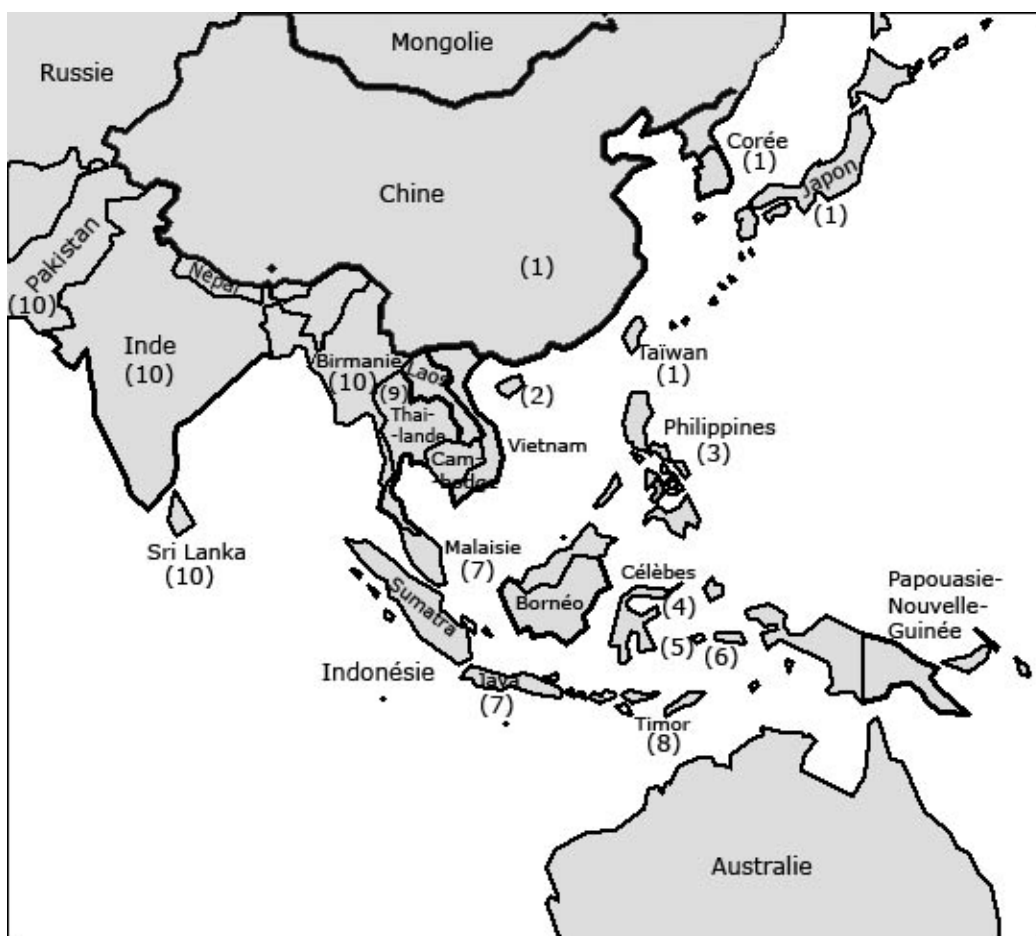
A. Origine

Le médaka, *Oryzias latipes*, est un petit poisson d'eau douce présent à l'état sauvage essentiellement au Japon, mais aussi dans l'est de la Chine et en Corée (*figure 2*). Il vit dans des eaux douces à saumâtres, en particulier dans les rizières, d'où son surnom de « japonese rice fish (poisson des rizières japonaises) » dans le monde anglophone (48).

Le genre *Oryzias* « rice fish (poisson des rizières) » est représenté par de nombreuses espèces réparties entre l'Inde et les archipels indo-australiens en passant par le Japon (*figure 2*). Leur habitat est les rizières, les cours d'eau côtiers à faible courant et les mangroves (49, 27).

Une grande diversité d'espèces est présente dans l'île des Célèbes en Indonésie (*figure 2*), semblant indiquer que cette île est le berceau de ce genre ; la diversification aurait eu lieu ensuite sur les continents adjacents (27).

Figure 2 : Répartition géographique des principales espèces du genre *Oryzias*. (D'après 49 et 27.)



(1) *Oryzias latipes* : Japon, Corée, Taïwan et Chine.

(2) *O. curvinotus* : île de Hainan

(3) *O. luzonensis* : Philippines

(4) *O. celebensis* : île des Célèbes

(5) *O. matenensis* : île des Célèbes

(6) *O. marmoratus* : île des Célèbes

(7) *O. javanicus* : Indonésie et Malaisie

(8) *O. timorensis* : île du Timor

(9) *O. minutillus* : Thaïlande

(10) *O. dancena* : Inde, Pakistan et Sri Lanka.

B. Position systématique

Le médaka a été décrit pour la première fois scientifiquement sous le nom de *Poecilia latipes* dans l'ouvrage « *Fauna Japonica* » publié en 1850, écrit par le naturaliste hollandais Phillip Franz von Siebold. En 1906, Jordan et Snyder renomment l'espèce *Oryzias latipes* d'après le nom scientifique du riz, *Oryza sativa*, les rizières étant le principal habitat du petit poisson (48).

Selon la classification systématique des poissons (33), le médaka est un Téléostéen de la classe des Actinoptérygiens, de l'ordre des Béloniformes et de la famille des Adrianichthyidés. (*Figure 3 et Tableau 1*)

Tableau 1 : Tableau récapitulatif de la position systématique du médaka avec les caractéristiques de chaque groupe. (*D'après 16.*)

Super-classe des Poissons (contient 2 classes : Chondrichthyens, Ostéichthyens)	Vertébrés gnathostomes Mode de vie aquatique Peau recouverte d'écaille Présence de nageoires paires et impaires
Classe des Ostéichthyens (contient 3 sous-classes : Crossoptérygiens, Dipneustes, Actinoptérygiens)	Squelette partiellement ou entièrement ossifié Branchies protégées par un opercule
Sous-classe des Actinoptérygiens (contient 2 super-ordres : Chondrostéens et Téléostéens)	Branchies en peigne Nageoires soutenues par des éléments rayonnants articulés aux ceintures
Super-ordre des Téléostéens (contient plus de 40 ordres)	Squelette +/- complètement ossifié Ecailles cycloïdes Bouche terminale Nageoire caudale homocerque ^a
Ordre des Beloniformes (contient 5 familles : Adrianichthyidés, Belonidés, Exocoetidés, Hemiramphidés, Scomberesocidés)	Corps étroit et allongé Nageoire dorsale unique très postérieure à l'aplomb de l'anus, et superposée à la nageoire anale Museau pouvant se transformer en un bec fin et pointu Poissons essentiellement marins

a: nageoire caudale symétrique

L'ordre des Béloniformes, dont le nom vient de « βελός » signifiant aiguille réunit les poissons de la famille du médaka (Adrianichthyidés, 18 espèces), avec les poissons volants (Exocoetidés, plus de 50 espèces), les demi-becs (Hémiramphidés, plus de 85 espèces), les aiguillettes (Belonidés, plus de 30 espèces) et les Scomberesocidés (4 espèces) (33).

Les quatre dernières familles sont composées de poissons épipélagiques de taille petite à modérée. La plupart sont marins, mais approximativement un tiers des demi-becs et des aiguillettes vivent en eau douce. Ces quatre familles sont toutes caractérisées par des nageoires anales et dorsales uniques à peu près de tailles égales et localisées proches de la queue. Les nageoires sont situées en position abdominale et aucune ne porte d'épines. La ligne latérale est bien développée sur le corps qui est long et étroit (33).

La famille des Adrianichthyidés contient trois sous-familles, quatre genres et 27 espèces (27). Le médaka appartient à la sous famille des Oryziinés, composés d'un genre unique « *Oryzias* » contenant 21 espèces. Deux espèces d'Adrianichthyidés du bassin du Mékong entre la Thaïlande et le Vietnam représentent les plus petits spécimens de vertébrés d'eaux douces (27). Certaines espèces de la famille n'ont été décrites que récemment, comme *O. uwai* par Roberts en 1998 (27).

Tableau 2 : Principales espèces de la famille des Adrianichthyidés. (D'après 49 et 27.)

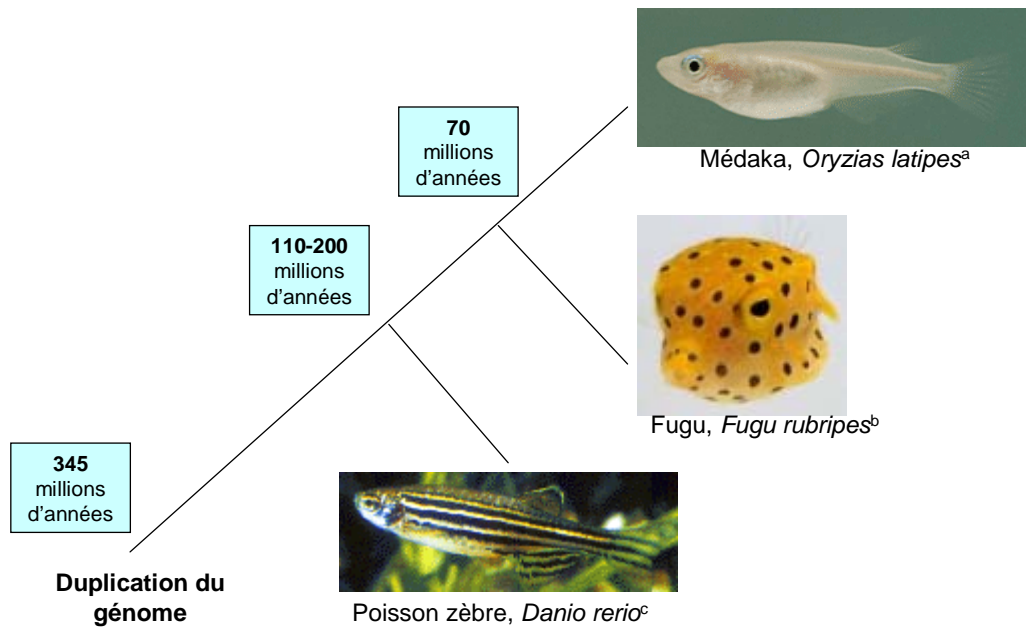
Sous-famille	Espèce	Localisation
S.O ^a	<i>Adrianichthys kruyti</i>	Indonésie
	<i>A. roseni</i>	Indonésie
Horaichthyinés	<i>Horaichthys setnai</i>	Kerala, Inde
Oryziinés	<i>Oryzias latipes</i>	Japon, Corée, Taiwan, Chine
	<i>O. carnaticus</i>	Inde de l'est et Bangladesh
	<i>O. celebensis</i>	Ile des Célèbes
	<i>O. curvinotus</i>	Ile de Hainan, Chine et Vietnam
	<i>O. dancena</i>	Inde, Bangladesh et Nyamar
	<i>O. haugiensis</i>	Delta du Mékong

	<i>O. hubbsi</i>	Indonésie
	<i>O. javanicus</i>	Indonésie et Malaisie
	<i>O. luzonensis</i>	Philippines
	<i>O. marmoratus</i>	Ile des Célèbes
	<i>O. matenensis</i>	Ile des Célèbes
	<i>O. mekongensis</i>	Bassin du Mékong
	<i>O. minutillus</i>	Thaïlande, Malaisie, Laos, Cambodge, Nyamar, Vietnam
	<i>O. nebulosus</i>	Ile des Célèbes, Indonésie
	<i>O. nigrimas</i>	Indonésie
	<i>O. orthognathus</i>	Indonésie
	<i>O. pectoralis</i>	Laos et Vietnam
	<i>O. profundicola</i>	Indonésie
	<i>O. sinensis</i>	Chine, Mékong
	<i>O. timorensis</i>	Ile du Timor
	<i>O. uwai</i>	Birmanie
Adrianichthyinées	<i>Xenopoecilus oophorus</i>	Indonésie
	<i>X. poptae</i>	Indonésie
	<i>X. sarasinorum</i>	Indonésie

a : Sans objet

Le poisson médaka étant un animal de laboratoire utilisé entre autre comme modèle génétique, sa place dans la classification a été très étudiée en particulier en ce qui concerne ses relations avec les autres poissons utilisés en recherche, le poisson zèbre (*Danio rerio*), le platy (*Xiphophorus maculatus*) et le fugu (*Fugu rubripes*) (11, 9, 6). D'après ces études, le médaka et le poisson zèbre se seraient séparés de leur ancêtre commun il y a 110 millions d'années ; le médaka serait par ailleurs plus proche du fugu que du poisson zèbre (6). (Figure 3)

Figure 3 : Représentation schématique des relations génétiques entre trois poissons utilisés en laboratoire, le médaka, le poisson zèbre et le fugu. (D'après 11.)



a: source: www.shigen.lab.nig.ac.jp

b: source: www.ocn.ne.jp

c: source: www.ens-lyon.fr

La diversité des téléostéens est unique parmi les vertébrés : ce groupe contient en effet 25 000 espèces, ce qui représente plus de la moitié du nombre des espèces de vertébrés (33). Une duplication du génome chez l'ancêtre des Téléostéens serait responsable de cette diversité : l'augmentation du nombre de gènes a favorisé l'émergence et la sélection naturelle de nouvelles mutations en préservant des copies du gène muté intactes (39). L'importance du nombre d'espèces rend difficile l'établissement d'un arbre phylogénétique fiable. Ainsi, la classification des poissons essentiellement basée antérieurement sur des critères morphologiques est sans cesse remise en cause par des études génétiques. Par exemple, un travail récent (6) semble indiquer en s'appuyant sur une étude du génome que les Béloniformes et les Perciformes seraient plus proches entre eux que les Béloniformes et les Tétrodontiformes, ce qui est contraire à la classification présentée en *figure 4*.

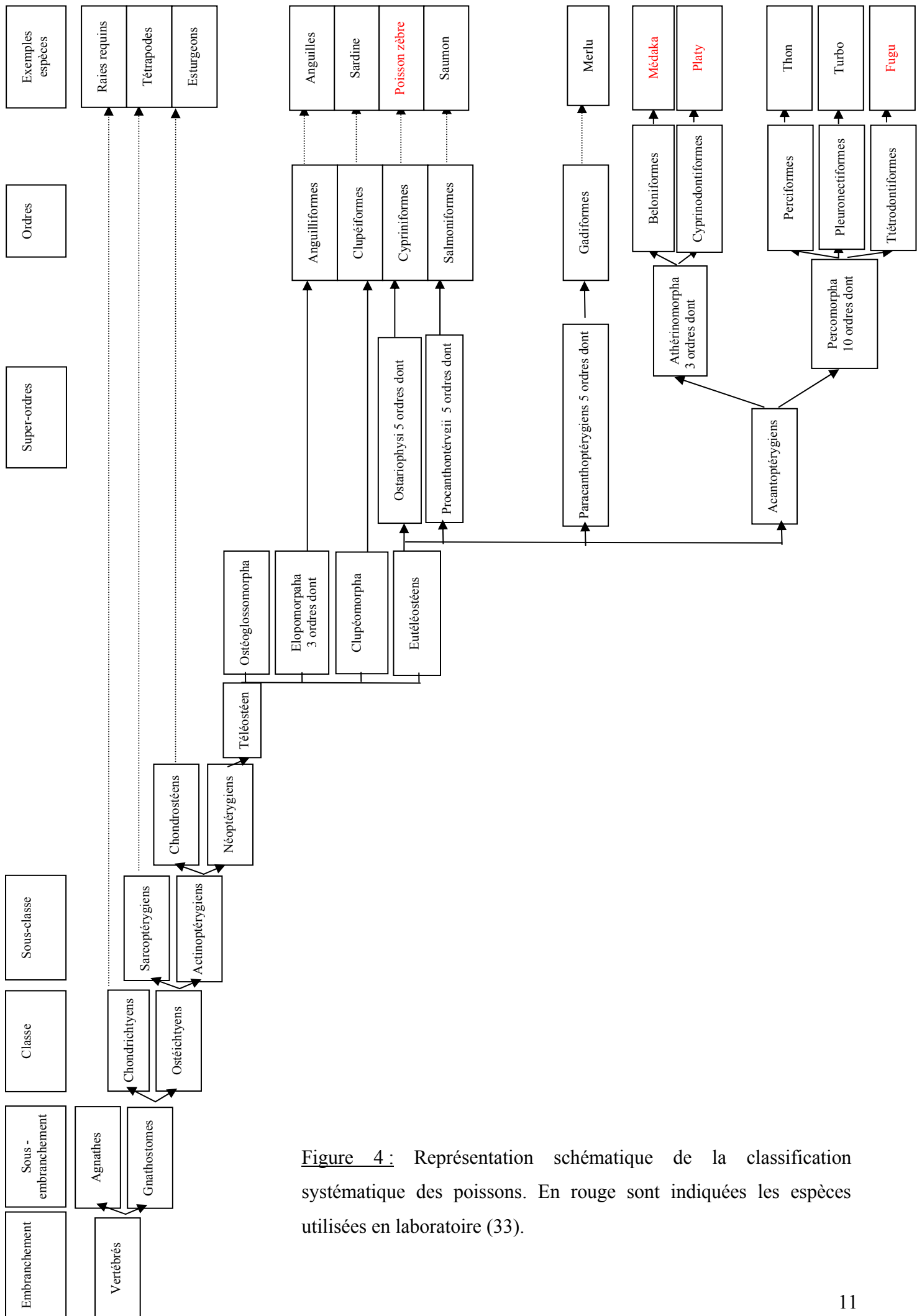


Figure 4: Représentation schématique de la classification systématique des poissons. En rouge sont indiquées les espèces utilisées en laboratoire (33).

C. Biologie

Le médaka (*figure 5*) est un poisson très résistant et robuste qui tolère de larges gammes de températures (10-40°C) et de salinité (eau douce à saumâtre) bien qu'étant une espèce d'eau douce.

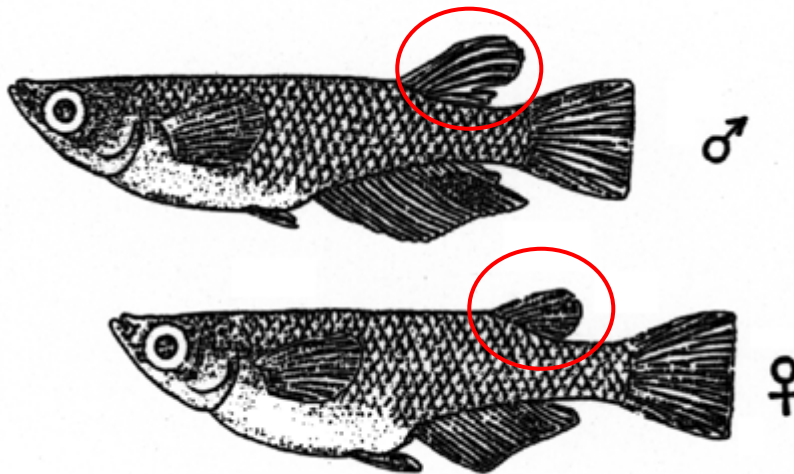
Vivant en surface, il est microphage, c'est-à-dire qu'il se nourrit de phyto- et de zooplancton (48).

Figure 5 : Médaka âgé de 6 mois, grossissement x 3,5. (Photo ENVA, service d'anatomie pathologique.)



La reproduction du médaka est de type ovipare. Un dimorphisme sexuel existe mais demeure discret : les mâles et les femelles peuvent être distingués par la forme de leur nageoire dorsale (49). (*Figure 6*) Le médaka possède un génome diploïde avec un système génétique de détermination du sexe de type XY-XX comparable à celui des mammifères (40). Cependant, les différences entre le chromosome X et Y sont subtiles et le segment spécifique au chromosome Y, nommé Y-specific DM-domain équivalent supposé du gène SRY des mammifères (Sex-determining Region Y) est de petite taille (29).

Figure 6 : Dimorphisme sexuel entre mâle et femelle médaka. La nageoire dorsale est entourée en rouge. (D'après 49)



L'accouplement provoque la ponte des œufs par la femelle et l'émission de sperme par le mâle ; la fécondation est externe (48). Après la ponte, les œufs restent attachés par des filaments sous le ventre de la femelle. L'activité sexuelle est corrélée aux cycles lumineux. Entre 30 et 50 œufs sont pondus chaque jour ; plus de 3000 œufs sont produits au cours d'une saison (48).

La ponte intervient à l'aube (dans les conditions naturelles) chez les femelles qu'en présence de mâles avec comportement d'accouplement. Cependant pour obtenir des œufs non fertilisés, on peut utiliser des mâles stériles obtenus par croisement de deux espèces différentes du genre *Oryzias*, *O. celebensis* et *O. latipes*, par exemple. Les mâles obtenus sont stériles mais, par leur comportement, stimulent la ponte des femelles (48). La ponte peut être en laboratoire contrôlée par des cycles lumineux permettant de prévoir l'heure de récolte (48).

Le développement du médaka est rapide. Les premiers clivages durent environ 30 minutes à 28°C, la gastrulation commence 8h30 après fécondation et le tube neural est visible après 15h (11). Les œufs éclosent vers 7 jours pour donner un alevin autotrophe puis un jeune hétérotrophe. En laboratoire, les œufs de médaka peuvent être incubés dans des boîtes de pétri avec une densité maximale de 200 œufs pour une boîte de 9 cm de diamètre. Pendant plus de trois mois, les embryons peuvent être mis à 4°C pour ralentir leur développement (48, 49).

II. LE POISSON MEDAKA : UN MODELE ANIMAL

Un modèle animal est un animal de laboratoire utilisé en recherche médicale ou vétérinaire qui peut développer de manière naturelle ou induite des troubles ou des maladies qui présentent des homologues fiables avec des maladies ou troubles humains et animaux et dont idéalement la génétique est connue.

A. Atout du médaka comme animal de laboratoire

1. Avantages liés à la biologie du médaka

Le médaka est tout d'abord un bon candidat pour l'utilisation en laboratoire par sa facilité d'élevage. C'est en effet un poisson peu exigeant, robuste, peu sensible aux maladies et aux variations de températures. Il est prolifique (20 à 40 œufs par femelle et par jour) et sa reproduction est facilement contrôlable par la gestion des cycles lumineux. Les œufs pondus restant accrochés sous le ventre de la femelle, il est possible d'identifier la mère de chaque embryon. Ces œufs peuvent facilement être cultivés dans des boîtes de pétri (49, 48).

Le développement est externe et visualisable au travers du chorion transparent de l'œuf (20). Si ce chorion entraîne des problèmes pour certaines expériences (manipulations, imagerie), des méthodes de déchorionisation mécanique ou enzymatique ont été décrites (49).

2. Avantages liés à l'utilisation centenaire du médaka

L'utilisation en recherche depuis plus d'un siècle du médaka au Japon procure aux chercheurs actuels travaillant sur ce poisson trois avantages majeurs.

Premièrement, de nombreuses données sur la biologie et sur la façon d'élever les médakas sont disponibles. Toutes ces informations sont regroupées dans un ouvrage en anglais « Médaka (Killifish)-Biology and Strains » de T. YAMAMOTO publié en 1975 (8). Ce livre aborde des thèmes aussi divers que des informations sur la systématique et la répartition géographique du médaka, sur la conduction d'une vague de fertilisation, les stades du développement, la glande d'éclosion, les caractères sexuels secondaires, la pigmentation, la différenciation sexuelle et l'intersexualité induite. Cet ouvrage est la preuve de l'avancement certain des recherches sur le médaka à la date de sa publication et est d'autant plus important qu'il reprend les données de nombreux articles écrits en japonais, les rendant accessibles à un plus grand nombre de chercheurs. Ces thèmes ont ensuite été repris dans d'autres études. Par

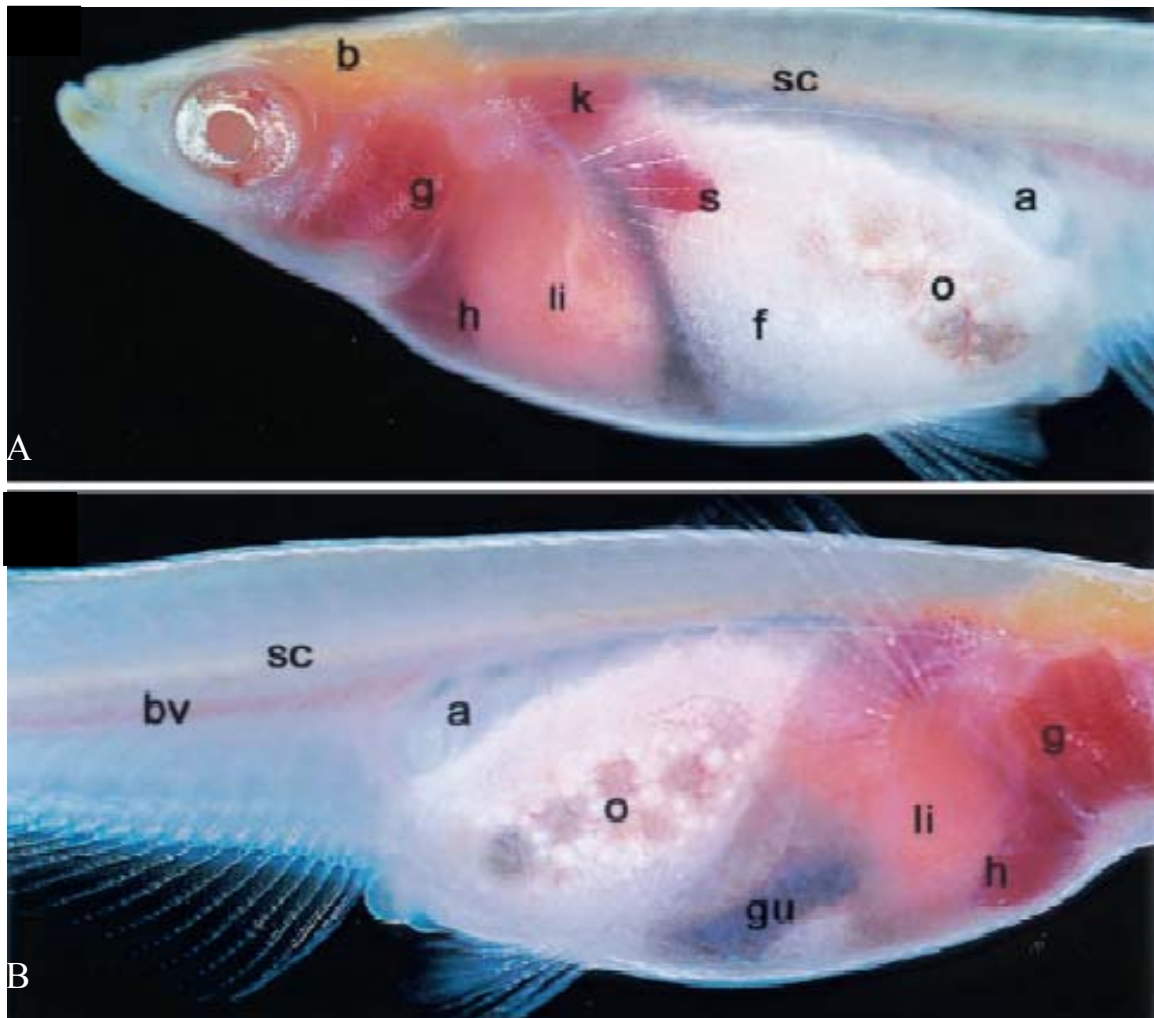
exemple, un nouvel article décrivant les stades de développement et leurs caractéristiques morphologiques a été publié en 1994 par IWAMATSU (20).

Ensuite, l'utilisation ancienne du médaka permet de disposer aujourd'hui de lignées stables issues de populations différentes (appelées Northern et Southern) caractérisées par un haut degré de polymorphisme, ce qui a permis de faciliter la cartographie de l'ADN (48).

Enfin, dès les années 1960, grâce en particulier au travail de TOMITA, différents mutants spontanés par leur pigmentation surtout mais aussi par la forme de leurs écailles et de leurs nageoires ont été identifiés et conservés (41). A ces spécimens se sont ajoutés au cours des années des mutants induits par des changements de température au cours du développement embryonnaire, par les rayons X ou des substances chimiques. En 1990, 76 mutants étaient disponibles ; tous sont conservés à l'université de Nagoya au Japon. Ces mutants sont utilisés aujourd'hui pour déterminer la fonction des gènes à l'origine de la mutation (35).

Par croisement raisonné de quatre lignées mutantes déficitaires en un pigment particulier (« gu » : absence de guanine, « il » : absence d'iridophore, « lf » : absence de leucophore et « i » : animaux albinos ; absence de mélanine), il a été possible d'obtenir une lignée de poissons complètement transparents (45) dont la plupart des organes sont visualisables à l'œil nu (*figure 7*). Les individus obtenus ont permis d'étudier la croissance du médaka de l'éclosion à l'âge adulte (21) et pourraient permettre la détection d'anomalies internes sans sacrifice de l'animal, ce qui est particulièrement intéressant en cancérologie. Cependant, il a été constaté que ces poissons sont beaucoup plus fragiles et moins prolifiques que ceux des autres lignées élevées couramment en laboratoire (donnée observée à l'animalerie médaka du MNHN).

Figure 7: Photos des faces gauche (A) et droite (B) d'un médaka transparent. b cerveau, k rein, s rate, li foie, o ovaire, f tissu graisseux, sc moelle épinière, a vessie natatoire, h cœur, g branchies, gu intestins, bv vaisseaux sanguins. (D'après 45)



3. Techniques validées et outils disponibles chez le médaka

a. La transgénèse

Les techniques de transgénèse par micro-injection dans l'œuf de constructions d'ADN ou de transposons sont bien établies chez le médaka qui est par ailleurs la première espèce de poisson chez laquelle une lignée transgénique stable a pu être obtenue (48). Les fragments d'ADN étrangers sont injectés dans le cytoplasme de l'œuf au stade une cellule. Les œufs supportent bien les variations de température, si bien qu'il est possible de les placer au froid pour ralentir le développement, permettant de laisser plus de temps pour les manipulations.

Pour étudier la faisabilité de knockout par recombinaison homologe, des lignées proches des cellules embryonnaires souches ont été identifiées. (48)

De nombreuses lignées transgéniques stables ont été obtenues : par exemple, une lignée stable exprime la GFP (Green Fluorescent Protein) sous la dépendance du promoteur *vasa*. Chez le médaka *vasa*-GFP (44), les cellules germinales fluorescentes sont clairement visibles chez l'embryon, et l'on peut suivre leur migration jusqu'aux gonades. Cette lignée transgénique permet lors d'études de mutants d'identifier les gènes intervenant dans la migration et le devenir des cellules germinales.

Enfin, les méthodes de knock down par utilisation de morpholinos (oligonucléotide synthétique modifié de manière à résister à la dégradation nucléotidique) ont été appliquées avec succès chez le médaka. (19)

b. Génomique et protéomique

Les techniques classiques d'hybridation *in situ* avec riboprob (sonde ARN) et d'immunohistochimie sont couramment appliquées chez le médaka. (48)

De nombreuses protéines ont par ailleurs été identifiées : la base de données UNIPROT (www.ebi.uniprot.org) recense 760 protéines de médaka.

De plus, grâce à l'activité coordonnée d'un consortium international, The Medaka Genome Initiative (MGI), le génome de ce poisson est complètement séquencé depuis 2005. La séquence est disponible sur le site : <http://medaka.dsp.jst.go.jp/mgi/>. (30)

B. Le modèle médaka est utilisé dans divers domaines de la recherche

1. En embryologie

Le médaka est utilisé en embryologie, en particulier en ce qui concerne le développement de l'œil, la pigmentation et la différenciation mâle/femelle. En effet, de par son développement externe et parfaitement visualisable au travers du chorion, le médaka est un outil de choix pour observer le développement embryonnaire et identifier des mutants. Ces mutants peuvent permettre de dévoiler la fonction d'un gène (35) qui peut présenter un homologue chez d'autres animaux et en particulier l'Homme. Une étude publiée en 2004 (10) a recensé 2031 mutations embryonnaires létales du médaka, dont 312 affectant l'organogenèse. 126 mutations ont été caractérisées génétiquement et attribuées à 105 gènes. L'identification des fonctions des gènes impliqués dans le développement est facilitée par le fait que le génome du médaka soit séquencé.

2. En toxicologie et écotoxicologie

Le poisson médaka est également utilisé en toxicologie et en écotoxicologie. Il peut à la fois être utilisé pour extrapoler l'effet toxique d'une molécule sur l'Homme (aspect toxicologique) mais aussi pour étudier l'impact d'une substance sur l'ensemble des poissons d'un écosystème (aspect écotoxicologique).

Des études ont été réalisées de manière à valider le modèle médaka en cancérologie (14) ; les lésions hépatiques spontanées ainsi que celles induites par le DEN (diéthylnitrosamine) ont été décrites. (26)

A l'USM 505 « Ecosystèmes et interactions toxiques » du MNHN, le médaka est utilisé pour étudier la toxicité d'une toxine, la microcystine-LR, présente dans l'eau des plans d'eau, des étangs et des lacs lors de proliférations des certaines espèces de cyanobactéries. Cette toxine est une hépatotoxine pouvant provoquer des hépatites graves lors d'intoxications aiguës ; on lui suspecte également un pouvoir cancérogène sur l'hépatocyte (7). Les proliférations, appelées efflorescences, de ces micro-algues étant de plus en plus fréquentes à cause de la pollution, leur étude est d'un intérêt croissant en santé publique. Des études de toxicité sur l'embryon, par micro-injection de la toxine dans le vitellus, ont montré une mortalité dose-dépendante des embryons et une éclosion retardée (23). Une étude histopathologique des alevins (17) a montré entre autre un défaut de résorption du vitellus, et un non déploiement de la vessie gazeuse.

Au cours de mon stage de master (3), j'ai par ailleurs étudié la toxicité aiguë de la toxine sur les poissons adultes en balnéation et par gavage. Des études en protéomique sont effectuées en parallèle.

Les principales qualités du médaka appréciées à l'USM505, pour des études toxicologiques, sont sa petite taille, permettant d'exposer en balnéation dans de faibles volumes de liquide, sa facilité d'élevage, et la disposition d'outils de génomique et de protéomique.

Le médaka est utilisé dans de nombreuses études écotoxicologiques, pour tester la toxicité aiguë de substances chimiques sur les poissons (les tests écotoxicologiques sur les poissons sont nécessaires pour la mise sur le marché de nouvelles substances chimiques), ou le potentiel « perturbateur endocrinien » de certains composés comme le tributylétain (34), les substances oestrogéniques comme les nonylphénols (36) et de mélanges complexes artificiels (5) ou naturels (25) (eau de rivière). Les paramètres observés sont alors une modification du comportement sexuel, le pourcentage d'éclosion, le succès de la reproduction, l'histologie des

gonades, l'apparition d'effets teratogéniques, la teneur du sang en FPS (Female Specific Protein).

L'utilisation du médaka en toxicologie, domaine où sont utilisés beaucoup d'animaux de laboratoire, est en accord avec les incitations réglementaires à utiliser des animaux le plus éloignés possible de l'Homme dans la classification systématique. Néanmoins, l'utilisation des poissons adultes est réglementée selon le décret n°87-848 du 19 octobre 1987 qui indique qu'une expérimentation sur un poisson implique une prévention de la souffrance (analgésie, antalgique, pas plus d'une intervention douloureuse sur un animal), des expérimentateurs autorisés, un agrément de l'établissement, des contrôles et des sanctions en cas d'infractions. Des registres doivent rendre compte des entrées, des sorties et des causes de mort. Les expériences ne doivent être effectuées que si elles sont nécessaires. Les embryons, et les alevins autotrophes sont exclus de cette réglementation.

3. Utilisation commerciale de médakas transgéniques

Certains médakas transgéniques sont désormais sortis du domaine de la recherche et sont utilisés à des fins commerciales en aquariophilie. Un médaka de couleur dorée, fluorescent suite à des manipulations génétiques, est actuellement en vente à Taiwan pour 5 dollars/pièce sous la dénomination « Perle de la nuit » (13). Ce nouveau venu sur le marché des poissons d'ornement n'est pas passé inaperçu ; alors que le magazine américain Time classe les médakas transgéniques fluorescents parmi les 40 inventions les plus marquantes de l'année 2003, divers états (Union Européenne, Etats-Unis) ont interdit l'importation des spécimens, craignant un effet néfaste sur leur écosystème (37).

C. Place du poisson médaka au sein des autres modèles poissons

Les poissons sont de plus en plus utilisés en laboratoire. En effet leur élevage est moins coûteux, leur développement embryonnaire plus facilement observable et leur utilisation plus acceptable éthiquement pour le public que les rongeurs. Parmi les espèces utilisées, on compte des petits poissons comme le médaka, le poisson zèbre et le platy, des poissons boules, le poisson tête de boule en Amérique du nord et des poissons d'intérêt agronomique comme la truite, le saumon ou la carpe.

Le séquençage du génome d'un animal donne accès à de nombreux outils et informations : il semble être aujourd'hui un prérequis indispensable pour une approche efficace

d'un modèle animal. A ce jour, seulement quatre poissons ont leur génome séquencé : il s'agit de deux poissons boules (le tétraodon, *Tetraodon nigroviridis* et le fugu, *Takifugo rubripes*), du poisson zèbre, *Danio rerio* et du médaka (9, 48).

Le tétraodon et le fugu n'ont aucune valeur en tant que modèle. En effet, l'élevage du tétraodon, petit poisson des rivières et des estuaires du sud-est asiatique n'est pas maîtrisé et le fugu est un poisson de grande taille présent en mer du Japon qu'il est difficile d'obtenir et de garder en animalerie. Cependant, leurs génomes ont été séquencés, parce qu'ils sont les plus petits des vertébrés et que donc ils permettent d'accéder rapidement et de manière simple au répertoire des gènes de l'embranchement. Leur étude a pour objet les gènes communs aux vertébrés, l'évaluation de nombre de gènes humains et l'accès au caryotype du vertébré ancestral (9).

Le médaka est donc en concurrence dans son utilisation essentiellement avec le poisson zèbre (48, 19). En effet, ce sont deux poissons de petite taille, vivant en eau douce et dont le génome est séquencé. Si le poisson zèbre est actuellement le plus utilisé (4837 publications référencées dans la base de données bibliographique Pubmed contre 1032 pour le médaka), il présente quelques inconvénients par rapport au médaka (48). En effet, il serait plus fragile, plus sensible aux maladies et aux variations de température que le médaka. Sa reproduction est plus délicate : un couple de poissons ne peut être logé, plus d'une journée dans un aquarium du fait de leur agressivité. Les œufs du poisson zèbre, dont la production par femelle et par an est comparable à celle du médaka, sont pondus au sol contrairement au médaka chez qui ils restent accrochés sur la face ventrale de l'abdomen permettant l'identification de la femelle pondeuse. Si le développement dans l'œuf est plus court, permettant une observation plus rapide de l'embryon en dehors de l'œuf, le temps de génération (temps nécessaire pour obtenir un adulte sexuellement mûre) est plus long. De plus, son génome (1700 paires de bases) est deux fois plus grand que celui du médaka (800 paires de bases), ce qui rend son étude plus difficile. Enfin, aucun gène lié au sexe n'a pu être identifié chez le poisson zèbre, et le processus de détermination sexuelle est inconnu. Néanmoins, il possède un important atout par rapport au médaka : beaucoup plus d'outils et de données sont disponibles en particulier en biologie moléculaire (53). (Tableau 3)

Tableau 3: Récapitulatif des principales différences entre médaka et poisson zèbre

Médaka	Poisson zèbre
Animal de laboratoire depuis le début du siècle au Japon	Animal de laboratoire depuis les années 60 aux USA
1032 publications référencées sur Pubmed	4837 publications référencées sur Pubmed
760 protéines identifiées dans la base Uniprot	13931 protéines identifiées dans la base Uniprot
Génome séquencé depuis 2005, deux fois plus petit que le poisson zèbre donc plus facile à étudier	Génome séquencé depuis 2005
Génome diploïde, présence de chromosomes X et Y, processus de la détermination du sexe connu	Génome diploïde, processus de détermination du sexe inconnu
Reproduction aisée, identification du couple embryon/mère	Reproduction limitée à 24h par couple, les œufs sont pondus au sol
Animal robuste peu sensible aux variations de températures	Animal tropical très sensible au froid
Certains outils peuvent faire défaut	Nombreux outils disponibles en particulier en biologie moléculaire

Cependant ces deux modèles sont complémentaires en particulier en génomique.

Tout d'abord, une analyse comparative des données des deux modèles peut permettre de déterminer si un gène muté révèle une fonction conservée au cours de l'évolution ou spécifique de l'espèce. Cette information est particulièrement intéressante pour les gènes du développement par exemple.

Ensuite, du fait de la spécificité d'espèce, certaines études ne sont pas réalisables dans chacune des deux espèces. Une étude sur les gènes de la détermination du sexe par exemple ne pourra être entreprise que chez le médaka, ce processus étant inconnu chez le poisson zèbre. En revanche, les rayures du poisson zèbre sont un meilleur modèle pour étudier la pigmentation, celle-ci restant discrète chez le médaka. (11)

Enfin, les procédures d'identification des mutants dépendent de protocoles qui sont plus ou moins sensibles suivant les organes et les espèces. En effet, chez le poisson zèbre on détecte plus de mutants des mélanophores et de la chorde, tandis que chez le médaka on

identifie plus de mutants hépatiques (11). La complémentarité entre les deux espèces permet également de déterminer la fonction de gènes dont l'effet de leurs mutations est masqué par des phénomènes de redondance dans une espèce ou dans l'autre.

Une approche complémentaire des deux modèles a par exemple été utilisée pour l'étude du gène homéobox spécifique de la rétine « rr ». (28).

Ainsi, le médaka est un poisson originaire essentiellement du Japon, le genre *Oryzias* étant présent dans toute l'Asie du sud-est. Il est placé dans la classification systématique dans les branches supérieures des téléostéens.

Ce poisson est un modèle animal particulièrement apprécié en embryologie et en toxicologie. Sa biologie, son utilisation centenaire et la validation de nombreuses techniques sur cet animal le placent parmi les poissons les plus utilisés en recherche.

Partie 2 : CONCEPTION DE L'ATLAS INTERACTIF D'HISTOLOGIE TOPOGRAPHIQUE DU MEDAKA ADULTE

La conception de l'atlas d'histologie topographique du médaka s'est effectuée selon trois étapes.

Des coupes de médaka ont d'abord été réalisées puis photographiées. Ensuite, à partir des données bibliographiques disponibles, les organes ont été identifiés. Enfin les photos ont été traitées et le site Internet a été conçu.

Toutes ces étapes sont détaillées dans cette deuxième partie.

I. REALISATION DES COUPES ET OBTENTION DES PHOTOS

A. Réalisation des coupes

1. Choix des animaux

Les médakas ont été gracieusement fournis par le Dr. M. EDERY, directeur de recherche détaché de l'INSERM, chercheur à l'USM 505 « Ecosystèmes et interactions toxiques » du Muséum National d'Histoire Naturelle, responsable de l'animalerie médaka de cette unité.

Il fut choisi de prélever des animaux de deux mois, car à cet âge, les poissons sont encore de petite taille, ce qui permet d'obtenir un animal entier en coupe longitudinale sur une lame, mais déjà sexuellement matures.

Quatre mâles et quatre femelles ont été choisis, de manière à utiliser pour l'atlas deux mâles et deux femelles, les autres animaux étant gardés en réserve en cas de difficultés techniques.

Pour chaque sexe, un animal a fait l'objet de coupes longitudinales, l'autre de coupes transversales.

2. Anesthésie et fixation

Les animaux prélevés ont été anesthésiés dans l'eau glacée pendant quelques minutes puis ont été placés pour 48h dans un grand volume (20 fois leur volume) de liquide de Bouin à 4°C, la queue ayant été préalablement coupée au scalpel pour permettre une meilleure pénétration du fixateur.

Le liquide de Bouin a été choisi comme fixateur car son pouvoir décalcifiant permet de ramollir les structures osseuses et donc évite une étape de décalcification séparée ; il donne également une meilleure fixation que le formol, notamment pour le tissu adipeux. Le liquide est préparé extemporanément à partir d'une solution acide picrique saturée (75% du volume), d'acide acétique (5% du volume), et de formaldéhyde tamponné 4% Carlo Erba® ref. 415691 (37% du volume).

3. Inclusion en paraffine

L'inclusion en paraffine suit trois étapes :

- une déshydratation des échantillons
- une imprégnation dans la paraffine liquide
- la constitution de blocs pour la coupe

Les échantillons sont d'abord déshydratés dans des bains d'alcool et de butanol : après 48h de fixation, ils sont rincés rapidement dans de l'eau puis subissent 2 à 3 bains de quelques minutes dans de l'éthanol à 50°. Ils sont ensuite placés à 4°C pour deux jours dans l'éthanol 70° avec changement du bain d'alcool deux à trois fois par jour jusqu'à ce que les échantillons aient perdu la couleur jaune induite par le liquide de Bouin. Ils sont ensuite placés à 4°C dans l'éthanol 90° pendant 24h puis sont transférés dans le butanol où ils sont stockés jusqu'à inclusion.

Les poissons sont ensuite individuellement mis en cassette, qui sont plongées dans de la paraffine liquide à 56°C pour inclusion.

La méthode d'inclusion manuelle dans des bains de paraffine à 56°C changés quotidiennement pendant une semaine a été préférée aux techniques d'inclusion sous vide plus rapides mais pouvant endommager les tissus des poissons.

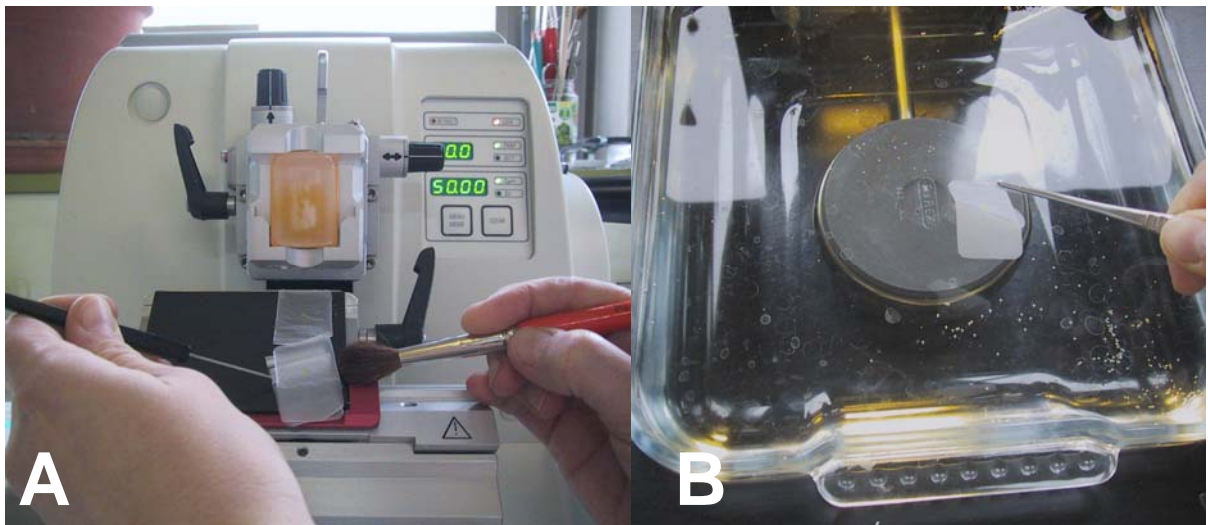
Enfin, après une semaine d'inclusion, les poissons sont mis en bloc. Pour les coupes longitudinales, les animaux sont placés sur le flanc au fond de la cassette. Pour les coupes transversales, ils sont coupés par une section transversale au scalpel en arrière des branchies. Les deux faces obtenues sont disposées de manière à être exposées à la surface du bloc. Les blocs sont conservés à 4°C.

4. Coupe

Des coupes de 3,5 µm sont réalisées sur un microtome Leica® RM2245 à partir des blocs refroidis sur une plaque à -7°C. Les coupes sont étalées sur des lames superfrost® grâce à un bain marie à 37°C contenant 5ml de colle Stick On® Labonord. (figure8).

Tous les 100 µm, trois coupes transversales et deux longitudinales consécutives sont récupérées sur une lame.

Figure 8: A, réalisation de la coupe au microtome. B, étalement de la coupe sur la surface de l'eau du bain marie pour la récupérer sur une lame.



5. Coloration

Après séchage en étuve à 37°C pendant au moins deux heures, les lames sont colorées par l'HES (Hématoxyline-Eosine-Safran), coloration standard utilisée en histologie. L'hématoxyline colore les noyaux en violet, l'éosine colore le cytoplasme en rose et le safran teint en jaune les fibres de collagène.

Cette coloration a été effectuée soit à l'aide d'un automate Leica® CV5030/ST5020, soit manuellement, selon le protocole suivant :

- 3 bains de toluène de 15 minutes
- 2 bains d'alcool 100° d'une minute
- 1 bain d'alcool 95° d'une minute
- rinçage dans 4 bains d'eau du robinet
- 1 bain d'hématoxyline de 2 minutes
- 4 bains d'eau distillée
- passage dans un bain d'acide chlorhydrique (HCl) aqueux à 2%
- rinçage à l'eau

- 1 bain d'éosine d'une minute
- 4 bains de rinçages à l'eau
- passage dans un bain d'alcool 100°
- 1 bain de safran (5minutes)
- passage dans 2 bains d'alcool 100°
- 3 bains de toluène de 2 minutes
- montage des lames en Eukitt®

Pour des besoins spécifiques, certaines lames ont été colorées manuellement par APS (Acide Périodique- réactif de Schiff) selon le protocole suivant :

- Déparaffinage dans le toluène puis hydratation dans l'éthanol 70°, 90° et 100°
- Oxydation 10min à l'acide périodique
- Rinçage à l'eau distillée
- Traitement par le réactif de Schiff pendant 20 min
- Rinçage dans deux bains d'eau sulfureuse
- Rinçage à l'eau distillée
- Coloration au vert lumière pendant 3min
- Déshydratation rapide dans l'alcool. Montage des lames en Eukitt®

Après séchage, les lames peuvent être observées au microscope.

B. Obtention des photos

Les photos des coupes longitudinales et transversales ont été prises grâce à un microscope Leica DMR couplé à une caméra numérique raccordée à un ordinateur de type PC équipé du système logiciel TRIBVN®.

Dix-neuf photos de coupes longitudinales et 43 photos de coupes transversales de quatre blocs ont été prises à l'objectif 1,5, zoom 0,5. Dix-sept gros plans d'organes ont été pris à l'objectif 2,5 et au zoom 2,5 ou 1,6. Certaines coupes longitudinales dépassaient le champ de l'appareil photo ; elles ont donc été prises en deux fois.

Le format numérique d'acquisition des photos est le format jpeg.

II. IDENTIFICATION DES ORGANES A PARTIR D'ELEMENTS DE L'ANATOMIE DES TELEOSTEENS

Peu de données sont disponibles sur l'anatomie du médaka. Seules des publications (2, 10, 43, 22, 46, 32, 50, 51, 24, 8) sur le développement embryonnaire du poisson donnent quelques éléments sur l'anatomie de l'adulte. Donc pour identifier les organes, il était nécessaire de s'appuyer sur les principales caractéristiques anatomiques des téléostéens.

A. L'appareil respiratoire et circulatoire

1. Les branchies

Malgré une grande diversité dans leur système d'acquisition et de transport, la plupart des espèces utilisent des branchies pour prélever dans leur milieu l'oxygène nécessaire à leur survie. La respiration cutanée ne joue un rôle que chez les poissons sans écailles et les larves (38). Les branchies n'interviennent pas seulement dans la respiration, elles jouent également un rôle dans l'osmorégulation et dans l'élimination des déchets azotés. (33)

Les téléostéens ont cinq paires d'arcs branchiaux, supports osseux ou cartilagineux des branchies. Quatre des ces arcs portent des branchies (holobranchies), constituées chacune de deux hémibranchies (*figure 9*) portant des lamelles primaires se divisant elles-mêmes en lamelles secondaires. Le dernier arc branchial forme l'os pharyngé. (42) (*Figure 9*)

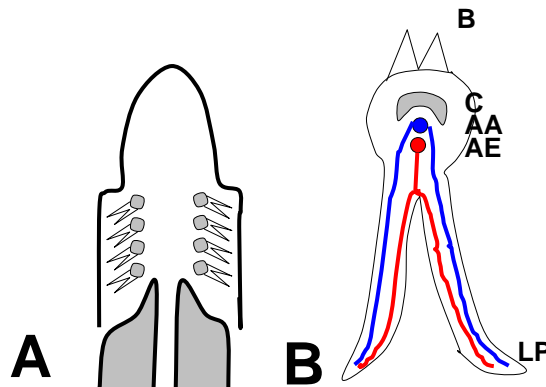
Les lamelles primaires sont composées d'un support cartilagineux, de vaisseaux sanguins et d'un épithélium stratifié; les lamelles secondaires sont recouvertes d'un épithélium constitué de deux couches de cellules. (42) Extérieurement un opercule osseux protège les branchies et régule le flux d'eau au travers des lamelles.

La partie dorsale des holobranchies peut être recouverte de branchiospines, formations en forme de râteau permettant de piéger les particules alimentaires et de les guider vers l'œsophage (33). (*Figure 9*)

Le système vasculaire branchial est de type artério-artériel : le sang arrive du cœur par l'aorte ventrale puis par les artères branchiales afférentes, gagne les branchies où il est hématosé et transporté vers les organes par les artères branchiales efférentes. (33)

La direction du flux sanguin à l'intérieur des capillaires est opposée au courant de l'eau entre les lamelles secondaires ; cette circulation à contre-courant augmente l'efficacité des échanges gazeux (4).

Figure 9 : **A** : disposition générale des branchies. **B** : organisation générale d'une holobranchie, B : branchiospines, C : cartilage, AA : artère branchiale afférente, AE : artère branchiale efférente, LP : lamelle primaire.



2. La pseudobranchie

La pseudobranchie est un organe bilatéral, situé sur le bord crânial et dorsal de la cavité branchiale chez certaines espèces de poissons. Elle peut avoir une structure glandulaire et être localisée dans la paroi du pharynx, ou avoir une structure d'hémibranchie et être localisée à la surface de la cavité branchiale.

D'après sa vascularisation, la pseudobranchie pourrait jouer un rôle dans la régulation du flux artériel. (4)

3. Le cœur

Le cœur des poissons est issu du vaisseau ventral embryonnaire qui s'est compartimenté puis replié sur lui-même en forme de « S ». Il est localisé dans le péricarde antérieurement à la cavité abdominale et ventralement au pharynx. (38)

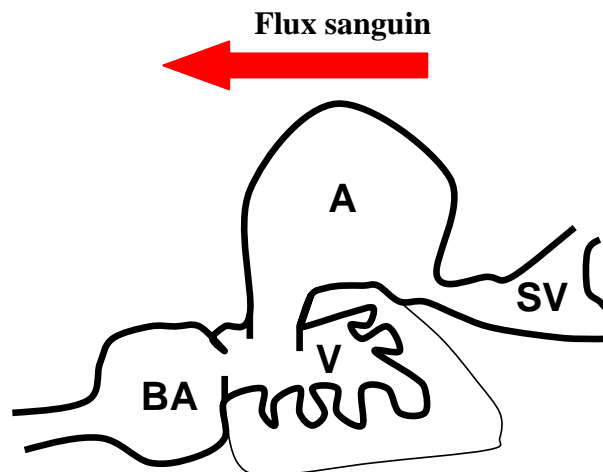
Il est constitué de quatre parties : un sinus veineux, un atrium, un ventricule et un bulbe artériel. Ces quatre cavités sont successivement traversées par le flux sanguin. (Figure 10)

Dans le sinus veineux aboutissent les principales veines : veines hépatiques, veines coronaires, canaux de Cuvier. (42)

Des fibres musculaires cardiaques sont présentes dans la paroi fine de l'atrium et dans celle plus épaisse du ventricule. Des valves sont présentes : entre l'atrium et le ventricule, et entre le ventricule et le bulbe artériel. (42)

La paroi du bulbe artériel est épaisse, constituée essentiellement de tissu conjonctif et en particulier de fibres élastiques. (42)

Figure 10 : Schéma d'un cœur de truite (d'après 42). SV : sinus veineux, A : atrium, V : ventricule, BA : bulbe artériel.



4. L'appareil vasculaire

Le plan de base du système vasculaire des poissons est représenté dans la *figure 11*.

Par le cœur des poissons transite du sang veineux qui est ensuite hématisé dans les branchies après transport par les artères branchiales afférentes. Le sang hématisé issu des artères branchiales efférentes passe dans les racines aortiques dorsales, et irrigue soit la tête par les racines aortiques dorsales antérieures, soit l'abdomen par l'aorte dorsale. (38)

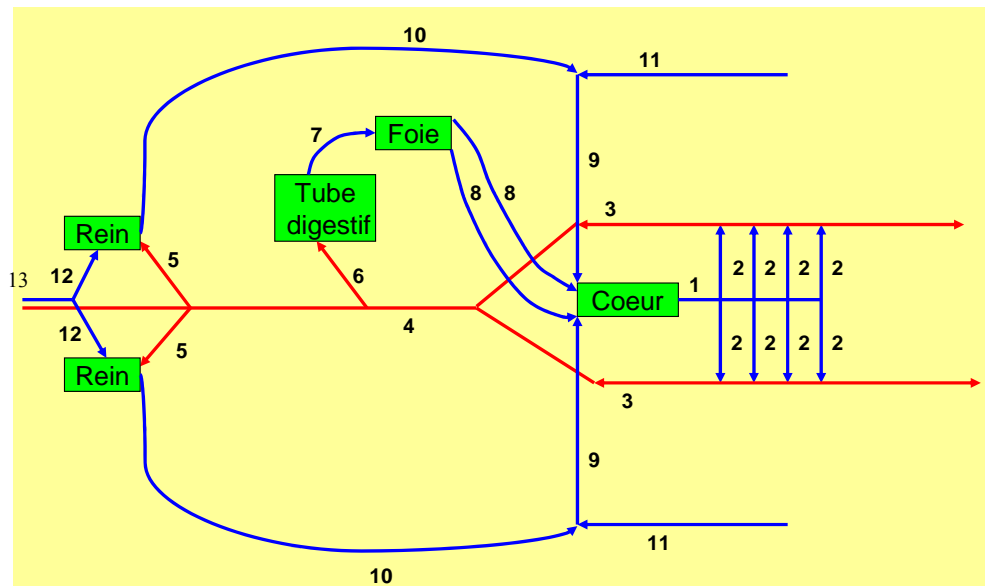
En ce qui concerne le système veineux, il existe deux systèmes portes : une veine porte hépatique et des veines portes rénales. La veine porte hépatique assure comme chez les mammifères le transport du sang de l'intestin au foie. Les veines portes rénales conduisent le sang issu de la veine caudale vers les reins. (38)

Le sang est ramené au cœur par les canaux de Cuvier qui sont la réunion des veines cardinales antérieures et postérieures et les veines hépatiques.

Les vaisseaux sanguins des poissons ont la même structure que ceux des vertébrés supérieurs ; ils sont constitués d'une intima tapissée par un endothélium, d'une média de fibres musculaires et d'une adventice conjonctive. (42)

Un système lymphatique tel que connu chez les vertébrés supérieurs n'existe pas en temps que tel chez les poissons ; les nœuds lymphatiques sont absents ; quelques fentes lymphatiques sont reliées sur le système artériel et veineux (38).

Figure 11: Schéma du plan de base de l'appareil vasculaire des téléostéens.



Bleu : sang non oxygéné. Rouge : sang oxygéné. Système artériel : 1 aorte ventrale, 2 arcs aortiques branchiaux, 3 racines aortiques branchiales, 4 aorte dorsale, 5 artères rénales, 6 artère intestinale. Système veineux : 7 veine porte hépatique, 8 veines sus-hépatiques, 9 canaux de Cuvier, 10 veine cardiaque postérieure, 11 veine cardiaque antérieure, 12 veines portes rénales, 13 veine caudale. (42)

B. Appareil digestif et vessie gazeuse

1. L'appareil digestif

Le système digestif des poissons est, comme celui des mammifères, composé d'un tube digestif et de glandes digestives (foie, pancréas), mais les caractéristiques anatomiques de chacun de ces éléments varient beaucoup selon les espèces.

a) Le tube digestif

Le tube digestif s'étend de la bouche jusqu'à l'anus, et est segmenté selon les espèces en régions plus ou moins spécialisées dont les principales sont : la cavité bucco-pharyngienne, l'œsophage, l'estomac et l'intestin. (38)

- La cavité bucco-pharyngienne

La cavité bucco-pharyngienne est limitée crânialement par l'orifice buccal (lèvres) et caudalement par la dernière paire d'arcs branchiaux. Elle est entièrement contenue dans la tête et est tapissée d'un épithélium. (42)

La bouche contient la langue et les dents. Il existe différentes sortes de dents selon les espèces : des dents maxillaires, palatines, vomériennes et pharyngiennes. Toutes sont associées à un os par du tissu conjonctif et possèdent une structure histologique similaire. (42)

L'épithélium du pharynx présente généralement de nombreux replis, au fond desquels sont présentes des cellules muqueuses. (42)

Certains téléostéens possèdent dans la partie postérieure de la voûte bucco-pharyngienne un organe palatin. En forme de coussinet charnu, cet organe se compose d'un épithélium stratifié, d'une couche conjonctive et d'une partie musculaire profonde. (42)

- L'oesophage

La paroi de l'oesophage présente des plis longitudinaux ou spiralés. (42) Les cellules à mucus sont nombreuses, surtout dans la partie postérieure. Chez certaines espèces tropicales, il peut comporter des diverticules aveugles ou des dents. (33)

- L'estomac

L'estomac, caractérisé par une sécrétion peptique, n'existe pas chez un grand nombre de poissons. (38) Habituellement, il est composé d'un cardia qui peut contenir des glandes gastriques et d'un pylore ; les deux segments présentent une structure histologique différente.

L'estomac peut chez certaines espèces être indiscernable de l'intestin. (33)

Un gésier, caractérisé par une paroi musculuse épaisse et un épithélium corné peut être présent chez certaines espèces herbivores. (42)

Des caecums pyloriques, évaginations digitiformes de la paroi intestinale au voisinage de la valvule pylorique peuvent être présents ; ils permettent une augmentation de la surface absorbante chez certains téléostéens et sont généralement absents chez les espèces qui ne possèdent pas d'estomac. (42)

- L'intestin

L'intestin s'étend de l'estomac jusqu'à l'anus et comprend le duodénum, l'intestin antérieur et postérieur, et le rectum. Les limites entre les différents segments peuvent être difficiles à percevoir. (42)

Sa longueur est à relier au régime alimentaire : il est long chez les espèces herbivores et court chez les carnivores. La structure histologique de la paroi du tube digestif est comparable à celle des vertébrés supérieurs. Son diamètre demeure constant de l'estomac au rectum. (33)

Le duodénum est la partie de l'intestin qui reçoit les canaux pancréatiques et biliaires à proximité des caecums pyloriques s'ils sont présents.

Le rectum est souvent facilement identifiable par la présence de la valvule iléo-caecale, si un caecum est présent, d'une musculature plus épaisse, et de nombreuses cellules à mucus.

L'anus est l'orifice terminal du tube digestif, le cloaque étant une structure généralement absente chez les téléostéens. Son épithélium est riche en cellules à mucus. La musculature circulaire est bien développée et forme un sphincter.

b) Les glandes digestives

- Le foie

Le foie est la plus volumineuse des glandes digestives. Sa surface est couverte d'une membrane séreuse, et certaines fibres conjonctives de sa capsule s'enfoncent dans le parenchyme.

La structure lobulaire, avec une veine lobulaire centrale, présente chez les vertébrés supérieurs, est généralement absente chez les poissons. Néanmoins, une artère hépatique et une veine porte (amenant du sang de l'intestin et de l'estomac) parviennent au foie. Cette dernière se ramifie jusqu'à former des capillaires sinusoides. Les cellules du parenchyme, les hépatocytes, s'arrangent de manière concentrique autour de ces capillaires, formant des cordons cellulaires, caractéristiques de l'architecture hépatique. (42)

Une des principales fonctions du foie est la sécrétion de bile. Elle est synthétisée dans les hépatocytes et est libérée dans les canalicules biliaires extracellulaires. Ces canalicules sont collectés dans des canaux biliaires qui convergent vers le canal cholédoque qui s'abouche dans le duodénum. Par ailleurs, beaucoup de poissons possèdent une vésicule biliaire qui permet un stockage de la bile. (38)

Les hépatocytes jouent un rôle important dans le métabolisme des protéines, des lipides et des glucides. Ils servent également à détoxifier et à stocker certains nutriments. Parmi ces nutriments, on compte les lipides et surtout le glycogène. Les lipides et le glycogène ne sont pas préservés ni colorés par les méthodes classiques d'histologie (fixation, inclusion en paraffine et coloration HES), si bien que leur présence est visible sous la forme de vacuoles dans le cytoplasme des hépatocytes. Comme la nature de ces réserves ne peut être déduite de la forme des vacuoles, des colorations spéciales sont nécessaires : APS (Acide Périodique-réactif de Schiff) pour le glycogène, Noir Soudan pour les lipides sur coupes de tissu congelé.

La taille des hépatocytes peut varier fortement en fonction du stade physiologique : une hypertrophie cellulaire est associée chez la femelle à la vitellogenèse et une hypotrophie cellulaire au jeûne. (42)

Le foie est un organe simple au début de la vie de tous les téléostéens, mais dans certaines espèces (poisson chat, carpe par exemple) du tissu pancréatique envahit graduellement le foie le long des ramifications de la veine porte. Par cette association avec du tissu pancréatique, le foie est alors appelé hépatopancréas. (38)

- Le pancréas

Le pancréas est composé d'une partie exocrine qui sécrète le suc pancréatique et d'une partie endocrine, les îlots de Langerhans, qui sécrètent deux hormones, l'insuline et le glucagon. La partie endocrine du pancréas sera traitée avec le système endocrine.

Le pancréas des téléostéens est un organe diffus, présent dans le mésentère en association avec du tissu adipeux. Comme il a été mentionné ci-dessus, une partie du pancréas peut être chez certains poissons retrouvée dans le foie, formant ainsi l'hépatopancréas. (42)

Le tissu pancréatique dispersé dans le mésentère prend la forme d'acini, tandis que celui présent dans le foie prend un aspect tubulaire. Les sécrétions pancréatiques passent dans des canaux collecteurs qui peuvent se rassembler en un canal pancréatique unique qui débouche dans la partie antérieure de l'intestin. L'accumulation de zymogène dans les cellules pancréatiques peut être indicatrice d'une période de jeûne. (42)

2. La vessie gazeuse

La vessie gazeuse est un diverticule de l'appareil digestif présent chez la majorité des poissons, surtout chez ceux vivant à faible profondeur. Il s'agit d'une vésicule remplie de gaz pouvant constituer jusqu'à 7% du volume corporel. (33) Sa paroi est constituée de deux couches : une tunique interne composée d'un épithélium, de fibres conjonctives et de fibres musculaires lisses, et une tunique externe comportant du tissu conjonctif et de nombreux capillaires. (42) Cette vessie peut être constituée d'un ou deux compartiments séparés par un diaphragme. (33)

L'organe peut contenir une glande à gaz, ou glande rouge contenant des cellules épithéliales sécrétrices. A proximité de cet épithélium sécrétoire, des capillaires peuvent être arrangés de manière parallèle : il s'agit du *rete mirabilis*. (42)

Un conduit pneumatique est présent chez certains poissons, en particulier chez les téléostéens primitifs (38), appelés alors physostomes ; il relie la vessie gazeuse à l'œsophage. (42) Les poissons qui ne possèdent pas ce conduit sont appelés physoclistes.

La vessie gazeuse intervient dans la flottaison et pourrait avoir un rôle acoustique.

C. L'appareil urinaire

1. Les reins

Le rein des poissons a plusieurs fonctions : c'est un organe excréteur, hématolymphopoïétique et endocrine. (38) On s'intéressera dans cette partie à sa fonction excrétrice.

Les reins des téléostéens sont composés de deux parties, le rein céphalique crânial et le rein abdominal ; la forme et la taille de ces deux portions varient fortement entre les espèces.

Le rein est un organe rétropéritonéal situé ventralement à la colonne vertébrale. Bien que les ébauches embryonnaires rénales soient paires, le rein peut se présenter sous la forme d'un organe unique médial chez certaines espèces. (42)

Le rein céphalique crânial est constitué majoritairement de tissu lymphoïde tandis que le rein abdominal contient des néphrons et du tissu lymphoïde interstitiel. Le néphron est suivi par le tube collecteur qui débouche dans un uretère.

Les néphrons sont composés d'un glomérule de structure similaire aux vertébrés supérieurs, d'un tube contourné proximal, d'un segment intermédiaire, et d'un tube contourné distal. (42) Les néphrons des poissons sont dépourvus d'anse de Henlé, présente uniquement chez les vertébrés supérieurs. Des différences sont visibles entre les espèces marines et d'eau douce : le tube contourné distal est absent chez les espèces marines ; les glomérules des espèces d'eau douce sont plus nombreux et de plus grande taille.

Chez les animaux vivant en eau douce, c'est-à-dire en milieu hypotonique, les reins excrètent de grandes quantités d'eau qui pénètrent par les branchies ; l'urine est alors abondante et très peu concentrée. Par ailleurs, les branchies sont le principal lieu d'excrétion des déchets azotés (ammoniaque et urée).

Le rein reçoit du sang riche en oxygène des artères rénales et du sang non hématosé des veines portes rénales ; le retour veineux est assuré par les veines cardinales postérieures. (42)

2. Les voies urinaires et la vessie

Les uretères issus des tubes collecteurs peuvent fusionner au cours de leur parcours. (Chez certaines espèces, une portion plus large en forme de sac est visible dans la partie postérieure de l'abdomen. Cette portion, bien qu'appelée vessie, n'est pas l'homologue de cet organe chez les vertébrés supérieurs qui se forme par clivage du cloaque embryonnaire. (42)

L'urine est excrétée par un pore urinaire caudal au pore génital et à l'anus.

D. L'appareil reproducteur

Les gonades des poissons téléostéens adultes sont généralement paires et de forme allongée ; elles sont localisées dans la cavité abdominale et sont rattachées au mésentère dorsal. Chez de nombreuses espèces, la paroi des gonades s'étend vers l'arrière pour former les gonoductes, qui fusionnent avant de déboucher sur le pore génital, qui s'ouvre entre l'anus et le pore urinaire. (42)

1. L'appareil génital femelle

L'ovaire de téléostéens est de type kystique ; il contient une lumière dans laquelle les œufs sont libérés lors de l'ovulation. Des lamelles ovariennes, hébergeant les follicules en développement, s'étendant jusqu'à l'ovocoele sont présentes chez certaines espèces. Cette organisation contraste avec les ovaires nus des autres vertébrés, chez lesquels les ovules sont pondus à l'extérieur de l'ovaire dans la cavité abdominale puis récupérés par le pavillon de l'oviducte. (38)

La fonction des oviductes est de déposer les œufs par le pore génital pour les animaux ovipares. Avant l'ovulation, les ovaires des femelles matures sont des organes de grande taille occupant une large partie de la cavité abdominale. Des follicules à tous les stades de développement peuvent être retrouvés dans les ovaires pendant la saison de reproduction. (42)

2. L'appareil génital mâle

Les testicules de la majorité des téléostéens sont de type lobulaire. Les différents lobes débouchent dans une cavité centrale à laquelle fait suite un canal déférent ou spermiducte. Les canaux déférents peuvent avant leur terminaison s'unir l'un à l'autre sur une partie plus ou moins longue de leur trajet. Ils débouchent par une ouverture commune ou distincte. On observe en fonction de la saison une forte variation de la taille des testicules. (42)

E. Le système nerveux

1. Le cerveau

L'encéphale de poisson comporte 5 parties : le télencéphale, le diencephale, le mésencéphale, le métencéphale, et le myélocéphale.

Le télencéphale comprend les lobes olfactifs situés dans les narines et les deux hémisphères droit et gauche. Chez les poissons, les ventricules latéraux n'existent pas.

Le diencephale est la région qui contient le troisième ventricule et est composé de l'épithalamus, du thalamus et de l'hypothalamus. Le toit de l'épithalamus contient un plexus choroïde et sa partie postérieure est adjacente à l'épiphyse. Le thalamus consiste en les parois latérales du diencephale. L'hypothalamus, habituellement d'assez grande taille chez les poissons, se trouve au plancher du diencephale ; il est en continuité avec l'hypophyse. (38)

Le mésencéphale est de grande taille comprend le toit optique et le tegmentum, tous deux délimitant le 3^{ème} ventricule. (38)

Le métencéphale (cervelet) occupe la partie antérieure de la paroi dorsale du 4^{ème} ventricule et est composé d'un cortex et d'une medulla.

La partie principale du myélocéphale, la medulla oblongata, est en continuité avec la moelle épinière et est ouverte sur sa face dorsale.

2. La moelle épinière

La moelle épinière est une structure proche de celle des vertébrés supérieurs d'où émergent des neurones sensitifs et moteurs. Elle est protégée dans le canal vertébral. Chez les poissons, la colonne vertébrale est associée à une structure de soutien embryonnaire, la chorde qui persiste chez les adultes. (42)

F. Les organes sensoriels

1. L'oeil

Les globes oculaires des poissons sont généralement volumineux par rapport au corps ; le segment antérieur de l'œil est aplati, sauf chez les espèces à vision aérienne. (33)

Les yeux sont le plus souvent en position latérale. Entre le globe oculaire et la paroi de la cavité orbitaire se trouvent diverses structures : des sinus veineux, une poche séreuse. Les paupières restent rudimentaires ; ce sont de courts replis cutanés péri-oculaires comportant un cul de sac conjonctival. (42)

Le plan de base de l'œil ne diffère pas de celui des vertébrés supérieurs, mais beaucoup de différences sont observées dans la taille, la position et la structure selon les espèces. (*Figure 12*)

La sclérotique, enveloppe externe et fibreuse de l'œil, sert d'insertion à trois paires de muscles oculomoteurs et à des supports osseux ou cartilagineux.

La cornée comprend un épiderme conjonctival, une membrane basale, et une couche endothéliale.

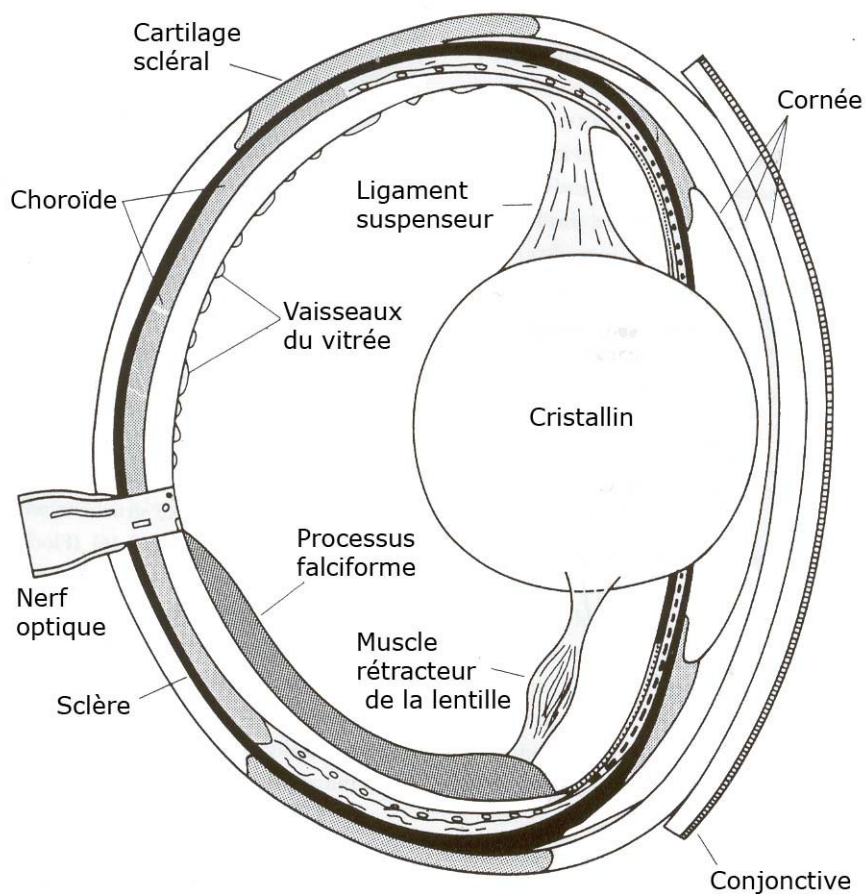
Le cristallin des téléostéens est habituellement complètement sphérique.

L'iris est pratiquement immobile.

La rétine a une organisation similaire aux autres vertébrés. Elle est composée de dix couches cellulaires qui, de l'extérieur vers l'intérieur, sont : un épithélium pigmentaire, une couche de photorécepteurs, une membrane limitante externe, une couche nucléaire externe, une couche plexiforme externe, une couche nucléaire interne, une couche plexiforme interne, une couche de cellules ganglionnaires, une couche de fibres nerveuses et une membrane limitante interne. (38)

La vascularisation de l'œil varie fortement selon les espèces. (42)

Figure12 : Représentation schématique de l'œil de Téléostéen d'après Walls, 1942 (38).



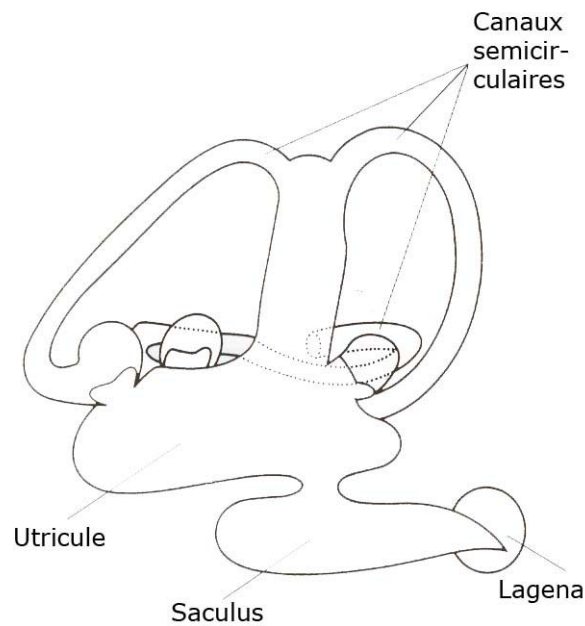
2. Oreille interne

L'oreille interne des poissons est une structure membraneuse appelée le labyrinthe, suspendue de chaque côté de la cavité crânienne. Chez les téléostéens, elle n'est pas encapsulée dans un labyrinthe osseux comme chez les poissons cartilagineux et les vertébrés supérieurs. Elle comporte une partie supérieure et une partie inférieure.

La partie supérieure est composée de trois canaux semi-circulaires remplis d'endolymphe et d'une cavité, l'utricule, tandis que la partie inférieure se compose de deux cavités, la saccule et la lagena. (*Figure 13*) Chacun des trois sacs endolymphatiques, l'utricule, la saccule et la lagena, contient un otolithe calcaire appelé respectivement le lapillus, le sagitta et l'astéricus.

Le labyrinthe est rempli d'endolymphe dont la composition est différente de la périlymphe ou du sérum. La partie supérieure intervient dans l'équilibre, tandis que la partie inférieure a un rôle dans l'audition. (38)

Figure 13 : Représentation schématique de l'oreille interne de téléostéen. (D'après 38)



3. L'organe olfactif

Chez les téléostéens une paire de poches olfactives est présente dans la région dorsale de la tête. Le plancher de chaque poche porte une série de lamelles olfactives qui forme une rosette. La rosette est recouverte d'un épithélium olfactif. (38)

4. La ligne latérale

La ligne latérale est un système sensoriel observé chez les poissons et les amphibiens. Elle est composée : de ganglions, de nerfs et de neuromastes, arrangés selon un certain schéma sur la surface du corps. Les neuromastes sont des cellules ciliées qui sont sensibles à des stimuli mécaniques. (42)

Il existe deux types de neuromastes : des neuromastes libres et superficiels présents sur toute la surface du corps et des neuromastes enfoncés dans des dépressions épithéliales ou enfermés dans des canaux, visibles extérieurement par deux lignes parcourant la peau des deux faces latérales des poissons. (38)

5. Les bourgeons gustatifs

Les bourgeons gustatifs sont localisés au sommet de papilles dermiques dans différentes régions de la bouche et de la peau. Ils sont en forme de bulbes. Leur distribution et leur nombre varient fortement selon les espèces. (38)

G. Les glandes endocrines

1. L'hypophyse et l'épiphyse

L'hypophyse est suspendue à l'hypothalamus ; elle est de petite taille mais joue un rôle important dans le système endocrine des poissons. Elle est composée comme chez les mammifères de l'adénohypophyse et de la neurohypophyse. (38)

La glande pinéale ou épiphyse est un corps de petite taille situé dorsalement à l'épithalamus du diencephale. L'épiphyse est constituée d'une vésicule dont la taille varie selon des espèces et d'un pédicule. La glande contient des photorécepteurs qui lui donnent son rôle dans le contrôle du cycle circadien et des cycles sexuels.

2. La glande thyroïde

Contrairement aux vertébrés supérieurs, les follicules thyroïdiens de la plupart de téléostéens sont disséminés dans le tissu conjonctif autour de l'artère branchiale afférente et ne constituent pas une glande compacte. Cependant certains poissons possèdent une glande thyroïdienne encapsulée (le thon, le bonito), et d'autres possèdent des follicules dispersés dans divers organes (cœur, rein, rate) comme la carpe par exemple. (38)

Les follicules sont de tailles variables, délimités par un épithélium cubique simple et contiennent de la colloïde acidophile.

Les glandes parathyroïdes sont absentes chez les poissons.

3. La glande ultimo-branchiale

La glande ultimobranchiale est aussi appelée corps supra-péricardique ou glande sous-oesophagienne. Chez la plupart des téléostéens, cette glande est localisée dans le septum entre les cavités péricardique et péritonéale. Elle peut être bilatérale, ou constituée d'une masse unique. Cet organe endocrine correspond aux cellules C para-folliculaires incorporées à la glande thyroïdienne chez les mammifères, et sécrétant la calcitonine. La glande peut être de type folliculaire ou former un épithélium pseudostratifié. (38)

4. La glande interrénale et les cellules chromaffines

Il n'existe pas de glande surrénale individualisée chez les téléostéens. (42) La glande interrénale des poissons est l'homologue du cortex surrénalien des mammifères. Elle est habituellement présente dans le rein céphalique autour de la veine cardinale postérieure et de ses ramifications. Chez les poissons, le tissu correspondant à la médullosurrénale des mammifères sont les cellules chromaffines, associées à la glande interrénale. Selon les espèces, la glande et les cellules chromaffines sont plus ou moins dispersées dans le rein céphalique. (38)

5. Le pancréas endocrine

Les îlots de Langerhans, constitutifs du pancréas endocrine, peuvent être disséminés dans le pancréas exocrine ou se présenter sous la forme de une à trois masses de taille importante. Leurs cellules sont reconnaissables à leur cytoplasme plus clair que celles du pancréas exocrine. Les mêmes types cellulaires (A, B et C) que chez les mammifères sont présents. (38)

6. Les corpuscules de Stannius

Les corpuscules de Stannius sont des glandes endocrines présentes chez les téléostéens. Ils sont localisés sur ou dans le rein, mais leur situation précise ainsi que leur nombre diffèrent entre les espèces. Ces Corpuscules sécrètent une hormone hypocalcémiant, la stannioalcine. Comme cette hormone est une glycoprotéine, les cellules qui la produisent sont donc APS positives. (38)

7. L'urophyse

Chez les téléostéens, un petit corps, appelé urophyse peut être mis en évidence dans la région terminale de la moelle épinière. Cet organe stocke et libère des substances produites par les cellules neurosécrétrices de la moelle épinière. Ce système neurosécréteur a une organisation similaire à celle de l'hypothalamus.

La forme de l'urophyse varie selon les espèces de poissons ; elle peut être une masse unique ou plusieurs corps, être indiscernable macroscopiquement ou de grande taille. (38)

H. Organes hématolymphopoïétiques

Du tissu lymphoïde est présent dans trois organes chez les poissons : le rein, la rate et le thymus.

Les nœuds lymphatiques présents chez les mammifères sont absents chez les poissons.

1. Le rein

Le rein a plusieurs fonctions en plus de l'excrétion par les néphrons, en particulier l'hématopoïèse. Le tissu hématopoïétique rénal est situé majoritairement dans la partie antérieure du rein. Le rein est à la fois un organe lymphoïde secondaire siège de la réaction immunitaire et le site d'origine des lymphocytes B. (38)

2. Rate

La rate est située à proximité de la grande courbure de l'estomac.

Sa surface est recouverte d'une capsule fibreuse comprenant des fibres musculaires lisses, mais ne possède pas de trabécules denses s'infiltrant dans le parenchyme comme chez les mammifères.

La limite entre la pulpe rouge et la pulpe blanche est difficilement observable. La rate reçoit du sang de l'artère splénique, et intervient dans le contrôle du volume sanguin circulant. (38)

3. Thymus

Le thymus est un organe pair localisé dans la paroi dorsolatérale du pharynx, au niveau de la commissure dorsale de l'opercule. (38)

Cet organe est, comme chez les mammifères, le site de maturation des lymphocytes T.

Sa durée de présence au cours de la vie de l'animal varie fortement selon les espèces. Chez les téléostéens inférieurs, il involuerait avant la maturité sexuelle, tandis que chez les téléostéens supérieurs, il resterait présent bien après et pourrait même se développer avec l'âge. (42)

I. Peau, muscle et squelette

1. Peau

La peau des poissons est constituée d'un épiderme et d'un derme séparés par une membrane basale, l'hypoderme restant quasi inexistant. (38)

L'épiderme, dérivé de l'ectoderme, est constitué de cellules épithéliales. Il est non kératinisé, riche en cellules mucipares et recouvert en permanence de mucus. La présence sur la peau de cette substance composée majoritairement de mucopolysaccharides a de nombreux rôles dont les principaux sont : la diminution de la résistance à l'eau lors de la nage, une protection bactérienne et fongique, une prévention de l'abrasion par les particules (par exemple sable), et une participation à l'osmorégulation.

Le derme est un tissu conjonctif riche en collagène. C'est dans cette partie de la peau que l'on trouve les cellules pigmentaires (mélanophores, érytrophores, xantophores, leucophores et iridophores) et les écailles qui sont d'origine exclusivement dermique.

Certains poissons peuvent posséder des glandes à venin (raies par exemple). (33)

2. Muscle

Les muscles des téléostéens, comme ceux des autres vertébrés, sont constitués de fibres musculaires lisses ou striées.

Les fibres musculaires lisses sont retrouvées dans les parois des vaisseaux, du tube digestif, des canaux biliaires et pancréatiques. Les fibres striées sont retrouvées dans les muscles squelettiques et dans le muscle cardiaque. (42)

La musculature latérale est particulièrement bien développée chez les téléostéens : elle est composée de myomères en forme de « S » accolés de chaque côté du corps. Les myomères sont séparés les uns des autres par des lyoseptes de collagène. En coupe transversale, de nombreuses masses musculaires sont visibles autour de la colonne vertébrale : celles situées au dessus de celle-ci sont appelées épaxiales et celles situées en dessous hypaxiales (38). En plus de la musculature latérale, des muscles striés sont associés aux mouvements des nageoires, ainsi qu'à ceux de la bouche.

3. Le squelette

Au crâne rigide à la structure complexe sont associés les os de la mâchoire, de l'appareil branchial et de la colonne vertébrale. (38)

Le nombre de vertèbres n'est pas constant selon les espèces. De la colonne vertébrale partent les arrêtes et les os intermusculaires présents chez de nombreuses espèces entre les myotomes.

Le squelette des ceintures (pelvienne et pectorale) porte les nageoires (pelviennes et pectorales respectivement).

III. TRAITEMENT DES IMAGES ET REALISATION DU SITE INTERNET

A. Photographie et traitement des images

Les photos numériques prises au microscope ont été traitées grâce au logiciel Adobe® Photoshop® CS. Les principaux traitements réalisés sont la fusion des photos de coupes dont la taille était supérieure au champ du microscope, une correction du contraste et de la luminosité, un nettoyage de l'arrière plan et l'ajout des légendes à partir des données anatomiques des poissons présentées dans la section précédente et d'un atlas numérique disponible en ligne du poisson tête de boule, *Pimphales promelas* (52). Toutes ces modifications ont été effectuées sous le format psd. Les photos ont ensuite été retransformées en jpeg.

Au final, 10 coupes longitudinales, 24 coupes transversales et 12 gros plans ont été choisis pour être insérés sur le site.

B. Réalisation du site internet

Le site a été réalisé à l'aide du logiciel Macromedia® Dreamweaver®MX2004.

1. Réalisation de l'arborescence du site

L'arborescence d'un site internet est son plan. (*Figure 14*)

La construction du site est la suivante. De la page d'accueil, le visiteur peut accéder à la version en anglais ou en français du site. A partir de la deuxième page, on peut à partir d'un bandeau de navigation situé de manière identique sur toutes les pages suivantes accéder à six pages : poisson médaka, matériels et méthodes, coupes longitudinales, coupes transversales, liste organes et contact.

La page « Poisson médaka » comporte un texte rappelant les principales caractéristiques du poisson.

La page « Matériels et méthodes » indique la façon dont les coupes ont été obtenues.

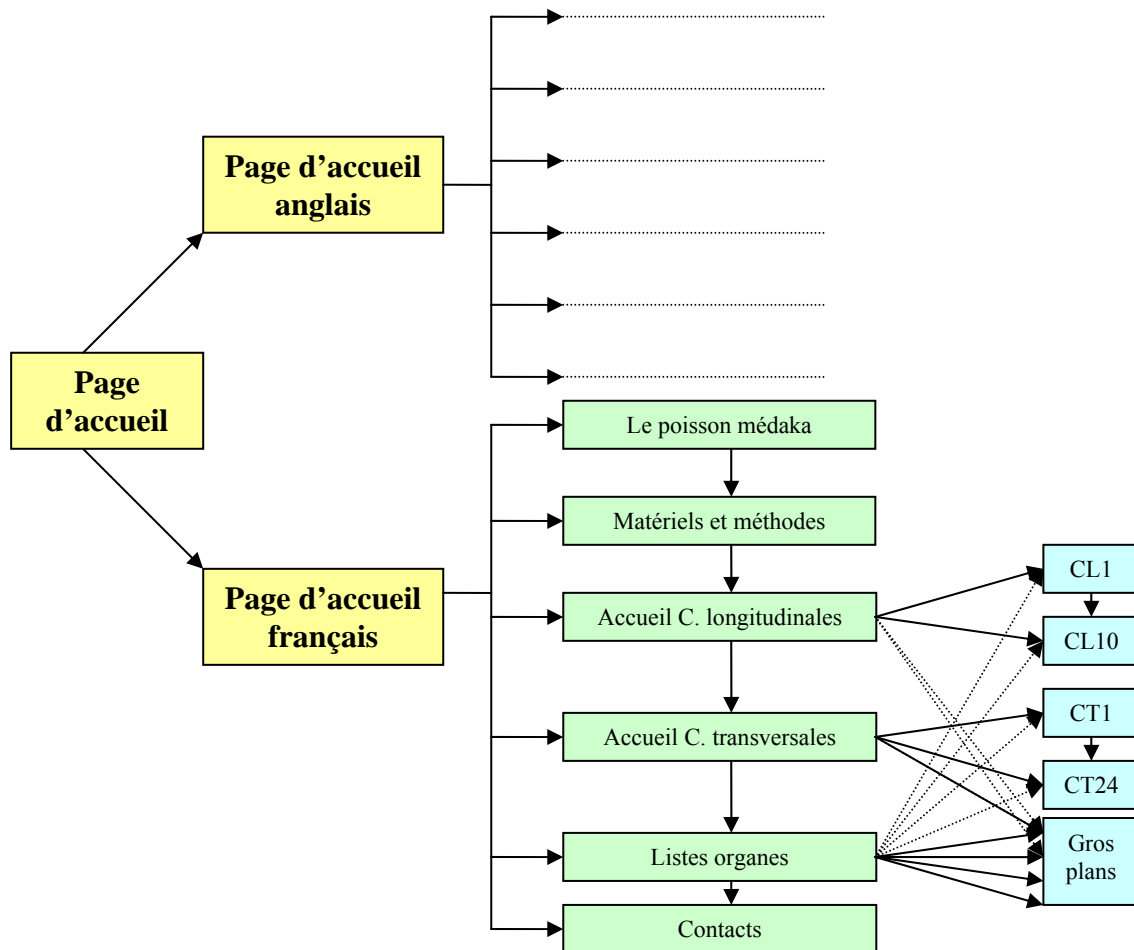
Les pages « Coupes longitudinales » et « Coupes transversales » sont des tableaux regroupant la liste des coupes longitudinales ou transversales visibles sur le site. A chaque numéro de coupe est associée la liste des organes présents sur la coupe classés par appareil. Pour les organes dont un gros plan est disponible, on peut accéder directement à celui-ci par un lien. De ces deux pages on peut accéder individuellement à toutes les coupes longitudinales ou transversales, et lorsqu'on est sur une des ces coupes, on peut passer à la suivante ou la précédente sans revenir au tableau par une barre de navigation en bas de la page. Les coupes sont classées, pour les transversales de la plus antérieure à la plus postérieure, et pour les longitudinales de la plus latérale à gauche à la plus latérale à droite.

La page « liste organes » est un tableau regroupant tous les organes visibles en gros plans classés par appareil ainsi que les coupes longitudinales et transversales sur lesquelles ils apparaissent.

La page « Contacts » permet de contacter le gestionnaire du site.

De chaque page, on peut retourner à la page d'accueil.

Figure 14 : Arborescence du site internet d'histologie topographique du poisson médaka. C. coupe, CL coupe longitudinale, CT coupe transversale. Chaque flèche figure pour un lien, les pleines à partir d'une barre de navigation, celles en pointillé à partir du texte. Seule la partie « version française » du site est représentée sur ce schéma. A partir de chaque case bleue, on peut également individuellement accéder à chaque case verte.



2. Mise en page et insertion des photos

Deux modèles de pages ont été créés : un pour la page d'accueil et un pour toutes les autres pages.

A partir du deuxième modèle, les photos ont été insérées : la photo sans légende et la photo avec légende comme image survolée, c'est-à-dire que la légende n'apparaît que lorsque la souris est positionnée sur la photo.

3. Référencement du site

Pour qu'un site soit accessible à partir des moteurs de recherche, il doit être référencé.

En ce qui concerne ce site, deux modes de référencement ont été choisis. D'une part, il est prévu de contacter la Medaka Home Page qui référence tous les sites ayant pour thème le médaka [[http://biol1.bio.nagoya-u.ac.jp :8000/](http://biol1.bio.nagoya-u.ac.jp:8000/)] (31). D'autre part, à l'aide d'un outil particulier, le « Dublin Core », il est possible en incorporant des méta données sur les pages internet du site d'être pris en compte par les moteurs de recherche. Le Dublin Core comprend des éléments de description formels (titre, auteur, éditeur), intellectuels (sujet, description, langue) et relatifs à la propriété intellectuelle. (47)

Ainsi, le site internet obtenu à l'aide des photos de 10 coupes longitudinales, de 24 coupes transversales et de quelques gros plans, présente l'histologie topographique du médaka.

Partie 3 : OBSERVATION DES COUPES ET PARTICULARITES ANATOMIQUES DU POISSON MEDAKA

A partir des coupes utilisées pour concevoir l'atlas histologie topographique, des particularités anatomiques ont pu être dégagées. Ces données anatomiques complémentaires de l'atlas permettent de faire le point sur les informations acquises par ce travail, et les approfondissements nécessaires.

I. MORPHOLOGIE EXTERNE DU POISSON MEDAKA, MUSCULATURE ET PEAU

A. Morphologie externe

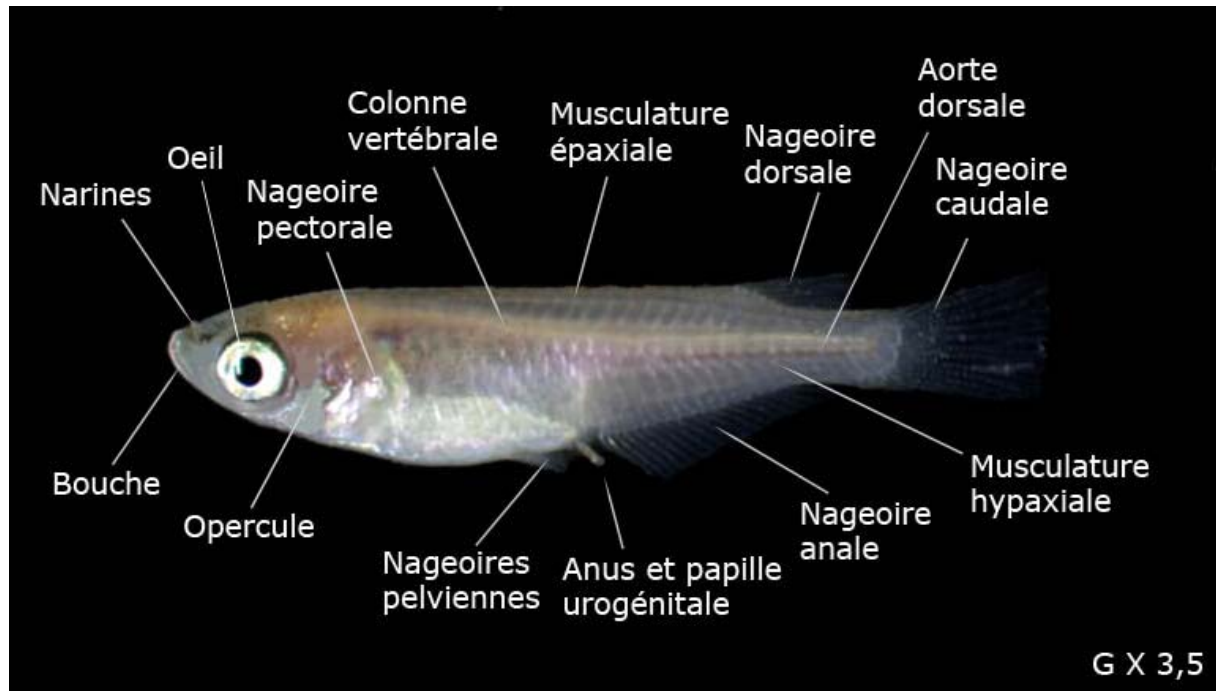
Le poisson médaka est un petit poisson téléostéen d'environ 2 à 3 cm de long. Un adulte pèse entre 1 et 1,5 g. Sa peau est recouverte d'écailles dermiques et est de couleur argentée.

Sur la tête sont visibles : la bouche, les yeux volumineux, l'opercule et les narines.

Le reste du corps porte les nageoires paires (nageoires pectorales et pelviennes) et impaires (nageoires anales, caudales et dorsales), l'anus et la papille urogénitale. La ligne latérale, se présentant sous la forme d'une ligne ponctuée au milieu de chaque face latérale du poisson, est difficile à percevoir.

Certains organes sont visibles au travers de la peau : l'aorte dorsale et la colonne vertébrale par exemple. (*Figure 15*)

Figure 15 : Morphologie externe du poisson médaka. Photo ENVA, grossissement x 3,5.



B. Peau et musculature

La peau du poisson médaka a la structure de celle des poisson comprenant un épiderme, un derme, et un hypoderme très fin. Les écailles du médaka sont de type cycloïde, c'est-à-dire de forme circulaire.

Les masses musculaires identifiées sont les muscles épaxiaux et hypaxiaux de part et d'autre de la colonne vertébrale, surtout au niveau de la queue. (*Figure 15*)

II. APPAREIL BRANCHIAL ET VASCULAIRE

A. Les branchies

Les branchies du poisson médaka, comme celles des autres téléostéens, sont soutenues par quatre arcs branchiaux de chaque côté de la cavité buccale. Contrairement au poisson tête de boule (*Pimephales promelas*), elles sont seulement développées ventralement. (52)

Extérieurement, un opercule osseux protège les branchies et régule le flux d'eau au travers des filaments.

Les lamelles branchiales primaires sont soutenues par un support cartilagineux central, l'arc branchial, possèdent des artérioles afférentes et efférentes, et sont recouvertes d'un épithélium. La position de ces artères est constante chez les poissons ce qui permet de les identifier sur les coupes : l'artère branchiale afférente est plus dorsale que l'artère branchiale efférente. (*Figure 16*)

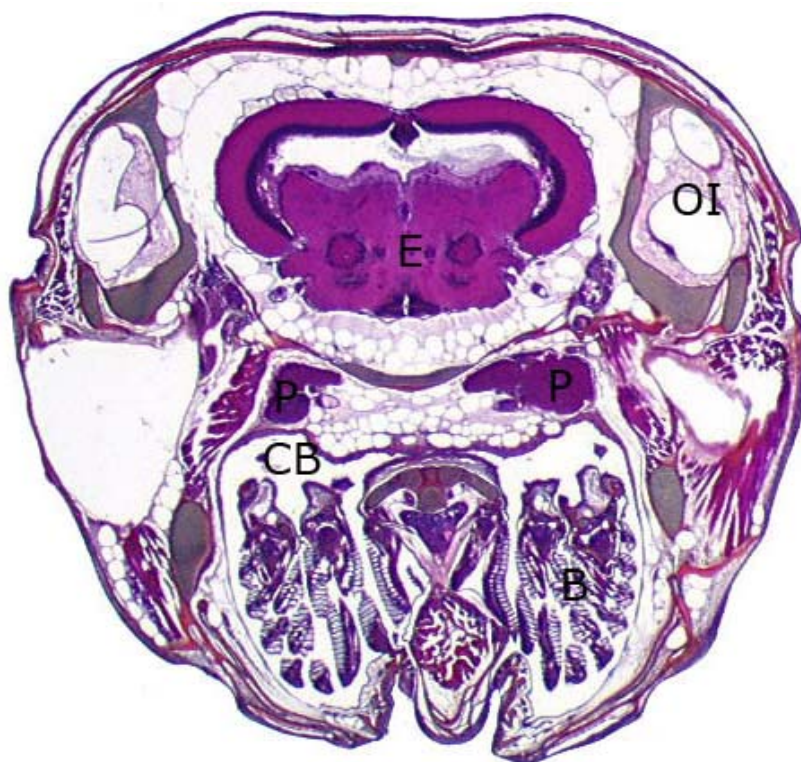
Figure 16 : Holobranchie, coupe transversale (HES, grossissement moyen). A arc branchial, AE artère branchiale efférente, AA artère branchiale afférente, SC support cartilagineux, H une hémibranchie, L lamelles branchiales primaires.



B. Les pseudobranchies

Les pseudobranchies du poisson médaka sont des organes bilatéraux localisés dans la muqueuse du pharynx, proches du plafond de la cavité buccale : elles sont situées entre le crâne dorsalement et la cavité branchiale ventralement. Par leur localisation et leur structure histologique, elles se rapprochent des pseudobranchies de type glandulaire des téléostéens. (Figure 17)

Figure 17 : Coupe transversale (HES, grossissement faible). E encéphale, P pseudobranchies, OI oreille interne, B branchies, CB cavité buccale.



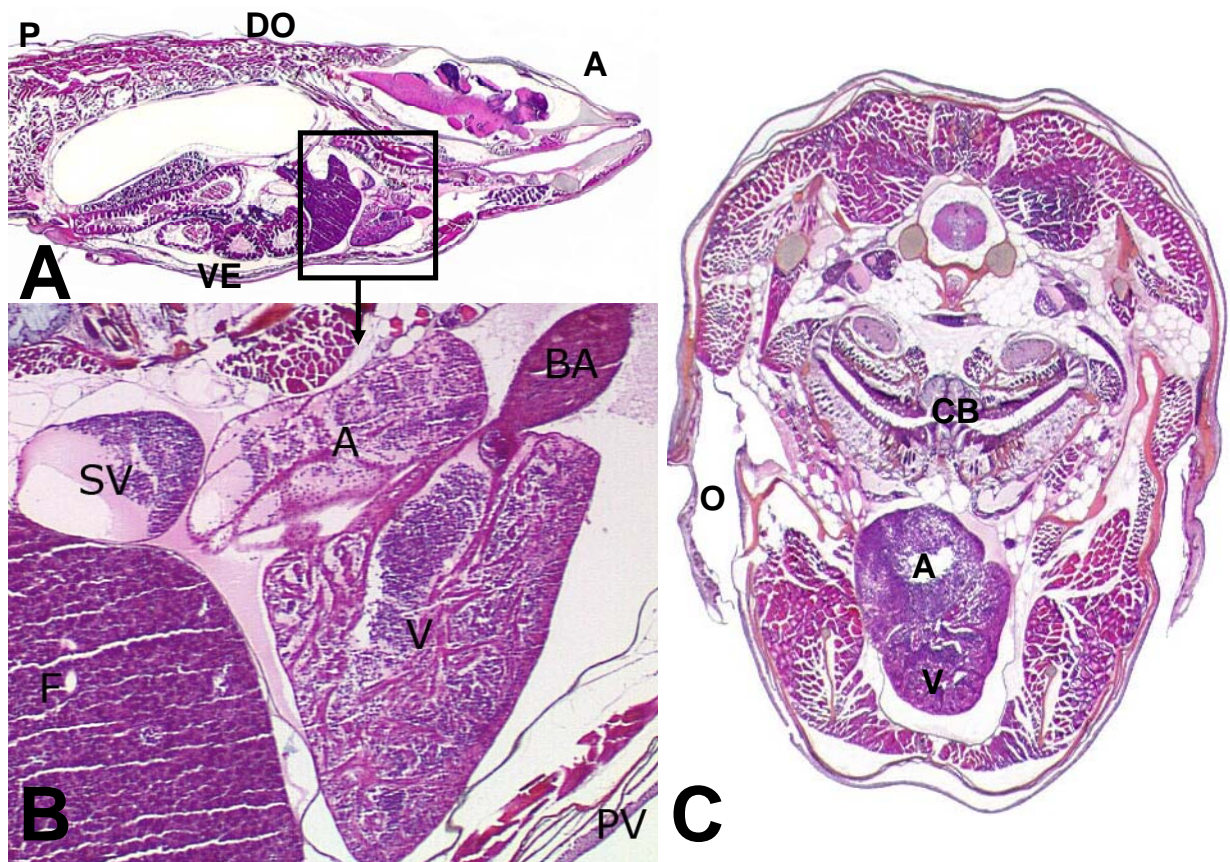
C. Le cœur

Le cœur linéaire en forme de « S » du médaka est ventral et médial, juste postérieur à la cavité branchiale ; caudalement, il est en rapport direct avec le foie dont il est seulement séparé par le péritoine.

Les quatre cavités sont identifiables sur les coupes (figure 18). Le sinus veineux est la plus caudale des cavités. Il est situé dans le prolongement direct de l'atrium. Ventralement à l'atrium, on trouve le ventricule à la paroi plus épaisse. Le bulbe artériel est

situé crânialement au ventricule. Les valvules n'ont pu être identifiées sur les coupes ; leur finesse peut expliquer leur absence du plan de coupe.

Figure 18 : **A :** Coupe longitudinale (HES, grossissement faible). Encadré : localisation du cœur, P face postérieure, A face antérieure, DO face dorsale, VE face ventrale. **B :** cœur de médaka (HES, grossissement fort), agrandissement de la région encadrée. F foie, SV sinus veineux, A atrium, V ventricule, PV paroi ventrale, BA bulbe artériel. **C :** Coupe transversale (HES, grossissement faible) dans la région du cœur, A atrium, V ventricule, CB cavité buccale, O opercule.



D. Appareil vasculaire

Quelques éléments du système vasculaire du poisson médaka ont pu être identifiés, en particulier l'aorte dorsale et les veine cardinales postérieures.

Dans l'abdomen crânial (*figure 19a A, B et figure 19b E*), l'aorte dorsale est située juste ventralement à la chorde. L'émission des artères rénales, conduisant le sang de l'aorte dorsale aux reins est visible sur la *figure 19 A*. La partie la plus crâniale de l'aorte est en rapport avec l'œsophage (*figure 19b E*). L'identification de l'aorte est plus délicate dans la partie

postérieure de l'abdomen. En effet, deux vaisseaux dorsaux cheminent parallèlement, parcourant le parenchyme rénal abdominal : la veine caudale et l'aorte dorsale. Or la discrimination entre ces deux structures ne peut se faire que sur l'épaisseur de la paroi et leur calibre ce qui parfois difficile à apprécier sur les coupes. (*Figure 19a C et figure 19b D*).

Les veines cardinales postérieures sont de gros vaisseaux émis ventralement aux reins dans l'abdomen crânial (*figure19a A et B*). Au fur et à mesure de leur trajet vers le cœur, elles occupent une position plus dorsale (*figure19b F*).

Figure 19a : Identification de quelques éléments de l'appareil vasculaire du médaka.

A : Coupe transversale (HES, grossissement moyen). ME Moelle épinière, R rein, AR artère rénale, AD aorte dorsale, VCP veine cardinale postérieure, OE œsophage.

B : Coupe transversale (HES, grossissement moyen). C chorde, R rein, VCP veine cardinale postérieure, AD aorte dorsale.

C : Coupe transversale, (HES, grossissement fort). ME moelle épinière, AD aorte dorsale, U urètre, VC veine caudale.

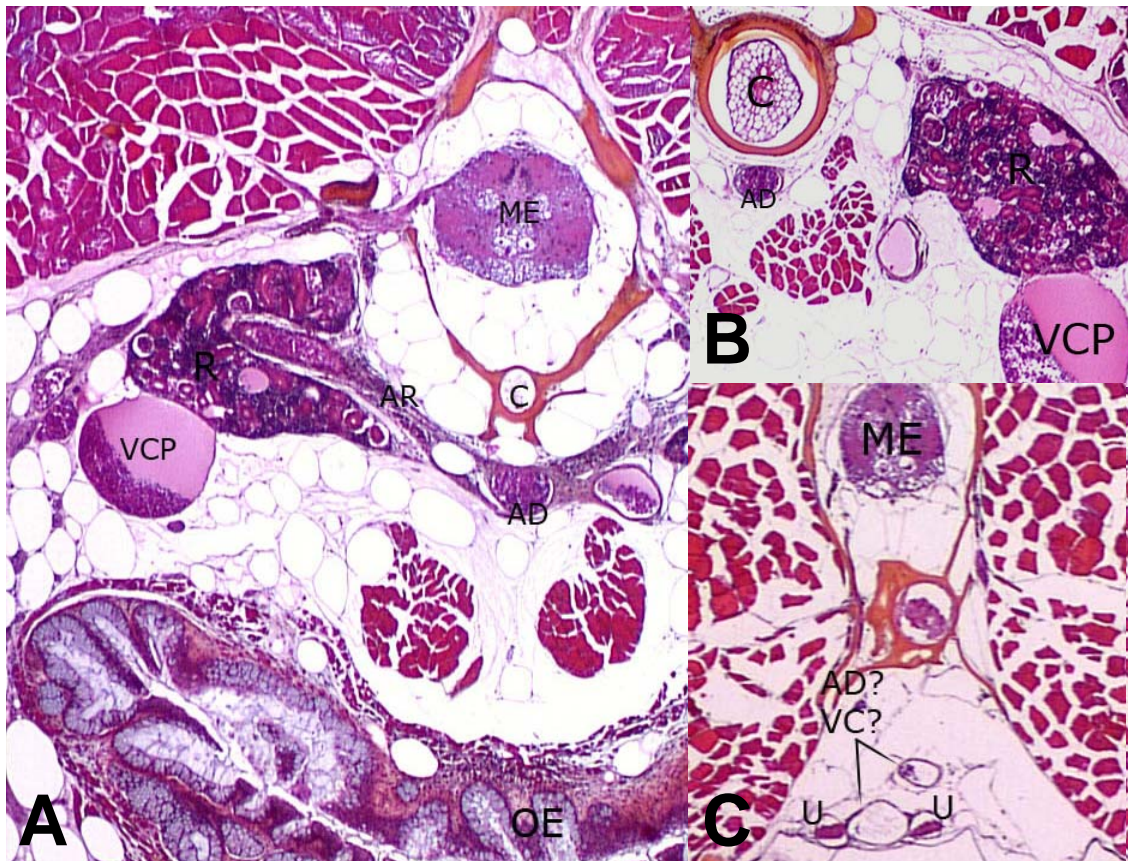
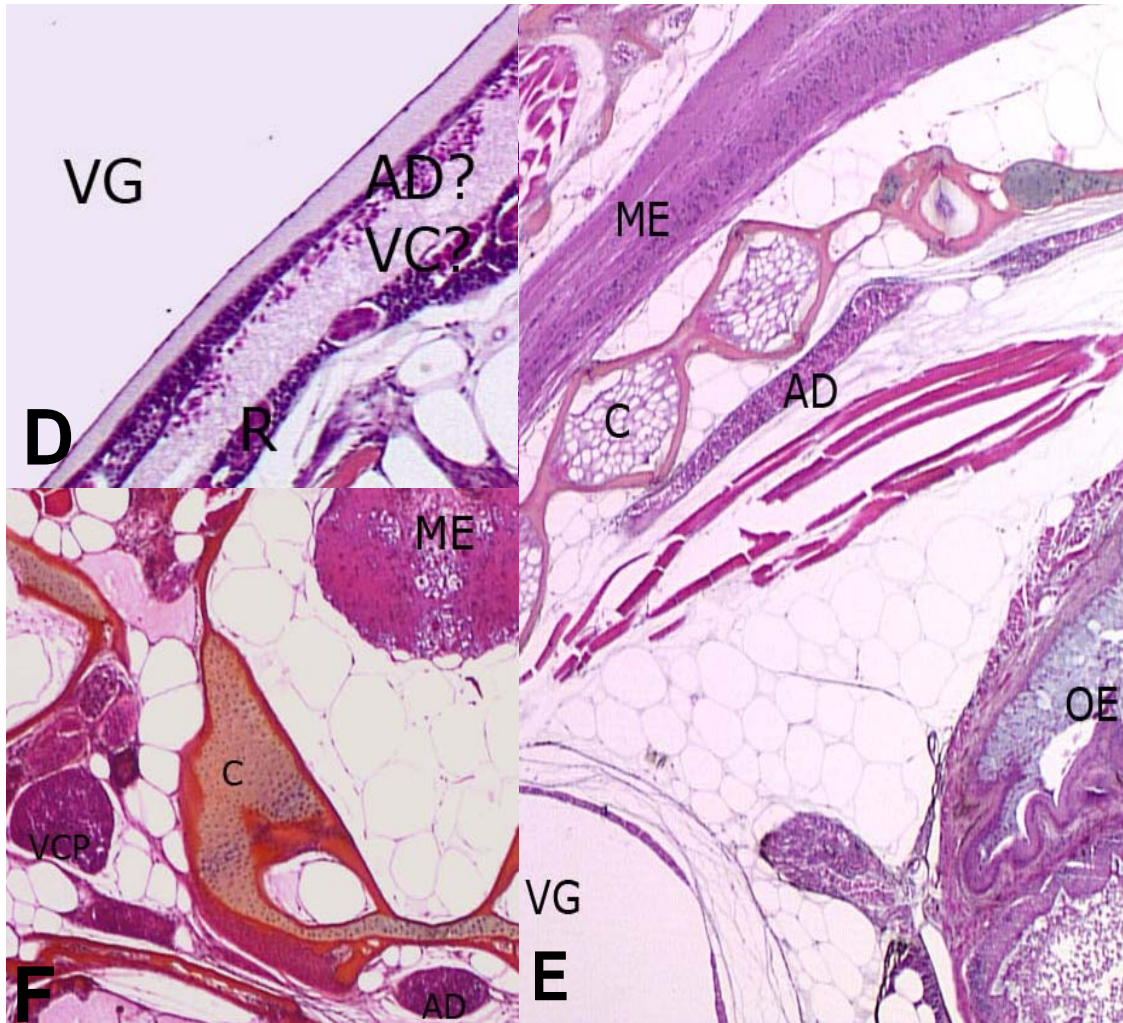


Figure 19b : Identification de quelques éléments de l'appareil vasculaire du médaka.

D : Coupe longitudinale, (HES, grossissement moyen). VG vessie gazeuse, AD aorte dorsale, R rein.

E : Coupe longitudinale, (HES, grossissement moyen). ME moelle épinière, AD aorte dorsale, C chorde, VG vessie gazeuse, OE œsophage.

F : Coupe transversale (HES, grossissement fort). VCP veine cardinale postérieure, ME moelle épinière, AD aorte dorsale, C crâne.



III. APPAREIL DIGESTIF ET VESSIE GAZEUSE

A. L'appareil digestif

1. Le tube digestif

a) La cavité bucco-pharyngienne et œsophage

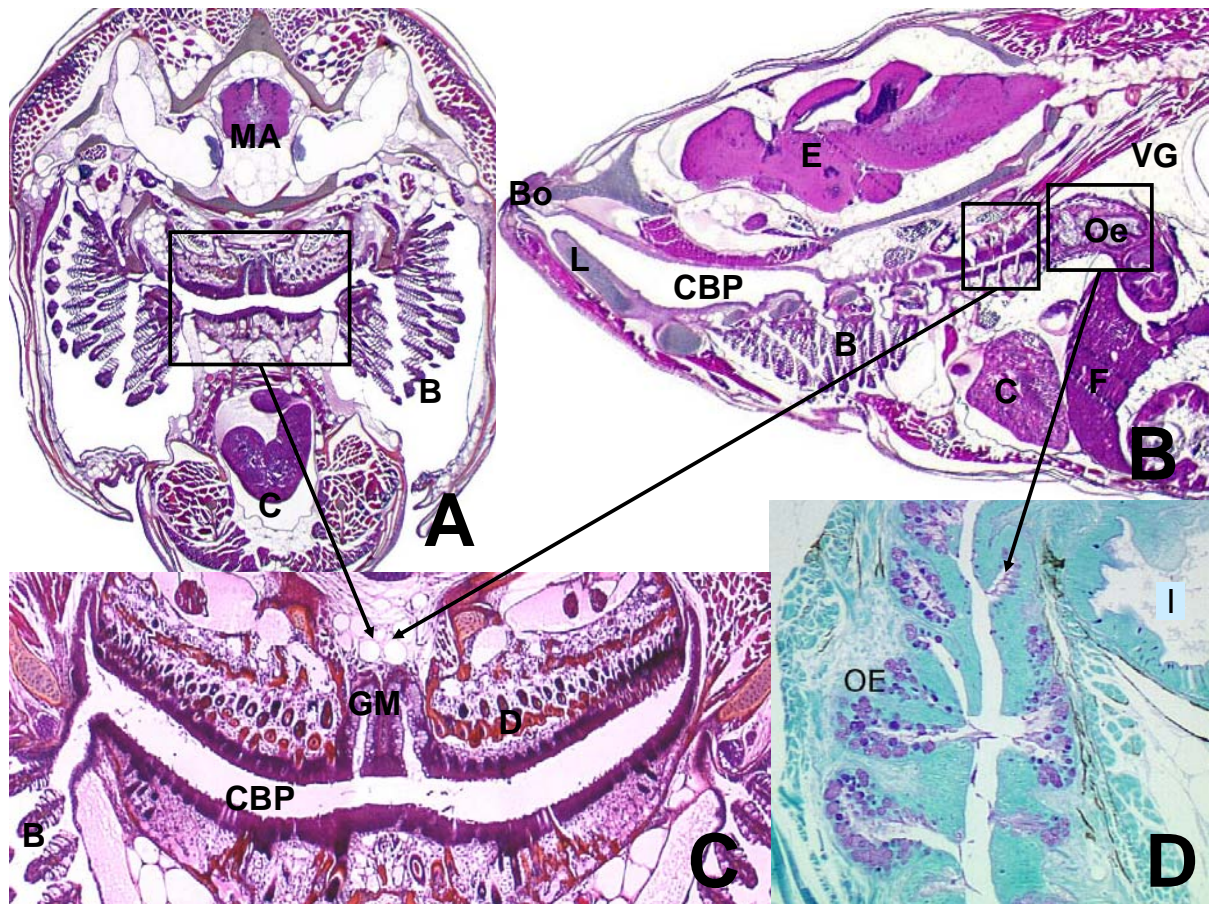
La cavité bucco-pharyngienne est limitée crânialement par l'orifice buccal et caudalement par l'œsophage.

A l'entrée de la cavité buccale est présente une langue soutenue par du tissu osseux. (*Figure 20 B*)

La cavité pharyngienne correspond à la cavité branchiale. Elle est recouverte un épithélium riche en cellules muqueuses. La limite entre la cavité pharyngienne et l'œsophage n'est pas nettement marquée ; les muqueuses sont de structure proche. Dans la partie caudale de la cavité pharyngienne, on observe des denticules cornés et des glandes à mucus profondes qui peuvent être mises en évidence par la coloration APS. Ces formations sont situées à la limite entre l'œsophage et le pharynx si bien qu'il est difficile de conclure si elles dépendent de l'une ou de l'autre. (*Figure 20 C*)

L'œsophage est un tube court dont la muqueuse est riche en cellules à mucus. (*Figure 20 D*) A la dissection, on observe que sa paroi est parcourue de stries longitudinales.

Figure 20: **A** : Coupe transversale (HES, grossissement faible), MA moelle allongée, B branchies, C cœur. **B** : Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), Bo bouche, L langue, CBP cavité bucco-pharyngienne, E encéphale, B branchies, C cœur, F foie, Oe œsophage, VG vessie gazeuse. **C** : Coupe transversale (HES, grossissement moyen), B branchies, CBP cavité bucco-pharyngienne, GM glande à mucus, D denticules. **D** : Coupe longitudinale (APS, grossissement moyen), OE œsophage, I intestin.



b) Estomac, intestin et anus

A la dissection, le tube digestif apparaît comme un tube de diamètre constant d'environ 5 cm de long replié une fois sur lui-même. Macroscopiquement aussi bien que microscopiquement, aucun segment spécialisé n'est individualisable ; le médaka en particulier ne possède pas d'estomac. (Figure 21 A et C)

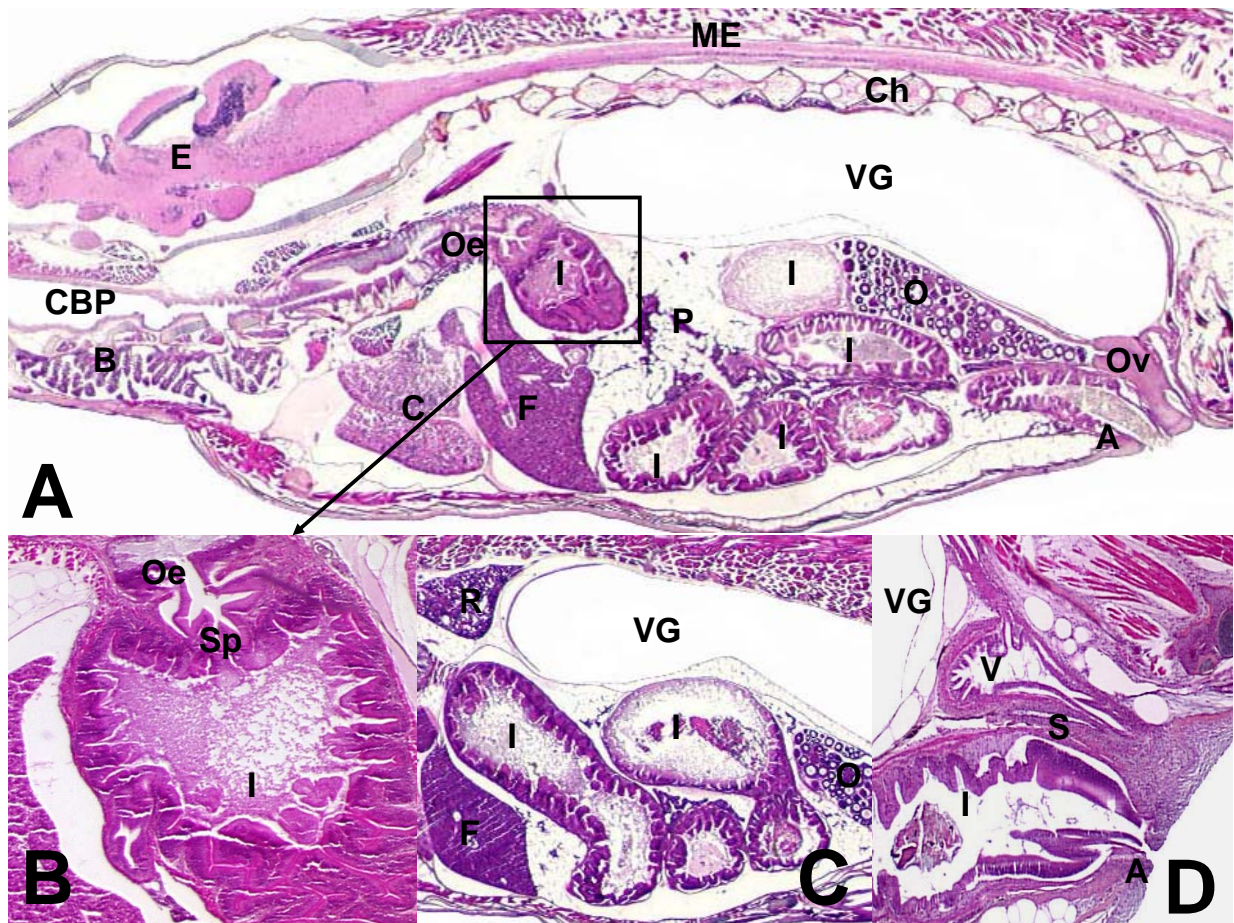
A la limite entre l'œsophage et l'intestin, un sphincter en forme de rosette est visible. (Figure 21 B)

La longueur de l'intestin du médaka est adaptée à son régime alimentaire : intermédiaire, elle concorde avec l'alimentation de type microphage de l'animal.

L'intestin est en rapport avec tous les organes de la cavité abdominale au sein de laquelle il occupe une position centrale. (Figure 21 A et C)

Le tube digestif se termine au niveau de l'anus ventral situé crânialement à la papille urogénitale. (Figure 21 D)

Figure 21 : **A :** Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), CBP cavité bucco-pharyngienne, E encéphale, B branchies, ME moelle épinière, Ch chorde, Oe œsophage, I intestin, C cœur, F foie, P pancréas, VG vessie gazeuse, O ovaire, Ov oviducte, A anus. **B :** Coupe longitudinale (HES, grossissement moyen), Oe œsophage, Sp sphincter oesophagien, I intestin. **C :** Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), R rein, VG vessie gazeuse, I intestin, O ovaire, F foie. **D :** Coupe longitudinale (HES, grossissement moyen), VG vessie gazeuse, V vessie, S spermiducte, I intestin, A anus.



2. Les glandes digestives

a) Le foie

Le foie du médaka, en forme de parapluie, est situé dans l'abdomen crânial. L'intestin crânial se localisant à gauche, les 2/3 du parenchyme hépatique se situent à droite du plan sagittal. Il n'est pas divisé en lobes et forme une masse unique comme chez la plupart des téléostéens ; seule une légère constriction médiale est visible.

Histologiquement, aucune organisation lobulaire n'est présente : l'organe a une structure tubulosinoïdale. (15)

Crânialement, il est en rapport avec le péritoine et juste crânialement à celui-ci avec le cœur, caudalement il est situé à proximité de la vésicule biliaire, du tube digestif (estomac, intestin) et du pancréas. (*Figure 22 A*)

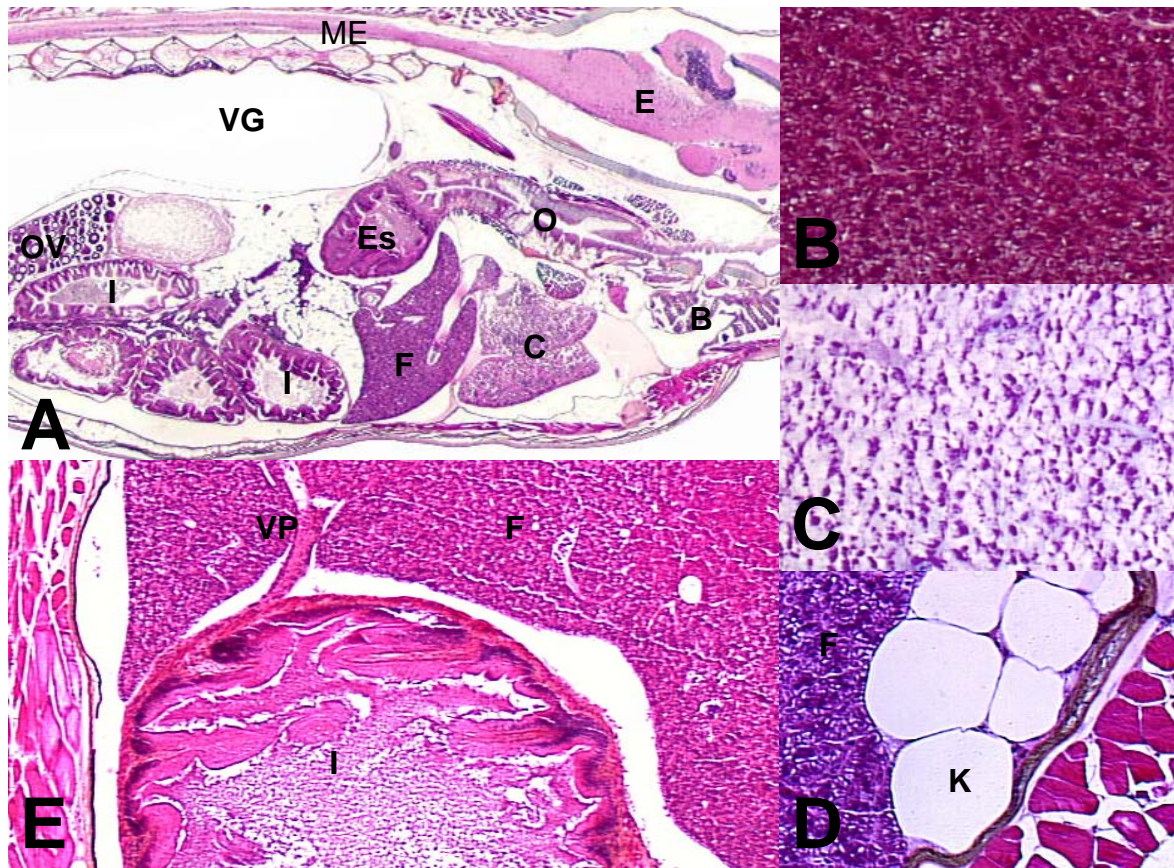
Le parenchyme hépatique est de structure homogène ; les hépatocytes forment des travées assimilables aux travées hépatocytaires des mammifères, ont un gros noyau et des structures de type vacuolaire dans le cytoplasme (*figure 22 B*). La coloration APS met en évidence du glycogène (*figure 22 C*). La quantité de glycogène varie selon les individus : en général, les femelles avaient plus de glycogène stocké dans le foie que les mâles, contrairement à ce qui est décrit dans certaines études (12).

Des kystes (*figure 22 D*) ont été observés chez deux individus sur huit sur les bords du foie ; ces lésions dégénératives sont courantes dans le foie du médaka (12) et pourraient évoluer vers une spongieuse (zones à petites structures kystiques multiples). Kystes et spongieuse pourrait être présents plus souvent chez les individus âgés. (12) Des cordons pancréatiques peuvent être infiltrés dans le parenchyme hépatique. (*Figure 23 E*)

La vésicule biliaire, de taille variable, contenant une bile de couleur vert clair, se situe caudalement au foie, le plus souvent légèrement à droite du plan sagittal. Elle peut atteindre une taille très importante par rapport au volume de la cavité abdominale.

Le foie est irrigué par les artères hépatiques (non observées) et par la veine porte hépatique. (*Figure 22 E*)

Figure 22: **A** : Coupe longitudinale parasagittale (HES, grossissement faible). F foie, C cœur, B branchies, Es estomac, I intestin, Ov ovaire, E encéphale, ME moelle épinière, O œsophage. **B** : Foie, (HES, grossissement fort). **C** : Foie (APS, grossissement fort). **D** : foie (HES, grossissement fort). F foie, K kyste. **E** : Coupe transversale (HES, grossissement moyen). I intestin, F foie, VP veine porte hépatique.



b) Le pancréas

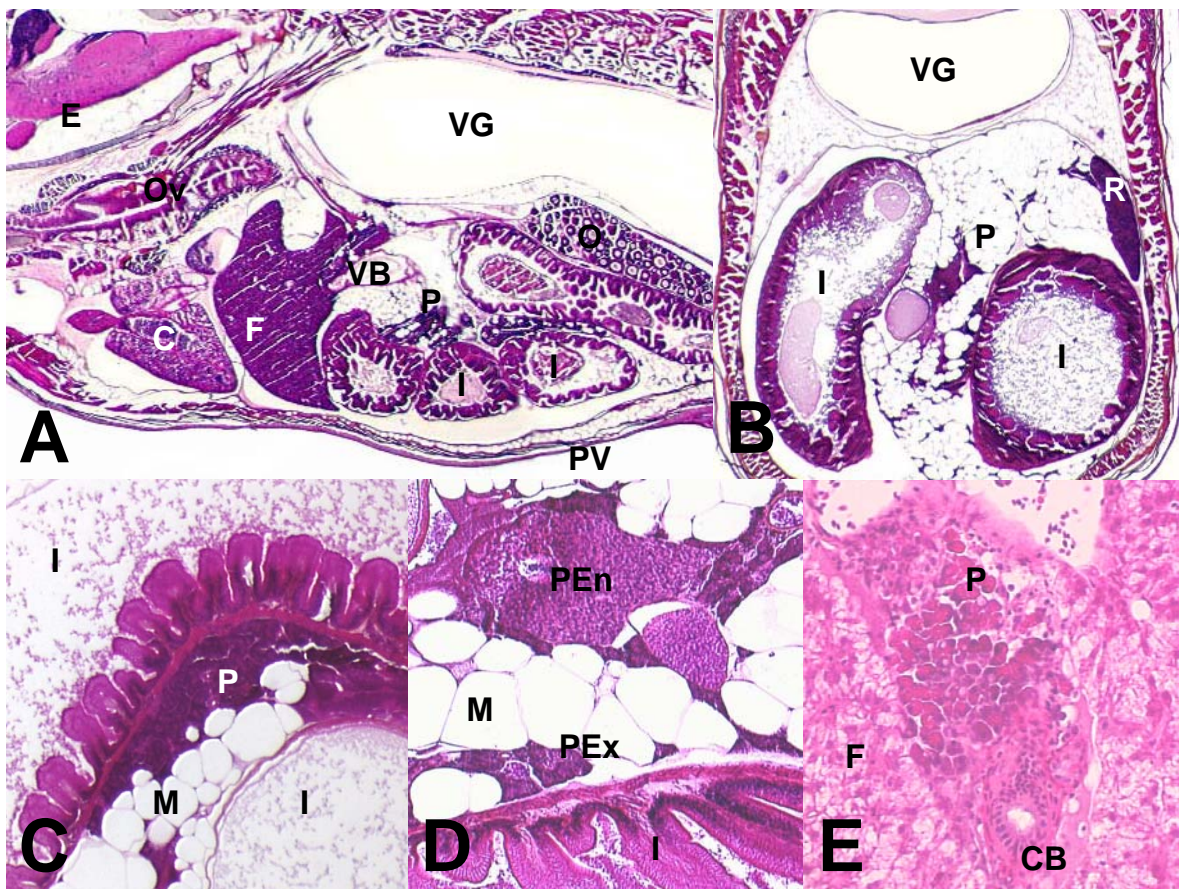
Le pancréas est localisé caudalement au foie et est disséminé dans le mésentère. Il est en rapport direct avec le foie, l'intestin, la vésicule biliaire et la rate. (*Figure 23 A, B et C*)

Le pancréas exocrine peut être différencié du pancréas endocrine, car les cellules de ce dernier ont un cytoplasme plus clair et sont regroupées en une masse unique de grande taille (2). (*Figure 23 D*)

Certaines cellules pancréatiques exocrines possèdent des granules éosinophiles dans leur cytoplasme ; les cellules qui en contiennent sont le plus souvent présentes à proximité du foie et des canaux biliaires.

Du tissu pancréatique exocrine peut être infiltré dans le foie, en particulier à proximité des vaisseaux sanguins et des canaux biliaires : on parle alors d'hépatopancréas. (Figure 23 E)

Figure 23 : **A :** Coupe longitudinale (HES, grossissement faible). P pancréas, I intestin, PV paroi ventrale, VG vessie gazeuse, F foie, C cœur, O ovaire, O œsophage, E encéphale. **B :** Coupe transversale (HES, grossissement faible). VG vessie gazeuse, P pancréas, I intestin, R rate. **C :** P pancréas, I intestin, M mésentère. **D :** I intestin, M mésentère, PEn pancréas endocrine, PEx pancréas exocrine. **E :** P pancréas, CB canal biliaire, F foie.



B. La vessie gazeuse

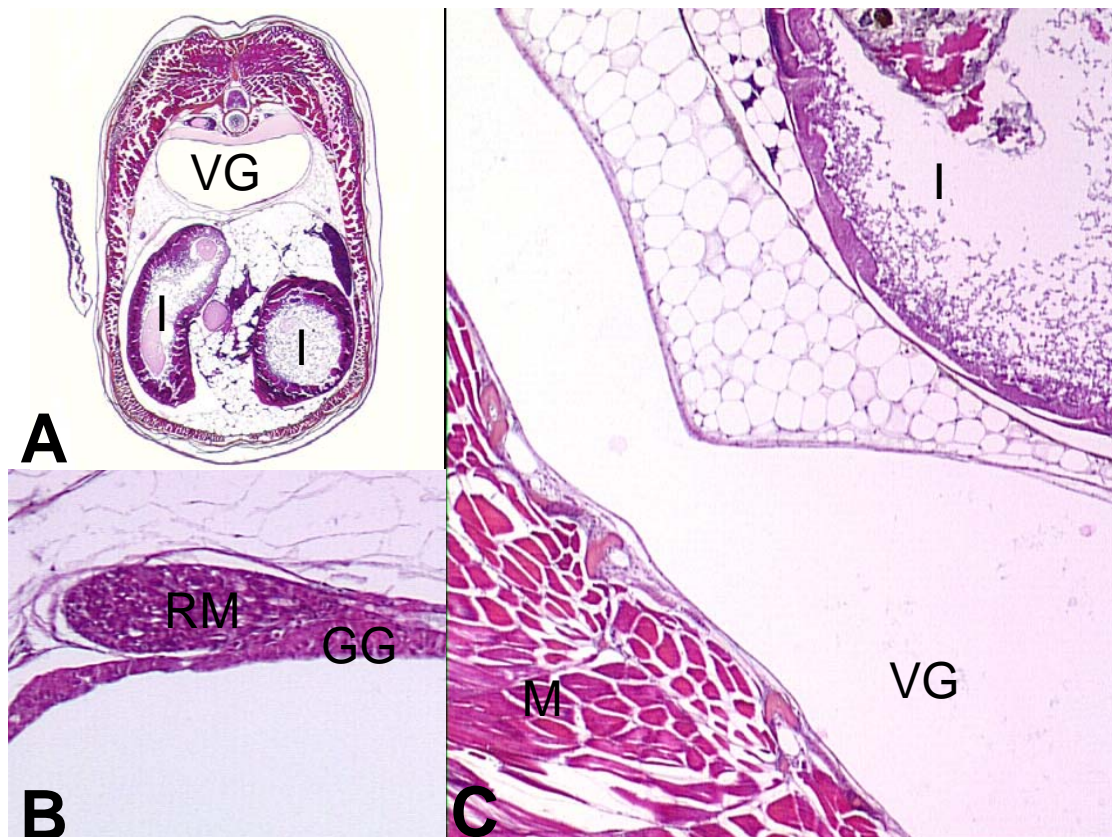
Chez le poisson médaka, la vessie gazeuse occupe environ un tiers du volume de l'abdomen. (Figure 24 A) Elle est située entre l'intestin, le pancréas et la gonade ventralement et la colonne vertébrale, les reins et l'aorte dorsalement ; c'est un organe rétro-péritonéal.

De forme allongée, elle présente une constriction au tiers crânial. (Figure 24 C)
A la dissection, sa paroi est fine, blanche et légèrement réfringente et un conduit d'apparence fibreuse relie la vessie gazeuse à l'appareil digestif

Microscopiquement, sa paroi est d'une structure identique au tube digestif ; un épaissement de l'épithélium de l'organe est visible au niveau crânial : il s'agit de la glande à gaz. A proximité de celle-ci, un réseau de capillaire est visible : le *rete mirabilis*. (Figure 24 B)

Il n'a pas été détecté de conduit pneumatique: le médaka fait donc sûrement partie des physoclistes, ce qui concorde avec sa place élevée dans la classification des téléostéens.

Figure 24 : **A :** Coupe transversale (HES, grossissement faible), VG vessie gazeuse, I intestin. **B :** Coupe longitudinale (HES, grossissement fort), RM *rete mirabilis*, GG glande à gaz. **C :** Coupe longitudinale (HES, grossissement fort), M muscle, VG vessie gazeuse et sa constriction, I intestin.



IV. APPAREIL URINAIRE

A. Les reins

Les reins du médaka sont des organes pairs rétropéritonéaux. Ils sont composés de deux parties : une partie crâniale globuleuse et latérale, une partie abdominale effilée et médiane. (*Figure 25 A et B*) Par comparaison avec d'autres espèces de téléostéens, ces deux parties ne sont pas individualisées ; on ne peut donc pas isoler un rein céphalique *sensus stricto*.

Macroscopiquement, ils sont de très petite taille et de couleur brun rouge.

La partie crâniale des reins est riche en tissu lymphohématopoïétique et en tissu rénal : des glomérules, des tubules et des cellules lymphoïdes sont visibles. (*Figure 25 C*) Le rein crânial est en rapport avec le foie, l'intestin, la vessie gazeuse, la rate, les branchies ventralement et les structures vertébrales dorsalement. (*Figure 25 A et B*)

La partie abdominale des reins (*figure 25 D*) parcourt dans l'espace rétropéritonéal les deux tiers de la cavité abdominale. Dans cette partie de l'organe, les reins droit et gauche se rapprochent du plan médian, encadrant l'aorte dorsale et la veine caudale, sans jamais fusionner. Le tissu rénal est majoritairement de type excréteur. Les limites entre les tubes collecteurs et le passage aux uretères droit et gauche sont difficiles à percevoir.

Les reins sont irrigués par les artères rénales (*figure 19 A*), et reçoivent également du sang des veines portes rénales ; le retour veineux est assuré par les veines cardinales postérieures.

B. Les voies urinaires et la vessie

Les voies urinaires sont composées de deux uretères encadrant l'aorte dorsale et la veine caudale (*figure 25 E*) et d'un urètre médian. Les uretères fusionnent dans une partie très caudale de l'abdomen pour former une vessie peu volumineuse. De celle-ci part un urètre très court qui débouche au niveau de la papille uro-génitale caudalement à l'orifice génital.

La *figure 26* montre les orifice anaux et uro-génitaux d'une femelle (*A*) et d'un mâle (*B*).

Les voies urinaires sont délicates à détecter sur les coupes du fait de leur faible volume.

Figure 25: **A** : Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), O œil, OI oreille interne, R rein, I intestin, F foie, B branchie, VG vessie gazeuse. **B** : Coupe transversale (HES, grossissement faible), Me moelle épinière, Ch corde, R rein, I intestin, F foie. **C** : coupe longitudinale (HES, grossissement fort). **D** : Coupe longitudinale (HES, grossissement moyen), VG vessie gazeuse, PR parenchyme rénal, T tubule rénal, Ch corde. **E** : Coupe transversale (HES, grossissement moyen), U uretère, VG vessie gazeuse, Ch corde.

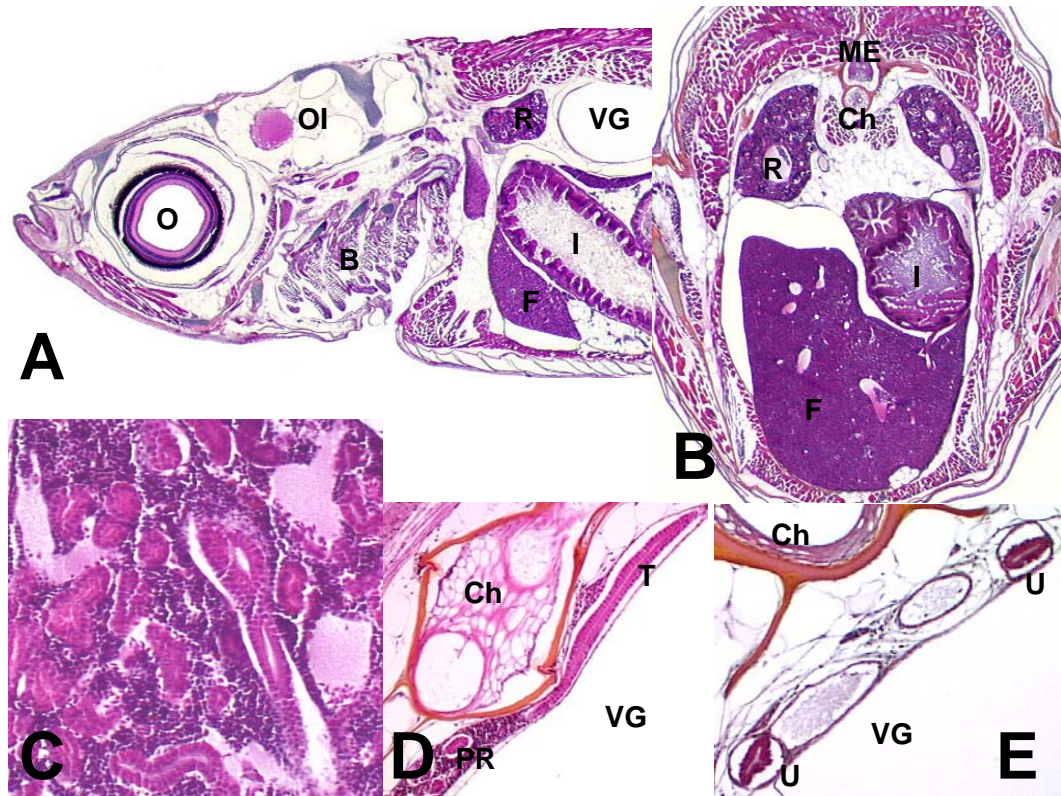
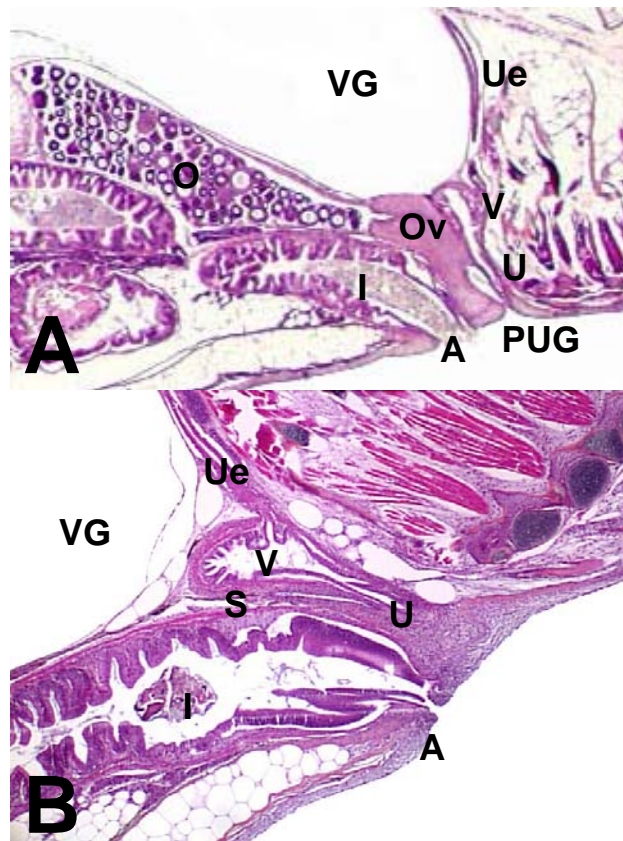


Figure 26: **A** : Coupe longitudinale d'une femelle médaka (HES, grossissement faible), VG vessie gazeuses, Ue uretère, V vessie, U urètre, PUG papille uro-génital, O ovaire, Ov oviducte, I intestin, A anus. **B** : Coupe longitudinale d'un médaka mâle (HES, grossissement moyen), U urètre, Ue uretère, V vessie, VG vessie gazeuse, S spermiducte, I intestin, A anus.



V. APPAREIL REPRODUCTEUR

L'appareil reproducteur du médaka est constitué de gonades et de voies génitales. Les gonades sont des organes périnéaux impairs chez la femelle et le mâle ; ils sont situés dorsalement et médialement dans le tiers caudal de l'abdomen.

A. L'appareil génital femelle

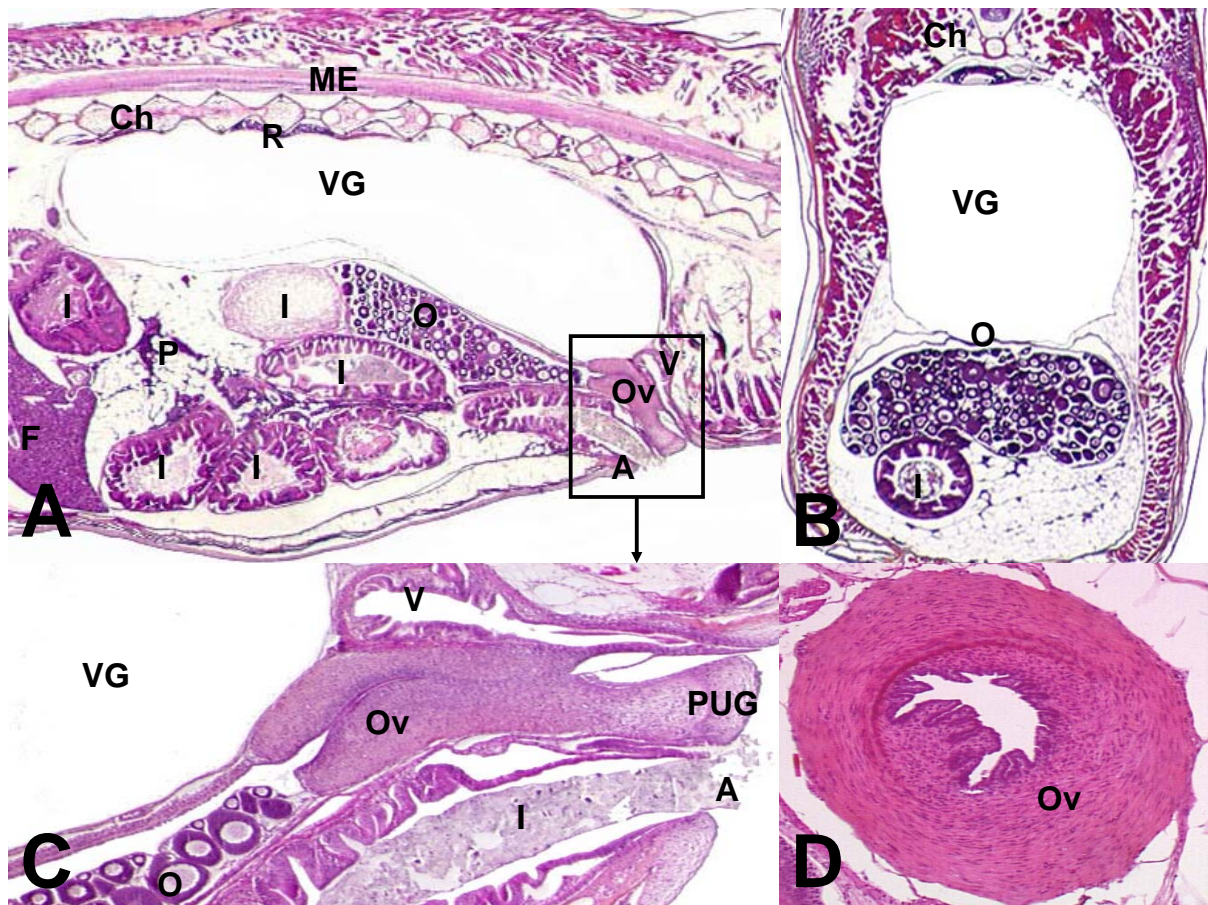
Macroscopiquement, l'ovaire de médaka a la forme d'une grappe de couleur blanche ; les œufs sont visibles à l'œil nu au travers de sa fine paroi. Sa taille varie fortement selon les individus et la période du cycle sexuel.

L'ovaire du médaka, comme celui des autres téléostéens, est de type cystique : une cavité centrale est visible. Il contient des follicules à tous les stades de développement. Il peut occuper jusqu'à 50% de la cavité péritonéale.

Lorsqu'il est de petite taille, il est rapport avec la vessie gazeuse, le pancréas et l'intestin ; si sa taille est importante, il peut être en contact direct avec le foie. (*Figure 27 A et B*)

L'ovaire se continue par un oviducte (*figure 27 C*) qui se termine au niveau de la papille uro-génitale. Ce conduit a une paroi très épaisse contenant des fibres musculaires. (*Figure 27 D*)

Figure 27 : **A** : Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), ME moelle épinière, Ch chorde, R rein, VG vessie gazeuse, I intestin, O ovaire, P pancréas, F foie, V vessie, Ov oviducte, A anus. **B** : Coupe transversale (HES, grossissement faible), Ch chorde, VG vessie gazeuse, I intestin. **C** : Coupe longitudinale (HES, grossissement moyen), VG vessie gazeuse, O ovaire, Ov oviducte, V vessie, I intestin, A anus, PUG papille uro-génitale. **D** : Coupe transversale d'un oviducte (HES, grossissement fort), Ov oviducte.

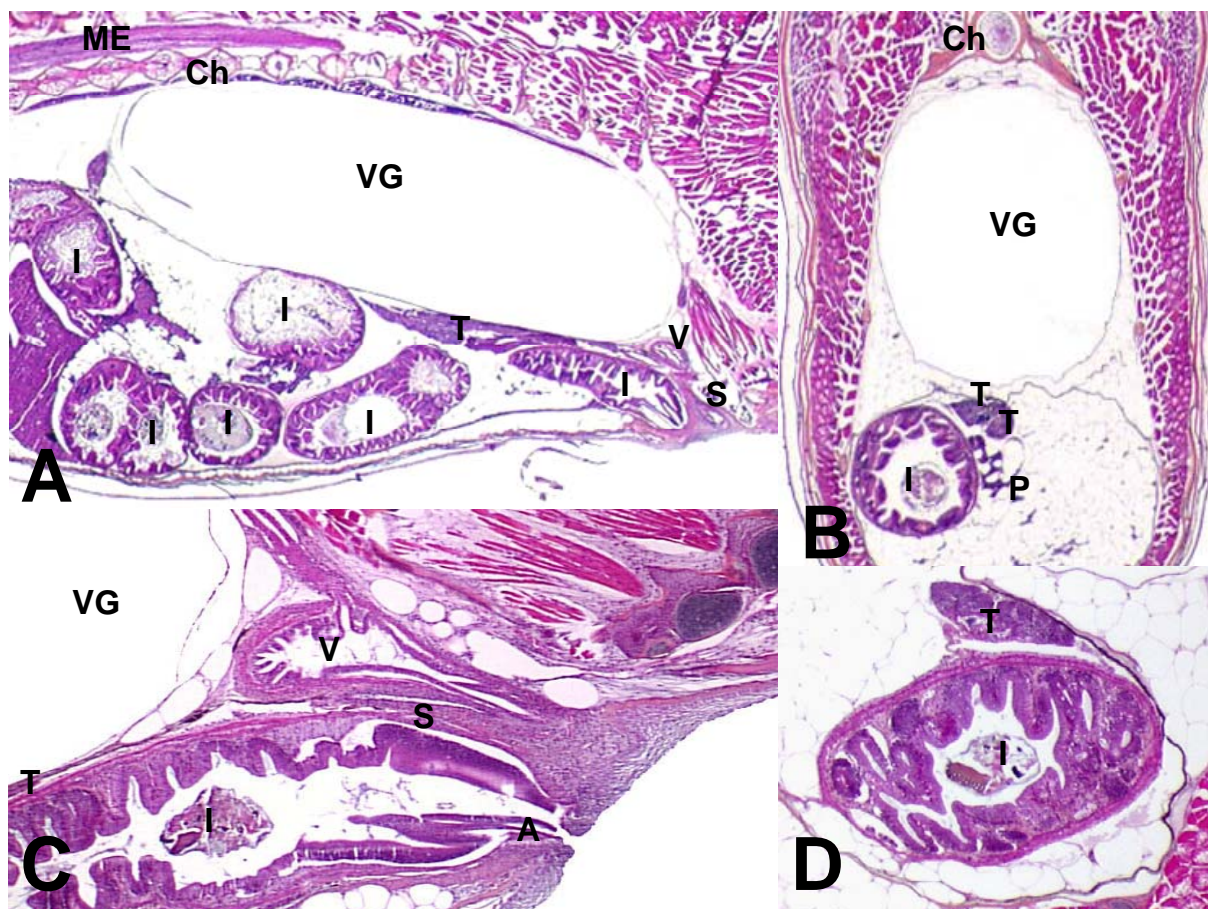


B. L'appareil génital mâle

Chez le mâle, la gonade est comme chez la femelle impaire mais de plus petite taille. Macroscopiquement, elle est de couleur blanche et de consistance ferme. Elle est en rapport direct avec la vessie gazeuse, l'intestin et le pancréas. (Figure 28 A, B et D)

La glande testiculaire est comme chez les autres téléostéens de type lobulaire. Un spermiducte, ou canal déférent, la prolonge jusqu'à la papille uro-génitale, caudale à l'anus (Figure 28 C)

Figure 28 : **A** : Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), ME moelle épinière, Ch corde, VG vessie gazeuse, I intestin, T testicule, V vessie, S spermiducte. **B** : Coupe transversale (HES, grossissement faible), Ch corde, VG vessie gazeuse, T testicule, P pancréas, I intestin. **C** : Coupe longitudinale (HES, grossissement moyen), VG vessie gazeuse, S spermiducte, V vessie, I intestin, T testicule. **D** : Coupe transversale (HES, grossissement fort), T testicule, I intestin.



VI. SYSTEME NERVEUX

A. L'encéphale

Le télencéphale comprend les hémisphères cérébraux lisses et non creusés de ventricule et les lobes olfactifs. (*Figure 29 A et B*)

Le diencephale comprend l'épithalamus, le thalamus et l'hypothalamus et les lobes inférieurs composant l'infundibulum. (*Figure 29 A*)

Le mésencéphale est composé du toit optique et du tegmentum entourant le 3ème ventricule. Cette partie du cerveau reçoit des informations des nerfs optiques et sa grande taille est à relier à l'importance de la vision chez le médaka. (*Figure 29 A*)

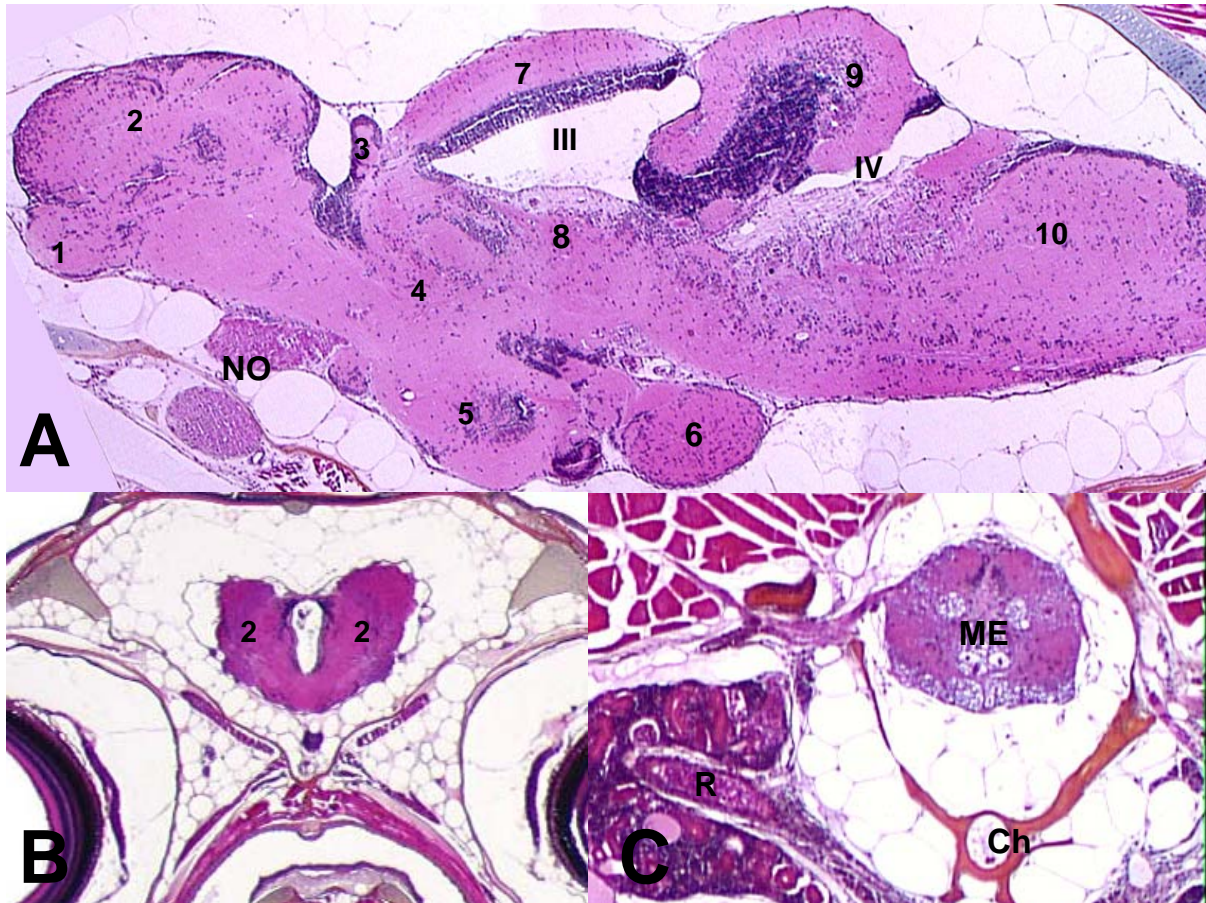
Le métencéphale ou cervelet recouvre le 4ème ventricule. La moelle allongée assure la liaison avec la moelle épinière. (*Figure 29 A*)

Un ouvrage complet contenant une description de toutes les voies nerveuses du médaka a été publié. (1)

B. Moelle épinière

La moelle épinière est protégée dans le canal vertébral formé par les vertèbres. Une structure embryonnaire, la corde, persiste au centre des corps vertébraux. (*Figure 29 C*)

Figure 29 : **A** : Coupe sagittale d'un encéphale (HES, grossissement faible). **B et C** : Coupe transversale de l'encéphale (B) et de la moelle épinière (C) (HES, grossissement faible). 1 tractus olfactif, 2 hémisphère cérébraux, 3 épiphyse, 4 thalamus 5 hypothalamus, 6 lobe inférieur, 7 toit optique, 8 tegmentum, 9 cervelet, 10 moelle allongée, III 3ème ventricule, IV 4ème ventricule, NO nerf optique, ME moelle épinière, Ch corde, R rein. *D'après 24 et 8.*



VII. LES ORGANES DES SENS

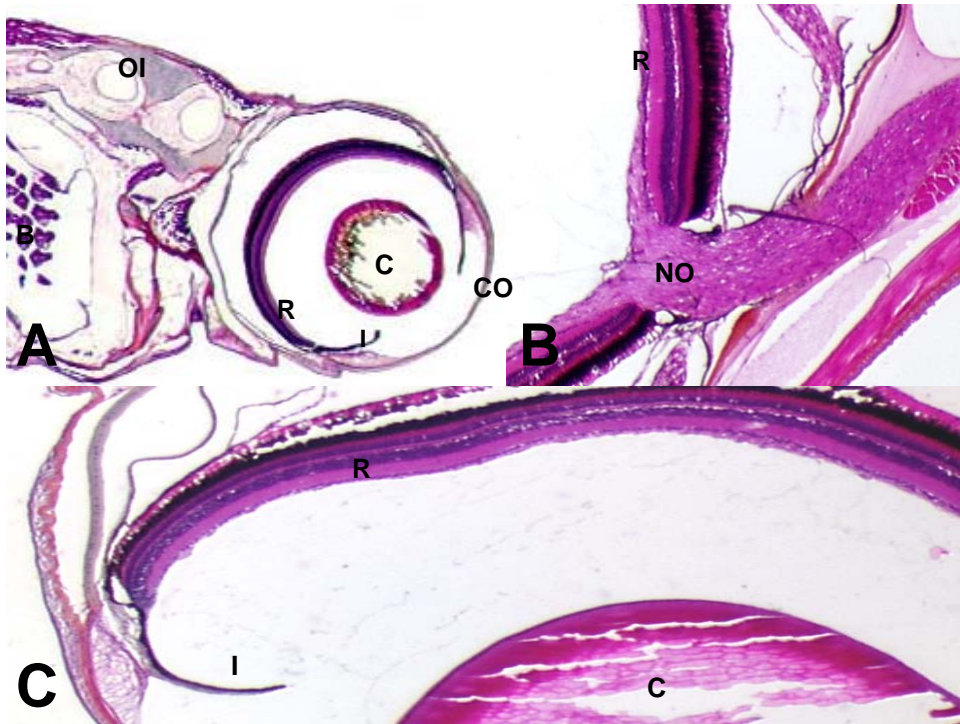
A. L'œil

Les globes oculaires du médaka sont volumineux par rapport au corps, ce qui est à mettre en relation avec l'importance de la vision chez ce poisson. Leur diamètre antéropostérieur est plus court que le transversal : ils sont donc de forme sphérique, mais asymétriques. Les yeux sont situés sur les faces latérales du poisson, à mi-distance entre le plancher de la cavité buccale et le sommet du crâne.

L'œil est en rapport avec l'oreille interne, la cavité bucco-pharyngienne, l'encéphale et les fosses nasales. (*Figure30 A*)

Le plan de base des yeux est identique à celui des autres téléostéens et comporte : la cornée, le cristallin, l'iris, la rétine et le nerf optique. (Figure 30 A, B et C) Les paupières sont absentes.

Figure 30: **A** : coupe longitudinale (HES, grossissement faible), B branchies, OI oreille interne, R rétine, I iris, C cristallin, Co cornée. **B** : Coupe longitudinale de l'œil (HES, grossissement fort), R rétine, NO nerf optique. **C** : coupe longitudinale (HES, grossissement fort), I iris, R rétine, C cristallin.

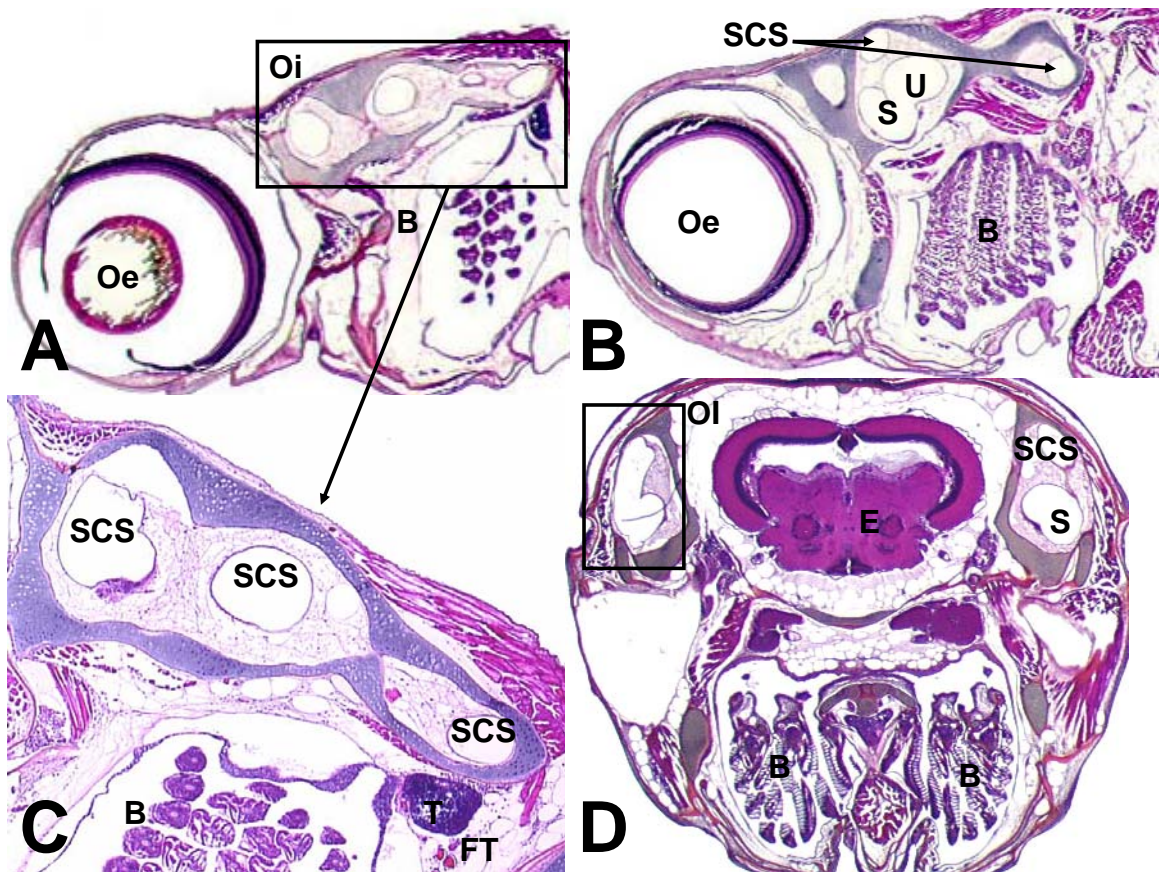


B. L'oreille interne

L'oreille interne est une structure bilatérale présente de chaque côté du crâne du poisson juste derrière les yeux. (Figure 31 D)

La partie supérieure est composée de deux canaux semi-circulaires se réunissant au centre (figure 31 A et C) et la partie inférieure de trois chambres (sacculé, utricule et lagena) dont deux, l'utricule et le sacculé ont été identifiées sur les coupes. (Figure 31 B et D) Les chambres doivent contenir des otolithes ; ces structures ne sont pas visibles sur nos coupes.

Figure 31 : **A** : coupe longitudinale (HES, grossissement faible), Oe œil, OI oreille interne, B branchies. **B** : coupe longitudinale (HES, grossissement faible), Oe œil, **B** branchies, SCS canaux semi-circulaires, U utricule, S saccule. **C** : coupe longitudinale (HES, grossissement moyen), SCS canaux semi-circulaires, T thymus, FT follicules thyroïdiens, B branchies. **D** : coupe transversale (HES, grossissement faible), OI oreille interne, E encéphale, SCS canaux semi-circulaires, S saccule, B branchies. *D'après 18.*



C. Les organes olfactifs

Deux narines sont présentes chez le médaka ; elles débouchent sur des fosses nasales profondes.

D. Autres organes sensoriels

Les autres organes sensoriels, bourgeons gustatifs et ligne latérale, n'ont pu être mis en évidence ; il s'agit en effet de structures visibles seulement à l'échelle cellulaire (50, 51), ce qui exigerait des photos à plus fort grossissement et des marquages spécifiques pour pouvoir être observées.

VIII. GLANDES ENDOCRINES

A. L'épiphyse et l'hypophyse

L'épiphyse et l'hypophyse ont été identifiées sur les coupes. (*Figure 32 E*)

L'épiphyse se situe au sommet de l'encéphale crânialement au toit optique. En forme d'amande, rattachée au diencephale par un pédoncule, elle est facilement détectable. Elle est en rapport dorsalement avec le crâne et est en contact avec les autres structures nerveuses adjacentes (thalamus, télencéphale et toit optique).

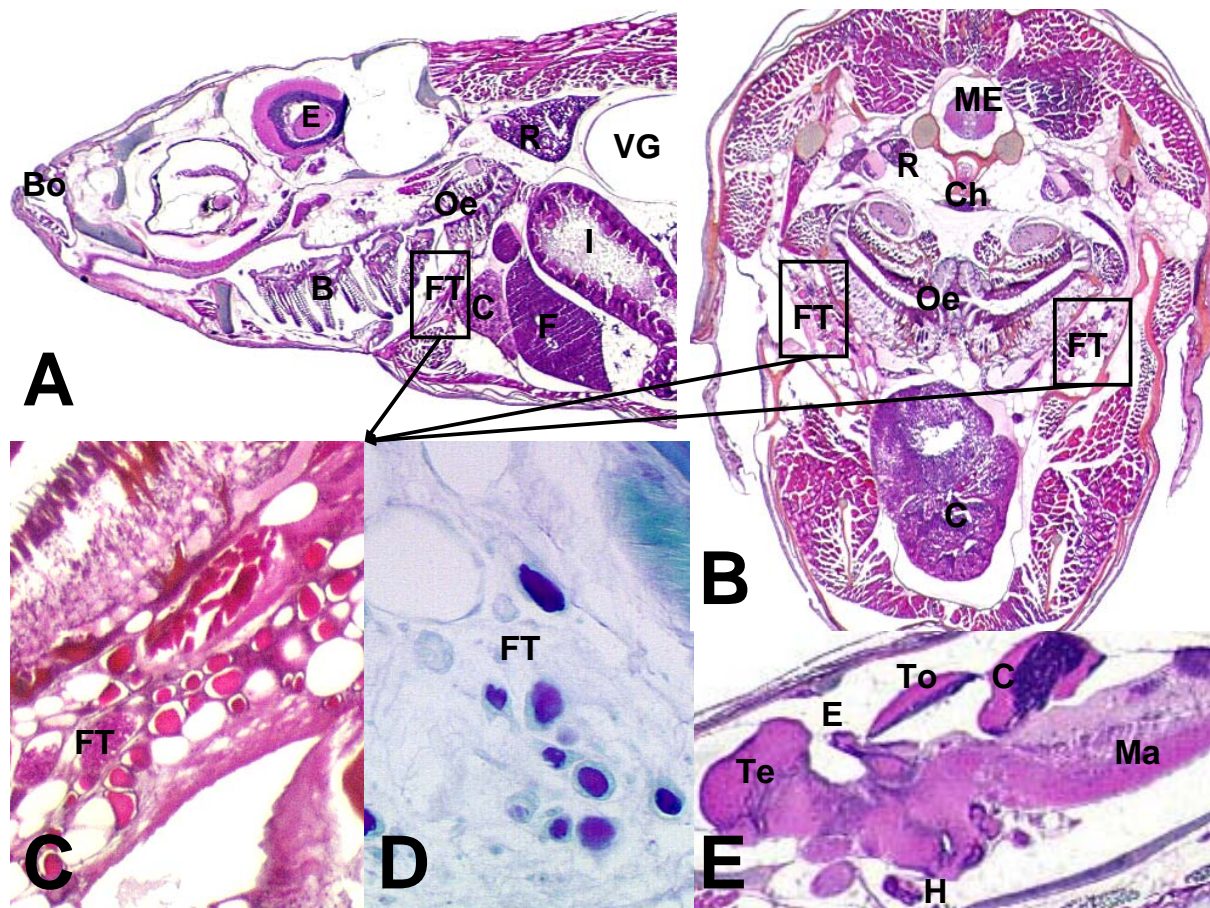
L'hypophyse est située sous l'encéphale ; elle est rattachée à l'infundibulum de l'hypothalamus. Elle est en rapport dorsalement avec l'hypothalamus et ventralement avec le plancher du crâne.

Ces deux structures sont impaires et situées dans le plan médian.

B. Follicules thyroïdiens

Comme la plupart des téléostéens, le poisson médaka ne possède pas de glande thyroïde individualisée mais des follicules thyroïdiens disséminés au sein d'une structure encapsulée. Néanmoins ces follicules sont présents dans un espace assez limité : ils sont situés bilatéralement dans le tissu conjonctif entre le cœur et la cavité branchiale, ventralement à l'oesophage. (*Figure 32 A et B*) Ces follicules sont d'assez grande taille, et sont composés d'un épithélium simple formant une cavité remplie de colloïde acidophile (*figure 32 C*) colorable par l'APS.

Figure 32 : **A** : Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), Bo bouche, E encéphale, R rein, VG vessie gazeuse, I intestin, F foie, C cœur, FT follicules thyroïdiens, B branchies, Oe œsophage. **B** : Coupe transversale (HES, grossissement faible), Me moelle épinière, Ch chorde, Oe œsophage, C cœur, FT follicules thyroïdiens, R rein. **C** : Coupe transversale (HES, grossissement moyen), FT follicules thyroïdiens. **D** : Coupe longitudinale (APS, grossissement fort), FT follicules thyroïdiens. **E** : Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), Te télencéphale, E épiphyse, H hypophyse, To toit optique, C cervelet, Ma moelle allongée.



C. Pancréas endocrine

Le pancréas endocrine est, chez le médaka, regroupé en une masse unique (2) de taille importante située caudalement au foie, au milieu du mésentère. (Figure 23 D)

Les cellules du pancréas endocrine sont reconnaissables à leur cytoplasme plus clair que celui des cellules du pancréas exocrine. Il a été démontré par immunohistochimie que chez le jeune adulte les cellules sécrétant de l'insuline étaient entourées par les cellules sécrétant le glucagon. (2)

Le pancréas endocrine est en rapport avec le foie, le mésentère, l'intestin et le pancréas exocrine.

D. Autres organes endocrines

Les autres organes endocrines des poissons (corpuscules de Stannius, cellules chromaffines, glande interrénale, glande ultimobranchiale, urophyse) n'ont pu être détectés sur nos coupes. Ces organes sont souvent de petite taille ou même composés de quelques cellules seulement et disséminés dans un autre organe (glande interrénale et cellules chromaffines disséminés dans le rein par exemple). Leur détection pourrait se baser sur l'utilisation de colorations spéciales spécifiques. Les colorations utilisables sont résumées dans le *tableau 4*.

Tableau 4 : Coloration spéciale pour mettre en évidence les organes endocrines (*d'après 46*).

	Fixation	coloration
Cellules chromaffines	Zenker-formol	HE
Glande interrénale		Soudan noir
Corpuscules de Stannius	formol	APS
Glande ultimobranchiale	Cellules non visibles en microscopie optique	
Urophyse	formol	Azocarmin, hématoxyline ferreuse, phloxine

IX. ORGANES LYMPHOHEMATOPOÏÉTIQUES

A. Les reins

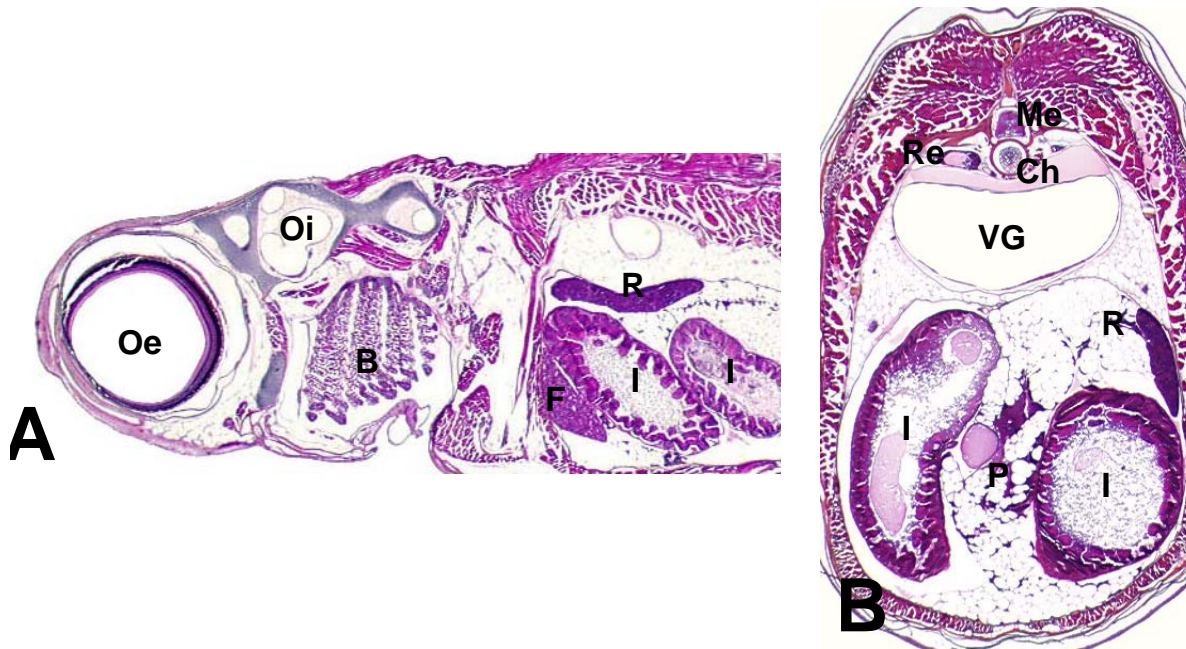
Le rein du médaka, de même que chez les autres poissons, est un site lymphohématopoïétique, comme le prouve la présence de nombreuses cellules de type lymphocytaire et macrophagique dans sa région crâniale. Ces cellules sont disséminées dans le parenchyme rénal entre les glomérules et les tubules rénaux assurant la fonction excrétrice de l'organe. (*Figure 25*)

B. La rate

La rate est un organe impair de faible volume situé dans la partie dorsale, crâniale et latérale de la cavité abdominale. Macroscopiquement, il est en forme de feuille, de faible épaisseur et de couleur rouge vif. Il est situé à gauche de l'animal, à proximité de l'intestin crânial. (Figure 33)

Cet organe est en rapport avec le péritoine, le mésentère et l'intestin.

Figure 33 : **A** : Coupe longitudinale (HES, grossissement faible), Oe œil, Oi oreille interne, B branchies, R rate, F foie, I intestin. **B** : Coupe transversale (HES, grossissement faible), Me moelle épinière, Re rein, Ch chorde, VG vessie gazeuse, R rate, P pancréas, I intestin.



C. Thymus

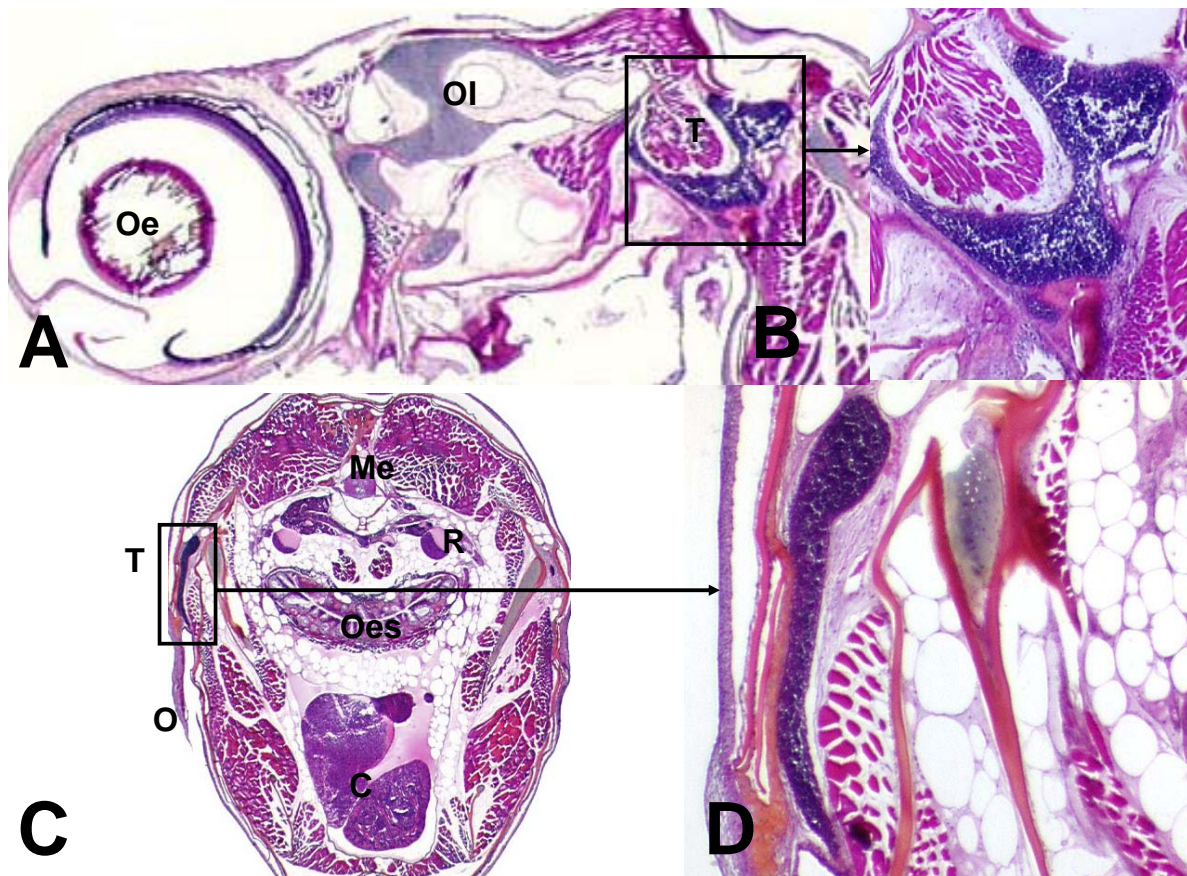
Le thymus est un organe pair, dorsal (figure 34 A) et latéral (figure 34 C) situé à la commissure de l'opercule. Il est de petite taille et de faible épaisseur (Figure 34 D). Sa proximité avec les tissus cartilagineux et osseux de l'oreille interne rend difficile l'obtention de belles coupes au microtome.

Cet organe est présent chez les individus de deux mois sélectionnés pour cet atlas, mais a été également observé chez des individus plus âgés dans le laboratoire dans le cadre de mon travail de stage de master (3). La présence de cet organe chez les individus âgés est en

adéquation avec la place du médaka dans la classification des poissons, le thymus restant présent pendant toute la vie des téléostéens supérieurs.

Cet organe est en rapport avec l'oreille interne et l'opercule.

Figure 34 : **A :** coupe longitudinale (HES, grossissement moyen), Oe œil, OI oreille interne, T thymus. **B :** coupe longitudinale (HES, grossissement fort). **C :** Coupe transversale (HES, grossissement faible), Me moelle épinière, R rein, T thymus, O opercule, C cœur, Oes œsophage. **D :** Coupe transversale (HES, grossissement fort).



Ainsi, l'observation des coupes sélectionnées pour l'atlas a permis de mettre en évidence des caractéristiques anatomiques du poisson médaka ; elles sont résumées dans le *tableau 5*.

Cependant, plusieurs questions restent en suspens et pourraient faire l'objet de recherches ultérieures. En effet, tous les organes endocrines n'ont pas été identifiés ce qui pourrait être possible avec des images à plus fort grossissement et des colorations spéciales. De plus, les limites entre pharynx et œsophage sont floues, si bien que l'on ne sait pas si les

structures trouvées à cet endroit sont oesophagiennes ou pharyngiennes. Enfin, peu de vaisseaux sanguins ont été identifiés.

Tableau 5 : Récapitulatif des principales caractéristiques mises en évidence par l'étude des coupes sélectionnées pour la conception de l'atlas.

	Caractéristiques anatomiques du médaka
Appareil vasculaire	Suit le plan de base des téléostéens
Appareil branchial	Lamelles primaires développées seulement ventralement
Appareil digestif	Présence de denticules et de glandes muqueuses profondes à la limite entre le pharynx et l'oesophage
Appareil urinaire	Rein céphalique et rein abdominal en continuité ; les reins droit et gauche ne fusionnent pas ; présence d'une vessie
Appareil reproducteur	Gonades impaires médiales
Système nerveux	Toit optique du mésencéphale très développé
Système sensoriel	Yeux très développés
Système endocrine	Pancréas endocrine regroupé en 2 à 3 masses volumineuses
Système lymphopoiétique	Thymus présent chez les individus âgés

De l'observation de ces coupes ont été identifiées des particularités anatomiques du médaka. Des repères anatomiques externes pour la réalisation de coupes transversales d'organes peuvent être déduits. Ils sont présentés dans le *tableau 6*.

Tableau 6 : Repères pour la réalisation de coupes transversales d'organes

Appareil	organe	Repère anatomique externe
Appareil branchial	branchies	Sous l'opercule
	pseudobranchies	En arrière des yeux dans la partie antérieure de la cavité branchiale
Appareil vasculaire	coeur	Tiers postérieur de l'opercule jusqu'à la limite postérieure de l'opercule
Appareil digestif	foie	Insertion des nageoires pectorales
	pancréas	Juste en arrière de l'insertion des nageoires pectorales
	Vessie gazeuse	En arrière de l'insertion des nageoires pectorales
Appareil urinaire	rein	En arrière de l'insertion des nageoires pectorales
Appareil reproducteur	Ovaire Testicule	Juste en arrière de l'insertion des nageoires pectorales
Système nerveux	encéphale	Moitié postérieure des yeux
Organes sensoriels	Oreille interne	Dorsalement juste en arrière des yeux
Organes endocrines	Follicules thyroïdiens	Tiers postérieur de l'opercule
Système Hématolymphopoiétique	rate	Juste en arrière de l'insertion des nageoires pectorales
	thymus	Commissure dorsale postérieure de l'opercule

CONCLUSION

Le médaka est un petit téléostéen originaire du Japon et d'Asie du sud-est, des branches supérieures des téléostéens dans la classification systématique des poissons. Étudié en laboratoire depuis le début du siècle dernier au Japon, il est actuellement un modèle animal très utilisé en embryologie et en toxicologie, domaines où sa petite taille, sa facilité d'élevage et les nombreuses données disponibles le concernant sont appréciées.

Si les descriptions de son développement embryonnaire sont nombreuses, peu de données sont disponibles sur l'anatomie de l'adulte. Afin de combler ce manque, un atlas d'histologie topographique du médaka a été conçu. A partir de photos de coupes transversales et longitudinales de deux mâles et deux femelles médaka, un site internet a été créé. Il sera à l'avenir mis en ligne sur le site de l'ENVA et sera référencé.

De l'observation de ces coupes ont été identifiées des particularités anatomiques et des repères anatomiques externes pour la réalisation de coupes transversales d'organes.

Ce travail ne constitue que la première étape d'une étude plus large sur l'anatomie et l'histologie du poisson médaka. Des recherches seraient nécessaires sur la composition cellulaire de chaque organe. Par ailleurs, pour une utilisation efficace en toxicologie, les modifications histologiques liées à l'âge, ou à des stades physiologiques particuliers devront être décrites.

Enfin, pour ce site internet, seules des coupes en deux dimensions ont été utilisées, alors que des images en trois dimensions seraient réalisables. En effet, il existe d'une part des logiciels (Reconstruct 3D par exemple) qui permettent grâce à des coupes sériées d'obtenir des images en trois dimensions. D'autre part, à partir de nouveaux microscopes appelés SPIM, il serait possible de rassembler des coupes lumineuses, obtenues par rotation d'une source de lumière autour de l'échantillon, en une image tridimensionnelle, sans endommager l'objet. (16)

BIBLIOGRAPHIE

- 1: ANKEN R, BOURRAT F. *Brain atlas of the medakafish, Oryzias latipes*. INRA Edition: France, 1998, pp 92.
- 2: ASSOULINE B, NGUYEN V, MAHE S, BOURRAT F, SCHARFMANN R. Development of the pancreas in medaka. *Mech. Dev.*, 2002, **117**, 299-303.
- 3: BAUCHET AL. *Etude de la toxicité aiguë de la microcystine-LR sur le foie du poisson médaka, Oryzias latipes, adulte*. Mémoire de recherche, 2^{ème} année de Master, MNHN, Paris, 2005, 37p.
- 4: BONE Q, MARSHALL NB, BLAXTER JHS. (1995) *Biology of fishes*. 1st edition London: Chapman&Hall, 332p.
- 5: CASTANO A, SANCHEZ P, LLORENTE MT, CARBALLO M, DE LA TORRE A, MUNOZ MJ. The use of alternative systems for the ecotoxicological screening of complex mixtures on fish populations. *Sci. Total Environ.*, 2000, **247**, 337-348.
- 6: CHEN WJ, ORTI G, MEYER A. Novel evolutionary relationship among four fish model systems. *Trends Genet.*, 2004, **20**, 424-431.
- 7: DAWSON RM. The toxicology of microcystins. *Toxicol.*, 1998, **36**, 953-962.
- 8: DEGUCHI T, SUWA H, YOSHIMOTO M, KONDOH H, YAMAMOTO N. Central connection of the optic, oculomotor, trochlear and abducens nerves in medaka, *Oryzias latipes*. *Zoolog. Sci.*, 2005, **22**, 321-332.
- 9: ESNAULT Y, JAILLON O, AURY JM, WEISSENBACH J, ROEST CROLLIUS H. Tetraodon, poisson au genome modèle. *Biofutur*, 2005, **254**, 24-28.
- 10: FURUTANI-SEIKI M, SASDO T, MORINAGA C, SUWA H, NIWA K *et al*. A systematic genome wide screen for mutations affecting organogenesis in Medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 647-658.
- 11: FURUTANI-SEIKI M, WITTBRODT J. Medaka and zebrafish, an evolutionary twin study. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 629-637.
- 12: BOORMAN G.A, BOTTS S, BUNTON T. E, FOURNIE J.W, HARSHBARGER J. C. *et al*. Diagnostic Criteria for Degenerative, Inflammatory, Proliferative Nonneoplastic and Neoplastic Liver Lesions in Medaka (*Oryzias latipes*): Consensus of a national Toxicology Program Pathology Working Group. *Toxicol. Pathol.*, 1997, **25**, 202-210.
- 13: Government Information Office, Republic of China (Taiwan). *Le poisson fluorescent : une nouvelle star est née* [En-Ligne], Mise à jour le 5 janvier 2006 [<http://www.gio.gov.tw/info/nation/fr/fcr97/2005/04/p20.html>], (consulté le 24 janvier 2004).
- 14: HAWKINS W. E, WALKER W. W, FOURNIE J. W, MANNING C. S, KROL R. M. Use of the Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) and Guppy (*Poecilia reticulata*) in Carcinogenesis Testing under National Toxicology Program Protocols. *Toxicol. Pathol.*, 2003, **31**, 88-91.

- 15: HINTON DE, LANTZ RC, HAMPTON JA. Effect of age and exposure to a carcinogen on the structure of the medaka liver: a morphometric study. *Natl Cancer Inst Monogr*, 1984, **65**, 239-49.
- 16: HUISKEN J, SWOGER J, DEL BENE F, WITTBRODT J, STELZER EH. Optical sectioning deep inside live embryos by selective plane illumination microscopy. *Science*, 2004, **13**, 1007-9.
- 17: HUYNH-DELERME C, EDERY M, HUET H, PUISEUX-DAO S, BERNARD C, FONTAINE JJ, CRESPEAU F, DE LUZE A. Microcystin-LR and embryo-larval development of medaka fish, *Oryzias latipes*. I. Effects on the digestive tract and associated systems, *Toxicon*, 2005, **46**, 16-23.
- 18: IJIRI K, MIZUNO R, EGUCHI H. Use of an otolith-deficient mutant in studies of fish behaviour in microgravity. *Adv. Space. Res.*, 2003, **32**, 1501-1512.
- 19: ISHKAWA Y. Medakafish as a model system for vertebrate developmental genetics. *Bioessays*, 2000, **22**, 487-495.
- 20: IWAMATSU T. Stages of Normal Development in the medaka *Oryzias latipes*. *Zoolog.sci.*, 1994, **11**, 825-839.
- 21: IWAMATSU T, NAKAMURA H, OZATO K, WAKAMATSU Y. Normal Growth of the « See Through » Medaka. *Zoolog.sci.*, 2003, **20**, 607-615.
- 22: IWANAMI N, TAKAHAMA Y, KUNIMATSU S, LI J, TAKEI R, ISHIKURA Y *et al.* Mutations affecting thymus organogenesis in Medaka, *Oryzias latipes*. *Mech Dev*, 2004, **121**, 779-789.
- 23: JACQUET C, THERMES V, DE LUZE A, PUISEUX-DAO S, BERNARD C, JOLY JS *et al.* Effects of microcystin-LR on development of medaka fish embryos (*Oryzias latipes*). *Toxicon*, 2004, **43**, 141-147.
- 24: KAPSIMALI M, BOURRAT F, VERNIER P. Distribution of the Orphan Nuclear Receptor Nurr1 in medaka (*Oryzias latipes*): Clues to the definition of Homologous Cell groups in the Vertebrate Brain. *J. Comp. Neurol.*, 2001, **431**, 276-292.
- 25: KASHIWADA S, ISHIKAWA H, MIYAMOTO N, OHNISHI Y, MAGARA Y. Fish test for endocrine-disruption and estimation of water quality of Japanese rivers. *Water Res.*, 2002, **36**, 2161-2166.
- 26: KLAUNIG E. J, BARUT B. A, GOLDBLATT P. J. Preliminary Studies on the Usefulness of Medaka, *Oryzias latipes*, Embryos in Carcinogenicity Testing. *Natl Cancer Inst Monogr*, 1984, **65**, 155-161.
- 27: LUNA S. M. *Fishbase* [en-ligne], Mise à jour le 18 avril 2006 [<http://www.fishbase.org>], (consulté le 24 février 2006).
- 28: MATHERS PH, JAMRICH M. Regulation of eye formation by the Rx and pax6 homeobox genes. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2000, **57**, 186-194.

- 29: MATSUDA M, NAGAHAMA Y, SHINOMIYA A, SATO T, MATSUDA C *et al.* DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature*, 2002, **417**, 559-563.
- 30: Medaka Genome Initiative. *MGI home page* [en-ligne], Mise à jour le 1^{er} juin 2002 [<http://medaka.dsp.jst.go.jp/mgi/>], (consulté le 24 février 2006).
- 31: Medakafish Database Group. *Medakafish Homepage* [en-ligne], Mise à jour le 8 avril 2004 [<http://biol1.bio.nagoya-u.ac.jp:8000/>], (consulté le 24 février 2006).
- 32: MORINAGA C, TOMONAGA T, SASADO T, SUWA H, NIWA K, YASUOKA A *et al.* Mutations affecting gonadal development in Medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 829-839.
- 33: MOYLE PB, CECH JJ. *Fishes, an introduction to ichthyology*. 5th edition Upper Saddle River: Prentice-Hall, 2004, 726 p.
- 34: NAKAYAMA K, OSHIMA Y, YAMAGUCHI T, TSURUDA Y, KANG I, MAKITO K, IMADA N, HONJO T. Fertilization success and sexual behaviour in male medaka, *Oryzias latipes*, exposed to tributyltin. *Chemosphere*, 2004, **55**, 1331-1337.
- 35: NARUSE K, HORI H, SHIMIZU N, KOHARA Y, TAKEDA H. Medaka genomics: a bridge between mutant phenotype and gene function. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 619-628.
- 36: PATYNA PJ, DAVI RA, PARKERTON TF, BROWN RP, COOPER KR. A proposed multigeneration protocol for Japanese medaka (*Oryzias latipes*) to evaluate effects of endocrine disruptors. *Sci. Total Environ.*, 1999, **233**, 211-220.
- 37: PETIT H. Un poisson fluo transgénique qui n'as pas fini de faire parler de lui. *Biofutur*, 2005, **254**, 38-40.
- 38: ROBERTS RJ. (2001) *Fish pathology*. 3rd edition Philadelphia: SAUNDERS, 472p.
- 39: ROBINSON-RECHAVI M. Les poisons: une duplication génomique réussie. *Biofutur*, 2005, **254**, 29-33.
- 40: SCHARTL M. A comparative view on sex determination in Medaka. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 639-645.
- 41: SHIMA A, MITANI H. Medaka as a research organism: past, present and future. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 599-604.
- 42: TAKASHIMA F, HIBIYA T. (1995) *An atlas of fish histology, normal and pathological features*. 2nd edition Stuttgart: GUSTAV FISCHER VERLAG, 195p.
- 43: TANAKA K, OHISA S, ORIHARA N, SAKAGUCHI S, HORIE K, HIBIYA K *et al.* Characterization of mutations affecting embryonic hematopoiesis in the medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 739-746.
- 44: TANAKA M, KINOSHITA M, KOBAYASHI D, NAGAHAMA Y. Establishment of medaka (*Oryzias latipes*) transgenic lines with the expression of green fluorescent protein

- fluorescence exclusively in germ cells: a useful model to monitor germ cells in a live vertebrate. *PNAS*, 2001, **98**, 2544-2549.
- 45: WAKAMATSU Y, PRISTYAZHNYUK S, KINOSHITA M, TANAKA M, OZATO K. The see-through medaka: a fish model that is transparent throughout life. *PNAS*, 2001, **98**, 10046-10050.
- 46: WATANABE T, ASAKA S, KITAGAWA D, SAITO K, KURASHIGE R, SASADO T *et al.* Mutations affecting liver development and function in Medaka, *Oryzias latipes*, screened by multiple criteria. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 791-802.
- 47: WIKIPEDIA. *Dublin Core* [en-ligne], Mise à jour le 4 avril 2006 [http://fr.wikipedia.org/wiki/Dublin_Core], (consulté le 30 avril 2006).
- 48: WITTBRODT J, SHIMA A, SCHARTL M. Medaka-A model organism from the far east. *Nature reviews*, 2002, **3**, 53-64.
- 49: YAMAMOTO T. Medaka (Killifish)-Biology and strains. Keigatu Publishing Co, Tokyo, 1975.
- 50: YASUOKA A, AIHARA Y, MATSUMOTO I, ABE K. Phospholipase C-beta 2 as a mammalian taste signalling marker is expressed in the multiple gustatory tissues of medaka fish, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 985-989.
- 51: YASUOKA A, HIROSE Y, YODA H, AIHARA Y, SUWA H, NIWA K *et al.* Mutations affecting the formation of posterior lateral line system in Medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.*, 2004, **121**, 729-738.
- 52: YONKOS L. T, FISHER D. J, REIMSCHUESSEL R, KANE A.S. 2000. *Atlas of fathead minnow normal histology* [en-ligne], Mise à jour en 2000 [<http://aquaticpath.umd.edu/fhm>], (consulté le 24 février 2006).
- 53: ZON LI, PETERSON RT. *In vivo* drug discovery in the Zebrafish. *Nature review*, 2005, **4**, 35-44.