

# RÉPONSE DE L'OVAIRE DE *POECILIA RETICULATA* (POISSON TÉLÉOSTÉEN VIVIPARE) NORMAL OU HYPOPHYSECTOMISÉ A DES INJECTIONS D'EXTRAITS HYPOPHYSAIRES BRUTS DE GARDON ET DE GAMBUSIE

B. JALABERT

*Station centrale de Physiologie animale,  
Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas  
Institut national de la Recherche agronomique*

---

## SOMMAIRE

L'hypophysectomie du Guppy *Poecilia reticulata*, provoque une atrésie rapide de tous les ovocytes en cours de vitellogenèse, mais ne paraît pas affecter la gestation en cours. Des essais de supplémentations hormonales par injections d'extraits hypophysaires bruts de Gardon et de Gambusie ont donné les résultats suivants :

1° l'extrait de Gardon (prélevé pendant la période de fraie) n'a aucun effet sur l'ovaire des animaux hypophysectomisés, alors que les femelles normales présentent une intense stimulation de l'activité ovarienne avec apparition de phénomènes de superfoetation ;

2° l'extrait de Gambusie provoque, chez le Guppy hypophysectomisé, une réponse ovarienne caractérisée par un démarrage ou la continuation de la vitellogenèse dans 60 p. 100 des cas.

Plusieurs hypothèses pouvant rendre compte de ces résultats sont discutées.

---

Malgré de très nombreux travaux (revus par PICKFORD et ATZ, 1957 ; DODD, 1960 ; BALL, 1960 ; ATZ et PICKFORD, 1964 ; HOAR, 1965), le déterminisme endocrinien de la vitellogenèse chez les Poissons reste encore relativement mal connu. L'usage d'extraits hypophysaires bruts ou plus ou moins purifiés, provenant d'autres Poissons, voire d'autres Vertébrés, commence à se répandre en recherche ichtyologique et même dans la pratique piscicole (ATZ et PICKFORD, 1959). Toutefois, les résultats obtenus, quant à la qualité et à la quantité des ovocytes, ne sont satisfaisants que dans la mesure où l'on ne cherche qu'à provoquer l'ovulation et la ponte d'animaux sexuellement mûrs ou proches de la période normale de fraie. Il n'en est pas de même quand il s'agit d'induire expérimentalement la vitellogenèse chez des femelles immatures. CARDOSO (1934) avait obtenu une augmentation importante du

poids de l'ovaire de *Pimelodus clarias* par injections d'hypophyses de poissons, et depuis lors, comme lui, beaucoup d'auteurs ont réussi à provoquer une stimulation ovarienne plus ou moins importante, mais sans pouvoir reconstituer l'ensemble de la gamétogenèse femelle jusqu'à maturité complète. Cependant, FONTAINE (1964) a induit la première maturation de l'ovaire d'Anguille et l'émission spontanée des œufs en aquarium par injections de doses élevées d'extraits hypophysaires de Carpe.

De leur côté, certains chercheurs auraient provoqué un démarrage anticipé et une accélération des processus de vitellogenèse (RAMASWAMI et SUNDARARAJ, 1957, ont avancé la ponte de 10 semaines chez *Heteropneustes*). Ces observations réalisées sur des animaux non hypophysectomisés sont délicates à interpréter, car les extraits injectés, généralement complexes, peuvent aussi bien agir indirectement en déclenchant une décharge endogène des hormones hypophysaires de l'animal traité, que directement sur les mécanismes de la vitellogenèse eux-mêmes.

Pour ce qui est des essais sur animaux hypophysectomisés, il existe quelques résultats positifs avec maintien ou régénération partiels de la vitellogenèse (VIVIEN, 1939, 1941, 1952 ; BURDEN, 1956 ; BARR, 1963) ; en fait, les processus de vitellogenèse sont complexes et doivent exiger, outre l'action gonadotrope, un certain niveau des hormones métaboliques.

L'étude de la réponse des gonades de *Poecilia reticulata* aux extraits hypophysaires d'autres poissons présente un intérêt particulier ; du fait de sa petite taille et de ses facilités d'élevage, il pourrait être utilisé comme matériel de dosage biologique des hormones gonadotropes de poissons. Il était nécessaire de connaître l'effet de l'hypophysectomie et la réponse de l'ovaire dans des conditions précises de traitement hypophysaire exogène.

Nous nous sommes d'abord attachés à comparer les effets d'injections de poudre hypophysaire brute de Gardon, d'une part chez des femelles normales de *Poecilia reticulata*, et d'autre part chez des femelles hypophysectomisées. Devant la non-réponse de ces dernières, nous avons essayé d'utiliser un autre donneur de matériel hypophysaire, d'une espèce voisine de celle du receveur : la Gambusie.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Chez *Poecilia reticulata*, dans nos conditions d'élevage :

- température  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$  ;
- rythme photopériodique constant : 14 heures de lumière, 10 heures d'obscurité ;
- alimentation *ad libitum* par daphnies séchées, la durée du cycle de reproduction, c'est-à-dire le temps compris entre la mise bas de deux portées successives, varie de 17 à 33 jours, suivant une loi de répartition sensiblement normale avec pour valeur moyenne  $24,4 \pm 1,3$  jours (1,3 = intervalle de confiance de la moyenne au seuil de  $p = 5$  p. 100 avec  $n = 50$  observations).

Le démarrage de la vitellogenèse a généralement lieu à partir du 15<sup>e</sup> jour après une parturition soit 8 à 10 jours avant le terme de la gestation suivante.

L'hypophysectomie a été pratiquée suivant une technique précédemment décrite (JALABERT et BILLARD, 1968), les animaux privés d'hypophyse étant ensuite maintenus en eau de mer diluée au 1/3.

Nous avons procédé à des injections intramusculaires de manière à éviter toute perte de liquide injecté, perte qui existe dans le cas des injections intrapéritonéales par suite d'un refoulement à travers la paroi abdominale trop mince, après retrait de la microseringue. Les animaux sont anesthésiés au MS 222 Sandoz. Les aiguilles à injections sont en verre étiré à extrémité biseautée de

0,2 mm de diamètre, reliées à une micropompe. Le volume injecté est ajusté au poids à raison de 0,002 ml pour 200 mg de poids vif. La poudre hypophysaire est mise en suspension dans du liquide physiologique avant emploi. Mais ces injections intramusculaires sont traumatisantes et l'on est obligé de les espacer d'au moins 48 heures sous peine d'accroître exagérément la mortalité qui reste malgré tout importante (voir tabl. 1).

TABLEAU I

*Réponse ovarienne comparée des femelles hypophysectomisées ou entières au traitement par injections d'extrait hypophysaire brut de Gardon ou à des traitements témoins*

Lot		Nature des injections (répétées régulièrement toutes les 48 h jusqu'à parturition) (5 injections en moyenne)	Nombre d'animaux		Réponse ovarienne des survivants en fin de traitement	
			Au début du traitement	Survivants en fin de traitement		
Hypophy- sectomisés	(-) H exp	Extrait hypophysaire de Gardon	12	8	Nulle	8/8
	(-) H t	Eau physiologique	12	10	Nulle	10/10
Non-Hypophy- sectomisés	(+) H exp	Extrait hypophysaire de Gardon	20	10	Vitellogenèse anarchique et superfétation	6/10
	(+) H t	Solution d'albumine	18	10	Ovaire normal	

### 1. Traitement par l'extrait hypophysaire brut de Gardon

Il s'agit d'une poudre acétonique préparée à partir d'hypophyses fraîches prélevées sur des poissons des deux sexes au moment de la fraie (BRETON, 1968).

Les femelles destinées à subir les différents traitements ont été choisies quelle que soit leur taille à condition d'avoir déjà eu au moins une portée. Chacune d'entre elles a été isolée avec 1 ou 2 mâles dans un compartiment de 3,5 l délimité par des cloisons de fin treillis plastifié disposées dans des aquariums plus vastes. Nous avons constitué 4 lots expérimentaux (voir tabl. 1) correspondants aux traitements suivants :

*Lot H<sup>-</sup> ex.* — Femelles hypophysectomisées subissant des injections régulières d'extrait hypophysaire brut. On procède à l'hypophysectomie le 15<sup>e</sup> jour après une parturition, c'est-à-dire au moment où s'effectue généralement le démarrage de la vitellogenèse, pendant la gestation en cours. Puis, dès le lendemain de cette opération, les animaux subissent une injection d'extrait hypophysaire à raison de 0,02 mg de poudre brute en suspension dans 0,002 ml de liquide physiologique pour 200 mg de poids vif. L'injection est ensuite répétée toutes les 48 heures jusqu'à parturition. L'animal est alors sacrifié, pesé, et l'ovaire examiné, pesé, puis disséqué ou fixé.

*Lot H<sup>-</sup> t.* — Femelles hypophysectomisées témoins. Le protocole est le même que pour le lot H<sup>-</sup> ex. mais avec injection de liquide physiologique sans poudre hypophysaire.

*Lot H<sup>+</sup> ex.* — Femelles non hypophysectomisées subissant des injections d'extrait hypophysaire dans les mêmes conditions que le lot H<sup>-</sup> ex, dès le 15<sup>e</sup> jour après parturition.

*Lot H<sup>+</sup> t.* — Femelles témoins non hypophysectomisées. Elles subissent le même traitement que le lot H<sup>+</sup> ex, la poudre hypophysaire étant remplacée par un poids égal d'albumine d'œuf.

### 2. Traitement par l'extrait hypophysaire brut de Gambusie

La poudre hypophysaire a été préparée à partir de 200 hypophyses de Gambusies femelles, prélevées pendant la période de pleine reproduction, congelées puis lyophilisées.

Trente femelles de Guppy ont été choisies quels que soient leur taille et le moment de leur cycle, et hypophysectomisées. Dès le lendemain de l'opération, elles ont subi une injection de 0,002 ml de liquide physiologique contenant en suspension l'équivalent de l'hypophyse de *Gambusia*, injection renouvelée ensuite toutes les 48 heures pendant 10 jours. Les 20 animaux survivants ont été sacrifiés 12 jours après hypophysectomie pour examen de l'ovaire.

## RÉSULTATS

### I. — OBSERVATIONS RELATIVES AUX EFFETS DE L'HYPOPHYSECTOMIE SUR L'OVAIRE DU GUPPY

#### 1. *Vitellogenèse*

Chez *Poecilia reticulata*, l'atrésie des ovocytes en cours de vitellogenèse est beaucoup plus rapide que ce qui est rapporté pour d'autres espèces : le vitellus est envahi au bout de 8 à 10 jours par des proliférations de l'épithélium folliculaire. Au bout de 15 jours, il ne reste que des traces de vitellus. Les nodules atrétiques ainsi formés diminuent ensuite rapidement de volume mais gardent longtemps un aspect caractéristique (jusqu'à 50 jours). On doit toutefois remarquer que les animaux sont élevés à la température relativement élevée de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$  et les processus métaboliques en jeu sont certainement rapides.

#### 2. *Gestation*

a) Sur 25 femelles hypophysectomisées 1 à 3 jours après une mise bas, 21 sont mortes avant terme, alors que dans le cas général la survie est de l'ordre de 80 p. 100 au bout de 25 jours. L'autopsie ovarienne de ces animaux, quand elle a été possible, a parfois montré des anomalies et des malformations embryonnaires. Les 4 femelles ayant survécu jusqu'à terme ont mis bas des embryons normaux mais en petit nombre (1 à 3).

b) Dans le cas d'hypophysectomies pratiquées du 3<sup>e</sup> au 10<sup>e</sup> jour après parturition, la survie des mères a été d'autant meilleure que l'opération était plus éloignée de la date de parturition.

Il existe donc une période critique où l'hypophyse paraît indispensable soit à l'ultime maturation des ovocytes soit au tout début de la gestation, et il importerait ultérieurement d'en préciser la durée et les causes.

c) Enfin, une cinquantaine d'hypophysectomies pratiquées entre le 10<sup>e</sup> jour après une parturition et la parturition suivante ont montré que pendant cette période (recouvrant 3/4 de la durée de la gestation, si l'on situe approximativement la fécondation au 4<sup>e</sup> jour après une parturition) l'hypophyse ne semblait pas indispensable au bon déroulement de la gestation : nous n'avons en effet trouvé aucune variation significative de la durée de gestation, aucune perturbation apparente des mécanismes de la parturition et aucune malformation importante chez les embryons à terme.

II. — ACTION D'EXTRAIT HYPOPHYSAIRE DE GARDON  
SUR LA RESTAURATION DE LA VITELLOGÈNE

Les résultats d'ensemble sont consignés dans le tableau 1. Nous n'avons pu mettre en évidence aucune réponse ovarienne aux injections hypophysaires de Gardon chez les femelles hypophysectomisées (voir tabl. 1 et 2). Tout comme chez les témoins hypophysectomisés, l'ovogenèse reste bloquée aux stades de prévitellogenèse.

Par contre chez les animaux entiers, se produit une réponse ovarienne très particulière, caractérisée par des phénomènes de superfoetation (tabl. 3 ; planche 1 a et b) : alors que les embryons de la portée  $P_{(t+1)}$  viennent d'être évacués à terme (les mères ont alors subi en moyenne 5 injections d'extrait hypophysaire en une dizaine de jours), l'ovaire contient encore d'autres embryons plus jeunes, eux-mêmes appartenant à différentes classes d'âges (jusqu'à 4 classes d'âges chez la femelle n° 1 du lot  $H^+$  ex ( planche 1, a et b). À côté de ces embryons, on trouve des ovocytes en vitellogenèse, à tous les stades possibles. Cependant, sur un lot de 10 animaux, 4 femelles ne présentent pas de superfoetation, dont 3 n'ont même pas d'ovocytes en vitellogenèse. Or, parmi ces dernières, deux ( $H^+$  ex. 9 et  $H^+$  ex. 10) ont eu une chute brutale

TABLEAU 2

*Réponse du lot  $H^-$  ex. (femelles hypophysectomisées) :  
état de l'ovaire après la parturition  $P_{(t+1)}$  faisant suite au traitement  
par injections d'extrait hypophysaire brut de Gardon*

♀ n°	Poids (mg)	Taille de la portée $P_t$	Traitement hypophysaire		Taille de la portée $P_{t+1}$	État de l'ovaire			
			Nombre injections	Durée (jours)		Poids de l'ovaire	Indice gonado- somatique	Embryons	Vitello- genèse
1	439,0	10	7	14	15	7,7	1,8	—	—
2	359,0	10	5	10	7	3,5	1,0	—	—
3	330,0	6	3	7	6	1,5	0,4	—	—
4	342,5	6	4	8	24	9,4	2,7	—	—
5	487,5	9	5	10	16	9	1,8	—	—
6	364,5	12	7	14	26	10,8	3,0	—	—
7	277,5	10	9	18	7	5,2	1,9	—	—
8	605,6	15	5	11	23	3,5	0,6	—	—

de fertilité entre les portées  $P_t$  et  $P_{(t+1)}$ , probablement d'origine pathologique, ce qui expliquerait leur non-réponse totale, indépendamment de l'expérience menée. Pour les deux autres, on peut invoquer l'effet traumatisant excessif des injections répétées.

Enfin, il est à noter que les injections de matériel hypophysaire ne modifient significativement la durée de la gestation en cours ni chez les animaux  $H^+$  ni chez les  $H^-$  pas plus que l'hypophysectomie elle-même. Cette durée reste en moyenne de 25 jours.

TABLEAU 3

Réponse du lot H<sup>+</sup> ex. (femelles non hypophysectomisées) : état de l'ovaire après la parturition P<sub>t+1</sub>) faisant suite au traitement par injections d'extrait hypophysaire de Gardon

L'appartenance à une classe d'âge donnée des embryons a été déterminée après dissection des follicules par référence aux étapes suivantes du développement embryonnaire :

— Classe E<sub>1</sub> : de la fécondation au disque blastodermique.

E<sub>2</sub> : de l'ébauche de la tête à l'apparition de la ligne neurale et à la différenciation des vésicules cérébrales.

E<sub>3</sub> : de l'apparition des premières ébauches de nageoires à la pigmentation du corps.

E<sub>4</sub> : du début des mouvements des yeux et de la bouche à la disparition du sac péricardique.

E<sub>5</sub> : de la différenciation des rayons des nageoires dorsale et pelvienne à la résorption de la vésicule vitelline.

♀ n°	Poids (mg)	Taille de la portée P <sub>t</sub>	Traitement hypophysaire		Taille de la portée P <sub>t+1</sub>	Poids de l'ovaire (en mg)	Indice gona- lo- somatique	État de l'ovaire à l'abattage					Nombre d'ovocytes en vitellogénèse par classe de taille (microns)														
			Nombre injections	Durée (jours)				E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	500	750	1 000	1 250	1 500	1 750	2 000								
1	1 012	6	7	14	2 × 16*	336	33,2	—	5	3	—	—	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
2	841	14	4	9	35	262	32,3	—	21	—	—	—	—	—	1	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
3	327,5	6	4	8	9	16	4,9	—	—	—	—	—	—	—	6	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
4	492	22	3	6	33	29,5	5,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	333	10	7	15	12	24	6,3	—	3	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
6	267	8	5	10	9	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7	285	7	6	11	4	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	541	16	5	9	13	66	12,2	—	16	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	471	15	4	10	3	107	22,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	326	14	4	10	2	31	9,5	—	10	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\* Deux embryons ayant été mis bas avec difficulté (mort-nés.)  
Seize autres ont été trouvés morts à la dissection (photos 1 et 2).

TABLEAU 4  
*Réponse du lot H+ t (femelles non hypophysectomisées) : état de l'ovaire après la parturition P<sub>t+1</sub> faisant suite au traitement par injections d'une solution d'albumine d'œuf*

♀ n°	Poids (mg)	Taille de la portée P <sub>t</sub>	Traitement albumine		Taille de la portée (P <sub>t+1</sub> )	Poids de l'ovaire (en mg)	Indice gonado- somatique (%)	Embryons	État de l'ovaire à l'abattage						
			Nombre injections	Durée (jours)					Nombre d'ovocytes en vitellogénèse par classe de taille (diamètre en microns)						
									500	750	1 000	1 250	1 500	1 750	2 000
1	692	8	6	12	11	27,5	4,0	0	9	6	6	5	7		
2	419	5	7	14	8	12	2,5	0		4	4	6	2		
3	302	8	4	11	7	13	4,3	0		4	4	5	3		
4	255	11	4	8	9	4	1,6	0							
5	354	9	5	9	12	33	9,3	0				2	1		
6	297	5	4	7	12	2	0,6	0							
7	1 036	17	5	10	31	52	5,0	0	6	2	3	3	11	8	
8	261	10	6	11	8	10	3,8	0		1			4		
9	281	3	5	10	6	22,5	8,0	0					5		
10	240	4	7	14	5	6,5	2,7	0		4		4	5		

III. — ACTION DE L'EXTRAIT HYPOPHYSAIRE DE GAMBUSIE  
(tabl. 5)

Après 10 jours de traitement, l'ovaire de 12 femelles (sur 20 survivantes) contenait des ovocytes en cours de vitellogenèse à des stades divers, le plus souvent à côté d'embryons d'une même classe d'âge pour un même ovaire. Un cas exceptionnel et limité de superfœtation a été observé (femelle n° 5) avec un embryon beaucoup plus jeune (stade 2) que les trois autres (stade 5).

TABLEAU 5

*État de l'ovaire des femelles hypophysectomisées  
et soumises aux injections d'extrait hypophysaire de Gambusie pendant 10 jours  
(5 injections)*

♀ n°	Poids (mg)	Poids de l'ovaire (mg)	I. G. S.	Embryons		Ovocytes en vitellogenèse Nombre par classe de taille (diamètre en microns)								
				Nombre	Classe d'âge	500	750	1 000	1 250	1 500	1 750	2 000		
1	438	5,0	1,1	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	285	39,0	13,7	6	V	20	—	—	—	—	—	—	—	—
3	258	63,0	24,4	9	V	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	218	14,0	6,4	0	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—
5	218,5	32,6	14,9	3 + 1	II et V	4	—	—	—	—	3	—	—	—
6	327	68,5	20,9	9	IV	5	—	—	—	—	—	—	—	—
7	182	28,4	15,6	4	V	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	248	21,5	8,7	0	—	2	—	—	—	—	—	—	—	6
9	326,5	45,2	13,8	7	IV	4	—	—	—	—	—	—	—	—
10	280	29,8	10,6	6	V	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	247,5	28,3	11,4	2	III	5	1	2	—	—	—	—	—	—
12	216	4,2	1,9	0	—	8	—	—	—	—	—	—	—	—
13	199	2,0	1,0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	218	34,4	15,8	4	IV	5	—	—	—	—	2	—	—	1
15	194	4,3	2,2	0	—	8	—	—	—	—	—	—	—	—
16	266	42,3	15,9	3	I-II	—	—	—	—	—	4	—	—	5
17	232	27,6	11,9	6	III	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	235	24,3	10,3	5	II	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	190	25,5	13,4	4	V	—	—	—	—	—	2	—	—	2
20	321	2,5	0,7	0	—	—	—	—	—	—	2	—	—	2

La présence d'ovocytes de 1,5 à 2 mm montre que le traitement mis en œuvre n'est pas seulement capable de faire démarrer la vitellogenèse, mais peut aussi permettre la poursuite de la maturation déjà en cours avant hypophysectomie.

## DISCUSSION

I. *Effets de l'hypophysectomie*

a) Les effets de l'hypophysectomie sur l'ovogenèse sont similaires à ceux décrits chez les autres téléostéens (voir à ce sujet les revues bibliographiques de PICKFORD



et ATZ, 1957 ; ATZ et PICKFORD, 1964) : il y a atrésie plus ou moins rapide des ovocytes en cours de vitellogenèse, ne subsistant alors que des ovocytes jusqu'au stade de la prévitellogenèse, ces jeunes ovocytes ne semblent pas affectés par l'hypophysectomie dans la limite des observations effectuées. L'atrésie paraît seulement particulièrement rapide chez le Guppy.

b) En ce qui concerne la gestation, nos résultats tendent à montrer que l'hypophyse n'est pas indispensable à son déroulement, sauf peut-être au tout début. BALL (1962) travaillant sur un *Poeciliidae* voisin du Guppy, *Mollienesia latipinna*, avait déjà montré que l'hypophysectomie n'entravait ni la gestation, ni les mécanismes de parturition, chez cette espèce. Par contre, CHAMBOLLE (1964, 1966) montre que chez *Gambusia* (autre *Poeciliidae*) hypophysectomisé très tôt dans le cycle, 50 p. 100 des femelles environ mettent bas des embryons mort-nés ou dont le développement est inachevé, les autres mères mourant avant parturition, par suite de l'impossibilité d'évacuer les embryons morts. Pour CHAMBOLLE il y aurait donc chez *Gambusia* un contrôle hypophysaire indispensable au bon déroulement de la gestation ainsi que de la parturition.

Pour notre part, chez *Poecilia reticulata*, nous n'avons constaté d'anomalies de gestation et de mortalité exagérée des mères qu'à la suite d'hypophysectomies pratiquées très peu de temps après une mise bas. Or, le moment de la fécondation *in situ* consécutif à l'arrivée à maturité des ovocytes, est d'une grande variabilité : variabilité individuelle d'abord, mais aussi variabilité d'un cycle à l'autre pour un même individu, et enfin, pour un même cycle, variabilité entre les ovocytes dont la maturation n'est pas absolument simultanée, la fécondation étant étalée en conséquence. Il en résulte que si l'on peut situer la majorité des fécondations entre le 3<sup>e</sup> et le 6<sup>e</sup> jour après une mise bas dans nos conditions d'élevage, ces fécondations s'étalent en fait du 1<sup>er</sup> au 10<sup>e</sup> jour. Les perturbations que nous avons observées à la suite de l'hypophysectomie pendant cette période peuvent donc résulter aussi bien d'une action défavorable sur l'extrême début de la gestation que sur la fin de la vitellogenèse et la maturation ovocytaire ; cette dernière possibilité pourrait rendre compte de certaines anomalies de développement et des mortalités embryonnaires entraînant la mort des mères par suite de l'absence de participation active de ces embryons morts à leur propre évacuation. De plus, à la suite de telles hypophysectomies en début de cycle, nous avons parfois observé, par dissection des mères mortes, quelques jours plus tard, que le volume vitellin de certains œufs embryonnés était bien inférieur à la normale ; ce qui appuie l'hypothèse d'une perturbation de la maturation ovocytaire.

## 2. Effet des supplémentations hormonales

Deux points sont essentiels dans nos résultats :

- a) les phénomènes de superfoetation obtenus chez les animaux entiers et la non-réponse des femelles privées d'hypophyse, avec le « traitement Gardon » ;
- b) la réponse ovarienne positive des femelles hypophysectomisées au « traitement *Gambusia* ».

S'il est bien connu que la superfoetation est de règle chez certains *Poeciliidae* tels que *Poecilistes pleurospilus*, *Poeciliopsis infans* et *Heterandria formosa* (TURNER, 1937), elle est considérée comme exceptionnelle chez *Poecilia reticulata* (SCRIMSHAW, 1943).

Nous avons vérifié dans nos conditions d'élevage (après TURNER, 1937 ; STOLK, 1959 ; ROSENTHAL, 1952, 1953) que la vitellogenèse chez le Guppy est habituellement un phénomène discontinu démarrant alors que la gestation précédente s'achève : il y a évolution à peu près synchrone d'un nombre limité d'ovocytes en prévitellogenèse jusqu'à maturité et fécondation par les spermatozoïdes en réserve dans l'ovaire. Il n'y a pas de nouvelle poussée de vitellogenèse jusqu'à ce que les œufs ainsi fécondés aient atteint les 10 derniers jours de leur développement. De ce fait, l'ovaire ne contient à la fois qu'une seule génération d'embryons approximativement au même stade de développement, et qui arriveront à terme simultanément. Il est permis de penser que ce phénomène de vitellogenèse périodique est le résultat d'une stimulation d'origine hypophysaire également périodique. En effet, SOKOL (1961) a pu relier l'évolution cyclique des cellules hypophysaires au cycle ovarien. Récemment, BROMAGE et SAGE (1968) ont confirmé l'existence d'un cycle thyroïdien lié au cycle ovarien ce qui peut impliquer, à côté de l'action directe des hormones du type gonadotrope, une action indirecte mais nécessaire des hormones métaboliques hypophysaires sur la vitellogenèse. Par ailleurs, TURNER (1937) avait déjà établi un lien entre la périodicité des portées successives et la durée d'éclairement chez le Guppy, montrant que les portées sont d'autant plus rapprochées que la photopériode est plus longue. A la limite, SCRIMSHAW (1943) a trouvé 3 cas de superfoetation parmi 15 femelles de *Poecilia reticulata* placées en éclaircissement continu avec superposition de 2 portées. Si l'on remplace cette stimulation lumineuse de l'hypophyse par l'action directe d'hormones gonadotropes exogènes, on est en droit d'attendre une réaction similaire. Or, HAEMPEL (1950), utilisant des hormones mammaliennes, n'avait obtenu aucune stimulation ovarienne chez le Guppy, mais au contraire des naissances prématurées, puis à long terme des portées très retardées avec mise bas difficile d'une proportion élevée de mort-nés, et enfin stérilité complète avec atrésies folliculaires. Mais ses résultats sont difficiles à interpréter du fait de l'origine mammalienne de l'extrait hypophysaire utilisé, des conditions d'administration (dans l'eau des aquariums) et du faible nombre d'animaux expérimentaux.

Les cas de superfoetation que nous avons obtenus montrent bien que l'ovaire est susceptible à tout moment de répondre à une certaine action gonadotrope, la présence d'une portée dans l'ovaire n'ayant aucun caractère inhibiteur sur l'ovaire lui-même, qu'il s'agisse du démarrage d'une nouvelle phase de vitellogenèse, de la fécondation ou du développement d'embryons plus jeunes. Inversement, la présence d'embryons plus jeunes ne semble pas inhiber les mécanismes de mise bas des embryons à terme ; dans un seul cas (tabl. 3, femelle 1) ces derniers sont morts avant d'être expulsés, ce qui peut résulter de l'extraordinaire distension de l'ovaire dont le poids représentait alors 1/3 du poids corporel à la suite des superfoetations successives.

La non-réponse des animaux hypophysectomisés aux injections d'extrait hypophysaire de Gardon, pose le problème de la qualité biologique de cet extrait brut : contient-il vraiment le ou les facteurs gonadotropes responsables de la vitellogenèse chez le Guppy ? En effet, son action positive chez les femelles entières pourrait s'expliquer par une stimulation des décharges gonadotropes endogènes de leur propre hypophyse, soit par la présence de facteurs analogues aux *Releasing Factors* mis en évidence chez les Mammifères, soit par l'action des protéines étrangères de la poudre hypophysaire du Gardon entraînant une réaction de stress avec décharge hypophysaire comme ceci a été mis en évidence chez la Ratte (PELLETIER, 1964, 1965). L'im-

puissance des injections d'albumine à provoquer la même stimulation (tabl. 4) peut faire pencher en faveur de l'existence de facteurs relativement spécifiques de l'effet de décharge produit. Les hypophyses de Gardon ayant été prélevées au moment de la fraie, on peut imaginer que si de tels facteurs existent chez le Poisson, ils doivent être particulièrement abondants à ce moment-là.

Les phénomènes de vitellogenèse induits par le « traitement *Gambusia* » montrent que malgré le stress introduit par l'hypophysectomie, les manipulations et injections traumatisantes et les conditions de milieu relativement artificielles (eau de mer diluée et pénicillinée), les femelles de Guppy restent capables de répondre à une action gonadotrope exogène convenable. En fait, le recours à *Gambusia* comme donneur de matériel hypophysaire permet de se placer dans le cas le plus favorable : *Poecilia reticulata* et *Gambusia* appartiennent tous deux à la famille des *Poeciliidae*, ce qui atténue beaucoup l'éventuel problème de spécificité zoologique. Comme d'autre part ils ont un cycle court et régulier, un pool hypophysaire réalisé à partir d'un grand nombre de femelles contient obligatoirement des facteurs gonadotropes.

Il n'en est pas de même dans le cas de la poudre hypophysaire de Gardon utilisée, et deux hypothèses peuvent chacune rendre compte de la non-réponse observée sur le Guppy hypophysectomisé :

1° Au moment où a eu lieu leur prélèvement (au voisinage de la fraie) les hypophyses de Gardon pouvaient ne plus contenir d'hormones gonadotropes en quantité suffisante pour provoquer la réponse cherchée, leur décharge ayant eu lieu avant, lors de l'achèvement de la gamétogenèse.

2° Il est possible que les facteurs gonadotropes de l'hypophyse du Gardon soient inactifs chez le Guppy, par suite d'un degré de spécificité zoologique trop élevé.

Nous nous proposons ultérieurement de tester la validité de chacune de ces deux hypothèses, car elles conditionnent l'acceptation de *Poecilia reticulata* comme matériel de dosage biologique des hormones gonadotropes du Gardon.

## CONCLUSION

Nos résultats actuels mettent l'accent sur la différence des réponses pouvant être enregistrées respectivement chez l'animal normal soumis au même traitement de supplémentation hormonale, et montrent qu'il y a lieu d'interpréter avec prudence tout essai dans ce sens réalisé chez l'animal non hypophysectomisé, en particulier lorsque l'on cherche à réaliser un dosage biologique.

*Reçu pour publication en février 1969.*

## REMERCIEMENTS

L'auteur remercie B. BRETON qui a fourni la poudre hypophysaire de Gardon, utilisée dans les expériences.

## SUMMARY

RESPONSE OF THE OVARY OF NORMAL OR HYPOPHYSECTOMIZED « POECILIA RETICULATA »  
TO CRUDE PITUITARY EXTRACTS OF ROACH AND GAMBUSIA

Hypophysectomy of the Guppy, *Poecilia reticulata*, is followed in 8 to 10 days by atresia of all oocytes in the process of vitellogenesis. Pregnancy, however, is not affected.

— Injections of crude pituitary extracts from spawning Roach do not stimulate the regressed ovary of the hypophysectomized Guppy. However, the ovary of the normal female is strongly stimulated and superfoetation is induced.

— By contrast, injections of crude pituitary extracts of *Gambusia* maintain vitellogenesis after hypophysectomy, and are able to stimulate vitellogenesis in 60 per cent of regressed Guppy ovaries.

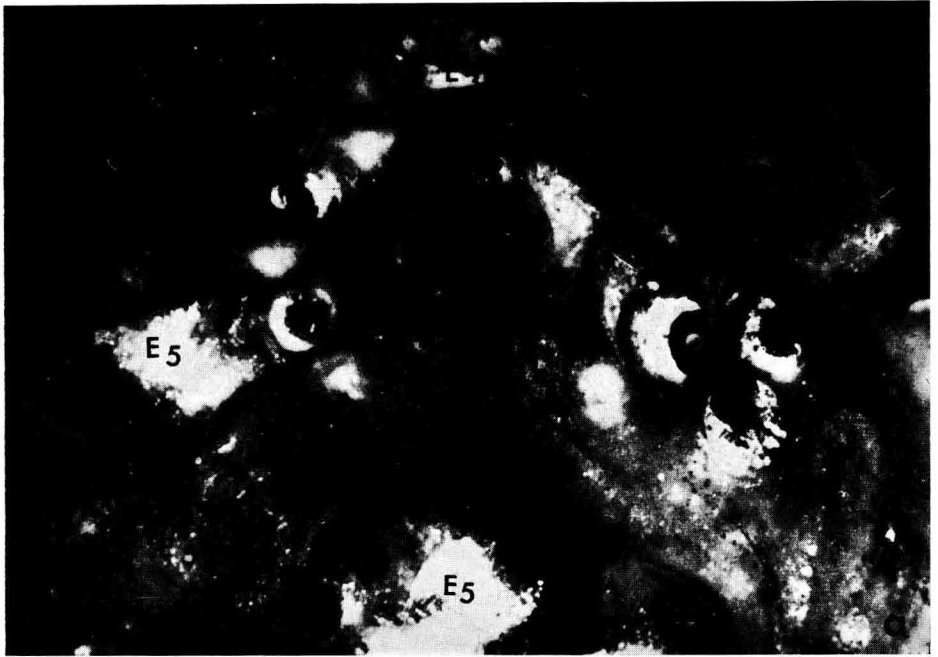
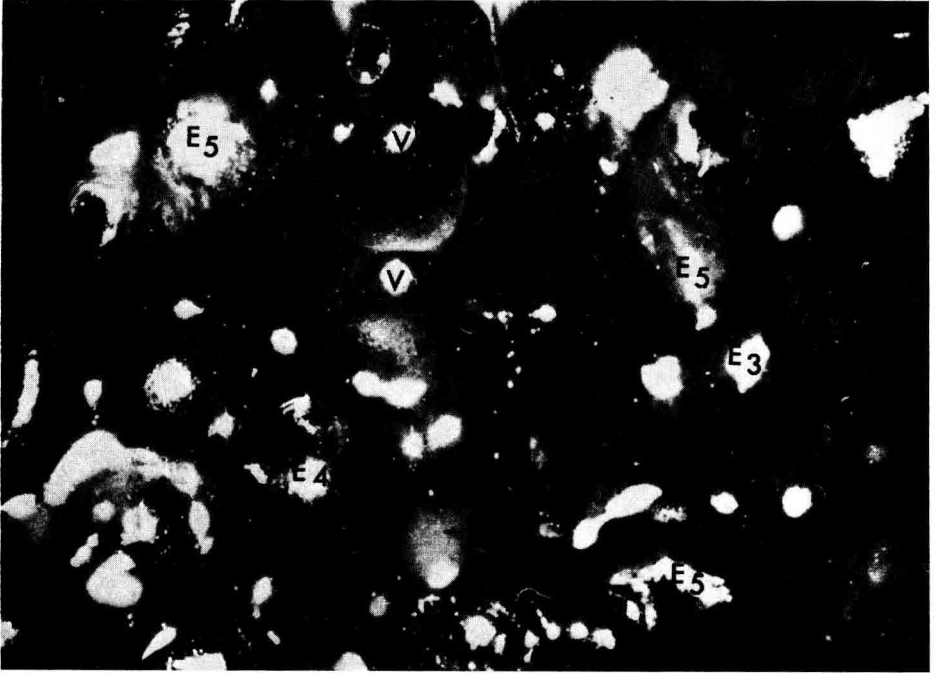
The difference between the pituitary extract of the Roach and the *Gambusia* may be tentatively related to :

- either a narrow species specificity of the gonadotrophins,
- or a low potency of the Roach pituitary during the spawning period.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ATZ J. W., PICKFORD G. R., 1959. The use of pituitary hormones in fish culture. *Endeavour*, **18**, 125-129.
- ATZ J. W., PICKFORD G. E., 1964. The pituitary gland and its relation to the reproduction of fishes in nature and in captivity. *F. A. O. Fisheries Biology Technical paper*, **37**.
- BALL J. N., 1960. Reproduction in female bony fishes. *Symp. Zool. Soc. London*, **1**, 105-135.
- BALL J. N., 1962. Brood production after hypophysectomy in the viviparous teleost *Mollienesia latipinna* LE SUEUR. *Nature*, **194**, 787.
- BALL J. N., OLIVEREAU M., SLICHER A. M., KALIMAN K. D., 1965. Functional capacity of ectopic pituitary transplants in the teleost *Poecilia formosa*, with a comparative discussion on the transplanted pituitary. *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, **249** (B), 69-99.
- BARR W. A., 1963. The endocrine control of the sexual cycle of the plaice, *Pleuronectes platessa* (L.). *Gen. Comp. Endocr.*, **3**, 197-225.
- BELSARE D. K., 1965. Changes in gonads and the thyroid gland after hypophysectomy in *Ophiocephalus punctatus* (BLOCH). *J. Exp. Zool.*, **158**, 1-8.
- BRETON B., 1968. *Contribution à l'étude de l'isolement et du dosage des gonadotropines de Poissons*. Thèse 3<sup>e</sup> Cycle Fac. Sci. Lyon, 51 p.
- BROMAGE N. R., SAGE M., 1968. The activity of the thyroid gland of *Poecilia* during the gestation Cycle. *J. Endocr.*, **41**, 303-311.
- BURDEN C. E., 1956. The failure of hypophysectomized *Fundulus heteroclitus* to survive in fresh water. *Biol. Bull.*, **110**, 8-28.
- CARDOSO D. M., 1934. Relation entre l'hypophyse et les organes sexuels chez les Poissons. *C. R. Soc. Biol.*, **115**, 1347-1349.
- CHAMBOLLE P., 1963. *Recherches descriptives et expérimentales sur l'appareil reproducteur et la physiologie de la reproduction de Lebistes reticulatus* (PETERS) Thèse doct. 3<sup>e</sup> Cycle Bordeaux, 94 p.
- CHAMBOLLE P., 1964. Influence de l'hypophysectomie sur la gestation de *Gambusia* sp. (Poisson téléostéen). *C. R. Acad. Sci. Paris*, **259**, 3855-3857.
- CHAMBOLLE P., 1966. Recherches sur l'allongement de la durée de survie après hypophysectomie. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **262**, 1750-1753.
- DODD J. M., 1960. Gonadal and gonadotropic hormones in lower vertebrates in : *Marshall's physiology of Reproduction*. A. S. Parkes. London, Longmans Green, vol. **1**, 417-582.
- FONTAINE M., BERTRAND E., LOPEZ E., CALLAMAND O., 1964. Sur la maturation des organes génitaux de l'Anguille femelle (*Anguilla anguilla* L.) et l'émission spontanée des œufs en aquarium. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **259**, 2907-2910.
- HAEMPEL O., 1950. Untersuchungen über den Einfluss von Hormonen auf den Geschlechtszyclus von *Lebistes reticulatus* (PET.). *Z. Vitam. Horm. Fermentforsch.*, **3**, 261, 280.
- HOAR W. S., 1965. Comparative physiology : hormones and reproduction in fishes. *Annual. Rev. Physiol.*, **27**, 51-70.

- JALABERT B., BILLARD R., 1968. Hypophysectomie de *Poecilia reticulata* (Poisson téléostéen). *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, **8**, 99-106.
- PELLETIER J., 1964. Dosage de l'hormone stimulant l'interstitielle (I. C. S. H.) dans le sang par la méthode de l'acide ascorbique ovarien. *C. R. Acad. Sci.*, **258**, 5979-5981.
- PELLETIER J., 1965. Effet du plasma de Brebis sur la décharge de L. H. chez la Ratte. *C. R. Acad. Sci.*, **260**, 5624-5626.
- PICKFORD G. E., ATZ J. W., 1957. *The physiology of the pituitary gland of fishes*. New York Zoological Society, New York.
- PURSER G. L., 1938. Reproduction in *Lebistes reticulatus*. *Quart. J. Micr. Sci.*, **81**, 151-157.
- RAMASWAMI L. S., SUNDARARAJ B. I., 1957. Some aspects of induced spawning in the Catfish *Heteropneustes*. *Naturwiss*, **44**, 46.
- RAMASWAMI L. S., SUNDARARAJ B. I., 1957. Induced spawning in the Catfish *Clarias*. *Naturwiss*, **44**, 384.
- ROSENTHAL H. L., 1951. The birth process of the Guppy, *Lebistes reticulatus*. *Copeia*, **1951**, 304.
- ROSENTHAL H. L., 1952. Observations on reproduction of the *Poeciliid* *Lebistes*. *Biol. Bull.*, **102**, 30-38.
- SCRIMSHAW N. S., 1943. Superfetation in *poeciliid* fishes. *Copeia*, 180-183.
- SOKOL H. W., 1961. Cytological changes in the teleost pituitary gland associated with the reproductive cycle. *J. Morphol.*, **109**, 219-236.
- STOLK A., 1951 *a-b-c*. Histo-endocrinological analysis of gestation phenomena in the cyprinodont *Lebistes reticulatus* PETERS. *Proc. Akad. Sci. Amst. C*, **54**, 550-573.
- TURNER C. L., 1937. Reproductive cycles and superfetation in *Poeciliid* fishes. *Biol. Bull.*, **72**, 145-164.
- VIVIEN J. H., 1938. Sur les effets de l'hypophysectomie chez un téléostéen marin, *Gobius paganellus* (L.). *C. R. Acad. Sci. Paris*, **207**, 1452-1455.
- VIVIEN J. H., 1939. Rôle de l'hypophyse dans le déterminisme du cycle génital femelle d'un téléostéen, *Gobius paganellus* L. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **208**, 948-949.
- VIVIEN J. H., 1941. Contribution à l'étude de la physiologie hypophysaire dans ses relations avec l'appareil génital, la thyroïde et les corps suprarénaux chez les Poissons Sélaciens et Téléostéens, *Scylliorhinus canicula* et *Gobius paganellus*. *Bull. Biol. France et Belgique*, **75**, 257-309.
-



## PLANCHE 1

*Ovaire de la femelle n° 1 (lot H<sup>+</sup> ex) montrant des phénomènes de superfœtation avec 4 classes d'âge des embryons (E<sub>2</sub> à E<sub>5</sub>) (déterminées exactement après dissection folliculaire) et des ovocytes en cours de vitellogénèse (V). Les flèches (photo a) montrent plusieurs embryons morts, expulsés de leur follicule mais maintenus dans la cavité ovarienne distendue.*