

NOTE TECHNIQUE

**INHIBITION DE LA SPERMATOGENÈSE DU GUPPY  
(POISSON CYPRINODONTIDAE) PAR LE MÉTHALLIBURE**

R. BILLARD, B. BRETON et B. JALABERT  
avec la collaboration technique de Anne-Marie ESCAFFRE

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

---

**RÉSUMÉ**

L'utilisation du méthallibure, en bain, aux doses de 1 à 2 p.p.m., entraîne une inhibition de la spermatogenèse du Guppy, qui est plus lente que celle obtenue après hypophysectomie chirurgicale ; après 30 jours de traitement l'inhibition de la spermatogenèse n'est pas totale. Le taux de mortalité reste élevé (20 p. 100 au 30<sup>e</sup> jour à la dose de 1 p.p.m.) mais il est dû en partie au solvant utilisé.

---

**INTRODUCTION**

Le méthallibure ( $1\alpha$ -méthylallyl-thiocarbamoyl-2 méthyl-thiocarbamoyl-hydrazine = I. C. I. 33 828), qui est capable d'inhiber la fonction gonadotrope hypophysaire chez certains Mammifères (PAGET *et al.*, 1961 ; SCHMIDT-ELMENDORFF, 1962 ; BELL *et al.*, 1962 ; HARPER, 1964 ; WALPOLE, 1968 ; GARBERS et FIRST, 1969), peut également altérer la gamétogenèse des Amphibiens (GAN-GADHARA et RAMAIAH, 1968) et des Poissons (HOAR *et al.*, 1967 ; WIEBE, 1968).

Chez les Mammifères, la similitude entre les effets de l'hypophysectomie et du méthallibure sur la spermatogenèse (HEMSWORTH *et al.*, 1968) fait supposer que l'action du méthallibure se situe au niveau des cellules gonadotropes hypophysaires. Chez les Poissons, une étude ultrastructurale de l'hypophyse aboutit au même résultat (LEATHERLAND, 1969), ce qui permet d'envisager un traitement au méthallibure comme technique d'hypophysectomie. Le présent travail, réalisé dans ce but, permet une comparaison de l'influence du mode d'administration du méthallibure (par injection ou dans l'eau de l'aquarium) sur les différentes catégories de cellules germinales chez le Guppy mâle (*Poecilia reticulata* PETERS) et une confrontation avec des résultats déjà enregistrés après hypophysectomie chirurgicale (BILLARD, 1969 b ; PANDEY, 1969).

## MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Le matériel animal et ses conditions d'élevage ont été décrits précédemment (BILLARD, 1969 *a*). Les animaux pesant entre 60 et 110 mg sont répartis en lots de 10 dans des aquariums en chlorure de polyvinyle contenant 1 litre d'eau ; le contenu de ces aquariums est renouvelé tous les 2 jours par de l'eau prélevée dans un grand bassin où vivent d'autres Guppies et des plantes aquatiques. Le méthallibure est maintenu en suspension dans l'eau à l'aide du Triton  $\times 100$  (une goutte pour 10 ml de solution mère contenant 1 g de méthallibure).

### 1. Administration par injection

Deux lots d'animaux reçoivent respectivement tous les 3 et 6 jours une injection de 1  $\mu$ l contenant 0,1 mg de méthallibure, par animal ; un lot témoin reçoit tous les 3 jours une injection de 1  $\mu$ l d'eau physiologique.

### 2. Administration dans l'eau des aquariums

Les animaux sont répartis en 2 lots soumis à 2 concentrations différentes 1 et 2 p.p.m. La dose est renouvelée tous les 2 jours.

### 3. Estimation de l'effet

L'influence du traitement est mesurée par la mortalité (qui est contrôlée tous les jours), le rapport gonado-somatique (RGS) et l'analyse quantitative des différentes catégories cellulaires contenues dans le testicule. Dans chaque lot 2 mâles sont sacrifiés aux 10<sup>e</sup>, 20<sup>e</sup> et 30<sup>e</sup> jours de traitement et les gonades sont fixées dans le Bouin Hollande pendant 3 jours et coupées en totalité en coupes sériées de 10  $\mu$ . Les comptages de cystes sont réalisés selon le processus déjà décrit (BILLARD, 1969 *b*) et les résultats sont exprimés en nombre de cystes par apex.

## RÉSULTATS

### Taux de mortalité

Les résultats résumés dans le tableau 1 font apparaître un taux de mortalité plus élevé lorsque le méthallibure est administré par injection. La mortalité reste élevée dans les bains où

TABLEAU I

Pourcentage de mortalité aux 10<sup>e</sup>, 20<sup>e</sup> et 30<sup>e</sup> jour de traitement dans les lots recevant du méthallibure et dans le lot témoin recevant des injections d'eau physiologique

P. 100 de mortalité au :			
	10 <sup>e</sup> jour	20 <sup>e</sup> jour	30 <sup>e</sup> jour
Bains : Faible dose (1 p.p.m.)..	10	10	20
Forte dose (2 p.p.m.) .....	20	30	40
Témoin (Triton seul) .....	0	0	10
Injections : Faible dose (17 $\gamma$ /j) .	10	30	30
Forte dose (33 $\gamma$ /j) .....	30	40	60
Témoin (triton seul) .....	0	0	10

la dose est la plus faible (1 p.p.m.). Cependant, la comparaison avec les animaux témoins recevant seulement le solvant montre que ce dernier est partiellement responsable de la mortalité observée aussi bien dans le cas des bains que des injections.

#### *Action sur la spermatogénèse*

Dans tous les cas, il n'y a pas de différence entre les doses élevées et les doses faibles, de sorte que les résultats sont regroupés et que la comparaison porte sur le mode d'administration : bains ou injections.

L'évolution du RGS apparaît dans la figure 1 A. L'administration par injection entraîne une diminution plus rapide, mais moins importante que dans le cas d'administration par bain.

La diminution des différentes catégories cellulaires est reproduite dans la figure 1 (B à H). Les premières générations spermatogoniales ( $G_1$ - $G_7$ ) ne semblent pas affectées par le méthallibure administré par injection, alors que l'administration par bain diminue le nombre de cystes de cette catégorie (fig. 1 B). Toutes les autres cellules germinales sont affectées par le traitement, mais dans tous les cas la diminution est plus forte lorsque l'administration est faite par bain.

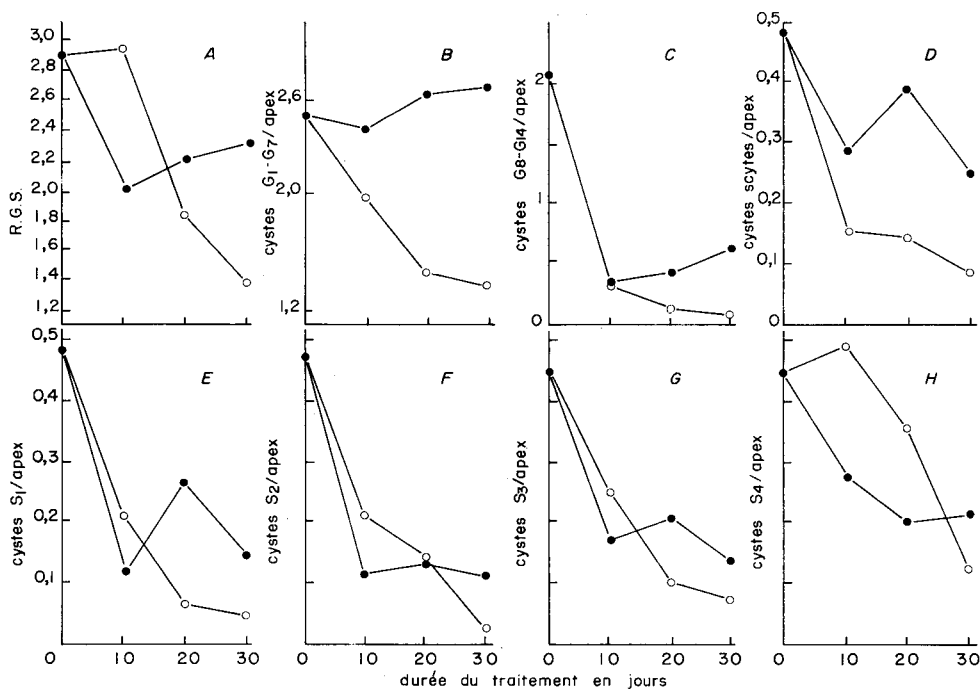


FIG. 1. — Évolution de la spermatogénèse du Guppy après traitement au méthallibure

- |                                  |                                  |       |
|----------------------------------|----------------------------------|-------|
| ○ — Administration par bain      | ● — Administration par injection |       |
| A : Rapport gonado-somatique     | E : Spermatides                  | $S_1$ |
| B : Spermatogonies $G_1$ à $G_7$ | F : —                            | $S_2$ |
| C : — $G_8$ à $G_{14}$           | G : —                            | $S_3$ |
| D : Spermatocytes I (scytes)     | H : —                            | $S_4$ |

#### DISCUSSION

Le méthallibure entraîne une diminution importante du RGS et affecte la plupart des cellules germinales, mais l'importance des dégénérescences varie suivant le mode d'administration. L'ad-

ministration par injection entraîne une dégénérescence rapide de la plupart des cellules germinales pendant les 10 premiers jours, mais la stabilisation et, quelquefois même la restauration qui interviennent ensuite sont vraisemblablement dues à une perte du matériel injecté après une série réitérée d'injections, phénomène déjà signalé chez les Poissons (FRISEN, 1967).

La comparaison avec les résultats obtenus après hypophysectomie chirurgicale (BILLARD, 1969) montre que les effets du méthallibure sont beaucoup plus lents. Après 30 jours de traitement au méthallibure, le RGS est de 1,2, valeur qui est enregistrée 10 jours seulement après hypophysectomie. Le même décalage se retrouve au cours de la régression des spermatogonies et des spermatoocytes I. Cependant, l'évolution des différents types de spermatides est comparable dans les 2 cas (hypophysectomie et méthallibure), au cours des 10 premiers jours. Au-delà du 10<sup>e</sup> jour de traitement au méthallibure, la diminution est moins rapide et au 30<sup>e</sup> jour, il subsiste encore des cystes de chaque catégorie de spermatides, alors que 30 jours après hypophysectomie, il ne subsiste pratiquement plus de spermatides. Il semble donc qu'après 30 jours de traitement le méthallibure n'entraîne pas, aux doses utilisées, un blocage complet de l'activité gonadotrope hypophysaire.

## CONCLUSIONS

Chez le Guppy, l'utilisation du méthallibure ajouté dans l'eau de l'aquarium ne constitue pas un moyen d'inhibition de l'activité gonadotrope hypophysaire aussi complet que l'hypophysectomie chirurgicale.

*Reçu pour publication en avril 1970.*

## REMERCIEMENTS

Nous remercions la firme Impérial Chemical Industries qui nous a aimablement fourni le méthallibure utilisé dans les expériences.

## SUMMARY

### INHIBITORY EFFECT OF ICI 33828 (METHALLIBURE) ON SPERMATOGENESIS IN THE GUPPY (*PÆCILIA RETICULATA*)

Administration of methallibure at 1 to 2 p.p.m. rates in water inhibited spermatogenesis in the Guppy. The gonadosomatic index decreased after day 10 of treatment (fig. 1 A). A regression of the various germinal cells was also recorded, but at day 30 of treatment, the inhibition of spermiogenesis was not total (fig. 1 B.H). In all cases the effects were slower than those recorded after hypophysectomy. Methallibure was less effective when injected than when administered in the water.

Mortality rate was high (table 1), but it was partly due to the solvent used ( $\times 100$  Triton).

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BELL E. T., BROWN J. B., FORTHEY K., LORAIN J. A., ROBSON J. S., 1962. The effect of derivatives of dithiocarbamoyl hydrazine on hormone excretion in post menopausal women. *J. Endocr.*, **26**, 425-436.

- BILLARD R., 1969 a. La spermatogenèse de *Poecilia reticulata*. I. Estimation du nombre de générations goniales et rendement de la spermatogenèse. *Ann. Biol. anim., Bioch. Biophys.*, **9**, 251-271.
- BILLARD R., 1969 b. Hypophysectomie et spermatogenèse chez *Poecilia reticulata* (Poisson Cyprinodontidae). *C. R. Acad. Sci., sér. D*, **268**, 1856-1859.
- FRISEN L., 1967. Reliability of intraperitoneal injection in fish. *Experientia*, **23**, 883.
- GANGADHARA W. S., RAMAIAH T. R., 1968. Effect of hypophysectomy, ovariectomy, starvation and methallibure on the skipper frog, *Rana cyanophlyctis*. *Indian J. exp. Biol.*, **6**, 218-220.
- GARBERS D. L., FIRST N. L., 1969. The effects of injected oestradiol 17 $\beta$  progesterone and dietary I. C. I. 33828 on ovarian and pituitary functions in the sow and gilt. *J. Reprod. Fert.*, **20**, 451-464.
- HARPER M. J. K., 1964. Effects of 1  $\alpha$  methylallylthiocarbamoyl-2-methyl thiocarbamoylhydrazine (I. C. I. 33828) on early pregnancy in the rat. *J. Reprod. Fert.*, **7**, 211-220.
- HOAR W. S., WIEBE J., WAI E. H., 1967. Inhibition of the pituitary gonadotropin activity of fishes by a dithiocarbamoyl hydrazine derivative (I. C. I. 33828). *Gen. Comp. Endocr.*, **8**, 101-109.
- HEMSWORTH B. N., JACKSON H., WALPOLE A. L., 1968. Effect of the pituitary inhibitor I. C. I. 33828 (methallibure) on the reproductive system of male rats. *J. Endocr.*, **40**, 275-284.
- LEATHERLAND J. F., 1969. Studies on the structure and ultrastructure of the intact and « methallibure »-treated meso-adenohypophysis of the Viviparous Teleost *Cymatogaster aggregata* GIBBONS. *Z. Zellforsch.*, **98**, 122-134.
- PAGET G. E., WALPOLE A. L., RICHARDSON D. N., 1961. Non steroidal inhibitors of pituitary gonadotrophic function. *Nature*, **192**, 1191.
- PANDEY S., 1969. Effects of hypophysectomy on the testis and secondary sex characters of the adult guppy *Poecilia reticulata* PETERS. *Can. J. Zool.*, **47**, 775-781.
- SCHMIDT-ELMENDORFF M., LORAINE J. A., BELL E. T., WALLEY J. K., 1962. An investigation into the effect of derivatives of dithiocarbamoyl hydrazine on gonadotrophic activity in the body fluids on pregnant mares. *J. Endocr.*, **25**, 107-114.
- WALPOLE A. L., 1968. Non steroidal drugs in relation to ovulation and implantation. *J. Reprod. Fert., suppl.* **4**, 3-14.
- WIEBE J. P., 1968. Inhibition of pituitary gonadotropic activity in the viviparous searperch *Cymatogaster aggregata* GIBBONS by a dithiocarbamoylhydrazine derivative I. C. I. 33828. *Can. J. Zool.*, **46**, 751-758.

---

#### NOTE AJOUTÉE SUR ÉPREUVES

MARTIN et BROMAGE (1969. *J. Fish. Biol.* **2**, 47-51) dans une étude analogue sur la même espèce observent une diminution significative dans le nombre de spermatoocytes et de spermatides après administration de méthallibure mais ces 2 catégories cellulaires n'ont pas complètement disparu au bout de 5 semaines de traitement.

---