



HAL
open science

Gonadotropine glycoprotéique maturante et oestradiol - 17 beta pendant le cycle reproducteur chez la truite Fario (*Salmo Trutta*) femelle

Bernard Breton, Alexis Fostier, Yonathan Zohar, Pierre-Yves Le Bail, Roland Billard

► To cite this version:

Bernard Breton, Alexis Fostier, Yonathan Zohar, Pierre-Yves Le Bail, Roland Billard. Gonadotropine glycoprotéique maturante et oestradiol - 17 beta pendant le cycle reproducteur chez la truite Fario (*Salmo Trutta*) femelle. *General and Comparative Endocrinology*, 1983, 49, pp.220-231. <10.1016/0016-6480(83)90138-7>. <hal-02728478>

HAL Id: hal-02728478

<https://hal.inrae.fr/hal-02728478v1>

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-SA 4.0 - Attribution - ShareAlike - International License

Gonadotropine Glycoprotéique Maturante et Oestradiol-17 β Pendant le Cycle Reproducteur chez la Truite Fario (*Salmo trutta*) Femelle

B. BRETON, A. FOSTIER, Y. ZOHAR, P. Y. LE BAIL, ET R. BILLARD*

Laboratoire de Physiologie des Poissons, INRA, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cédex, France, et

**Laboratoire de Physiologie des Poissons, INRA, 78350 JOUY-en-JOSAS, France*

Accepted March 2, 1982

Maturational glycoprotéique gonadotropin and estradiol-17 β during the reproductive cycle of the female brown trout (*Salmo trutta*). Female brown trout were sacrificed every month or twice a month during the reproductive season. Plasma gonadotropin (GtH) and estradiol-17 β (E₂-17 β) were measured using radioimmunological techniques, in relation with the state of gametogenesis. From ovulation to July egg's diameters remained less than 1 mm, and ovogenesis was characterized from the histological appearance of three types of vitellus: glycoprotéique (type I), lipidique (type II), lipidoprotéique (type III), and the immunological plasma detection of the vitellogenin. During this period GtH levels remained lower than 1 ng/ml except in March, when they increased around 5 ng/ml, both with pituitary GtH and plasma E₂ 17 β . This rise occurred just before the appearance of the type III vitellus within the oocyte, and might correspond to a critical phase of the reproductive cycle during which vitellogenin could not be detected in 70% of the animals. During rapid growth of the oocyte from 1 to 5 mm, mean GtH levels increased from 0.75 to 2.5 ng/ml when those of the E₂-17 β increased more rapidly but began to drop before the end of vitellogenesis. Maturation and ovulation were accompanied by a rise of the GtH level, in correlation with the lower levels of E₂-17 β measured during the cycle, GtH remained high even after ovulation, and more in fish which had kept their eggs within the body cavity. Correlation among GtH, E₂-17 β , and the diameters of eggs had been calculated. There was a positive correlation among GtH, E₂-17 β levels, and the diameters of eggs during exogenous vitellogenesis, and a negative between GtH and E₂-17 β at the end of the reproductive cycle. These results were discussed, in relation to the existence of a pulsatile mode of GtH secretion.

Des Truites fario femelles (*Salmo trutta*) ont été sacrifiées tous les mois, ou tous les 15 jours en période de reproduction. Les niveaux de gonadotropine (GtH) et d'estradiol-17 β (E₂-17 β) ont été mesurés par radioimmunologie, en relation avec l'état d'avancement de la gamétogénèse. Entre l'ovulation et le mois de Juillet, les oeufs ont un diamètre inférieur à 1 mm, et les stades de l'ovogénèse ont été déterminés par l'apparition histologique de 3 types de vitellus glycoprotéique (type I), lipidique (type II), lipidoprotéique (type III) et après détection immunologique de la vitellogénine sérique. Durant cette période, les niveaux de base instantanés de GtH chutent après ovulation et sont constamment inférieurs à 1 ng/ml excepté en Mars où ils s'élèvent significativement, en même temps que la GtH hypophysaire et l'E₂-17 β . Cette augmentation précède l'apparition du vitellus de type III dans les ovocytes. L'élévation transitoire des niveaux de GtH en Mars doit correspondre à une phase critique du cycle durant laquelle la vitellogénine plasmatique ne devient plus détectable que dans 30% des animaux, avant de le redevenir chez 100% le mois suivant. Durant la phase de croissance rapide des ovocytes de 1 à 5 mm, les niveaux gonadotropes moyens passent de 0,75 à 2,5 ng/ml alors que ceux de l'E₂-17 β s'amplifient beaucoup plus, jusqu'à 10 ng/ml, mais recommencent à diminuer avant la fin de la vitellogénèse. Les phases finales du cycle, maturation et ovulation s'accompagnent d'une augmentation de la GtH plasmatique et des niveaux d'E₂-17 β les plus faibles. La GtH plasmatique reste élevée post ovulation et plus élevée chez les animaux qui conservent leurs oeufs dans la cavité générale. Les corrélations entre paramètres endocriniens et gamétogénèse ont été calculées. Les seules statistiquement significatives sont positives entre GtH, E₂-17 β et le diamètre des oeufs durant la vitellogénèse rapide, et négative entre GtH et E₂-17 β en fin de cycle. Ces résultats sont discutés par rapport à l'existence d'un mode de sécrétion pulsatile de la GtH.

Parmi les facteurs endocriniens contrôlant le cycle reproducteur des poissons téléostéens le rôle prépondérant d'une hormone gonadotrope glycoprotéique (GtH) dont l'intervention a été démontrée durant les phases principales de la gamétogénèse, est maintenant bien établi. Chez les Salmonidés, objet de la présente étude, elle stimule en cours de vitellogénèse la sécrétion ovarienne d'oestradiol-17β (Billard *et al.*, 1978; Idler et Campbell, 1980) dont le rôle inducteur de la synthèse hépatique de vitellogénine (Amirante, 1972) et de l'apparition de cette protéine dans la circulation (Idler et Campbell, 1980; Bohemen, 1981) est maintenant clairement démontrée dans cette famille.

Durant les phases finales du cycle cette gonadotropine, en stimulant la production de 17α-hydroxy-20β dihydroprogestérone (Fostier *et al.*, 1972, 1981) contrôle la maturation ovocytaire (Jalabert *et al.*, 1972, 1974).

Les études des niveaux circulants de GtH et d'oestradiol-17β, chez la femelle portent généralement sur une phase particulière du cycle sexuel (Crim *et al.*, 1973, 1975; Crim et Evans, 1978; Crim et Idler 1978; Fostier *et al.*, 1978) ou concernent des prélèvements réalisés avec une fréquence au plus mensuelle (Lambert *et al.*, 1978; Whitehead *et al.*, 1978a, b; Scott *et al.*, 1980; Bohemen, 1981). Toutes ces données ne permettent que l'esquisse des variations annuelles des niveaux hormonaux et de leurs interrelations.

Dans le présent travail nous avons mesuré chez la Truite fario (*Salmo trutta*) femelle, l'évolution simultanée de plusieurs hormones (GtH plasmatique et hypophysaire—oestradiol-17β) en augmentant la fréquence des prélèvements au cours des phases critiques du cycle, en tentant de les relier à des stades d'ovogénèse définis à partir de critères morphologiques, histologiques et biochimiques. Les relations possibles entre les différents paramètres étudiés ont aussi été analysées.

MATERIEL ET METHODES

Les Truites fario proviennent de la pisciculture fédérale de Vermenoux Chateau Chinon (Nièvre) où elles sont élevées sous photopériode et température naturelles. Une population de reproducteurs nés au printemps 1974, a été suivie de Novembre 1976 (poids moyen 200 g) à Février 1978 (poids moyen 408 g). L'expérimentation couvre de ce fait la première période de reproduction, et la totalité du 2^e cycle. Les animaux sont transférés au laboratoire la veille des sacrifices, dont la fréquence est bimensuelle d'Octobre à fin Janvier et mensuelle entre Février et Octobre. 15 femelles ont été en moyenne sacrifiées à chaque fois.

Recueil des Echantillons

Après pesée et anesthésie au 2 phénoxy-éthanol 3 ppm, l'animal est saigné par ponction dans un vaisseau du pédoncule caudal à l'aide d'une seringue rincée à l'héparine (700 UI/ml).

L'hypophyse est prélevée dans la selle turcique immédiatement après décapitation, elle est pesée avec une précision de 0,01 mg sur une balance Mettler ME 22; et broyée (1 mg de tissu frais par ml) dans un tampon veronal 0,025 M, pH 8,6, contenant 1% d'albumine serique bovine (Sigma RIA Grade). Les broyats hypophysaires et les prélèvements de sang sont centrifugés 20 min à 4000g, les surnageants et plasmas sont tous conservés à -20° jusqu'à leur analyse.

La pesée des viscères—ovaires et foie a permis la détermination des rapports gonado- et hépatosomatique (RGS et RHS).

Analyse De l'Ovogénèse

Les différentes étapes de l'ovogénèse ont été caractérisées sur la base de critères.

1. *Histologiques.* La méthode histologique adoptée est celle employée par Billard et Hill (1981) pour la quantification de l'ovogénèse chez la Truite fario, seule la définition des classes d'ovocytes a été utilisée. 4 classes d'ovocytes sont ainsi définies pour les follicules d'un diamètre inférieur à 1 mm.

(a) ovocytes en prévitellogénèse,

(b) ovocytes d'un diamètre maximum de 300 μm, caractérisé par la présence de corps de Balbiani et de vacuoles corticales en périphérie (ces ovocytes seront dits contenant un vitellus de type I) (glycoprotéique).

Les caractéristiques histochimiques des différents types de vitellus ont été définies à partir des critères de Busson-Mabillot (communication personnelle).

(c) ovocytes dont le diamètre croît jusqu'à 500 μm. Une synthèse lipidique y apparaît sous la forme de vacuoles de lipide à la périphérie du noyau, correspondant au type de vitellus II.

(d) ovocytes d'un diamètre maximum de 1 mm, autour desquels s'organisent une couche folliculaire et

dans lesquels apparaît une synthèse lipoprotéique (type de vitellus III).

2. *Morphométriques et morphologiques.* Au delà d'un diamètre de 1 mm seule la taille des follicules est prise en considération et rend compte de la phase d'accumulation importante du vitellus. Elle est estimée par la moyenne des diamètres de 4 ovocytes provenant de 4 lamelles ovigères prises au hasard dans l'ovaire.

Durant la dernière partie du cycle correspondant à l'époque de la reproduction, les stades ont été définis à partir des critères de Jalabert (1976):

oeufs en fin de vitellogénèse dont le noyau est central,

noyau ovocytaire en cours de migration,

noyau périphérique,

maturation méiotique achevée,

ovulation en cours,

postovulation.

Les sacrifices bi-hebdomadaires ne permettent pas la détermination exacte des dates d'ovulations. Les animaux de ce groupe ont donc été répartis en deux sous groupes sans considération des dates d'ovulation:

animaux ovulés ayant conservé leurs ovules dans la cavité générale,

animaux ovulés vidés de leurs ovules.

3. *Biochimiques.* L'existence supposée d'une vitellogénèse active a été recherchée à partir de la détection par immunodiffusion sur gel d'agarose 0,8% en tampon veronal 0.05 M, pH 8,6. La vitellogénine a été purifiée à partir de sérum de Truite estrogénisée, par la méthode de Hara et Hirai (1978) modifiée par Le Bail et Breton (1981).

La spécificité du système de détection immunologique de la vitellogénine a été discutée (Le Bail et Breton, 1981). La sensibilité de la méthode autorise la détection plasmatique de la vitellogénine jusqu'à une limite inférieure de 0,25 à 0,5 ng/ml.

Dosages Radioimmunologiques de la GtH et de l'Oestradiol-17 β

Le dosage radioimmunologique de la GtH plasmatique et hypophysaire utilise un anticorps GtH de Truite arc-en-ciel (Breton *et al.*, 1976) employé à la dilution finale de 0.5×10^{-5} . La GtH utilisée comme traceur pour l'étalonnage du dosage est une GtH de Saumon (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Breton *et al.*, 1978). La protéine est marquée à l' ^{125}I après oxydation à la chloramine T. Le système employé est spécifique pour les GtH glycoprotéiques maturantes de Salmonidés (Breton *et al.*, 1978), sa sensibilité est de 0,6 ng/ml de milieu (plasma ou extrait hypophysaire). Les coefficients de variations intra dosage sont de 17,75% pour un niveau de $1,12 \pm 0,2$ ng/ml; 7,90% pour un niveau de $5,32 \pm 0,42$ ng/ml et 7,03% pour un niveau de $25,30 \pm 1,78$ ng/ml ($n = 5$). Les variabilités inter dosage sont de 12,40% pour un niveau de $1,80 \pm 0,22$

ng/ml; 9,54% pour un niveau de $7,10 \pm 0,68$ ng/ml et 10,7% pour un niveau de $21,31 \pm 2,28$ ng/ml ($n = 5$).

Le dosage radioimmunologique de l'oestradiol-17 β a déjà été décrit, et ses caractéristiques étudiées pour l'analyse du plasma de Truite (Fostier *et al.*, 1978). Dans le présent travail un plasma test a été dosé avec les échantillons $\bar{x} = 4,2$ ng/ml, SD = 0,5 ng/ml ($n = 5$), $c_v = 12\%$.

L'analyse statistique des résultats a eu recours aux tests suivants:

test de t de comparaison de moyennes pour la comparaison des rapports gonado- et hépatosomatique.

analyse de variances et méthode des couples, après transformation logarithmique des données pour en homogénéiser les variances pour la comparaison des niveaux de GtH et estradiol-17 β .

RESULTATS

Evolution de la Gamétogénèse

Au cours des deux saisons de reproduction étudiées l'entrée en maturation et l'ovulation se sont étalées sur une période de deux mois, ce qui révèle un asynchronisme important des cycles reproducteurs. Cette dispersion se retrouve dans l'étude des diamètres folliculaires au cours de la vitellogénèse (Fig. 1). C'est pourquoi pour la suite de ce travail nous avons étudié les variations endocriniennes en fonction des stades de la gamétogénèse, en essayant d'éliminer au maximum le paramètre date de prélèvement.

La période postovulatoire allant de l'ovulation jusqu'à la fin Mai, est caractérisée par l'apparition progressive des trois types de vitellus dans les ovocytes (Tableau 1) le diamètre de ces derniers n'augmente que très légèrement et reste inférieur à 1 mm.

(a) Des ovocytes en prévitellogénèse sont constamment trouvés durant la période postovulatoire, alors que les types de vitellus rencontrés dans les ovaires passent de I à III. Il n'est donc pas possible de définir une phase de prévitellogénèse stricte, assimilable à un redémarrage du cycle après ovulation, seule période durant laquelle on ne rencontre qu'un seul type de vitellus (Tableau 1) correspondant à une vitellogénèse glycoprotéique. La vitellogénine

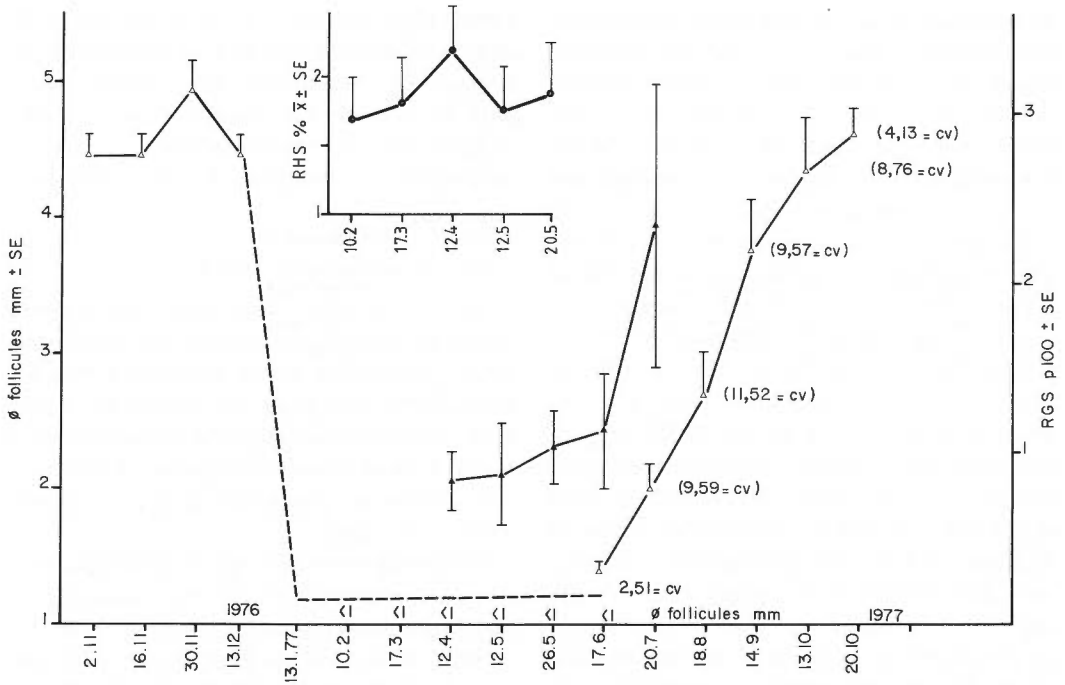


FIG. 1. Variations du rapport gonado somatique (RGS) moyen et du diamètre moyen des follicules quand les diamètres sont supérieurs à 1 mm, $\bar{x} \pm SE$. Les diamètres moyens sont en outre affectés de leur coefficient de variation. ▲, RGS; △, φ follicules. Variations du rapport hépatosomatique en fonction de la date d'échantillonnage.

plasmatique est détectable chez tous les animaux qui ne présentent que ce type de vitellus.

(b) La vitellogénèse lipidique débute dès le mois de Février, environ 1 mois après les dernières ovulations. La méconnaissance des dates exactes d'ovulation n'a pas per-

mis la détermination de la latence d'apparition du 2^e type de vitellus par rapport à cet évènement précis (Tableau 1). Ce n'est qu'en Avril que 100% des échantillons observés présentent les vitellus de types I et II.

Durant cette période, immédiatement

TABLEAU 1
EVOLUTION DE L'APPARITION DES DIFFERENTES CLASSES D'OVOCYTES
(φ < 1 mm) ENTRE L'OVULATION ET LA FIN DU MOIS DE MAI

Date de prelevement	Nombre d'observations	Ovocytes en prévitellogénèse	Stades Observés		
			Ovocytes avec vitellus de type		
			I	I + II	I + II + III
13.12.76	5	5	5	0	0
13.01.77	9	9	6	3	0
10.02.77	5	5	3	2	0
17.03.77	5	5	4	1	0
12.04.77	5	5	5	5	0
12.05.77	7	7	7	7	7
26.05.77	4	4	4	4	4

post ovulation, la vitellogénine plasmatique est détectable chez la plupart des animaux jusqu'au 10 Février, date à laquelle semble débiter une phase de disparition de cette protéine qui est la plus marquée le 17 Mars. La présence ou l'absence de vitellogénine sérique n'apparaît pas liée aux types de vitellus présents dans les ovocytes (Tableau 2). La vitellogénine redevient détectable en Avril, chez tous les animaux étudiés.

(c) L'apparition du composant lipoprotéique dans les oeufs en Mai semble au contraire synchrone (Tableau 1). Les diamètres des oeufs et les RGS (Fig. 1) croissent alors d'abord lentement pendant environ 2 mois puis activement et sans doute plus ou moins rapidement selon les animaux comme en témoignent la dispersion des diamètres des oeufs et les coefficients de variation des diamètres moyens en fonction des dates de prélèvements (Fig. 1). En fin de vitellogénèse il semble y avoir un arrêt apparent de l'incorporation de vitellus signifié par la stabilisation des RGS et diamètre des oeufs et une latence entre la fin de ce phénomène et l'ovulation. Bien que la dispersion des diamètres à la fin de la phase de vitellogénèse rapide soit rede-

venue plus faible (c_v 4,13) qu'au cours de cette période, on constate un étalement important des ovulations qui s'étendent sur plus de 3 mois. La vitellogénine reste détectable dans le plasma pendant la maturation finale des ovocytes et après ovulation.

Evolution du Rapport

Hépatosomatique-(RHS)

Les variations annuelles du rapport hépatosomatique montrent une augmentation significative de ce paramètre pendant la phase de grand accroissement des oeufs. Les valeurs maximales sont obtenues avant la fin de la vitellogénèse quand les ovocytes possèdent un diamètre moyen compris entre 3 et 4 mm.

Durant la première moitié du cycle, nous avons aussi enregistré une tendance à l'augmentation du RHS en Avril (non significative au seuil de 5%), durant la transition des types de vitellus I et II vers le type de vitellus III, correspondant à la détection de vitellogénine chez 100% des femelles après une période marquée par l'absence de cette protéine dans 65% des échantillons analysés (Fig. 1) (Tableau 2).

Variations des Paramètres Endocriniens

Durant l'évolution des ovocytes à types de vitellus I à III. Après ovulation et expulsion des oeufs les niveaux de GtH plasmatique chutent à des niveaux moyens inférieurs à 1 ng/ml, qui sont maintenus durant toute cette phase, à l'exception d'une augmentation transitoire hautement significative ($P < 0,01$) alors que la vitellogénine devient indétectable chez 65% des animaux ($n = 17$) (Fig. 2). Cette augmentation est synchrone de celle de la GtH hypophysaire, dont les concentrations passent de $0,84 \pm 0,15 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu frais ($n = 8$) le 10 Février à $5,34 \pm 1,12 \mu\text{g}/\text{mg}$ ($n = 9$) le 17 Mars et retombent à $0,73 \pm 0,25 \mu\text{g}/\text{mg}$ ($n = 10$) quand la vitellogénine est à nouveau détectable chez 100% des sujets. Il n'existe pas le 17 Mars de différence significative entre les niveaux de GtH plasmatique des animaux chez lesquels la vi-

TABLEAU 2
REPARTITION DU NOMBRE D'ANIMAUX REPOUNDANT POSITIVEMENT ET NEGATIVEMENT A LA DETECTION DE LA VITELLOGENINE SERIQUE

Date échantillon	Nombre de détermination	Presence de vitellogénine sérique	
		Positive	Negative
13.1.77	17	17	0
10.2.77	17	16	1
17.3.77	17	6	11
12.4.77	17	17	0
12.5.77	17	17	0

Note. Sur les 5 échantillons d'ovaire étudiés par histologie le 17 Mars 1977, la correspondance type de vitellus-vitellogénine est la suivante. 2 animaux ayant de la vitellogénine détectable présentaient 1 type de vitellus. 1 animal ayant de la vitellogénine détectable présentait 2 types de vitellus. 2 animaux n'ayant pas de vitellogénine détectable présentaient 1 type de vitellus.

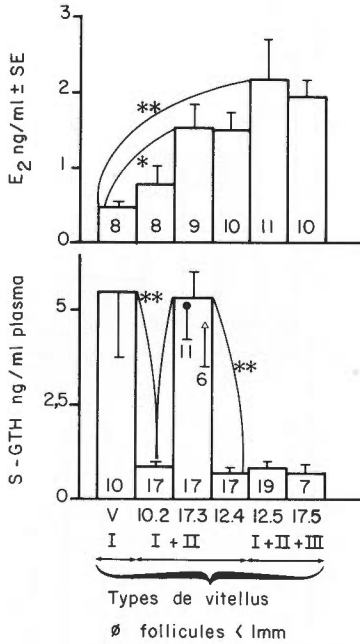


FIG. 2. Evolution des niveaux de gonadotropine (GtH) et d'estradiol-17β plasmatique, pendant la première moitié du cycle, correspondant à l'apparition dans les ovocytes de 3 types de vitellus. I, glycoprotéique; II, lipidique; III, lipidoprotéique. $\bar{x} \pm SE$ affectée du nombre d'échantillons. *Significatif au seuil de 5%; **Significatif au seuil de 1%. ●, Vitellogénine nondélectable; △, vitellogénine détectable.

tellogénine est détectable et ceux chez lesquels elle ne l'est pas.

Immédiatement après ovulation les concentrations plasmatiques d'estradiol-17β sont faibles $0,42 \pm 0,15$ ng/ml ($n = 10$). Elles s'élèvent significativement ($P < 0,05$ au dessus de $1,5$ ng/ml ($1,56 \pm 0,33$, $n = 9$) quand les niveaux de GtH augmentent (Fig. 2) et que la deuxième vague de vitellogénine apparaît.

Après l'apparition du vitellus de type III (Fig. 3). Les niveaux de GtH plasmatique ne s'accroissent significativement que pour des classes de diamètres d'oeufs supérieurs à 2–3 mm, et deviennent maximum pour les classes supérieures à 4 mm. Le développement des oeufs apparaît lié au niveau de GtH plasmatique. En effet, pour une date donnée, les taux de GtH corre-

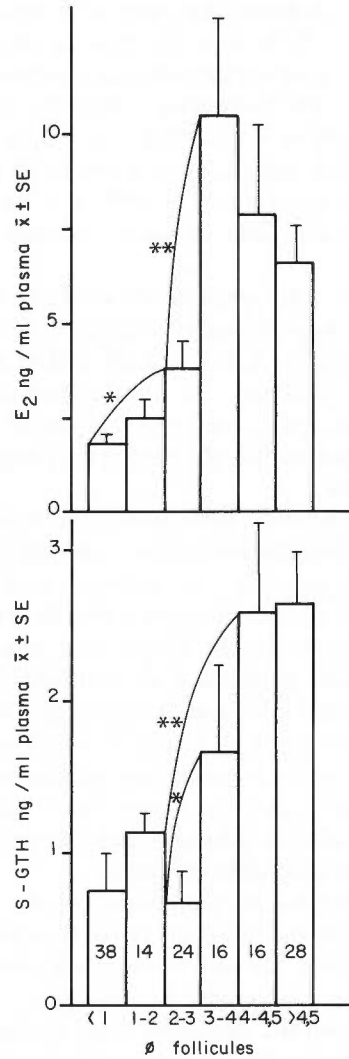


FIG. 3. Evolution des niveaux de gonadotropine (GtH) et d'estradiol-17β plasmatique pendant la phase de grande croissance ovocytaire (diamètre de 1 à 5 mm). $\bar{x} \pm SE$. *Significatif au seuil de 5%; **Significatif au seuil de 1%.

spondant au diamètre moyen des oeufs prélevés à cette date, ne diffèrent pas de ceux attachés à la classe à laquelle ce diamètre moyen appartient (classements et calculs effectués pour toute la durée de l'expérience). Ainsi le 18 Août pour un diamètre moyen de $2,69 \pm 0,31$ mm les concentrations de GtH plasmatique sont de

0,96 \pm 0,18 ng/ml alors que cette valeur est de 0,74 \pm 0,13, $n = 24$, pour la classe de 2–3 mm. Il en est de même aux autres dates étudiées: 14 Novembre, diamètre moyen 3,76 \pm 0,36 ($n = 17$), GtH 1,51 \pm 0,25–GtH classe 3–4 mm, 1,75 \pm 0,46; 13 Octobre, diamètre moyen 4,33 \pm 0,09, $n = 16$. GtH 2,13 \pm 0,30–GtH classe 4–4,5 mm, 2,51 \pm 0,28.

Durant cette période du cycle la teneur en GtH hypophysaire augmente significativement ($P < 0,05$) de 1,09 \pm 0,42 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu frais ($\phi < 1$ mm) à 2,68 \pm 0,35 $\mu\text{g}/\text{mg}$ ($\phi > 4,5$ mm). Il n'y a pas de variation significative du rapport hypophyso-somatique.

La sécrétion d'estradiol-17 β plasmatique suit une évolution parallèle à celle de la GtH plasmatique (Fig. 3). L'augmentation la plus importante se produit lors du passage de classe 2–3 à la classe 3–4 mm pour laquelle les niveaux d'E₂ sont maximum. Les niveaux d'estradiol commencent à redescendre avant la fin de la vitellogénèse, tout en restant cependant supérieurs à 5 ng/ml tant que ce processus n'est pas achevé, c'est-à-dire tant que l'ovocyte n'a pas atteint sa taille maximum.

Pendant les stades terminaux du cycle. Les profils de sécrétion de GtH et d'estradiol-17 β ont été suivis au cours des deux premières reproductions (Fig. 4).

Ils montrent dans les deux cas qu'une augmentation des niveaux de sécrétion de GtH accompagne l'ovulation. Ce phénomène apparaît plus progressif au cours de la 2^e maturation, pendant laquelle les taux de GtH s'élèvent doucement de la fin de vitellogénèse à la maturation et l'ovulation, qu'au cours de la 1^{ère} maturation, durant laquelle les concentrations de GtH plasmatique n'augmentent que lors des ovulations. D'une manière générale les niveaux de GtH sont en moyenne statistiquement plus élevés au cours de la 2^e maturation ($P < 0,05$).

Après ovulation (dates exactes d'ovulation non déterminées), les niveaux de GtH

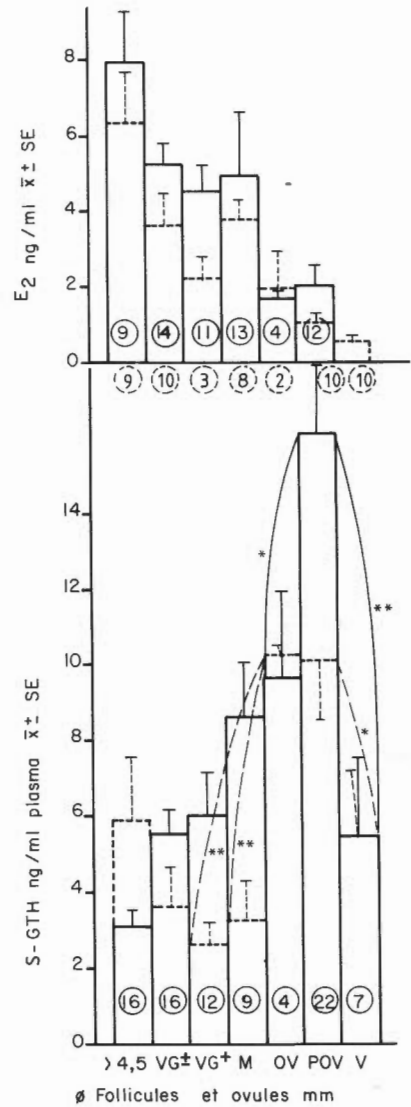


FIG. 4. Gonadotropine et estradiol-17 β au cours des stades de maturation ovocytaire et d'ovulation. VG \pm , vésicule germinale migrante; VG+, vésicule germinale périphérique; M, maturation ovocytaire en cours; OV, ovulation; POV, postovulation oeufs conservés dans la cavité abdominale; SP, postovulation oeufs expulsés. $\bar{x} \pm \text{SE}$. *Significatif au seuil de 5%; **Significatif au seuil de 1%. ---, first reproduction; —, second reproduction.

plasmatique sont plus élevés chez les animaux ayant conservé leurs oeufs dans la cavité générale que chez ceux vidés manuellement de leurs produits sexuels (Fig. 4).

A l'inverse de la GtH, les niveaux d'estradiol plasmatique diminuent lorsque la maturation des gamètes progresse, ils sont minimum en période ovulatoire et post-ovulatoire.

Au cours de la maturation ovocytaire ils sont plus faibles durant le 1er cycle que pendant le 2ème (Fig. 4).

Relations entre les Paramètres Endocriniens (Tableau 3)

Il n'apparaît à aucun moment de la gamétogénèse de corrélation entre les niveaux de GtH hypophysaire et ceux d'estradiol plasmatique. Durant la vitellogénèse, les concentrations d'E₂-17β et de GtH sont corrélés positivement au diamètre des oeufs. La corrélation est la plus significative pour des diamètres compris entre 1 et 4 mm, mais il n'existe pas de relation

significative directe entre GtH et E₂-17β plasmatiques.

Par contre, il s'établit une corrélation négative entre les niveaux de GtH et d'estradiol plasmatiques durant les phases finales du cycle, de la migration de la vésicule germinale à l'ovulation.

DISCUSSION

L'utilisation de techniques de dosage radioimmunologique de la GtH glycoprotéique maturante et de l'estradiol-17β plasmatique a permis de suivre l'évolution des niveaux de ces hormones, au cours du cycle reproducteur de la Truite fario, en relation avec le stade d'avancement de la gamétogénèse.

La classification de ces stades chez les Salmonidés a la plupart du temps été faite sur la base de critères histologiques et mor-

TABLEAU 3
CORRELATIONS ENTRE GtH PLASMATIQUE (p), HYPOPHYSAIRE (h), ESTRADIOL-17β ET DIAMETRE DES OVOCYTES DURANT LES PRINCIPALES SEQUENCES DU CYCLE REPRODUCTEUR CHEZ LA TRUITE FARIO (*Salmo trutta*)
GtH p (plasmatique) h (hypophysaire)

	10.2.77	17.3.77	Vitellogenese lente φ 1 mm	Vitellogenese Rapide		F m de cycle
				1 < φ < 4 mm	φ > 4 mm	
$\frac{\text{GtH p}}{\text{E 2}}$	+0.37 (8)	-0.47 (10)	+0.07 (33)	+0.22 (28)	+0.02 (26)	-0.23* (78)
				+0.17 (54)		
$\frac{\text{GtH h}}{\text{E 2}}$	+0.03 (8)	-0.07 (10)	-0.12 (33)	-0.05 (28)	-0.38 (23)	-0.09 (52)
				-0.16 (51)		
$\frac{\text{GtE h}}{\text{GtH p}}$	-0.02 (9)	+0.31 (10)	+0.17 (33)	-0.04 (32)	-0.14 (23)	-0.11 (54)
				+0.02 (55)		
$\frac{\phi}{\text{E 2}}$				+0.61** (28)	-0.55* (16)	
				+0.35* (45)		
$\frac{\phi}{\text{GtH p}}$				+0.21 (52)	+0.06 (29)	
				+0.35** (81)		

* Significatif au seuil de 5%.

** Significatif au seuil de 1%.

phométriques (Ishida *et al.*, 1961; Henderson, 1963). Plus récemment l'utilisation de critères histoenzymologiques tel que l'apparition d'activités stéroïde deshydrogénase ovariennes (Hurk et Peute, 1979), des études ultrastructurales (Hurk et Peute, 1979; Bohemen 1981), l'estimation des niveaux plasmatiques de vitellogénine (Crim et Idler, 1978; Whitehead *et al.*, 1978b; Bohemen, 1981) ont permis de définir chez la Truite arc-en-ciel deux périodes principales dans la vitellogénèse. prévitellogénèse de Janvier à Mai (Hurk et Peute, 1979) et vitellogénèse subdivisée en phase endogène de Mai à Juillet et en phase exogène prédominante d'Août à Novembre (Bohemen, 1981). Chez la Truite fario, nous n'avons pas distingué de phase de prévitellogénèse stricte entre la première reproduction et le 2ème cycle de gamétogénèse. L'existence d'une phase de prévitellogénèse distincte durant le premier cycle reproducteur n'est pas exclue. Dans notre expérience, les ovocytes susceptibles de répondre à cette définition, sont toujours présents, leur quantification, dans cette espèce, montre qu'ils sont les plus nombreux immédiatement après ovulation, le problème principal à éclaircir semble être plus celui de leur recrutement pour leur entrée en vitellogénèse, que celui de la définition d'une période de prévitellogénèse (Billard et Hill, 1981). Les types de vitellus I glycoprotéique et II lipidique correspondraient à différents stades de la vitellogénèse endogène qui débiterait dès le mois de Janvier et se poursuivrait sans incorporation exogène jusqu'en Mai. Il existe un asynchronisme d'apparition de ces 2 types de vitellus entre les individus, qui semble indiquer un passage progressif des ovocytes de prévitellogénèse en vitellogénèse endogène. Par contre l'apparition synchrone du type de vitellus III lipidoprotéique semble montrer que la vitellogénèse exogène débute en même temps chez tous les animaux dès le mois de Mai. Ces différences pourraient être liées au

déterminisme environnemental de ces phénomènes. Après manipulation photopériodiques nous avons pu montrer que l'augmentation du nombre des ovocytes en prévitellogénèse et en vitellogénèse endogène est indépendante des changements de photopériode, lesquels conditionneraient par contre l'entrée en vitellogénèse exogène (Breton *et al.*, données non publiées). Le début de cette période pourrait être lié à l'existence d'une phase critique, caractérisée par une augmentation importante des niveaux de GtH en Mars, quand la vitellogénine n'est plus détectable que chez 35% des animaux. Cette phase précède immédiatement une séquence durant laquelle se produisent une élévation du RHS, la réapparition de la vitellogénine plasmatique chez tous les animaux et l'apparition du type de vitellus III dans les ovocytes, et qui pourrait correspondre à l'initiation de la synthèse de vitellogénine puis de son incorporation.

L'augmentation importante des niveaux plasmatiques de GtH en Mars correspond en fait à l'apparition d'un rythme de sécrétion gonadotrope de type pulsatile de grande amplitude (Zohar *et al.*, 1981) qui traduit bien un changement d'état physiologique important des animaux durant cette période. La mesure des taux de phosphore lié aux protéines et du calcium plasmatique a d'ailleurs montré chez la Truite arc-en-ciel une augmentation lente des valeurs de ces paramètres liés aux taux de vitellogénine entre Avril et Août chez la Truite arc-en-ciel (Whitehead *et al.*, 1978b). Ainsi dans cette espèce, comme chez la Truite fario, la vitellogénèse exogène débiterait dès le printemps et se poursuivrait lentement jusqu'en Août sans augmentation significative des niveaux plasmatiques moyens de GtH et d'estradiol-17 β , qui sont cependant plus élevés que ceux mesurés postovulation.

Les périodes d'apparition des vitellus de type lipidique et surtout lipidoprotéique correspondent à celles durant lesquelles

Lusk (1969) note une variation importante des contenus en lipide des gonades, du foie et du muscle dans cette même espèce.

Bien que restant faibles (de 0,75 à 2,5 ng/ml) les niveaux de GtH augmentent durant la phase de croissance rapide des ovocytes. Les valeurs trouvées sont comparables à celles obtenues dans d'autres espèces de Salmonidés, Saumon *Oncorhynchus gorbusha* (Crim *et al.*, 1973), Saumon de fontaine (Crim *et al.*, 1975). Cette vitellogénèse exogène intense est accompagnée d'une augmentation importante de l'estradiol-17β, dont les concentrations sont maximum avant la fin du processus comme chez la Truite arc-en-ciel (Whitehead *et al.*, 1978); Lambert *et al.*, 1978; Scott *et al.*, 1980). Durant cette période, il existe une corrélation positive hautement significative entre les niveaux de GtH plasmatique ou d'estradiol et le diamètre des oeufs.

Il n'existe pas de corrélation entre les concentrations plasmatiques de GtH et d'estradiol-17β. Ce résultat ne permet pas d'expliquer qu'une très faible augmentation des niveaux moyens de GtH puissent induire une élévation importante de la sécrétion d'estradiol Zohar (1980); Zohar *et al.* (1981) ont démontré que durant la vitellogénèse exogène, la sécrétion gonadotrope était de type pulsatile. L'amplitude, la fréquence et la durée des pulsations seraient responsables de l'augmentation de la sécrétion d'E₂-17β.

Tous ces résultats paraissent démontrer l'implication directe de la GtH glycoprotéique dans la synthèse de vitellogénine et sans doute dès son initiation. L'injection *in vivo* de GtH glycoprotéique a bien montré directement et indirectement le rôle primordial de cette hormone dans la stimulation de la synthèse d'estradiol, puis de vitellogénine chez les Salmonidés (Idler et Campbell, 1980; Upadhyay *et al.*, 1978). Par contre la régulation de la vitellogénèse et plus particulièrement de l'incorporation de la vitellogénine dans les ovocytes semble nécessiter l'intervention d'un autre facteur gonadotrope hypophysaire (Campbell et

Jalabert, 1978; Ng *et al.*, 1980) de nature faiblement glycoprotéique (Ng et Idler, 1978; Idler et Ng, 1979). Le déphasage entre l'apparition de la vitellogénine plasmatique chez 100% des animaux en Avril, et son incorporation en Mai, peut laisser penser que la sécrétion de cette deuxième gonadotropine s'établirait durant cette période de latence en Avril, Mai, sans relation apparente avec les sécrétions de GtH et d'E₂-17β dont les niveaux moyens ne varient pas.

Les profils de sécrétion de GtH et d'estradiol-17β au cours des phases finales du cycle sont comparables à ceux décrits chez la Truite arc-en-ciel (Fostier *et al.*, 1978). Les valeurs moyennes des niveaux de GtH des animaux ovulés ($16,19 \pm 2,34$, $n = 22$) sont identiques à celles obtenues par (Crim *et al.*, 1975) dans cette même espèce et au même stade ($24,3 \pm 4,3$, $n = 5$). Elles sont par contre plus faibles que les valeurs correspondantes chez la Truite arc-en-ciel chez laquelle les niveaux de GtH plasmatique peuvent dépasser 100 ng/ml (Jalabert et Breton, 1980). La signification physiologique de l'augmentation et du maintien à un niveau élevé de la concentration en GtH plasmatique après ovulation n'est pas élucidée. Dans notre expérience ce phénomène n'a été trouvé que lors de la 2^e maturation, durant laquelle les niveaux moyens de GtH et d'E₂-17β sont par ailleurs supérieurs à ceux de première maturation. Il est généralement admis par les pisciculteurs que la qualité des oeufs de première reproduction, surtout si elle a lieu à 2 ans d'âge (fécondabilité, mortalité embryonnaire) est inférieure à celle des reproductions suivantes. Cette observation pourrait supporter une hypothèse attribuant un rôle des hauts niveaux de GtH postovulation dans le maintien de la fécondabilité des oeufs avant expulsion de la cavité générale. Il se peut en outre que ce phénomène puisse être relié aux niveaux d'E₂-17β plus faible lors du premier cycle que du second.

La période de reproduction est la seule durant laquelle nous avons trouvé une cor-

rélation négative entre les niveaux de sécrétion de GtH et d'estradiol-17 β ; ce résultat confirme celui déjà obtenu chez la Truite arc-en-ciel (Billard *et al.*, 1978), et est en accord avec un rythme de sécrétion gonadotrope qui devient circadien, à partir du stade vésicule germinale migrante (Zohar *et al.*, 1981). Cette corrélation négative pourrait indiquer l'existence d'une rétroaction entre ces deux hormones (Bommelaer *et al.*, 1981).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat avec le Conseil Supérieur de la Pêche. Nous remercions Mesdemoiselles Cauty et Marlot, Mesdames Reinaud et Sambroni pour leur aide technique.

Madame Bouix et Mademoiselle Heydorff ont participé à la préparation de ce manuscrit.

Nous remercions le Comité de Gestion de la pisciculture de Vermeux pour la fourniture des animaux.

BIBLIOGRAPHIE

- Amirante, G. A. (1972). Immunochemical studies on rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) lipovitellin. *Acta Embryol. Exp.* (Suppl.) 373-383.
- Billard, R., Breton, B., Fostier, A., Jalabert, B., et Weil, C. (1978). Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: Salmonid and Cyprinid models. In "Comparative Endocrinology" (P. J. Gaillard and H. H. Boer, eds.), pp. 37-48. Elsevier/North-Holland Biochemical Press, Amsterdam.
- Billard, R., et Hill, B. (1981). Gametogenesis in the brown trout (*Salmo trutta fario*) bred in captivity: A quantitative study. *J. Fish. Biol.*, sous presse.
- Bohemen, Van, Ch. G. (1981). "Oestrogens and vitellogenin in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri*)."
Ph.D. Thesis, Utrecht University.
- Bommelaer, M. C., Billard, R., et Breton, B. (1981). Changes in plasma gonadotropin after ovariectomy and estradiol supplementation at different stages at the end of the reproductive cycle in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Reprod. Nutr. Develop.*, sous presse.
- Breton, B., Jalabert, B., et Reinaud, P. (1976). Purification of gonadotropin from rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) pituitary glands. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 16, 25-36.
- Breton, B., Prunet, P., et Reinaud, P. (1978). Sexual differences in Salmon gonadotropin. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 18, 759-765.
- Campbell, C. M., et Jalabert, B. (1979). Selective protein incorporation by vitellogenic (*Salmo gairdneri*) oocytes *in vitro*. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 19, 429-437.
- Campbell, C. M., et Idler, D. R. (1980). Characterization of an estradiol induced protein from rainbow trout serum as vitellogenin by the composition and radioimmunological cross reactivity to ovarian yolk fractions. *Biol. Reprod.* 22, 605-617.
- Crim, L. W., Meyer, R. K., et Donaldson, E. M. (1973). Radioimmunoassay estimates of plasma gonadotropin levels in the spawning pink salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* 21, 69-76.
- Crim, L. W., Watts, E. G., et Evans, D. M. (1975). The plasma gonadotropin profile during sexual maturation in a variety of Salmonid fishes. *Gen. Comp. Endocrinol.* 27, 62-70.
- Crim, L. W. et Evans, D. M. (1978). Seasonal levels of pituitary and plasma gonadotropin in male and female Atlantic salmon parr. *Canad. J. Zool.* 56, 1550-1555.
- Crim, L. W., et Idler, D. R. (1978). Plasma gonadotropin, estradiol, and vitellogenin and gonad phospho-vitin levels in relation to the seasonal reproductive cycles of female brown trout. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 18, 1001-1006.
- Fostier, A., Jalabert, B., et Terqui, M. (1973). Action prédominante d'un dérivé hydroxylé de la progestérone sur la maturation *in vitro* des ovocytes de la Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*). *C.R. Acad. Sci. Paris., Ser. D* 277, 421-424.
- Fostier, A., Weil, C., Terqui, M., Breton, B., et Jalabert, B. (1978). Plasma estradiol-17 β and gonadotropin during ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 18, 929-936.
- Fostier, A., Jalabert, B., Campbell, C., Terqui, M., et Breton, B. (1981). Cinétique de libération *in vitro* de 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogestérone par des follicules de Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*). *C.R. Acad. Sci. Paris, Ser. III* 777-780.
- Henderson, N. E. (1963). Influence of light and temperature on the reproductive cycle of the Eastern Brook trout, (*Salvelinus fontinalis*) (Mitchill). *J. Fish. Res. Bd. Canad.* 20, 860-898.
- Van Den Hurk, R., et Peute, J. (1979). Cyclic changes in the ovary of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with special reference to sites of steroidogenesis. *Cell. Tissue Res.* 199, 289-306.
- Idler, D. R., et Ng, B. T. (1979). Studies on two types of gonadotropins from both salmon and carp pituitaries. *Gen. Comp. Endocrinol.* 38, 421-440.
- Idler, D. R., et Campbell, C. M. (1980). Gonadotropin stimulation of estrogen and yolk precursor synthesis in juvenile rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.* 41, 384-391.
- Ishida, R., Takagi, K., et Arita, S. (1961). Criteria for the differentiation of mature and immature forms of chum and sockeye salmon in northern seas. *Bull. Int. North. Pac. Fish. Commun.* 5, 27-47.

- Jalabert, B., Breton, B., et Bry, C. (1972). Maturation et ovulation *in vitro* des ovocytes de la Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*). *C.R. Acad. Sci. Paris* **275**, 1139–1142.
- Jalabert, B., Breton, B., et Billard, R. (1974). Dosage biologique des hormones gonadotropes de poissons par le test de maturation *in vitro* des ovocytes de Truite. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **14**, 217–228.
- Jalabert, B. (1976). *In vitro* oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Bd. Canad.* **33**, 974–988.
- Jalabert, B., et Breton, B. (1980). Evolution de la gonadotropine plasmatique t-GtH après l'ovulation chez la Truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.) et influence de la rétention des ovules. *C.R. Acad. Sci. Paris* **290**, 799–802.
- Lambert, J. G. D., Bosman, G. I. C. G. M., Hurk Van den R., et Oordt, Van P. G. W. J. (1978). Annual cycle of plasma estradiol-17β in the female trout (*Salmo gairdneri*). *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* **18**, 923–928.
- Le Bail, P. Y., et Breton, B. (1981). Rapid determination of the sex of puberal salmonid fish by a technique of immunoagglutination. *Aquaculture* **22**, 367–375.
- Lusk, S. (1969). Changes in gonad weight and amount of fats in the brown trout (*Salmo trutta* m.; *fario* L.) in the course of a year. *Zool. list.* **18**, 67–80.
- Ng, T. B., et Idler, D. R. (1978). A vitellogenic hormone with a large and a small form from Salmon pituitaries. *Gen. Comp. Endocrinol.* **35**, 189–195.
- Ng, T. B., Campbell, C. M., et Idler, D. R. (1980). Antibody inhibition of vitellogenesis and oocyte maturation in Salmon and flounder. *Gen. Comp. Endocrinol.* **41**, 233–239.
- Scott, A. P., Bye, V. J., et Baynes, S. M. (1980). Seasonal variations in sex steroids of female rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *J. Fish. Biol.* **17**, 587–592.
- Upadhyay, S. N., Breton, B., et Billard, R. (1978). Ultrastructural studies on the experimentally induced vitellogenesis in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* **18**, 1019–1026.
- Whitehead, C., Bromage, N. R., Forster, J. R. M., et Matty, A. J. (1978a). The effects of alterations in photoperiod on ovarian development and spawning time in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* **18**, 1035–1044.
- Whitehead, C., Bromage, N. R., et Forster, J. R. M. (1978b). Seasonal changes in reproductive function of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Biol.* **12**, 601–608.
- Zohar, Y. (1980). Dorsal aorta catheterization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) I. Its validity in the study of blood gonadotropin patterns. *Reprod. Nutr. Develop.* **20**, 1811–1823.
- Zohar, Y., Breton, B., et Billard, R. (1981). Short-term profiles of plasma gonadotropin levels in the female rainbow trout throughout the reproductive cycle. Abstracts IX Conference ESCE.