HAL
open science

Maturation et ovulation in vitro des ovocytes de la truite arc-en-ciel

Bernard Jalabert, Bernard Breton, Christian Bry

To cite this version:

Bernard Jalabert, Bernard Breton, Christian Bry. Maturation et ovulation in vitro des ovocytes de la truite arc-en-ciel. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Série D, Sciences naturelles, 1972, 275, pp.1139-1142. hal-01600129

HAL Id: hal-01600129

https://hal.science/hal-01600129v1

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.

PHYSIOLOGIE. — *Maturation et ovulation* in vitro *des ovocytes de la Truite Arc-en-Ciel* Salmo gairdnerii. Note (*) de MM. **Bernard Jalabert, Bernard Breton** et **Christian Bry**, présentée par M. Maurice Fontaine.

Des extraits hypophysaires de Truite, Carpe, Saumon, provoquent la maturation (reprise de la méiose) mais non l'ovulation d'ovocytes incubés inclus dans du tissu ovarien. Divers progestagènes provoquent aussi la maturation, mais non l'ovulation d'ovocytes soit inclus dans le tissu ovarien, soit dissociés et extraits de ce tissu. L'incubation dans du liquide cœlomique, prélevé sur des femelles ayant spontanément ovulé, permet d'obtenir séparément, soit le processus de maturation sans ovulation, soit l'ovulation sans maturation. Les résultats tendent à montrer que la maturation ovocytaire et l'ovulation chez la Truite sont sous le contrôle direct de médiateurs différents agissant successivement.

Chez les Poissons, il est désormais admis que l'ovulation et les processus de maturation ovocytaire (reprise de la méiose avec disparition de la membrane de la vésicule germinale, modifications de la structure du cytoplasme et du vitellus, etc.) sont globalement sous le contrôle de l'hypophyse ([1]), mais le mécanisme de ce contrôle reste mal connu. Chez *Oryzias Latipes*, LH bovine, HCG, PMS ou la préparation gonadotrope partiellement purifiée de Saumon, administrées *in vitro* entraînent l'ovulation d'ovocytes fécondables [([2]), ([3]), ([4])], ce qui implique donc une action directe de l'hormone gonadotrope sur le seul ensemble œuf-follicule (tissu ovarien) ; chez *Heteropneustes fossilis*, au contraire, LH active *in vivo* sur la maturation et l'ovulation [([5]), ([6])] est inactive *in vitro* ([7]) et l'hormone gonadotrope pourrait agir indirectement par l'intermédiaire de l'organe interrénal qui produirait des corticostéroïdes, eux-mêmes directement actifs sur les processus d'ovulation et de maturation [([8]), ([9])].

Ces divergences nous ont conduits à choisir un autre Téléostéen, la Truite, pour étudier la réponse d'ovocytes sub-matures incubés *in vitro* en présence d'hormones gonadotropes ou stéroïdes diverses, ou simplement dans du liquide cœlomique de Truite prélevé pendant ou après ovulation spontanée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES. — Des femelles adultes de Truite Arc-en-Ciel ont été sacrifiées pendant la période de reproduction. Les ovaires n'ont été utilisés que lorsque les ovocytes étaient au stade de la vésicule germinale périphérique, avant maturation et ovulation spontanée.

Des lots ont été constitués, soit à partir de 10 ovocytes appartenant à un même fragment de lamelle ovigère découpé dans l'ovaire, et par conséquent inclus dans le tissu ovarien attenant au follicule, soit avec 10 ovocytes libres, dissociés et extraits du tissu ovarien, mais encore entourés de leurs enveloppes folliculaires

Ces lots ont été placés en incubation à 15 °C dans des coupelles de verre contenant 2 ml d'une solution saline respectant sensiblement l'équilibre des principaux cations du plasma de Truite, tamponné au bicarbonate pour obtenir un pH de 7,3 à 15 °C sous une atmosphère de 1 % CO_2, 50 % N_2, 49 % O_2.

Nous avons étudié l'action d'extraits hypophysaires totaux de Truite et de Carpe, d'une préparation gonadotrope partiellement purifiée de Saumon ([1-8]),

des hormones gonadotropes mammaliennes *o*-LH, *o*-FSH ([19]) et HCG, ainsi que des stéroïdes suivants : progestérone, 17 α-OH progestérone, 20 α-OH progestérone, 20 β-OH progestérone, œstradiol, œstrone, cortisone, hydrocortisone et acétate de désoxycorticostérone. Ces stéroïdes ont été mis en solution dans un mélange éthanol-propylène glycol à volume égal, rajouté au milieu d'incubation à raison de 5 µl/ml.

Les solutions d'extraits hypophysaires de Truite et de Carpe ont été préparées par agitation d'une suspension de poudre acétonique dans du milieu d'incubation (suspension à raison de 1 mg/ml pendant 12 h et élimination du culot). L'extrait total de Carpe ainsi préparé (équivalent à 1 mg/ml de poudre acétonique) dosé par radioimmunologie ([10]) contenait 125 µg d'hormone de Carpe *c*-HG par millilitre.

Le liquide cœlomique utilisé pour certaines incubations à la place du milieu minéral synthétique en l'absence de tout traitement hormonal, avait été recueilli lors de la réalisation d'inséminations artificielles, au moment du prélèvement par massage abdominal d'œufs naturellement maturés et ovulés. Chaque échantillon a été recueilli sur une femelle différente, filtré, et conservé congelé avant l'emploi.

RÉSULTATS. — Lorsqu'il y a maturation ovocytaire, celle-ci se traduit d'abord par une modification de l'aspect de la masse vitelline, initialement opaque et finement réticulée, devenant translucide en même temps que s'individualisent de grosses gouttelettes lipidiques périphériques. Ensuite le contour de la vésicule germinale s'atténue progressivement puis disparaît.

L'ovulation, lorsqu'elle se produit, est un phénomène net qui se traduit par la constriction du follicule et l'éjection de l'ovocyte nu.

Action des hormones gonadotropes hypophysaires. — Les hormones mammaliennes *o*-LH, *o*-FSH et HCG n'ont montré aucune action dans la limite des doses éprouvées (LH et FSH de 0,1 à 10 µg/ml, et HCG jusqu'à 40 U. I./ml).

Les extraits hypophysaires totaux de Carpe et de Truite ainsi que la préparation gonadotrope purifiée de Saumon ont permis de provoquer la maturation ovocytaire apparemment typique et complète, mais non l'ovulation.

La maturation elle-même n'a été obtenue que lorsque les ovocytes étaient incubés inclus dans le tissu ovarien sous la forme d'un fragment de lamelle ovigère.

Le seuil de réponse dépend de la nature du traitement et de l'état de maturité des ovocytes de l'animal donneur ; sur les ovocytes provenant d'une même femelle donnant une réponse moyenne, l'extrait gonadotrope purifié de Saumon s'est révélé actif à la dose minimale de 0,5 µg/ml, contre 5 µg/ml pour l'extrait hypophysaire total de Truite, et de 2,5 µg/ml pour l'extrait hypophysaire total de Carpe. Le temps de réponse à 15 °C depend aussi de la femelle donneuse ; les premières modifications corticales sont visibles 24 à 30 h après le début de l'incubation avec le traitement actif, et la disparition de la vésicule germinale intervient seulement après 35 à 50 h d'incubation.

Action des hormones stéroïdes. — Pour des doses maximales de 1 µg/ml, l'œstradiol, l'œstrone, la cortisone et l'hydrocortisone n'ont montré aucune action ;

la testostérone et l'acétate de désoxycorticostérone, ont provoqué seulement et pour 1 µg/ml une maturation incomplète et atypique, sans disparition de la vésicule germinale ; enfin, les stéroïdes suivants ont provoqué la maturation complète et typique, mais non l'ovulation : progestérone, 17 α-OH progestérone, 20 α-OH progestérone et 20 β-OH progestérone.

La réponse observée est en avance de 10 à 12 h sur la réponse aux extraits gonadotropes, pour des ovocytes provenant d'un même animal. Enfin, la durée d'exposition minimale au traitement par la progestérone est de 1 à 2 h : après 1 h de traitement, 50 % seulement des ovocytes parviennent ultérieurement à maturation complète dans un milieu exempt de progestérone et 100 % après 2 h de traitement.

Action du liquide cœlomique. — Lorsque l'incubation a été réalisée dans du liquide cœlomique nous avons observé trois types de réponse suivant l'échantillon :

1. Aucune réponse particulière.

2. Maturation complète en 23 à 38 h, mais pas d'ovulation, même après 72 h d'incubation, exactement comme dans le cas de l'action *in vitro* des progestagènes.

3. Ovulation en 14 à 20 h, mais sans maturation (expulsion hors du follicule des ovocytes nus, non maturés, avec vésicule germinale présente et apparente). La poursuite de l'incubation dans le même liquide cœlomique ne permet pas d'obtenir la maturation ovocytaire, même après 72 h.

Les échantillons de liquide cœlomique susceptibles de fournir les 2 derniers types de réponse sont relativement peu fréquents.

Discussion. — Chez les Amphibiens, où de très nombreux travaux ont fait l'objet de plusieurs revues [([11]) à ([14])], il paraît certain qu'un médiateur du type progestérone, issu du follicule, contrôle dans tous les cas la maturation ovocytaire, bien que la preuve directe de cette sécrétion n'ait pas encore été apportée. Cependant, alors que certains auteurs considèrent que ce médiateur seul contrôlerait à la fois les mécanismes d'ovulation et de maturation ovocytaire ([13]), d'autres mettent en évidence que la progestérone n'agit que sur la maturation ovocytaire aussi bien *in vivo* que *in vitro* chez certaines espèces comme le Discoglosse ([15]) et admettent l'existence d'un autre médiateur stéroïdien ou enzymatique actif sur l'ovulation. Ce second médiateur éventuel pourrait être produit par l'épithélium péritonéal ([16]).

Ces contradictions apparentes tiennent vraisemblablement à l'existence chez les Amphibiens de plusieurs modèles biologiques différents, et il en est certainement de même chez les Poissons. En effet, alors que chez *Oryzias latipes* le contrôle de l'ovulation et sans doute de la maturation par l'hypophyse paraît s'effectuer par le seul relais du follicule [([2]), ([3]), ([4])], ce contrôle s'effectuerait par l'intermédiaire de l'organe interrénal et la médiation de corticostéroïdes chez *Heteropneustes fossilis* [([5]) à ([9])]. Dans les deux cas, ovulation et maturation ovocytaires ne paraissent pas pouvoir être dissociées.

Au contraire, nos propres résultats *in vitro* chez la Truite, permettent de dissocier sans équivoque les deux mécanismes de la maturation ovocytaire et de l'ovulation, dont le contrôle direct, après induction gonadotrope, paraît être réalisé par

deux médiateurs différents existant successivement et séparément dans le liquide cœlomique de la cavité abdominale pendant un temps relativement court [nous savons par ailleurs que *in vivo*, la maturation précède chronologiquement l'ovulation ([17])].

Le premier médiateur, produit dans le tissu ovarien sous l'action d'extraits gonadotropes de Poissons et contrôlant la maturation ovocytaire, pourrait être un stéroïde du type progestérone.

En ce qui concerne le second médiateur, actif sur l'ovulation, il reste à préciser sa nature, son site de production, et si cette production est directement induite par stimulation gonadotrope ou bien par le premier médiateur.

(*) Séance du 17 juillet 1972.

(1) G. E. PICKFORD et J. W. ATZ, *in* : The physiology of the pituitary gland of fishes, N. Y. Zool. Soc., New York, 1957.

(2) K. HIROSE, *Bull. Japan Soc. Scient. Fish*, 37, 1971, p. 585.

(3) K. HIROSE et H. HIROSE, *Bull. Japan Soc. Scient. Fish.* 38, 1972, p. 33.

(4) K. HIROSE et E. M. DONALDSON, *Bull. Japan Soc. Scient. Fish*, 38, 1972, p. 97.

(5) B. I. SUNDARARAJ et S. V. GOSWAMI, *J. exp. Zool.*, 161, 1966, p. 287.

(6) S. V. GOSWAMI et B. I. SUNDARARAJ, *J. exp. Zool.*, 178, 1971, p. 457.

(7) S. V. GOSWAMI et B. I. SUNDARARAJ, *J. exp. Zool.*, 178, 1971, p. 467.

(8) B. I. SUNDARARAJ et S. V. GOSWAMI, *Gen. comp. Endocrinol.*, 17, 1971, p. 570.

(9) B. I. SUNDARARAJ et S. V. GOSWAMI, *J. exp. Zool.*, 163, 1966, p. 49.

(10) B. BRETON, G. KANN, E. BURZAWA-GERARD et R. BILLARD, *Comptes rendus*, 272, Série D, 1971, p. 1515.

(11) A. W. SCHUETZ, *Adv. Reproductive Physiol.*, 4, 1969, p. 99.

(12) T. A. DETTLAFF et M. N. SKOBLINA, *Ann. Embryol. Morph. Suppl.*, 1, 1969, p. 133.

(13) A. W. SCHUETZ, *in* : Oogenesis, J. D. Biggers et A. W. Schuetz, Univ. Park Press Baltimore et Butterworths, Londres, 1972, p. 479.

(14) L. D. SMITH et R. E. ECKER, *Curr. Top. Develop. Biol.*, 5, 1970, p. 1.

(15) M. ALONSO-BEDATE, A. FRAILLE, J. L. LOPEZ-GORDO et C. CALLE, *Acta Embryol. Exp.*, 1971 p. 177.

(16) J. W. ANDERSON et M. B. YATVIN, *J. Cell Biol.*, 46, 1970, p. 491.

(17) B. JALABERT, Données non publiées.

(18) La préparation gonadotrope partiellement purifiée de Saumon nous a été fournie par E. M. Donaldson, Fisheries Research Board of Canada.

(19) Les hormones *o*-LH et *o*-FSH nous ont été fournies par le Laboratoire des hormones polypeptidiques (Professeur Jutisz, CNRS, Gif-sur-Yvette).

Station Centrale de Physiologie Animale,
Institut National de la Recherche Agronomique,
78350 *Jouy-en-Josas, Yvelines.*