



HAL
open science

Les préparations hypophysaires en pisciculture. Obtention et emploi

Bernard Breton, Roland Billard

► **To cite this version:**

Bernard Breton, Roland Billard. Les préparations hypophysaires en pisciculture. Obtention et emploi. Bulletin français de Pisciculture, 1980, 278, pp.41-45. hal-01600788

HAL Id: hal-01600788

<https://hal.science/hal-01600788>

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 Attribution - ShareAlike 4.0 International License

NOTE TECHNIQUE

LES PRÉPARATIONS HYPOPHYSAIRES EN PISCICULTURE. OBTENTION ET EMPLOI

B, BRETON *, Jacqueline MARCEL ** (1), R. BILLARD **

RAPPELS PHYSIOLOGIQUES

Le cycle reproducteur des poissons est sous la dépendance de l'hypophyse qui élabore et secrète les hormones gonadotropes. Ces hormones interviennent lors du déroulement de la gamétogenèse et sont produites activement pendant la maturation ovocytaire puis l'ovulation. La technique d'induction de ponte dite « technique d'hypophysation » consiste en un apport exogène d'hormone gonadotrope par injection d'hypophysés pour provoquer le déroulement de phases du cycle sexuel qui ne se produisent pas spontanément en condition de captivité, comme l'ovulation.

1°) Utilisation d'hypophysés totales

Deux points importants sont à considérer dans le choix et la date de collecte des hypophysés destinées à l'hypophysation :

a) la spécificité d'action zoologique importante de ces hormones, c'est-à-dire que l'effet maximum est obtenu avec des hormones de la même espèce ou de la même famille. Il y aura donc intérêt à choisir un donneur hypophysaire phylogénétiquement le plus proche du receveur ;

* I.N.R.A., Laboratoire de Physiologie des Poissons, Campus universitaire de Rennes Beaulieu, 35042 RENNES CEDEX.

** I.N.R.A., Laboratoire de Physiologie des Poissons, 78350 JOUY EN JOSAS.

(1) Elève de l'E.P.H.E., Laboratoire d'Etude du Développement post-embryonnaire des Vertébrés inférieurs, 25, rue du Plat, 69288 LYON CEDEX 1.

b) la charge hypophysaire en gonadotropine varie selon l'âge et les différentes phases du cycle reproducteur. Elle est minimum chez des individus immatures et en période de repos sexuel et quelquefois même indétectable chez certaines espèces comme la Truite Arc-en-ciel. Elle est maximum en fin de cycle sexuel, au moment de la ponte. Il faut donc prélever les hypophyses destinées à l'hypophysation sur des individus matures et à l'époque de la fraie.

Le prélèvement des hypophyses doit intervenir immédiatement après sacrifice des animaux, ou au maximum quelques heures après cette opération. La technique est résumée dans les photos 1 à 4. Il faut éviter de travailler à température élevée. Dans la pra-

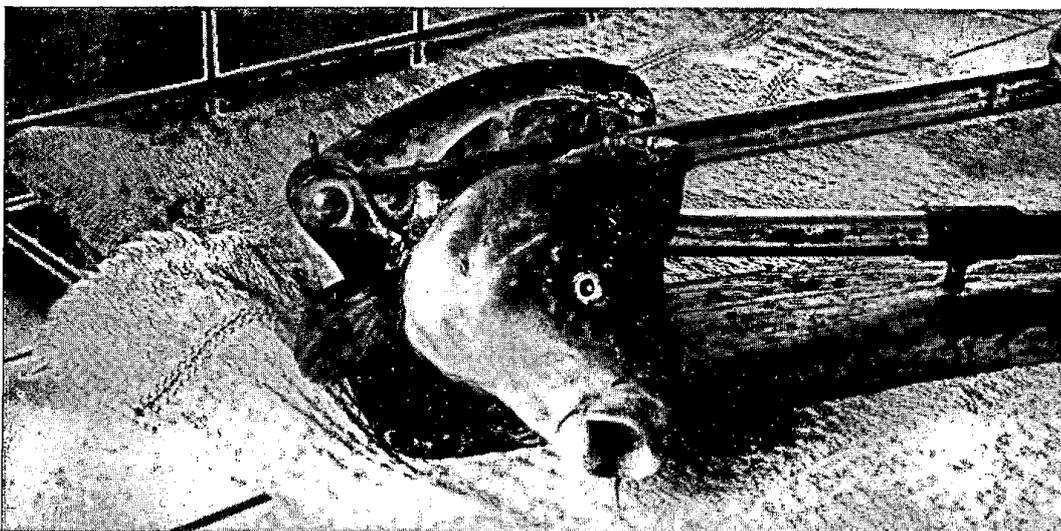


Photo 1 : Section de la tête avec un coupe-queue à vache monté sur socle.



Photo 2 : Exposition du cerveau après découpage de la partie supérieure de la boîte crânienne et élimination du tissu gras spongieux qui entoure le système nerveux central. TO : tractus olfactif, T : télencéphale, LO : lobe optique, C : cervelet, M : moelle. Pour le prélèvement de l'hypophyse, il faut saisir la moelle avec des pinces fines et soulever le cerveau vers l'avant (AV).

Photo 3 : Après avoir soulevé le cerveau et l'avoir rabattu vers l'avant, l'hypophyse (flèche) peut rester attachée au cerveau (quelquefois elle demeure dans la selle turcique).

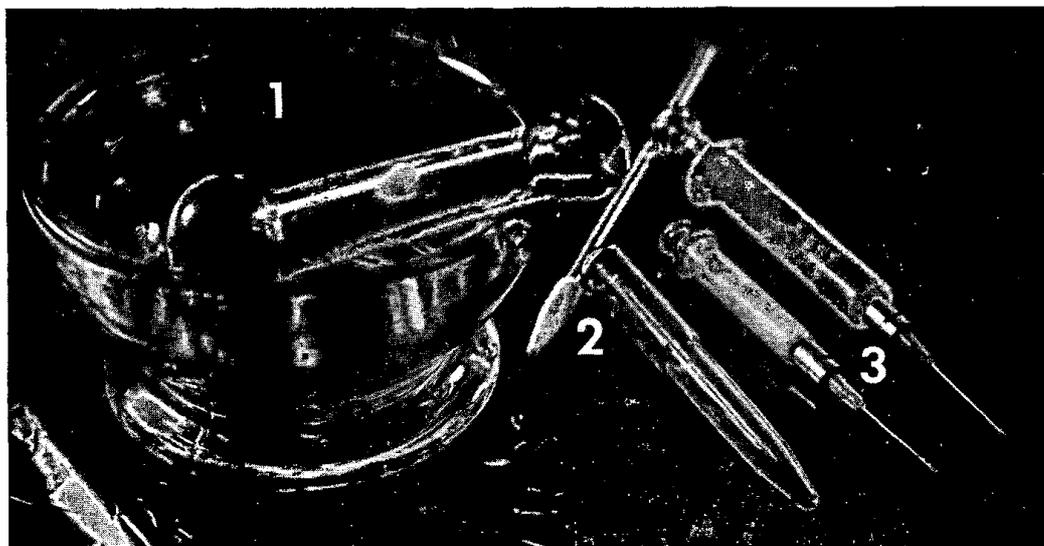


Photo 4 : Matériel pour le broyage et l'injection des préparations brutes : 1 : mortier, 2 : cylindre broyeur conique (potter), 3 : aiguilles hypodermiques.

tique piscicole, en l'absence de possibilité de prélèvement des glandes sur glace carbonique, ou dans l'azote liquide, les hypophyses doivent être plongées dans de l'acétone froide dès leur extraction de la boîte crânienne des animaux. Après 24 h de macération acétonique dans un frigidaire, le solvant est éliminé et les hypophyses mises à sécher sur un papier buvard à une température ne dépassant pas 20° C. L'évaporation de l'acétone pendant 24 à 48 h conduit à l'obtention de glandes sèches qui peuvent être conservées plusieurs années au frigidaire, dans un flacon hermétiquement scellé. Pour des raisons de commodité de dosage des quantités administrées, on procède quelquefois à l'injection d'hypophyses individuelles. L'inconvénient majeur de cette technique réside dans les fortes variabilités dans les teneurs en hormone gonadotrope d'une hypophyse à l'autre. Ceci conduit à la non répétabilité dans les effets du traitement, et il est dès lors préférable d'utiliser un mélange d'un grand nombre d'hypophyses finement broyées en poudre. On peut préparer ce type de poudre à partir d'hypophyses séchées à l'acétone. Les hypophyses sèches sont broyées à sec à l'aide d'un mortier et d'un pilon jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. L'utilisation d'un moulin à café électrique ou autre petit mixer électroménager donnera une poudre encore plus fine, mais nécessite des quantités d'hypophyses plus importantes. La poudre obtenue est remise en suspension dans l'acétone froide, et agitée plusieurs fois pendant 24 h. La suspension est alors filtrée dans un entonnoir. Un papier buvard de forte trame, placé sur l'entonnoir, constituera un excellent filtre. Après filtration, le buvard est mis à sécher et la poudre est mise en flacon hermétiquement clos à température du frigidaire (+ 4° C) (conservation de plusieurs années s'il n'y a ni choc thermique, ni hydratation). Le traitement peut être poussé plus avant en éliminant les lipides qui altèrent l'activité biologique des préparations. On pourra délipider totalement les extraits hypophysaires par lavage sur filtre au N butanol, puis à l'éther sulfurique, après l'élimination de l'acétone par filtration.

2°) Préparation des extraits pour l'injection

L'efficacité de l'action des extraits hypophysaires injectés est conditionnée par la qualité des préparations brutes et par la solubilisation de l'hormone qu'elles contiennent. Il est donc indispensable que la préparation soit très finement broyée ce qui favorise par ailleurs les opérations d'injection et évite à l'aiguille de se boucher. Un équipement minimum est nécessaire (photo 4).

Il existe deux techniques de broyage :

a) broyage à l'aide d'un broyeur cylindrique conique (poter) ; la quantité nécessaire d'hypophyses ou de poudre acétonique est mise en suspension dans une solution de chlorure de sodium à 8 g par litre d'eau distillée dans un tube de verre. Le rapport solvant/hypophyses est de 3 mg de poudre par ml de solution. Le broyage est assuré par un piston effectuant manuellement 4 à 5 aller-retours du piston. Ce type de broyage est celui qui autorise la meilleure extraction des hormones présentes dans les préparations brutes. (Ces broyeurs sont vendus par la plupart des fournisseurs de matériel de laboratoire).

b) broyage au mortier ; poudre ou hypophyses entières sont mélangées au solvant dans le fond d'un mortier et malaxées à l'aide d'un pilon. Les rendements d'extraction sont inférieurs à ceux obtenus en utilisant un poter et l'homogénéité est moins bonne.

c) utilisation d'une seringue :

Cette méthode ne permet qu'une extraction partielle et ne peut être utilisée qu'à partir de poudre hypophysaire homogène. La poudre hypophysaire est mise en suspension dans la solution de chlorure de sodium à 8 ‰ pendant une heure dans un frigidaire. Puis à l'aide d'une seringue, on aspire et rejette la suspension plusieurs fois afin de l'homogénéiser au maximum.

Dans tous les cas, les extraits obtenus doivent être utilisés immédiatement. La voie d'injection la plus couramment pratiquée est l'intrapéritonéale, au point d'insertion de la nageoire abdominale (photo 5), mais on pratique souvent en Europe de l'Est des injections dans la musculature dorsale (photo 6). Il faut dans ce cas utiliser des aiguilles suffisamment longues pour éviter un reflux du liquide après retrait de la seringue.

Les doses à administrer vont naturellement dépendre de l'activité biologique de la préparation. La dose standard est de l'ordre de 3 mg/kg ; elle est le plus souvent administrée en deux injections, l'une dite « priming » comporte 1/10 de la dose totale (0,3 mg/kg) et la seconde qui intervient le plus souvent 12, mais quelquefois 24 h plus tard, porte sur le reste de la dose (2,7 mg/kg). Comme on a pris soin de broyer les hypophyses à raison de 3 mg/ml de solvant, il suffira d'injecter 1 ml de la suspension par kg de poids vif de la femelle réceptrice. Le traitement s'applique également au mâle pour stimuler la spermiation, dans ce cas la dose est de l'ordre de 1 mg/kg.

CONCLUSIONS

Les informations de la présente note sont destinées à donner la recette pour la collecte d'hypophyses par un pisciculteur ne disposant pas de préparations hormonales, mais désireux d'appliquer la technique d'hypophysation. Il faut insister sur le fait que cette technique n'est pas très performante, mais que c'est la seule qui soit pratiquement applicable actuellement. Le rendement est mauvais (en moyenne 50 % des femelles injectées répondent), et il y a lieu de penser que ce traitement altère le cycle sexuel suivant. A l'avenir nous pensons être en mesure de développer des techniques plus efficaces en employant des préparations plus purifiées, dépourvues de composés indésirables et d'activité connue, ce qui permettra un dosage plus précis de l'hormone injectée, et en définissant mieux les conditions d'utilisation comme le stade le plus favorable au traitement. Des travaux sont actuellement en cours pour fabriquer ces préparations hormonales et les mettre à la disposition des utilisateurs.

REMERCIEMENTS

Cette note a été rédigée dans le cadre d'un contrat de recherche CSP-INRA.



Photo 5 : Injection de la préparation hypophysaire dans la cavité générale : point d'injection sous la nageoire abdominale.



Photo 6 : Injection dans la musculature dorsale.