

## THESIS / THÈSE

### MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

#### Variations saisonnières des teneurs en hormones sexuelles circulant chez un poisson à ovogenèse asynchrone, le goujon *Gobio gobio* L

Rinchard, Jacques

*Award date:*  
1991

*Awarding institution:*  
Universite de Namur

[Link to publication](#)

#### General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

#### Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

VARIATIONS SAISONNIERES DES  
TENEURS EN HORMONES SEXUELLES  
CIRCULANT CHEZ UN POISSON A  
OVOGENESE ASYNCHRONE, LE GOUJON  
*Gobio gobio* L.

RINCHARD JACQUES

1990-1991



**Variations saisonnières des teneurs en hormones sexuelles circulant chez un poisson à ovogenèse asynchrone le goujon *Gobio gobio* L. .**

RINCHARD jacques

Résumé

Cette étude décrit le cycle hormonal du goujon *Gobio gobio* L. en milieu semi-naturel (étang de pisciculture). Les teneurs plasmatiques en stéroïdes sexuels apparaissent étroitement liées à la reproduction. Chez les femelles, les taux de  $17\beta$ -oestradiol (E2), de testostérone (T) et de  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone (DHP) sont maxima en mai-juin, atteignant respectivement 558 pg/ml, 1,251 ng/ml et 2240 pg/ml. Entre deux pontes, les taux d'E2 et de DHP restent élevés (609 pg/ml et 2249 pg/ml) puisqu'à cette période des ovocytes en vitellogenèse cohabitent avec des ovocytes en maturation finale. En dehors de la période de reproduction, les taux des stéroïdes étudiés sont faibles et constants (E2 = 66 pg/ml, T = 0,369 ng/ml, DHP = 1210 pg/ml). Chez les mâles, le taux de testostérone est également maximal en mai-juin (0,629 ng/ml) et significativement plus élevé chez les mâles spermiantes que chez les poissons non spermiantes.

Abstract

This study described the hormonal cycle of the gudgeon *Gobio gobio* L. in pond. The plasma levels of sexual steroids were related to the reproduction. In females, the oestradiol- $17\beta$  (E2), testostérone (T) and  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone (DHP) levels were maxima in May-June, reaching 558 pg/ml, 1,251 ng/ml and 2240 pg/ml respectively. Between two successive ovulations, the levels remained high (609 pg/ml and 2249 pg/ml), since vitellogenic oocytes cohabit with oocytes in final maturation. Outside the reproductive period, the plasma concentration of steroids were low and constant (E2 = 66 pg/ml, T = 0,369 ng/ml, DHP = 1210 pg/ml). In males, the testosterone level was maximal in May-June (0,629 ng/ml). The spermating males showed significantly higher testosterone plasma values than the non spermating ones.

Mémoire de licence en Sciences biologiques

Septembre 1991

Promoteur : J.-C. Micha

Co-promoteur : P. Kestemont

Mes plus sincères remerciements sont tout d'abord adressés à Monsieur le Professeur J.C. MICHA, mon promoteur. Je lui exprime ma profonde gratitude pour son accueil au sein de l'Unité d'Ecologie des Eaux Douces et pour l'intérêt constant qu'il a manifesté à mon égard pendant ce travail.

Merci à Monsieur le Docteur P. KESTEMONT, pour son expérience, son aide, sa constante disponibilité et les conseils judicieux qu'il m'a prodigués tout au long de cette année.

Merci aux membres de l'UNECED, plus particulièrement à Monsieur l'Ingénieur A. GILLET pour sa collaboration efficace et dévouée, à Messieurs Y. MINE, L. PIRMEZ et A. EVRARD pour leur participation aux activités de terrain.

Mes remerciements s'adressent aussi à Messieurs le Professeur KUHN et le Docteur A. FOSTIER, pour l'accueil qu'ils m'ont réservé respectivement au "Laboratorium voor vergelijkende Endocrinologie" (K.U.L.) et au Laboratoire de Physiologie des Poissons (INRA, Rennes-France). Que toute leur équipe trouve ici l'écho de ma reconnaissance.

Je m'en voudrais d'oublier Monsieur le Professeur R. LELOUP (Département d'HISTOLOGIE et d'EMBRYOLOGIE) qui m'a ouvert son laboratoire, de même que Messieurs R. DEOM et M. LOMBET pour leur aide technique relative aux coupes histologiques et aux photographies microscopiques.

Enfin, un grand merci à mes parents et amis : Carole, Christine, Isabelle, Marie-Laurence, Miguel, Sophie et tous ceux qui m'ont aidé et encouragé durant cette année.



## Table des matières.

INTRODUCTION.	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.	4
1. DONNÉES GÉNÉRALES SUR LA REPRODUCTION DES POISSONS TELEOSTEENS.	4
1.1. Morphologie de la gamétogenèse.	4
1.1.1. Le testicule.	4
1.1.1.1. La spermatogenèse.	5
1.1.1.2. Les cellules somatiques.	6
1.1.1.2.1. Les cellules de Leydig.	6
1.1.1.2.2. Les "lobule-boundary cells".	6
1.1.1.2.3. Les cellules de Sertoli.	7
1.1.2. L'ovaire.	7
1.1.2.1. L'ovogenèse.	8
1.1.2.2. Les cellules folliculaires.	11
1.2. Régulation de la fonction de reproduction.	14
1.2.1. Contrôle environnemental du cycle de reproduction.	14
1.2.1.1. La température.	14
1.2.1.2. La photopériode.	16
1.2.1.3. La température et la photopériode.	17
1.2.1.4. La présence d'un substrat de ponte.	18
1.2.1.5. Les facteurs sociaux.	19
1.2.2. Contrôle hormonal du cycle de reproduction.	20
1.2.2.1. L'hypothalamus.	20
1.2.2.2. L'hypophyse.	22
1.2.2.2.1. Les gonadotropines.	22

1.2.2.2. Les autres hormones hypophysaires.	25
1.2.2.3. L'épiphyse.	26
1.2.2.4. La thyroïde.	26
1.2.2.5. Les gonades.	27
2. LES STEROIDES SEXUELS.	29
2.1. Les stéroïdes gonadiens.	29
2.1.1. Les stéroïdes testiculaires.	29
2.1.1.1. Les androgènes.	29
2.1.1.2. Les progestagènes et les oestrogènes.	30
2.1.2. Biosynthèse des stéroïdes testiculaires.	30
2.1.3. Les stéroïdes ovariens.	32
2.1.3.1. Les oestrogènes.	32
2.1.3.2. Les androgènes.	33
2.1.3.3. Les corticostéroïdes.	33
2.1.3.4. Les progestagènes.	34
2.1.4. Biosynthèse des stéroïdes ovariens.	34
2.2. Les autres sources de stéroïdes sexuels.	35
2.2.1. L'interrénal.	35
2.2.2. Les corpuscules de Stannius.	36
2.2.3. Le foie.	36
2.2.4. Le cerveau.	36
2.3. Action des hormones stéroïdes sur les cellules germinales.	37
2.3.1. Action des stéroïdes oestrogènes.	37
2.3.2. Action des stéroïdes androgènes.	39
2.3.3. Action des stéroïdes progestagènes et des corticostéroïdes.	40

2.4. Evolution de l'indice gonadosomatique et de quelques hormones circulantes chez les poissons téléostéens femelles des régions tempérées.	43
2.4.1. Evolution de l'indice gonadosomatique (I.G.S.).	43
2.4.2. Evolution de quelques hormones circulantes.	44
2.4.2.1. La GtH.	44
2.4.2.2. La 17 $\beta$ -oestradiol.	45
2.4.2.3. La testostérone.	47
2.4.2.4. La 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP.	48
3. CONCLUSION.	49
DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE.	51
INTRODOCTION.	51
4. MATERIEL ET METHODES.	52
4.1. Conditions expérimentales.	52
4.1.1. Le milieu semi-naturel.	52
4.1.1.1. Constitution du stock de géniteurs et conditions de stockage.	52
4.1.1.2. Méthode de capture.	54
4.1.2. Le milieu naturel.	55
4.1.1.1. Méthode de capture.	55
4.2. Mesure des paramètres morphologiques.	56
4.2.1. Le facteur de condition.	56
4.2.2. L'indice gonadosomatique ou I.G.S.	57
4.3. Examen endocrinologique.	57
4.3.1. Prélèvements sanguins.	57



4.3.2. Dosages hormonaux.	58
4.3.2.1. Extraction.	58
4.3.2.2. Dosage.	59
4.3.2.2.1. Principe du dosage.	59
4.3.2.2.2. Remise en solution des stéroïdes extraits.	60
4.3.2.2.3. Dosage de la 17 $\beta$ -oestradiol.	60
4.3.2.2.4. Dosage de la testostérone.	62
4.3.2.2.5. Dosage de la 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone.	64
4.4. Examen histologique de l'ovogenèse.	67
4.4.1. Préparation histologique.	67
4.4.2. Détermination des stades de maturité.	68
4.5. Analyse des résultats.	70
5. RESULTATS.	72
5.1. Conditions expérimentales.	72
5.1.1. Conditions de stockage dans le milieu semi-naturel.	72
5.1.2. Le milieu naturel.	73
5.2. Evolution des paramètres morphologiques.	73
5.2.1. Le facteur de condition.	73
5.2.1.1. Chez les femelles.	73
5.2.1.2. Chez les mâles.	74
5.2.2. L'indice gonadosomatique ou I.G.S.	75
5.3. Sécrétions hormonales.	76
5.3.1. Evolution des sécrétions hormonales.	76
5.3.1.1. La 17 $\beta$ -oestradiol.	76
5.3.1.2. La testostérone.	77

5.3.1.3. La 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ - dihydroprogestérone.	78
5.3.2. Relation entre l'I.G.S. et les sécrétions hormonales.	79
5.3.2.1. Relation entre l'I.G.S. et la concentration en 17 $\beta$ -oestradiol.	79
5.3.2.2. Relation entre l'I.G.S. et la concentration en testostérone.	80
5.3.2.3. Relation entre l'I.G.S. et la concentration en 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ - dihydroprogestérone.	80
5.3.3. Evolution du rapport entre la concentration en 17 $\beta$ -oestradiol et celle en 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP.	82
5.4. Evolution des stades de maturité.	82
5.4.1. Evolution des stades de maturité au cours du temps.	82
5.4.2. Evolution des sécrétions hormonales en fonction des stades de maturité.	84
5.4.2.1. La 17 $\beta$ -oestradiol.	84
5.4.2.2. La testostérone.	84
5.4.2.3. La 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ - dihydroprogestérone.	85
6. DISCUSSION.	87
6.1. Evolution des paramètres morphologiques.	87
6.1.1. Le facteur de condition.	87
6.1.2. L'indice gonadosomatique.	88
6.2. Sécrétions hormonales et stades de maturité.	89
6.2.1. La 17 $\beta$ -oestradiol et la testostérone chez les goujons femelles.	90
6.2.2. La 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone chez les goujons femelles.	94



6.2.3. La testostérone chez les goujons mâles.	96
6.2.4. Remarques.	97
6.3. Le milieu et la technique de pêche.	97
6.3.1. Le milieu.	97
6.3.2. La technique de pêche.	98
7. RESUME, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.	99
BIBLIOGRAPHIE.	103
LISTE DES FIGURES.	
LISTE DES TABLEAUX.	
LISTE DES ANNEXES.	
ANNEXES.	

INTRODUCTION

## INTRODUCTION.

Le goujon (*Gobio gobio* L.), petit poisson téléostéen appartenant à la famille des Cyprinidés, fait l'objet depuis quelques années de diverses recherches au sein de l'Unité d'Ecologie des Eaux Douces (UNECED). ROYAUX (1976), CHAPEAU (1983), KANINGINI (1984), KESTEMONT (1988,89,90,91), MAHIOUS (1990) ont ainsi procuré un certain nombre d'informations sur la biologie de cette espèce (alimentation, croissance, reproduction, élevage larvaire... ) et sur ses perspectives d'avenir en pisciculture.

Cette espèce se révèle en effet intéressante à plusieurs égards.

Tout d'abord, elle présente un intérêt écologique puisque le goujon, malgré un cycle de vie court et une haute capacité reproductrice, tend à disparaître progressivement de nos régions. Sa raréfaction est principalement due à la prédation par les truites (suite aux réempoissonnements pour les pêches sportives), à l'envasement des sites de frai et aux dépeuplements abusifs. Il est donc judicieux d'exploiter cette espèce en pisciculture afin de pratiquer son repeuplement dans le milieu naturel.

Il apparaît aussi économiquement très intéressant de développer l'élevage d'une espèce locale répondant parfaitement aux critères exigés pour les poissons-appâts. La réputation du goujon en tant que vif de qualité pour la pêche aux grands voraces (brochet *Esox lucius*, Sandre *Sander lucioperca* ...) n'est plus à faire et il est raisonnable de penser que ce poisson pourrait être utilisé à plus petite taille comme vif pour la pêche à la truite (KESTEMONT, 1989).



Enfin, il faut souligner que le goujon représente un intérêt alimentaire puisqu'il a été et reste un plat très apprécié. Il est même qualifié dans certaines régions de mets suave, savoureux, sain et délicieux.

C'est dans ce contexte général que se situe notre étude qui est constituée de deux parties, l'une théorique et l'autre expérimentale.

La première consiste en une synthèse bibliographique. Elle repose sur l'analyse de données disponibles sur la reproduction et les stéroïdes sexuels des poissons téléostéens. Les recherches récentes dans ce dernier domaine ont ainsi permis d'aboutir à une meilleure connaissance des facteurs hormonaux impliqués dans le contrôle de la production des gamètes, de leur mode d'action et de la régulation de leurs sécrétions durant les différents stades de leur cycle reproducteur.

Nous avons donc été amené à développer des aspects se rapportant à l'endocrinologie, la physiologie et l'histologie des poissons. Et c'est dans ces différentes disciplines que nous avons pu trouver des éléments indispensables à notre discussion.

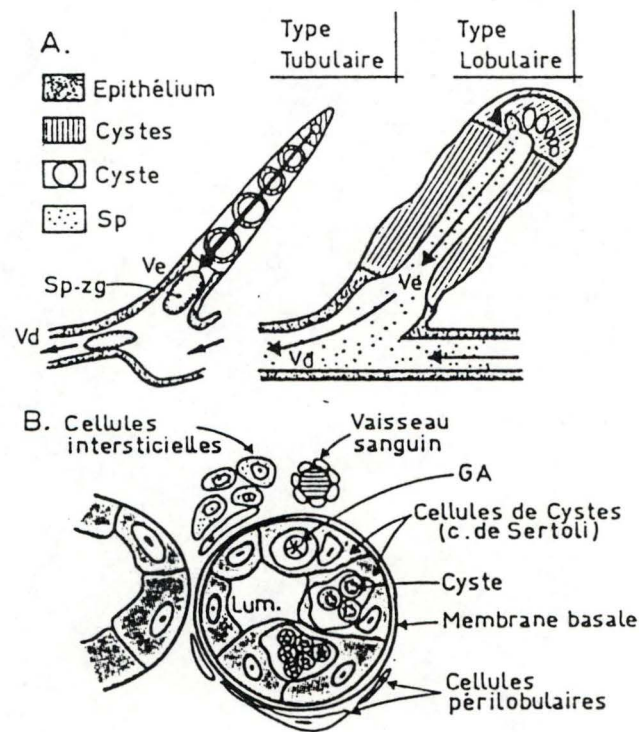
La seconde partie concerne les expériences que nous avons réalisées avec pour objectif d'étudier l'évolution saisonnière de quelques hormones sexuelles plasmatiques (la  $17\beta$ -oestradiol, la testostérone et la  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone) chez le goujon (*Gobio gobio*). Parallèlement, chez les femelles, un suivi histologique de l'ovaire a été réalisé puisque cette espèce présente la particularité d'avoir, durant la période de reproduction, tous les types d'ovocytes au sein de l'ovaire (ovogenèse asynchrone)

lui permettant de pondre de façon répétée. Les équilibres hormonaux sont donc plus complexes.

Loin d'être complète, nous espérons que cette étude contribuera à affiner les connaissances sur la reproduction du goujon.

PREMIERE PARTIE :  
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.





**Figure 1** : (A) Représentation schématique des deux types de structures testiculaires rencontrées chez les téléostéens. Ve : *vas efferens*, Vd : *vas deferens*, Sp : spermatozoïdes, Sp-zg : spermatozeugme. (B) Coupe transversale d'un lobule. G.A. : spermatogonie du type A. D'après BILLARD et al., 1982.



## Première partie : synthèse bibliographique.

### 1. DONNEES GENERALES SUR LA REPRODUCTION DES POISSONS TELEOSTEENS.

#### 1.1. Morphologie de la gamétogenèse.

##### 1.1.1. Le testicule.

Chez la plupart des téléostéens, les testicules sont des organes allongés, le plus souvent pairs, situés dorsalement dans la cavité générale. Le testicule est protégé par une tunique fibreuse recouverte de l'épithélium péritonéal. Un spermiducte parcourt la région médio-dorsale de chaque testicule et se termine au niveau de la papille génitale.

Il est généralement admis, bien qu'il n'y ait pas unanimité (GRIER, 1981), que deux types de structures testiculaires (lobulaire et tubulaire) peuvent être identifiés selon le mode de spermatogenèse (DE VLAMING, 1974 ; BILLARD et al., 1982).

Le type lobulaire (figure 1), ainsi dénommé car les tubes séminifères ont un diamètre variable et présentent un aspect lobé en histologie, est le plus répandu chez les téléostéens. Dans ce type de structure testiculaire, les spermatogonies (type A) sont réparties tout au long du tube séminifère, les cystes formés se déplacent peu au cours de leur évolution, et les spermatozoïdes produits sont libérés dans la lumière centrale des tubes en communication avec le spermiducte.

Dans le type tubulaire (figure 1), limité au groupe des Poecilidae (BILLARD et al., 1982), les cellules germinales sont au contraire localisées uniquement au niveau de l'extrémité aveugle des tubules. Durant la

spermatogénèse, les cystes migrent le long du tubule, qui ne possède pas de lumière, vers la cavité centrale du testicule où sont libérés les spermatozoïdes.

Dans les deux cas, les tubules ou les lobules sont séparés les uns des autres par les cellules du tissu interstitiel.

#### 1.1.1.1. La spermatogénèse.

Le processus de spermatogénèse regroupe l'ensemble des phases cytologiques conduisant à l'élaboration des spermatozoïdes à partir des cellules indifférenciées (gonies A), elles-mêmes issues des cellules germinales primordiales de l'embryon par division mitotique. La spermatogénèse peut avoir, suivant les espèces, un caractère continu ou saisonnier (BILLARD et al., 1982).

La différenciation des spermatozoïdes s'effectue entièrement à l'intérieur des cystes, délimités par une couche de cellules somatiques dont l'homologie avec les cellules de Sertoli des mammifères reste controversée (BILLARD et al., 1982 ; GRIER, 1981). Durant la spermatogénèse, l'évolution des cellules germinales est synchrone à l'intérieur de chaque cyste. Les gonies A sont initialement isolées et entourées de quelques cellules somatiques. Ces dernières, se divisant, forment l'enveloppe du cyste, alors que les spermatogonies (type B) subissent plusieurs divisions mitotiques aboutissant aux spermatocytes primaires, puis après les deux divisions de la méiose, aux spermatides. Une série de transformations cytologiques (spermiogénèse) intervient alors, au cours de laquelle chaque spermatide se différencie en un spermatozoïde.

Les spermatozoïdes sont ensuite libérés dans le spermiducte, c'est la spermiation, qui est généralement accompagnée par une hydratation des gonades et du sperme



(du moins chez les espèces ayant une structure testiculaire lobulaire) (DE VLAMING, 1974 ; BILLARD et al., 1982).

Lors de l'émission du sperme, les spermatozoïdes sont libres dans le plasma séminal chez les espèces à fécondation externe, alors qu'ils sont souvent groupés en spermatophores ou en spermatozeugmes chez les espèces à fécondation interne.

#### 1.1.1.2. Les cellules somatiques.

##### 1.1.1.2.1. Les cellules de Leydig.

Elles sont localisées dans les interstices entre les tubules ou lobules séminifères. Les détections histoenzymologiques des hydroxystéroïdes déhydrogénases (HSDH) ont permis d'y situer la synthèse des stéroïdes androgènes testiculaires chez plusieurs espèces.

##### 1.1.1.2.2. Les "lobule-boundary cells".

Chez certaines espèces apparemment dépourvues de cellules interstitielles de Leydig typiques, des cellules auxquelles fut attribuée une fonction identique ont été localisées dans la paroi des tubules ou lobules séminifères. Elles sont appelées "lobule-boundary cells". O'HALLORAN et IDLER (1970) ont montré que des enzymes (la  $3\beta$ -HSDH et la  $\Delta 5-3\beta$ -ol-déhydrogénase), impliqués dans la synthèse des stéroïdes androgènes, étaient localisés dans les "lobule-boundary cells" des testicules du *Salmo salar*. Chez *Tilapia mossambica*, YARON (1966) démontre la présence de la  $3\beta$ -HSDH dans les "lobule-boundary cells", qui coexistent d'ailleurs chez cette espèce avec des cellules interstitielles de Leydig.

#### 1.1.1.2.3. Les cellules de Sertoli.

Elles procurent en premier lieu soutien et nutrition aux cellules germinales. Elles sont également responsables de la phagocytose des cellules germinales en dégénérescence et des spermatozoïdes non éjaculés. Enfin, elles sont peut-être impliquées dans la stéroïdogénèse. Chez plusieurs espèces, en effet, la  $3\beta$ -HSDH a été détectée dans les cellules de Sertoli.

#### 1.1.2. L'ovaire.

Chez les téléostéens, les ovaires sont généralement des organes pairs, suspendus dorsalement dans la cavité péritonéale par le mésovarium (extension du péritoine). Leur surface externe est tapissée de l'épithélium germinatif. La paroi ovarienne est constituée d'une capsule de tissu conjonctif et de muscles lisses. Les cellules germinales sont portées par des lamelles ovigères, issues d'un plissement de l'épithélium germinatif interne; ce sont des *septa* de tissu conjonctif collagène, élastique et réticulé, richement vascularisé.

L'ovaire des téléostéens, contrairement à celui des vertébrés supérieurs, contient un stock d'ovogonies indifférenciées qui semble pouvoir être renouvelé par divisions mitotiques tout au long de la vie. Un oviducte reliant l'ovaire à la papille génitale est présent chez la majorité des téléostéens, mais dégénère secondairement chez certaines espèces comme les Salmonidés où lors de l'ovulation, les ovules sont libérés dans la cavité coelomique (LEGENDRE ET JALABERT, 1988).



### 1.1.2.1. L'ovogenèse.

L'ovogenèse débute véritablement avec la différenciation de certaines ovogonies qui entrent en prophase de la première division méiotique. Cette phase d'arrêt de la méiose dure jusqu'à la fin de la vitellogenèse. Elle est caractérisée au niveau du noyau (vésicule germinative) par le maintien d'un double stock de chromosomes sous une forme peu condensée (chromosomes en écouvillons). Les ovocytes ainsi formés sont progressivement entourés par des cellules somatiques qui se différencient en plusieurs couches formant les enveloppes folliculaires. C'est le stade protoplasmique.

La croissance ovocytaire peut se décomposer de façon schématique en deux stades : premièrement, un stade de prévitellogenèse ou vitellogenèse endogène pendant lequel la taille cellulaire augmente suite à l'accumulation centripète dans le cytoplasme de vésicules à résidus glycoprotéiques. La prévitellogenèse débutante se distingue de la prévitellogenèse avancée par divers critères tels que l'abondance des vésicules, la basophilie du cytoplasme ou la taille de l'ovocyte. Deuxièmement, la vitellogenèse proprement dite ou vitellogenèse exogène caractérisée par l'incorporation centrifuge de vitellogénine, grosse molécule phospholipoprotéique synthétisée par le foie, circulant dans le sang et pénétrant dans l'ovocyte par micropinocytose. Ces globules de vitellus refoulent les vésicules glycoprotéiques vers la périphérie du cytoplasme où elles constitueront les alvéoles corticaux destinés à la protection de l'embryon dans l'oeuf.

Après la vitellogenèse, la vésicule germinative (V.G.) migre du centre ou d'une position légèrement excentrique vers la périphérie de l'ovocyte. Chez plusieurs espèces, cette migration est dirigée vers le micropyle (YAMAZAKI, 1965 ; GOETZ, 1976 in GOETZ, 1983). Après cette



migration, la vésicule germinative se disperse, c'est la G.V.B.D. (germinal vesicle breakdown). Chez certaines espèces (Salmonidae), la V.G. migre du centre de l'ovocyte avant que la vitellogenèse ne soit terminée et demande une assez longue période pour une migration complète (SAKUN, 1966 in GOETZ, 1983). Au contraire, chez d'autres espèces, la migration de la V.G. se déroule une fois la vitellogenèse terminée (YAMAZAKI, 1965 ; MALSERVISI et MAGNIN, 1968 in GOETZ, 1983).

La G.V.B.D. marque la reprise de la méiose jusqu'à la métaphase de deuxième division. Ce processus de maturation ovocytaire est accompagné d'importants changements au sein du cytoplasme et du vitellus et, chez de nombreuses espèces, l'ovocyte subit une hydratation se traduisant par une rapide augmentation de volume.

EPLER (1981) décrit histologiquement la progression de cette maturation en 4 stades :

- Le stade de la V.G. centrale : les noyaux sont au centre des ovocytes ou très légèrement périphériques. Ils possèdent des nucléoles dispersés, situés près de la membrane nucléaire.

- Le stade de la V.G. en migration : les ovocytes ont des noyaux situés aux 3/4 de la distance du centre vers le micropyle. Ce stade est caractérisé par le groupement des nucléoles dans le noyau.

- Le stade de la V.G. périphérique : les noyaux des ovocytes sont regroupés au niveau du micropyle.

- Le stade des ovocytes matures : après le déroulement de la G.V.B.D., l'observation du noyau n'est plus possible, mais on peut observer le déroulement de la méiose. Ce stade correspond à la première division méiotique qui est bloquée en métaphase II.

Une fois la maturation terminée, l'ovocyte entouré du chorion se sépare du follicule et est expulsé dans la lumière ovarienne : c'est l'ovulation. Après ou pendant la

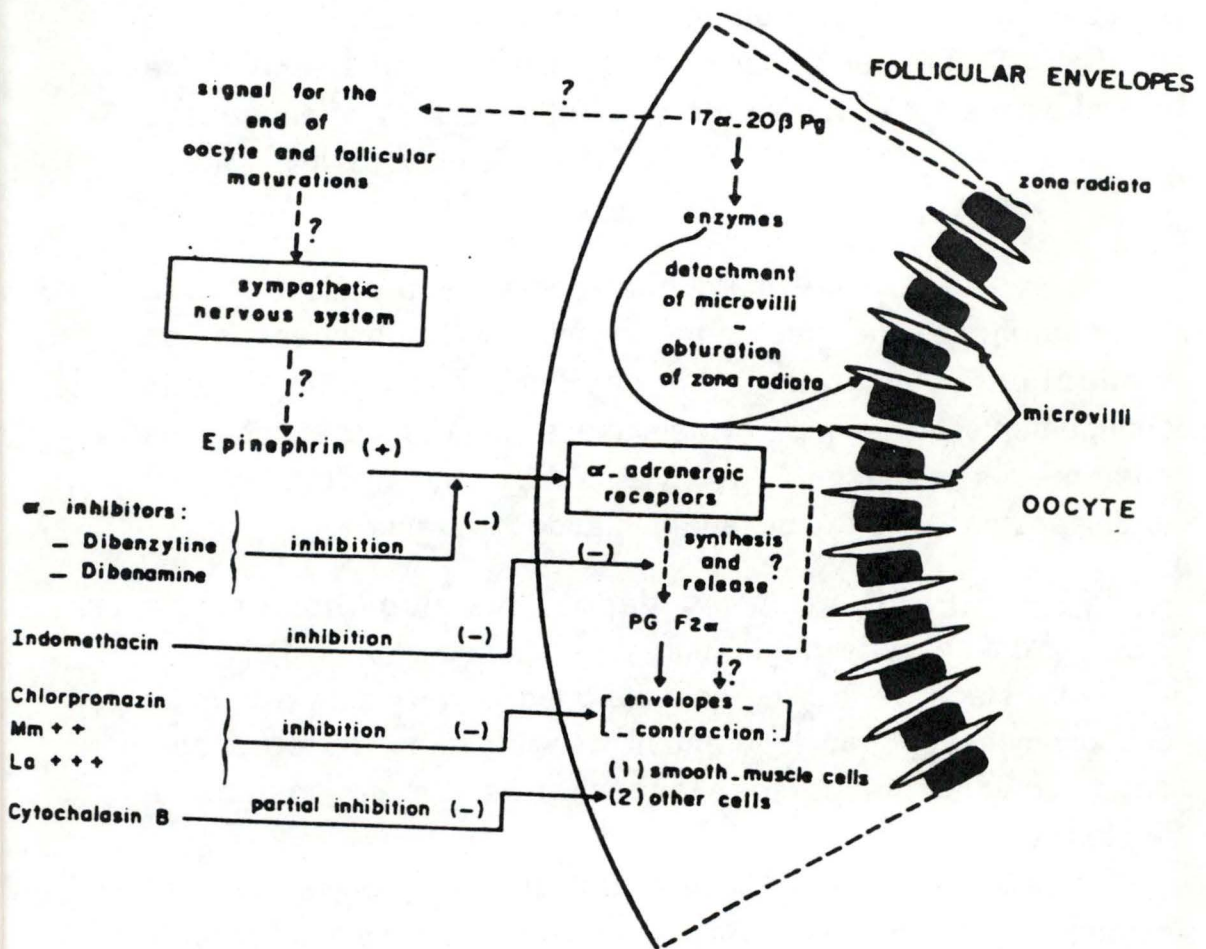


Figure 2 : Schéma hypothétique décrivant le contrôle de l'ovulation chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. D'après JALABERT, 1976.



maturation finale, un grand nombre de connexions micropavillonnaires entre l'ovocyte et les couches folliculaires deviennent détachables. Suivant ce phénomène de séparation folliculaire, l'ovocyte est libéré de son follicule dans la lumière de l'ovaire. Cette libération de l'ovocyte n'est apparemment pas un processus passif au cours duquel le follicule se dégrade, laissant l'ovocyte libre. En effet, les descriptions de l'ovulation et l'effet de divers agents chimiques sur ce processus indiquent que l'expulsion de l'ovocyte a lieu par contraction active du follicule.

La prostaglandine ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) serait responsable de l'ovulation par le schéma suivant : le système nerveux sympathique recevrait un signal de fin de maturation de l'ovaire qui stimulerait les récepteurs adrénergiques du follicule. Cela provoquerait la synthèse ou la libération de prostaglandines ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) qui, à leur tour, déclencherait la contraction des cellules musculaires lisses des enveloppes folliculaires et l'expulsion de l'ovocyte (JALABERT, 1976) (figure 2).

La ponte ou ovoposition se produit après l'ovulation avec un délai variable suivant les espèces. La taille et le nombre des ovocytes produits sont éminemment variables suivant les espèces et les milieux colonisés.

KESTEMONT et PHILIPPART (1991) décrivent les trois modèles de base du développement ovocytaire en se basant sur une approche dynamique de l'ovogenèse : les ovaires synchrones, groupe-synchrones et asynchrones (tableau 1).

Dans le premier groupe se trouvent les poissons à ponte unique. L'ovaire ne contient qu'un seul stade ovocytaire en début de recrudescence gonadale. En période de reproduction, l'histogramme de répartition des tailles d'ovocytes présente deux modes bien distincts : les ovocytes

**Tableau 1** : Classement, selon leur mode de développement ovocytaire des principales espèces de poissons d'eau douce se reproduisant dans les cours d'eau de Belgique. (?) : classement incertain. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1990.

<b>Poissons à ovogenèse synchrone</b>	
<i>Salmonidae</i>	
Truite de rivière	<i>Salmo trutta trutta fario</i> LINNAEUS, 1958
Truite arc-en-ciel	<i>Oncorhynchus mykiss</i> WALBAUM, 1792
Ombre chevalier	<i>Salvelinus alpinus</i> (LINNAEUS, 1758)
Saumon de fontaine	<i>Salvelinus fontinalis</i> (MITCHELL, 1815)
<i>Thymallidae</i>	
Ombre commun	<i>Thymallus thymallus</i> (LINNAEUS, 1758)
<i>Esocidae</i>	
Brochet	<i>Esox lucius</i> LINNAEUS, 1758
<i>Percidae</i>	
Percche	<i>Perca fluviatilis</i> LINNAEUS, 1758
Sandre	<i>Stizostedion lucioperca</i> (LINNAEUS, 1758)
<i>Cyprinidae</i>	
Hotu	<i>Chondrostoma nasus</i> (LINNAEUS, 1758)
Vandoise	<i>Leuciscus leuciscus</i> (LINNAEUS, 1758)
Gardon	<i>Rutilus rutilus</i> (LINNAEUS, 1758)
<i>Gasterosteidae</i>	
Epinoste (?)	<i>Gasterosteus aculeatus</i> LINNAEUS, 1758
Epinochette (?)	<i>Pungitius pungitius</i> LINNAEUS, 1758
<b>Poissons à ovogenèse groupe-synchrone</b>	
<i>Cyprinidae</i>	
Carpe commune	<i>Cyprinus carpio</i> LINNAEUS, 1758
Brème commune	<i>Abramis brama</i> (LINNAEUS, 1758)
Barbeau fluviatile	<i>Barbus barbus</i> (LINNAEUS, 1758)
Chevaine	<i>Leuciscus cephalus</i> (LINNAEUS, 1758)
<b>Poissons à ovogenèse asynchrone</b>	
<i>Cyprinidae</i>	
Goujon	<i>Gobio gobio</i> (LINNAEUS, 1758)
Vairon	<i>Phoxinus phoxinus</i> (LINNAEUS, 1758)
Loche de rivière	<i>Cobitis taenia</i> LINNAEUS, 1758
Loche d'étang	<i>Misgurnus fossilis</i> (LINNAEUS, 1758)
Brème bo. delière	<i>Blicca bjoerkna</i> (LINNAEUS, 1758)
Ablette commune	<i>Alburnus alburnus</i> (LINNAEUS, 1758)
Ablette de rivière	<i>Alburnoides bipunctatus</i> (BLOCH, 1782)
Rotengle	<i>Scardinius erythrophthalmus</i> (LINNAEUS, 1758)
Carassin	<i>Carassius carassius</i> (LINNAEUS, 1758)
Tanche	<i>Tinca tinca</i> (LINNAEUS, 1758)



protoplasmiques et les ovocytes en fin de vitellogenèse (figure 3).

Le second groupe se caractérise par la présence de trois modes dans l'histogramme de répartition des tailles ovocytaires : une classe d'ovocytes protoplasmiques, une classe d'ovocytes en prévitellogenèse avancée mais ne participant pas à la ponte de l'année et une classe d'ovocytes en fin de vitellogenèse qui seront pondus prochainement (figure 4).

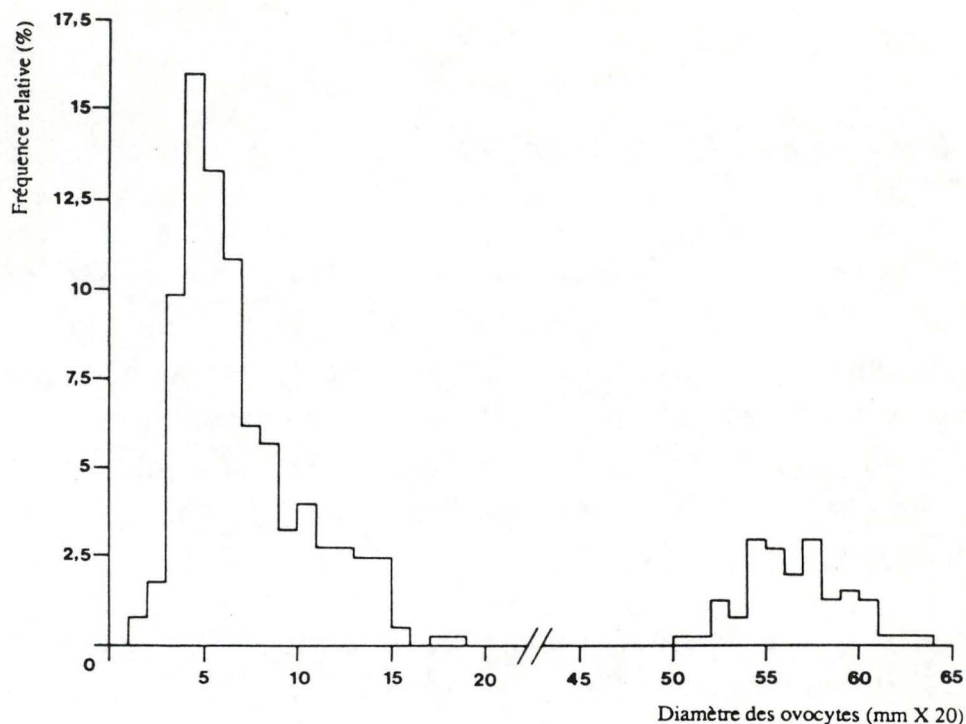
Le troisième groupe comprend les poissons à pontes multiples et se caractérise par la présence simultanée de tous les stades ovocytaires sans prédominance d'une classe particulière excepté la classe constituée par les ovocytes protoplasmiques qui peut être abondamment représentée (figure 5).

#### 1.1.2.2. Les cellules folliculaires.

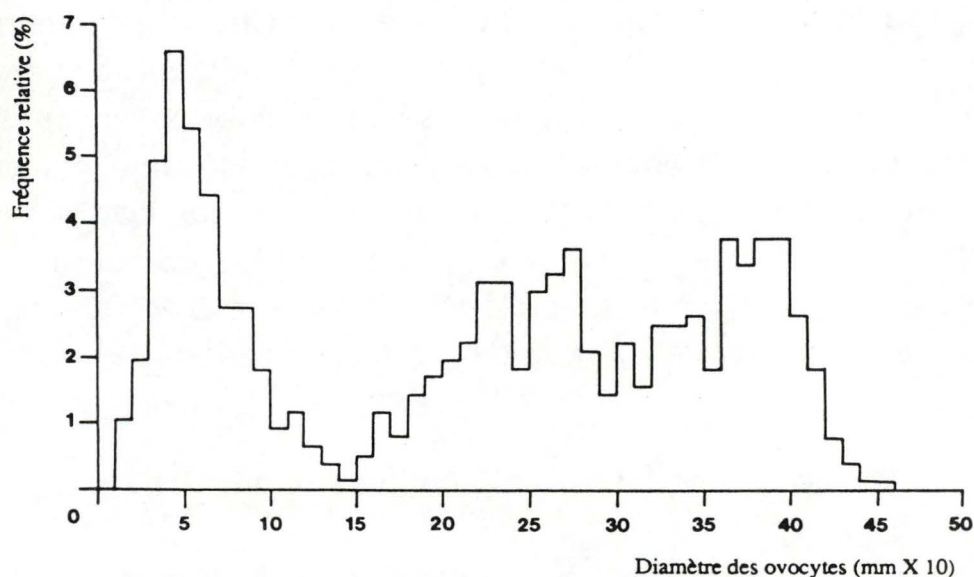
Autour de l'ovocyte se différencient progressivement les cellules folliculaires. Chez la plupart des espèces, on peut distinguer de la périphérie vers l'ovocyte : la thèque, constituée de plusieurs couches cellulaires et la *granulosa* séparée de la précédente par la membrane basale. La *granulosa* est unistratifiée et en contact étroit avec l'ovocyte grâce à de nombreuses interdigitations qui s'entrecroisent à travers une couche acellulaire : la *zona pellucida* , futur chorion de l'oeuf. (figure 6).

Les fonctions des cellules folliculaires sont multiples:

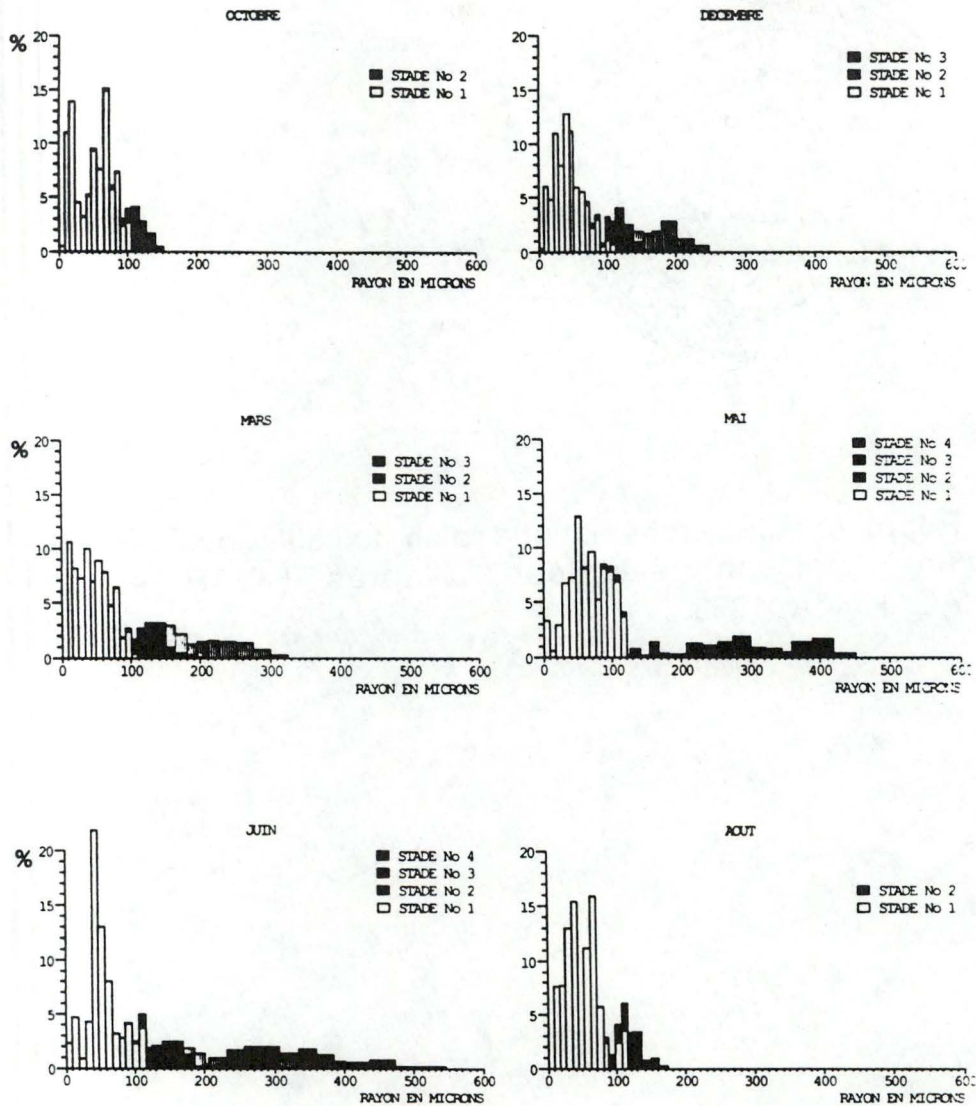
- participation à la formation des enveloppes de l'ovocyte,
- nutrition de la cellule germinale,



**Figure 3** : Histogramme de répartition des tailles des ovocytes de l'ombre commun *Thymallus thymallus* avant la ponte. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.



**Figure 4** : Histogramme de répartition des tailles des ovocytes du barbeau fluviatile *Barbus barbus* avant la ponte. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.



**Figure 5 :** Histogramme de répartition des tailles des ovocytes du goujon *Gobio gobio* à différents moments de son cycle gamétogénique. Stade 1 : ovocytes protoplasmiques, stade 2 : ovocytes en début de prévitellogenèse, stade 3 : ovocytes en fin de prévitellogenèse, stade 4 : ovocytes en vitellogenèse. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.



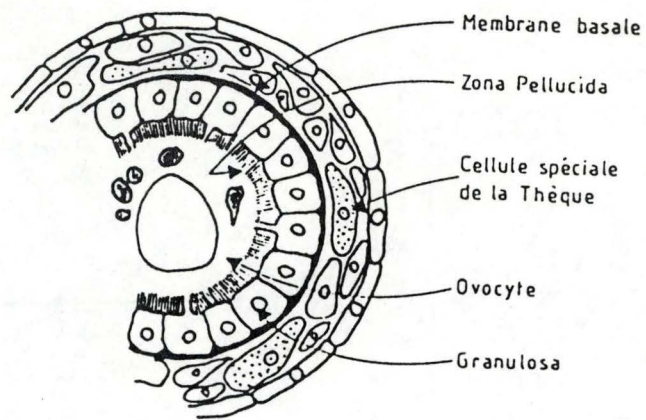


Figure 6 : Représentation schématique d'un follicule ovarien d'un poisson téléostéen. D'après HOAR et NAGAHAMA, 1978.

- stéroïdogénèse :

La 3 $\beta$ -HSDH, enzyme concerné dans la biosynthèse des stéroïdes a été localisée dans les cellules interstitielles, de la thèque et de la *granulosa* selon les espèces et le stade de l'ovogenèse.

- phagocytose :

Les cellules de la *granulosa* montrent une activité phagocytaire. L'atrésie s'effectue à l'âge adulte et est fréquente durant ou après le frai. Elle peut saisir des follicules à tous les stades de développement, mais affecte plus communément les follicules en maturation ou anovulés. Généralement, la membrane de l'ovocyte en vitellogenèse se brise, les cellules granuleuses s'hypertrophient, le noyau de l'ovocyte se désagrège, la structure du vitellus se modifie; les cellules de la *granulosa*, éventuellement hypertrophiées, pénètrent dans la V.G. en phagocytant le vitellus. L'emplacement du follicule est bientôt occupé par une masse de cellules ou *corpus atreticum preovulationis*. La participation des cellules thécales n'est pas toujours évidente. Le *corpus atreticum preovulationis* se résorbe plus ou moins rapidement par la suite. Les tests histoenzymologiques de la 3 $\beta$ -HSDH se sont révélés négatifs chez *Scomber scomber* (BARA, 1965) et chez *Poecilia reticulata* (LAMBERT, 1970). Il semble donc que cette structure n'est pas impliquée dans la stéroïdogénèse.

Un autre ensemble de cellules appelé *corpus atreticum postovulationis* apparaît lorsque le follicule s'est débarrassé de l'ovocyte. Les cellules de la thèque et de la *granulosa* restant dans l'ovaire prennent l'apparence d'un sac vide plissé, inséré entre les ovocytes résiduels. Ces cellules, appelées à disparaître, vont progressivement prendre un aspect indifférencié et se confondre avec le reste des cellules à apparence fibroblastique. Parfois, une structure d'apparence glandulaire se différencie. Chez *Scomber* (BARA, 1965) et *Brachydanio* (LAMBERT et al., 1972) une certaine activité de la 3 $\beta$ -HSDH est décelée dans les cellules



folliculaires après l'ovulation. C'est pourquoi ces auteurs appellent ces cellules : *corpus luteum postovulationis* .

BARR (1968) suggère que les causes d'atrésie peuvent provenir des facteurs endocriniens directs (baisse ou suppression d'hormones gonadotropes, injection de stéroïdes) ou de l'environnement (altération de la température, nourriture non adaptée, stress ...). Cependant les quelques ovocytes atrésiés d'un ovaire normal pourraient provenir d'une vascularisation inadéquate qui réduit l'apport nutritif au follicule.

## **1.2. Régulation de la fonction de reproduction.**

La reproduction, chez les téléostéens, est un phénomène cyclique contrôlé à la fois par des facteurs environnementaux et endocriniens.

DE VLAMING (1974) précise que chez la plupart des animaux, la reproduction précède plus ou moins, selon les caractéristiques spécifiques du développement, une période où les facteurs du milieu (en particulier la nourriture disponible) sont les plus favorables à la survie des jeunes et donc à la pérennité de l'espèce.

### **1.2.1. Contrôle environnemental du cycle de reproduction.**

#### **1.2.1.1. La température.**

La température est un facteur très important dans le déterminisme du cycle sexuel et en particulier de la ponte pour nombre d'espèces de poissons, principalement ceux qui se reproduisent durant la saison printanière ou estivale.

Tableau 2 : Seuil minimal de température pour la reproduction. D'après SPILLMANN, 1961.

Espèce	T (°C)	Période de l'année
Gardon	15	mai
Tanche	18-26	mai-juillet
Perche	13-14	mars-mai
Sandre	>15	avril-juin
Brochet	7-10	février-avril
Ablette	15	avril-juin
Truite fario	5-10	novembre-décembre



Chez les Cyprinidés, un nombre minimum de degrés-jours est nécessaire pour permettre la reproduction. De plus, un niveau thermique minimum est requis pour la ponte (tableau 2). Une étude entreprise sur le poisson rouge (*Carassius auratus*) par GILLET et al. (1978) permet de conclure que les effets de la température ne sont pas les mêmes au cours des différentes phases du cycle. Les basses températures (12°C) favorisent le développement des gonades, mais il faut des températures plus élevées (20°C) pour accélérer ou provoquer la maturation finale. Chez le goujon (*Gobio gobio*), KESTEMONT (1988) a montré que les phases de récupération et de démarrage de la recrudescence gonadale sont favorisées par une basse température, alors que la maturation ovocytaire ne se réalise que lorsque la température a atteint 8 à 10°C. En dessous de 10°C, l'accumulation vitellogénique ne se produit pas.

Chez les Salmonidés, la température n'a pas une action directe sur la gamétogenèse et le frai comme chez les Cyprinidés mais son action se porte sur la durée du développement embryonnaire (BILLARD et al., 1978). HEMING (1982) a étudié l'effet de la température sur les embryons de saumon chinois (*Oncorhynchus tshawytscha*). Une augmentation de celle-ci provoque une accélération de la résorption du vitellus par l'embryon, mais celui-ci est moins bien utilisé. Il en résulte un déficit énergétique et un épuisement des ressources. Les alevins plus précoces seront plus petits et moins viables.

L'action de la température se situe à différents niveaux : elle s'exerce soit directement sur la gamétogenèse (LOFTS et al., 1968), soit sur la sécrétion gonadotrope pituitaire (BRETON et BILLARD, 1977), sur la réceptivité du foie aux oestrogènes lors de la production de vitellogénine (YARON et al., 1980) ainsi que sur la réceptivité des gonades aux stimulations hormonales (JALABERT et al., 1977).



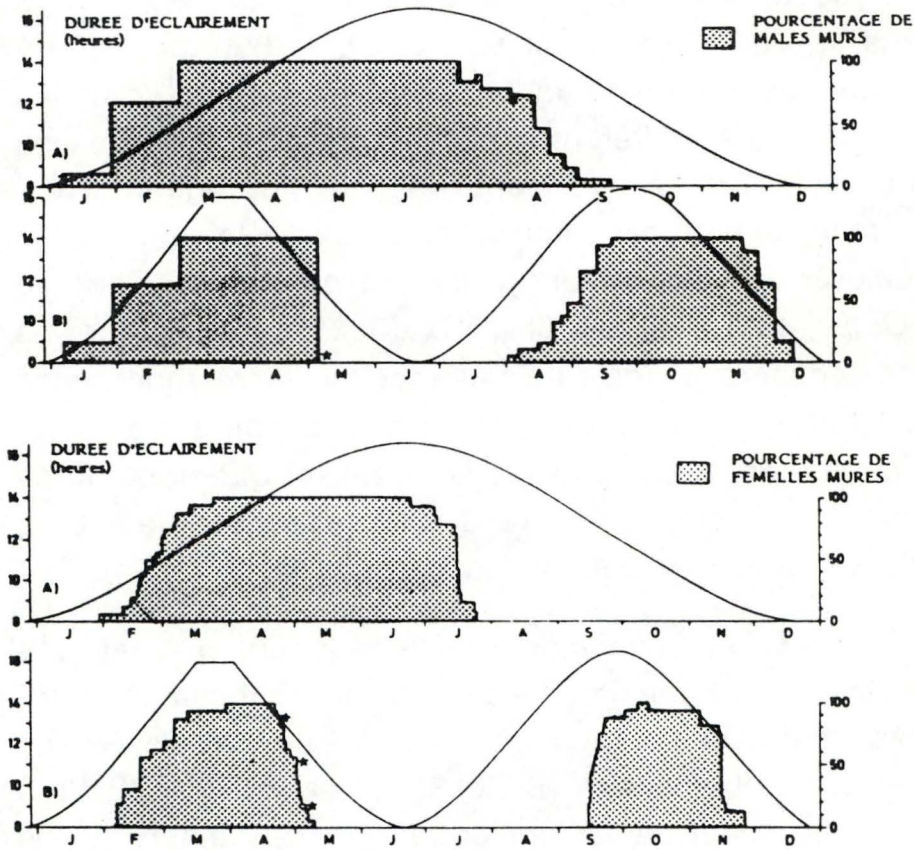


Figure 7 : Pourcentage journalier de femelles mûres et hebdomadaire de mâles spermiantes de barbeaux *Barbus barbus*. (A) photopériode naturelle simulée (latitude de la Belgique). (B) cycle annuel condensé en 6 mois. \* résultats significatifs (test de  $X^2$ ). D'après PONCIN, 1989.

### 1.2.1.2. La photopériode.

La photopériode est un facteur environnemental important pour la régulation du cycle reproducteur des téléostéens (DE VLAMING, 1974 ; PETER et CRIM, 1979 in PETER, 1983). PETER (1981) signale que l'épiphyse et/ou les yeux sont les voies présumées d'entrée de cette information.

Chez les espèces à reproduction printanière ou estivale, les longues photopériodes, particulièrement lorsqu'elles sont associées à de hautes températures, stimulent la recrudescence gonadale. BAGGERMAN (1980), GILLET et al. (1978) et DE VLAMING (1975) l'ont démontré respectivement chez l'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*), le carassin (*Carassius auratus*) et le golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*).

En soumettant des barbeaux (*Barbus barbus*) à un cycle photopériodique condensé en 6 mois (2 cycles par an), PONCIN (1989) observe 2 périodes de reproduction (janvier-mai et septembre-novembre). Ce phénomène provient du fait qu'une photopériode décroissante inhibe la maturité des mâles et des femelles (figure 7). Il a également montré qu'une diminution de 2 heures (10L/14N → 8L/16N) d'éclairement inhibe 25 % des femelles, provoque un allongement du nombre de jours séparant 2 pontes successives chez les autres et entraîne une diminution du nombre de mâles spermants.

Cependant, l'action de la photopériode, comme celle de la température, dépend du stade ovocytaire atteint. Ainsi KESTEMONT (1988) précise que chez le goujon (*Gobio gobio*) la décroissance de la photopériode permet le démarrage de la gamétogenèse mais que la phase vitellogénique nécessite une photopériode suffisamment longue (au moins 12 heures d'éclairement).



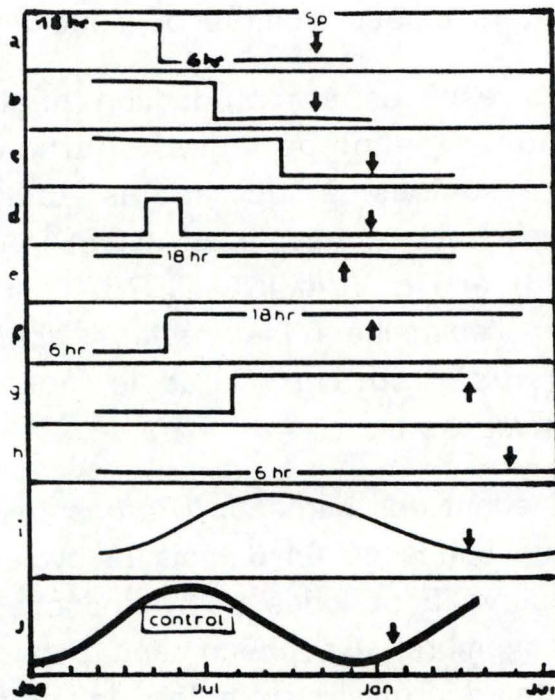


Figure 8 : Contrôles photopériodiques testés chez *Oncorhynchus mykiss*. Le moment du frai des poissons est indiqué par une flèche. Les poissons du groupe contrôle (j) ont frayé fin janvier/début février. Les graduations sur l'axe horizontal représentent le premier jour du mois. D'après BROMAGE et al., 1984 in DEMORTIER, 1990.



Les espèces à reproduction automnale ou hivernale se reproduisent alors que la durée du jour est courte ou décroissante. Le rôle moteur dans la détermination de leur date de ponte serait donc les photopériodes courtes ou décroissantes. Cela doit toutefois être nuancé. En effet, selon le stade ovocytaire atteint, ce sont les longues ou les courtes photopériodes qui ont une influence motrice sur l'initiation ou la progression de la gamétogenèse.

Généralement, les longues photopériodes favorisent l'initiation de la gamétogenèse. Ainsi BROMAGE et al. (1984 in DEMORTIER, 1990) montrent que : (figure 8)

- des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) maintenues sous de longues photopériodes (18 L/6 N) dans la première partie du cycle et courtes (6 L/18 N) dans la seconde fraient 4 mois avant celles qui sont exposées à un cycle photopériodique naturel.

- l'exposition des truites arc-en-ciel à de longues photopériodes durant tout le cycle mène à un frai avancé de 2 mois.

- l'exposition des truites arc-en-ciel à de courtes photopériodes dans la première partie du cycle et à de longues photopériodes dans la seconde partie, permet de postposer le frai de 3 mois.

ELLIOT et al. (1984) soulignent l'importance des longues photopériodes pour les premiers stades de la gamétogenèse des truites arc-en-ciel. Ils insistent cependant sur le fait qu'il existe dans la seconde partie de leur cycle de reproduction une sensibilité aux jours courts.

#### 1.2.1.3. La température et la photopériode.

En fait, la photopériode agit en synergie avec la température et il existe des combinaisons optimales entre ces deux facteurs.

**Tableau 3** : Effets de la température et de la photopériode sur la gamétogenèse et la ponte chez quelques espèces des Cyprinidés et chez les Salmonidés. Modifié, d'après BILLARD et al., 1981.

Espèces	Gamétogenèse			Ponte		Références
	Saison	Temp.	Photop.	Saison	Temp.	
<b>Salmonidés</b>	Eté	< 20	↘	Automne	5-15	BILLARD et al (1981)
<b>Cyprinidés</b>	Eté +printemps	> 10-20	↗	Printemps +été	> 15-18	BILLARD et al (1981)
Carpe <i>Cyprinus carpio</i>		16-18			18-24	BILLARD et al(1978)
Poisson rouge <i>Carassius auratus</i>		11-12	16L/80		20	BILLARD et al(1979)
Goujon <i>Gobio gobio</i>		15	16L/80		16-20	KESTEMONT(1988)
Barbeau <i>Barbus barbus</i>					14-15	PONCIN(1988)



Le tableau 3 montre l'effet de la température et de la photopériode chez les Salmonidés et quelques espèces de Cyprinidés.

Chez les Salmonidés, la gamétogenèse est activée en été à une température de 20°C et une photopériode décroissante, alors que la ponte se déroule en automne à une température comprise entre 5 et 15°C. Par contre chez les Cyprinidés, la gamétogenèse est favorisée au printemps et en été quand les eaux se réchauffent (10-20°C) en photopériode croissante. La ponte commence dès que les eaux atteignent 15°C.

Comme nous venons de le voir, l'influence des variations saisonnières très marquées de la température et de la photopériode apparaît prépondérante chez les espèces vivant en régions tempérées, pour lesquelles la reproduction est généralement limitée à une courte période de l'année. Dans les régions tropicales et équatoriales, où ces facteurs varient moins, certaines espèces ont une reproduction apparemment continue et pour les espèces présentant une cyclicité annuelle, le moment de la reproduction est souvent lié aux pluies ou aux crues, mais la nature exacte du stimulus perçu reste dans ce cas mal définie. (DE VLAMING, 1974).

#### 1.2.1.4. La présence d'un substrat de ponte.

La réalisation des phases finales de la gamétogenèse et de frai peut aussi dépendre de la présence dans le milieu de stimuli spécifiques plus ponctuels comme le substrat de ponte.

La présence d'un substrat s'avère nécessaire pour obtenir l'ovulation et la ponte de certaines espèces de poissons. Les données disponibles dans la littérature ne concernent généralement que des substrats végétaux. Ainsi

la végétation aquatique stimule la réponse ovulatoire du poisson rouge (*Carassius auratus*) exposé à de hautes températures et peut parfois induire l'ovulation aux basses températures (STACEY et al., 1979).

STALMANS (1988 in DEMORTIER, 1990) a mis au point une technique de reproduction pour obtenir l'ovulation et la ponte des femelles de vairon (*Phoxinus phoxinus*) sur des substrats de gravier. Chez le goujon (*Gobio gobio*), KESTEMONT (1988) constate que le taux d'ovulation induite par choc thermique est plus élevé lorsque le fond du bassin est recouvert de gravier.

Chez le sandre (*Sander lucioperca*), la femelle, à l'approche du frai, cherche à proximité de la rive, une place appropriée à une profondeur allant de 2 à 4 mètres, le plus souvent à l'abri de plantes aquatiques et de branchages, sur un fond consistant où elle dépose ses oeufs. Ceux-ci restent fixés aux pierres, aux graviers, aux bois ou aux plantes. Pour favoriser les conditions de développement du frai d'origine naturelle sur le fond consistant d'un lac ou de l'étang, l'aménagement à une certaine distance de la végétation naturelle des berges, des branches de résineux, des racines de végétaux aquatiques est nécessaire à l'endroit des places de frai. Sur celles-ci, des nids individuels de 2 mètres de diamètre avec des branchages de pin ou de sapin sont construits, puis recouverts avec des rameaux de genévrier et lestés de pierre. Les sandres y déposent leurs oeufs (KOCH, 1958).

#### 1.2.1.5. Les facteurs sociaux.

Les facteurs sociaux par la perception de différents stimuli sensoriels d'origine visuelle, sonore, phéromonale ont aussi une grande influence sur la reproduction, en particulier pour le frai.



Ainsi BYE (1982) constate que la présence de mâles favorise la maturation gonadale des femelles, chez les espèces où la territorialité du mâle mène à la séparation des sexes durant la saison d'élevage. Chez le poisson rouge (*Carassius auratus*), la présence de mâles sexuellement actifs favorise l'ovulation (WEIL et al., 1986). BYE (1982) est parvenu à stimuler l'ovulation de femelles de *Brachydanio rerio* en leur apportant de l'eau provenant d'aquariums contenant des mâles en densité élevée et à l'inhiber en leur apportant de l'eau venant d'aquariums bondés d'une population mixte.

En milieu naturel, BILLARD (1979) observe qu'une densité trop élevée de géniteurs réduit la fécondité des femelles. Chez la carpe (*Cyprinus carpio*), la présence de femelles gravides entraîne une augmentation du volume de sperme émis et du taux de gonadotropines dans le sang des mâles (WEIL et al., 1986).

### 1.2.2. Contrôle hormonal du cycle de reproduction.

#### 1.2.2.1. L'hypothalamus.

Chez les vertébrés, l'hypothalamus, situé à la base du cerveau est le centre de l'intégration et de la régulation de nombreuses fonctions vitales pour l'organisme. Il intègre aussi les informations du milieu extérieur transmises par le système nerveux et il contrôle notamment le fonctionnement de l'hypophyse.

Les régions hypothalamiques contrôlant l'activité gonadotrope correspondent au noyau préoptique (NPO) et au noyau latéral du Tuber (NLT). Ces noyaux constitués par les corps cellulaires de cellules neurosécrétrices élaborent des neurohormones libérées au niveau des extrémités axonales.

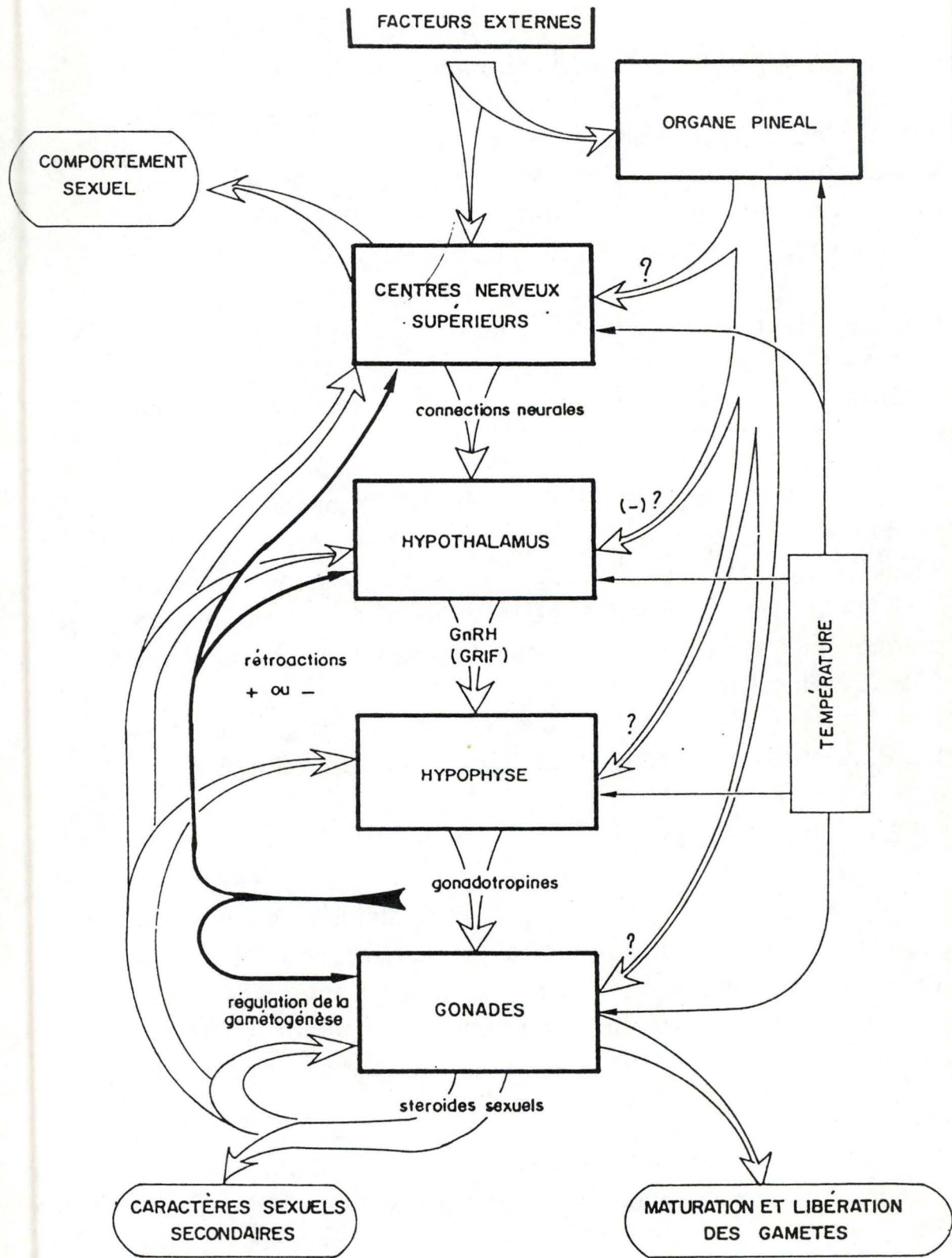


Figure 9 : Représentation schématique des mécanismes impliqués dans le contrôle de la reproduction chez les poissons téléostéens. D'après LEGENDRE et JALABERT, 1988.



PETER (1982) précise que chez les téléostéens, les axones des cellules neurosécrétrices qui constituent la neurohypophyse atteignent directement la *pars distalis* de l'hypophyse et que leurs extrémités axonales sont susceptibles d'effectuer des connexions synaptiques directes avec les cellules gonadotropes.

L'hormone libérante (LHRH) ou GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) émise par les cellules neurosécrétrices a une action stimulante sur la sécrétion des gonadotropines (figure 9). Ce facteur hypothalamique a d'abord été mis en évidence et partiellement caractérisé chez la carpe (*Cyprinus carpio*) par BRETON et al. (1971). SHERWOOD et al. (1983) ont déterminé la structure primaire de la GnRH du saumon chum (*Oncorhynchus keta*), celle-ci est un décapeptide qui ne diffère de la GnRH des mammifères que par deux substitutions d'acides aminés en position 7 et 8 (figure 10). Compte tenu des propriétés immunologiques observées, la structure de la GnRH de certains autres téléostéens est certainement très proche, sinon identique, notamment chez le poisson rouge *Carassius auratus* et chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (BRETON et al., 1984), chez le milkfish *Chanos chanos* et chez le grey mullet *Mugil cephalus* (SHERWOOD et al., 1984).

KAH et al. (1986) et GOOS et al. (1985) (in LEGENDRE et JALABERT, 1988) réalisant des observations immunohistochimiques respectivement chez le poisson rouge et chez le poisson chat africain *Clarias gariepinus* suggèrent que la présence de la GnRH ne se limiterait pas seulement à l'hypothalamus, mais intéresserait aussi d'autres régions du cerveau, peut-être elles-mêmes impliquées dans le contrôle de la fonction gonadotrope.

Récemment, CHANG et al. (1983 in KESTEMONT, 1988) ont montré que la dopamine avait une activité inhibitrice de libération de gonadotropines (gonadotropin

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lamprey	pGlu	-His	-Tyr	-Ser	-Leu	-Glu	-Trp	-Lys	-Pro	-Gly-NH <sub>2</sub>
Salmon	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Trp	-Leu	-Pro	-Gly-NH <sub>2</sub>
Chicken I	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Leu	-Glu	-Pro	-Gly-NH <sub>2</sub>
Chicken II	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-His	-Gly	-Trp	-Tyr	-Pro	-Gly-NH <sub>2</sub>
Mammal	pGlu	-His	-Trp	-Ser	-Tyr	-Gly	-Leu	-Arg	-Pro	-Gly-NH <sub>2</sub>

Figure 10 : Structure primaire de la GnRH de différents vertébrés. D'après SOWER, 1990.



release-inhibitory factor ou GRIF) chez le poisson rouge, en modulant la libération des gonadotropines et en bloquant directement ou en modulant l'action de la GnRH (figure 9).

De plus, CHANG et PETER (1983) ont trouvé que le pimozide, antagoniste de la dopamine, augmentait l'activité de la GTH, provoquant la maturation ovocytaire et l'ovulation chez le poisson rouge stocké à 12°C.

#### 1.2.2.2. l'hypophyse.

L'hypophyse est directement impliquée dans le contrôle du fonctionnement des gonades. Ainsi PICKFORD et ATZ (1957) ont montré que l'hypophysectomie provoquait la régression des ovaires ou des testicules.

L'hypophyse sécrète plusieurs hormones parmi lesquelles les gonadotropines qui exercent un rôle majeur dans l'activité des gonades. Les autres hormones hypophysaires (notamment la TSH, GH, prolactine, ACTH ) peuvent cependant participer directement ou indirectement au contrôle de certains processus liés à la reproduction.

##### 1.2.2.2.1. Les gonadotropines.

Les cellules synthétisant les gonadotropines, identifiées par les changements qu'elles présentent au cours du cycle sexuel et par leurs caractéristiques morphologiques et tinctoriales, sont localisées principalement dans la *pars distalis* proximale de l'adénohypophyse (DE VLAMING, 1974).

Depuis quelques années, des hormones ont été isolées avec des degrés de pureté variables à partir d'hypophyses d'un petit nombre d'espèces. Les premières préparations réalisées chez les téléostéens ont permis de conclure à l'existence d'une seule gonadotropine (GtH) de nature glycoprotéique dont la composition en acides aminés est différente selon l'espèce mais qui présente certaines

similitudes avec les hormones gonadotropes des mammifères (LH et FSH) (PETER et CRIM, 1979; BURZAWA-GERARD, 1981).

Un autre facteur, faiblement glycoprotéique, a été également isolé chez quatre espèces de téléostéens (LEGENDRE et JALABERT, 1988).

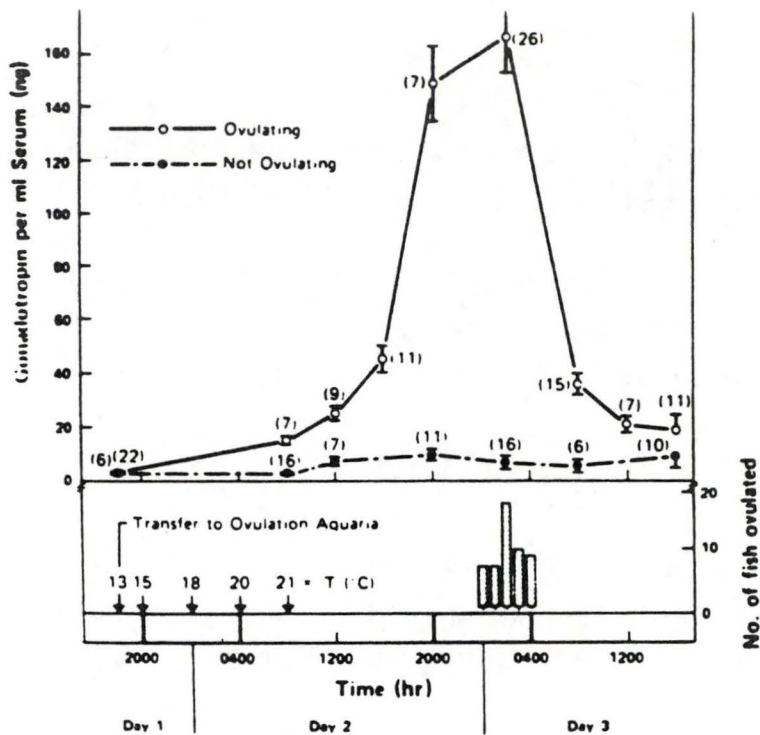
a) Action sur les gonades.

La GtH agit soit directement soit par l'intermédiaire des hormones stéroïdes sur la majorité des étapes du développement des gonades mâles ou femelles (figure 9).

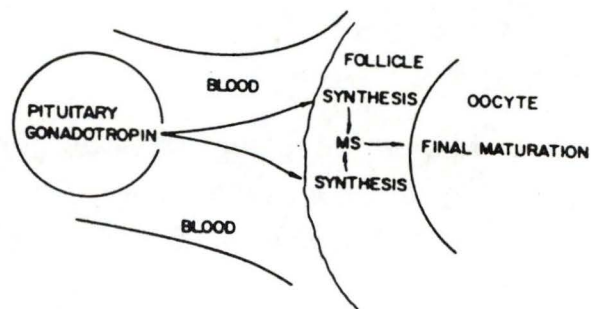
Chez le mâle, elle stimule le développement complet du testicule et de la spermiation. Chez la femelle, elle induit la vitellogenèse endogène et indirectement la vitellogenèse exogène en stimulant la synthèse des oestrogènes par l'ovaire, lesquels agissent sur la synthèse et la sécrétion de vitellogénine par le foie. Elle induit également la maturation ovocytaire en stimulant la production de stéroïdes maturationnels soit dans l'ovaire (cas de nombreuses espèces parmi lesquelles les Salmonidés qui ont été particulièrement étudiés; JALABERT, 1976 ; GOETZ, 1983) soit éventuellement avec la participation de l'interréanal (cas du Siluriforme indien, *Heteropneustes fossilis* , SUNDARARAJ et GOSWANI, 1977 in LEGENDRE et JALABERT, 1988).

Le facteur faiblement glycoprotéique, quant à lui, stimulerait l'incorporation de la vitellogénine dans l'ovocyte (BURZAWA-GERARD, 1981; PETER et CRIM, 1979; PETER, 1981).





**Figure 11** : Profil de c-GTH sérique chez le poisson-rouge, *Carassius auratus*, durant l'ovulation. Photopériode de 16L/8N et élévation de la température de l'eau de  $13 \pm 1^\circ\text{C}$  à  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ . Le nombre de poissons ovulant à chaque heure est indiqué sur le graphe inférieur. D'après STACEY et al., 1979.



**Figure 12** : Relais hypophyse-ovaire pour la stimulation de la maturation finale. M.S. : stéroïde maturational. D'après FOSTIER et al., 1983.

b) Variations quantitatives.

Seule la GtH a pu être dosée au cours du cycle pour les espèces chez lesquelles elle a été purifiée.

Plusieurs auteurs (PETER et CRIM, 1979 ; PETER, 1981) observent une élévation progressive de son niveau plasmatique moyen stimulant la recrudescence progressive des gonades avec une augmentation parfois considérable en période d'ovulation ou de spermiation. Son rôle essentiel dans les phénomènes de maturation finale lui a d'ailleurs conféré le nom d'hormone maturante (figure 11).

c) Modes d'action des gonadotropines.

Plusieurs auteurs (JALABERT, 1976 ; HIROSE, 1976 ; SUNDARARAJ et GOSWAMI, 1977 in GOETZ, 1983) ont émis l'hypothèse que les gonadotropines hypophysaires induisent la maturation finale en stimulant la synthèse de stéroïdes maturationnels dans le follicule (figure 12). Différentes expériences réalisées *in vitro* à partir d'ovocytes partiellement dénudés (uniquement la thèque) ou complètement (thèque et *granulosa*) et incubés en présence de gonadotropines seules ou en association avec des stéroïdes maturationnels, indiquent que le lieu de synthèse de ces stéroïdes est probablement la couche de la *granulosa* (JALABERT, 1976 ; IWAMATSU, 1980 in KESTEMONT, 1988).

Quoiqu'un relais direct hypophyse-ovaire semble exister chez la plupart des espèces, SUNDARARAJ et GOSWAMI (1977) ont proposé un relais hypophyse-interrénal-ovaire. Dans ce système, les gonadotropines hypophysaires stimulent les interrénals à produire des stéroïdes maturationnels qui induiront la maturation finale (figure 13).



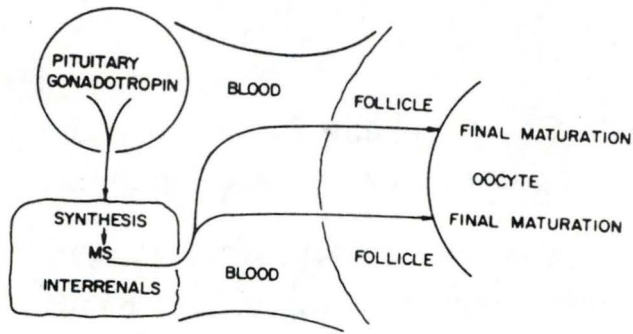


Figure 13 : Relais hypophyse-interrénal-ovaire pour la stimulation de la maturation finale. M.S. : stéroïde maturationnel. D'après SUNDARARAJ et GOSWAMI, 1977 in FOSTIER et al., 1983.

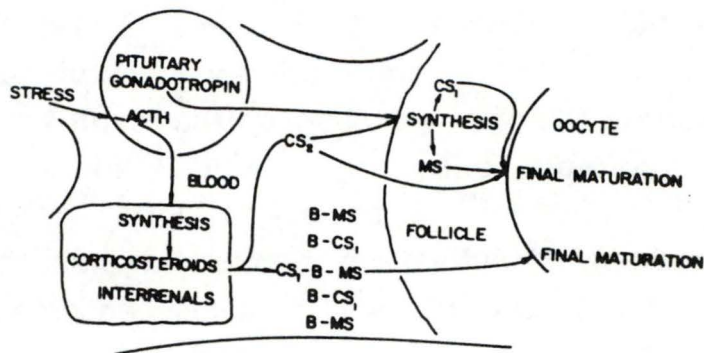


Figure 14 : Relais hypophyse-ovaire et influence des corticostéroïdes pour la stimulation de la maturation finale. M.S. : stéroïde maturationnel, C.S.1 : 11 déoxycorticostéroïdes, C.S. 2 : 11 oxycorticostéroïdes, B : protéines plasmatiques, ACTH : Hormone AdrenoCorticoTrope. D'après JALABERT, 1976 in FOSTIER et al., 1983.

#### 1.2.2.2.2. Les autres hormones hypophysaires.

##### a) L'ACTH.

L'ACTH (AdrenoCorticoTropic Hormone) est capable d'influencer la maturation de l'ovocyte en contrôlant la sécrétion des corticostéroïdes qui peuvent augmenter l'efficacité des gonadotropines. Sous l'action de divers stimuli (température et photopériode ...), des stress se produisent qui, de ce fait, entraînent sous l'effet de l'ACTH, une augmentation de la concentration des corticostéroïdes plasmatiques qui peuvent, à leur tour, accroître l'efficacité des stéroïdes maturationnels (figure 14). Ces stéroïdes agissent soit directement sur les ovocytes ou sous forme combinée avec les protéines plasmatiques lorsqu'ils sont produits en grande quantité (JALABERT, 1976 in GOETZ, 1983).

##### b) La prolactine.

La prolactine inhibe probablement le développement gonadal comme l'ont montré SUNDARARAJ et KESHAVANATH (1976) chez le poisson chat, BLANC-LIVNI et ABRAHAM (1970) chez le grey mullet, DE VLAMING et VODICNICK (1977) chez *Notemigonus crysoleucas*.

##### c) La TSH.

La TSH (Thyroid Stimulating Hormone) peut influencer directement l'activité gonadale (OLIVEREAU, 1961 ; FONTAINE, 1976 ; YARON et al., 1982 in ABRAHAM, 1988) ou indirectement via la thyroïde (HURLBURT, 1977).

##### d) La STH.

La STH (Somato Trophin Hormone) ou GH (Growth Hormone) agit en synergie avec la GtH chez *Fundulus*



*heteroclitus* (PICKFORD et al., 1972 in ABRAHAM, 1988). YOUNG et BALL (1983) suggèrent que la GH puisse jouer un rôle métabolique lié à la vitellogenèse chez le vivipare *Poecilia latipinna*.

#### 1.2.2.3. L'épiphyse.

L'hypothalamus n'est pas le seul régulateur nerveux de la fonction gonadotrope. L'épiphyse ou organe pinéal (extension du diencephale située sous la calotte crânienne) pourrait également participer au contrôle de la sécrétion des gonadotropines chez les téléostéens.

L'épiphyse est un organe sensoriel (contenant des cellules photosensibles) et endocrine, étant le site principal de production de la mélatonine dont on a suggéré le rôle antigonadotrope (DE VLAMING, 1974).

L'implication de l'épiphyse dans la régulation de la reproduction des poissons n'est pas clairement établie et dépend vraisemblablement des espèces (LEGENDRE et JALABERT, 1988). Son influence sur la fonction gonadotrope pourrait s'exercer par l'intermédiaire de l'hypothalamus (DE VLAMING et VODICNICK, 1977) (figure 9).

#### 1.2.2.4. La thyroïde.

La thyroïde intervient probablement dans la reproduction des poissons. Ainsi les hormones thyroïdiennes, en plus de leur rôle dans la croissance, seraient impliquées dans le processus de maturation des gonades (DICKOFF et DARLING, 1983 ; SAGE, 1973 in PONCIN, 1988).

La thyroxine (T<sub>4</sub>) stimule la maturation des gonades chez le guppy *Poecilia reticulata* (LAM et LOY, 1985) et le carassin *Carassius auratus* (HURLBURT, 1977).

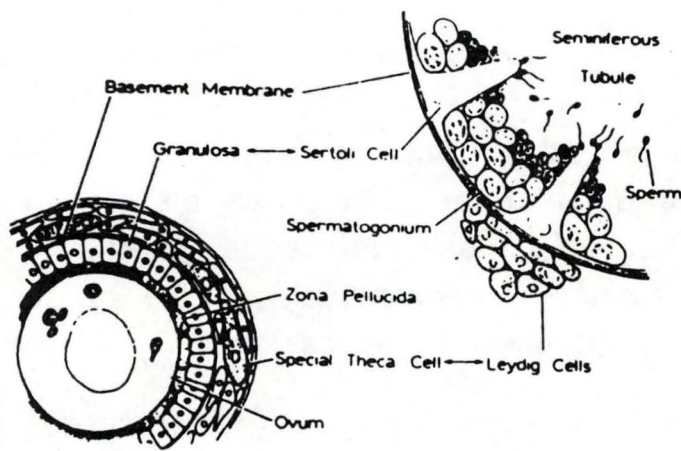


Figure 15 : Représentation schématique des sites de synthèse des stéroïdes chez les téléostéens. D'après HOAR et NAGAHAMA, 1978.



Les taux circulants de deux hormones thyroïdiennes (thyroxine  $T_4$  et triiodothyronine  $T_3$ ) observés par PONCIN (1988) chez le barbeau (*Barbus barbus*) restent relativement constants tout au long de l'année. Il observe toutefois un taux de  $T_4$  plus bas en hiver, chez tous les individus. Cette diminution pourrait être causée par les basses températures (2-5°C) enregistrées pendant cette saison ou par le ralentissement de l'activité alimentaire chez les mâles comme chez les femelles, il a également montré qu'il y avait une diminution importante du taux moyen de  $T_4$  et une augmentation sensible du taux de  $T_3$  (hormone thyroïdienne métaboliquement active) pendant les périodes de reproduction.

La  $T_4$  agirait indirectement en stimulant l'action de l'hormone gonadotrope (FONTAINE, 1976).

#### 1.2.2.5. Les gonades.

En plus de leur rôle gamétogène, les gonades sont aussi des glandes endocrines possédant des cellules, identifiées par leurs caractéristiques ultrastructurales et histochimiques, responsables de l'élaboration d'hormones sexuelles stéroïdes (FOSTIER et al., 1983) (voir 1.1.1.2. ; 1.1.2.2. et figure 15).

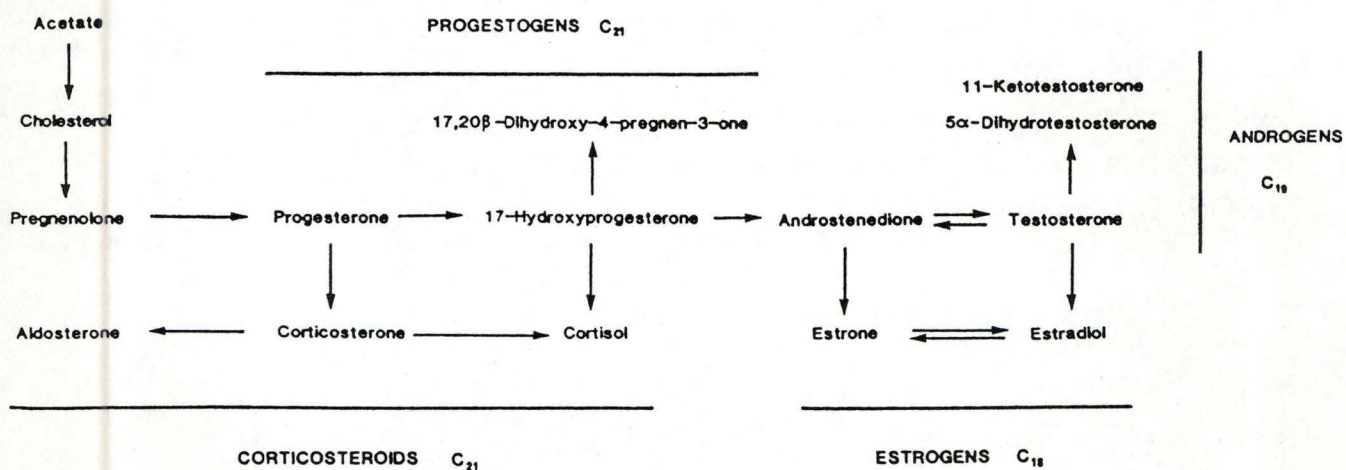
Les stéroïdes sexuels dont la production est sous le contrôle de l'hypophyse, interviennent dans la régulation de la gamétogenèse et des cycles reproducteurs en agissant sur la différenciation des gamètes, en contrôlant l'activité de certains organes comme le foie et le développement des caractères sexuels secondaires.

Ces hormones stéroïdes régulent l'activité de l'hypophyse et donc de leur propre sécrétion en exerçant une rétroaction positive (chez les poissons à l'état immature) ou négative (chez les poissons matures) sur l'activité du

complexe hypothalamo-hypophysaire (BILLARD et al., 1981). LILEY (1980, in LEGENDRE et JALABERT, 1988) montre que leur action au niveau des centres nerveux supérieurs intervient également dans le contrôle du comportement sexuel (figure 9). Enfin, COLOMBO et al. (1982) précisent que certains de leurs dérivés naturels, notamment les stéroïdes glucuroconjugés, peuvent présenter une activité phéromonale.

Les stéroïdes sexuels ne sont pas les seules productions endocrines des gonades. Ainsi l'ovaire est le siège occasionnel de la synthèse de médiateurs à action locale tels que les prostaglandines (OGATA et al., 1979 in LEGENDRE et JALABERT, 1988).





**Figure 16** : Inter-relations entre les différentes hormones stéroïdiennes. D'après KIME, 1987.

## 2. LES STEROIDES SEXUELS.

### 2.1. Les stéroïdes gonadiens.

Les gonades exercent simultanément des fonctions exocrines (émission des spermatozoïdes et des ovules) et endocrines. Elles sont capables de synthétiser et de libérer, sous l'action des gonadotropines hypophysaires, quatre types de stéroïdes sexuels : les oestrogènes, les androgènes, les progestagènes et les corticostéroïdes. Les inter-relations entre ces différents stéroïdes sont reprises dans la figure 16.

#### 2.1.1. Les stéroïdes testiculaires.

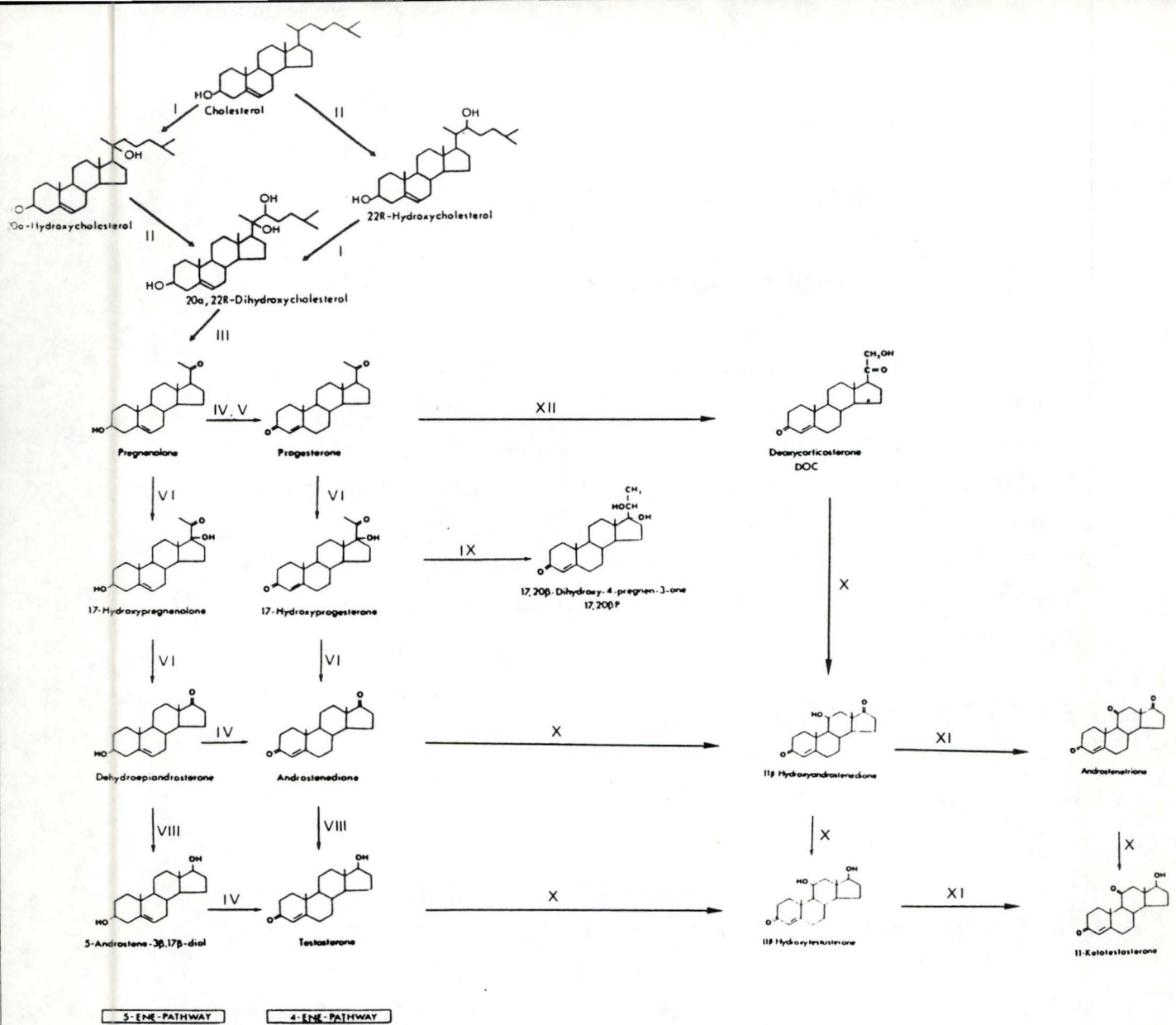
##### 2.1.1.1. Les androgènes.

Chez les poissons téléostéens, la testostérone a pu être isolée, chez toutes les espèces étudiées, soit dans le testicule, soit dans le plasma. L'androsténédione et la déhydroépiandrostérone ont également été identifiées chez *Gasterosteus aculeatus* (GOTTFRIED et VAN MULLEN, 1967).

Cependant, la testostérone n'est pas obligatoirement l'androgène principal chez les téléostéens. En effet, la 11-ketotestostérone, d'abord découverte dans le plasma d'un des saumons du pacifique *Oncorhynchus nerka* (IDLER et al., 1960 in FOSTIER et al., 1983) puis dans le testicule du saumon atlantique *Salmo salar* (IDLER et al., 1971 in FOSTIER et al., 1983) s'est révélée être un androgène puissant.

Le testicule de poisson peut également convertir les androgènes en stéroïdes conjugués principalement par glucuronidation (FOSTIER et al., 1983). Cette conjugaison est généralement considérée comme un mécanisme de désactivation, mais la découverte par VAN DEN BURK et al.





**Figure 17** : Biosynthèse des stéroïdes androgènes chez les poissons téléostéens.

- I : cholestérol-20 $\alpha$ -hydroxylase
- II : cholestérol-22 R-hydroxylase
- III : cholestérol-C 20-C 22-lyase
- VI : 17 $\alpha$ -hydroxylase
- V :  $\Delta$ 4- $\Delta$ 5-isomérase
- IV :  $\Delta$ 5-3 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase
- VII : 17 $\alpha$ -hydroxypregnène-C 17-C 20-lyase
- VIII : 17 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase
- IX : 20 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase
- XI : 17 $\beta$ -réductase
- X : 11 $\beta$ -hydroxylase
- XII : 21-hydroxylase

Modifié, d'après KIME, 1987.

(1982) et COLOMBO et al. (1982) d'un possible rôle de ces stéroïdes conjugués comme phéromone sexuelle soulève la question de leur activité biologique.

Enfin, la  $5\alpha$  ou  $5\beta$  réduction des androgènes a été décelée dans le testicule de plusieurs téléostéens mais les rôles biologiques spécifiques de ces composés réduits sont encore imprécis.

#### 2.1.1.2. Les progestagènes et les oestrogènes.

La production de la  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone ( $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP) par le testicule de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) est ambiguë (KIME, 1979 ; DEPECHE et SIRE, 1982). Ces auteurs lui ont conféré différents rôles. Pour KIME (1979), elle interviendrait dans le processus de biosynthèse des androgènes tandis que pour DEPECHE et SIRE (1982) elle stimulerait les mitoses des cellules germinales.

La biosynthèse *in vitro* d'oestrogènes a seulement été rapportée dans le testicule d'espèces ambisexuées, tel que *Monopterus albus* (CHAN et PHILLIPS, 1969).

#### 2.1.2. Biosynthèse des stéroïdes testiculaires.

Les voies métaboliques menant à la synthèse des androgènes dans le testicule des mammifères sont actuellement bien établies (TAMAOKI et al., 1969 ; HALL, 1970 in REMACLE, 1975). Elaboré à partir de l'acétate, le cholestérol subit un clivage de la chaîne latérale, avec perte des atomes C22 à C27 et se transforme en prégnénolone à 21 atomes de carbone. A partir de ce précurseur, deux voies principales sont possibles : la 5-ene-pathway ou 5 et la 4-ene-pathway ou 4 (figure 17).



Chez les téléostéens, l'étude du métabolisme des androgènes par le testicule a été entreprise par incubation de tissu testiculaire en présence de divers précurseurs froids ou radioactifs. Lorsque les stéroïdes à 21 atomes de carbone sont utilisés comme précurseurs (progestérone et prégnénolone), aucune différence remarquable n'est observée, par rapport aux mammifères et le testicule des téléostéens peut les transformer en stéroïdes à 19 atomes de carbone. Les deux voies sont donc possibles et les enzymes présents chez les téléostéens sont les mêmes chez les mammifères (figure 17).

Une première dérivation, menant à la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP semble particulière au testicule de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Elle consiste en une réduction du groupe cétonique en position 20 de l'hydroxyprogestérone, par la  $20\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase ( $20\beta$ -HSDH) (TAMAOKI et al., 1970) (figure 17).

Une seconde dérivation observée *in vitro* est la formation de la 11-ketotestostérone. Plusieurs hypothèses ont été proposées pour la biosynthèse de ces androgènes 11-oxygénés (figure 17). IDLER et MACNAB (1967) concluent que dans le testicule du saumon atlantique (*Salmo salar*), la  $11\beta$ -hydroxytestostérone est produite par  $11\beta$ -hydroxylation de la testostérone tandis que la 11-ketotestostérone est obtenue par  $17\beta$ -réduction de l'androsténérone. Chez la truite arc-en-ciel, KIME (1979) obtient la 11-ketotestostérone en utilisant comme précurseur la testostérone ou l'androsténédione, mais ce dernier se révèle être le précurseur préférentiellement utilisé.

La  $11\beta$ -hydroxyandrosténédione, précurseur possible de l'androsténérone a été identifiée en incubant les testicules du saumon atlantique avec de l'androsténédione (IDLER et al., 1968). Finalement, la  $11\beta$ -hydroxyandrosténédione, l'androsténérone et la 11-

ketotestostérone ont été décelées après incubations de testicules de différentes espèces (*Microstamus kitt*, SIMPSON et al., 1969 ; *Poecilia latipina*, VAN DEN HURK et LAMBERT, 1977 ; *Oncorhynchus mykiss*, DEPECHE et SIRE, 1982 in FOSTIER et al., 1983).

ARAI et TAMAOKI (1967 in FOSTIER et al., 1983) affirment que la 11-ketotestostérone est produite à partir d'androsténédione via la testostérone et la 11 $\beta$ -hydroxytestostérone. En effet, en incubant des testicules de truites arc-en-ciel avec de la progestérone, ils ne trouvent ni la 11 $\beta$ -hydroxyandrosténédione, ni l'androsténétrione.

COLOMBO et COLOMBO-BELVEDERE (1977) travaillant sur des testicules de *Gillichthys mirabilis* et *Roccus saxatilis* proposent une autre voie métabolique selon laquelle la progestérone subirait une 11 $\beta$ -hydroxylation pour donner la déoxycorticostérone, celle-ci pouvant donner la 11-ketotestostérone via la 11 $\beta$ -hydroxyandrosténédione.

Enfin, IDLER et al. (1968) suggèrent dans le testicule du saumon atlantique une dernière voie de synthèse où la déhydroépiandrostérone serait convertie en 11 $\beta$ -hydroxytestostérone ou en 11-ketotestostérone via l'androsténédiol.

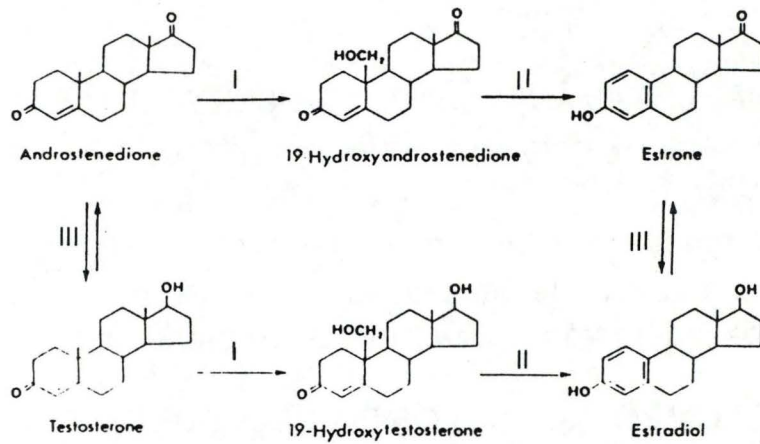
### 2.1.3. Les stéroïdes ovariens.

#### 2.1.3.1 Les oestrogènes.

Chez les téléostéens, l'oestradiol est l'oestrogène majeur, mais on trouve également l'oestrone et l'oestriol chez de nombreuses espèces. Chez *Conger conger*, la concentration ovarienne en oestriol dépasse même celle des autres stéroïdes (LUPO et CHIEFFI, 1963).

En plus de ces 3 oestrogènes apparemment communs aux différentes classes de vertébrés, l'ovaire des





**Figure 18** : Biosynthèse des stéroïdes oestrogènes chez les poissons téléostéens.

- I : 19 $\beta$ -hydroxylase
  - II : Systeme Enzymatique d'Aromatisation (SEA)
  - III : 17 $\beta$ -hydroxystéroïde-oxido-réductase
- D'après KIME, 1987.

téléostéens semble parfois contenir d'autres stéroïdes phénoliques : le 16-épioestriol chez *Cyprinus carpio* et *Ictalurus punctatus*, le 17 $\alpha$ -oestradiol et le 16-ketooestradiol chez *Ictalurus punctatus* (OZON, 1972).

#### 2.1.3.2. Les androgènes.

La production *in vitro* d'androgènes par les ovaires peut être importante. Ainsi chez *Sarotherodon aureus*, 2/3 des stéroïdes produits à partir de la prégnénolone sont des androgènes (ECKSTEIN et KATZ, 1971).

La déhydroépiandrostérone, l'androsténédione et la testostérone sont considérées comme les précurseurs d'oestrogènes (figure 18).

La présence de la 11-ketotestostérone est plus rare. En effet ce stéroïde, déjà rencontré dans le testicule, est une hormone androgène active qui ne se situe pas en intermédiaire métabolique, mais sur une dérivation. L'ovaire des téléostéens est cependant capable d'en opérer la synthèse *in vitro* comme chez *Mugil capito* (ECKSTEIN et EYLATH, 1970), *Mugil cephalus* (AZOURY et ECKSTEIN, 1980), *Sarotherodon aureus* (ECKSTEIN et KATZ, 1971), *Poecilia reticulata* (LAMBERT et PAT, 1975) et *Sparus aurata* (ECKSTEIN et al., 1978) (in FOSTIER et al., 1983).

#### 2.1.3.3. Les corticostéroïdes.

La possibilité que la corticostéroïdogénèse se déroule dans l'ovaire a été rapportée chez plusieurs espèces. Mais elle n'a pas été confirmée chez le poisson chat indien *Heteroptneustes fossilis* (UNGAR et al., 1977 ; TRUSCOTT et al., 1978 in FOSTIER et al., 1983), rejetant ainsi chez cette espèce l'action des déoxycorticostéroïdes sur la maturation finale des ovocytes et sur l'ovulation.



#### 2.1.3.4. Les progestagènes.

La progestérone, la  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone, la  $20\alpha$  ou  $20\beta$ -dihydroprogestérone, la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP sont synthétisées *in vitro* par les ovaires de poisson.

La progestérone a été isolée d'extraits ovariens tandis que la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP a été identifiée dans le plasma de plusieurs espèces.

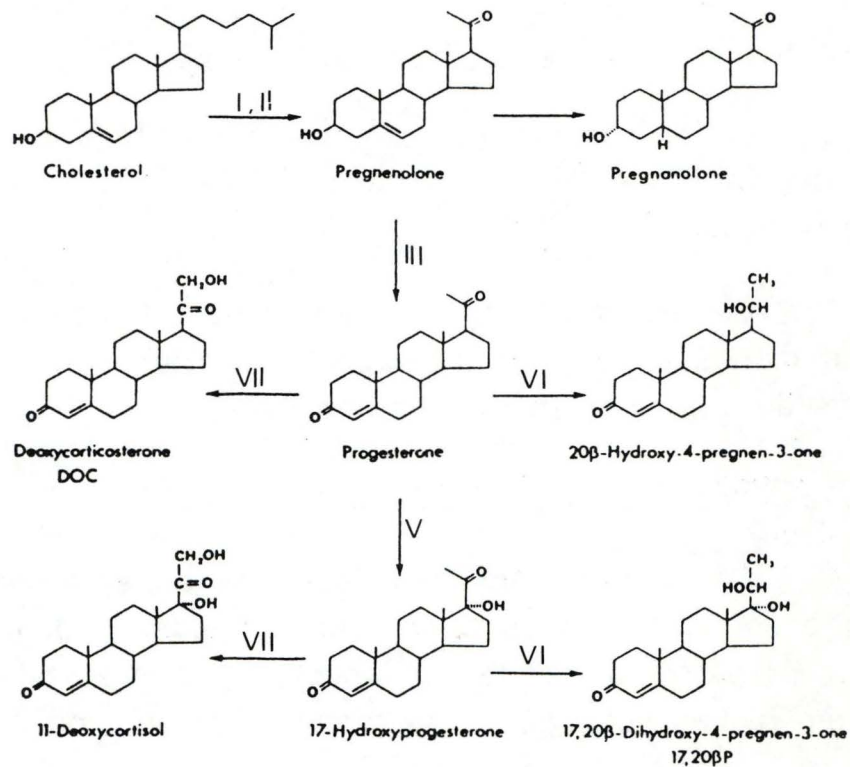
Si ces progestagènes sont plus ou moins actifs dans la maturation finale des ovocytes, le rôle physiologique de leurs dérivés reste encore à démontrer.

#### 2.1.4. Biosynthèse des stéroïdes ovariens.

Chez les mammifères, les voies de synthèse des oestrogènes sont bien établies. Les stéroïdes précurseurs sont la progestérone et la prégnénone, comme pour les androgènes. Les oestrogènes se forment par aromatisation et clivage de la petite chaîne latérale des stéroïdes en C19 : la testostérone et l'androsténédione (figure 18).

Chez les téléostéens, l'ovaire est capable de biosynthèse stéroïdienne *in vitro* à partir d'acétate (*Tilapia aurea*). Les androgènes sont aisément produits à partir de progestérone et de prégnénone et il est probable que les voies empruntées soient semblables à celles du testicule. A partir de la testostérone ou de l'androsténédione, la biosynthèse d'oestradiol est observée chez *Microstomus kitt*, *Mugil cephalus*, *Mugil capito* et *Poecilia reticulata*, celle d'oestrone chez *Microstomus kitt* (REMACLE, 1975).

Les voies métaboliques rencontrées chez les téléostéens pour la synthèse des stéroïdes à 18 atomes de carbone sont reprises dans la figure 18 .



**Figure 19** : Biosynthèse des stéroïdes progestagènes et de leurs dérivés.

I : cholestérol-20 -hydroxylase

II : cholestérol-22 R-hydroxylase

III :  $\Delta^5$ -3 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase

IV :  $\Delta^4$  $\Delta^5$ -isomérase

V : 17 $\alpha$ -hydroxylase

VI : 20 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase

VII : 21-hydroxylase

D'après KIME, 1987.



Comme chez les mammifères, la progestérone est formée via la prégnénolone à partir du cholestérol, mais elle a peu d'importance dans la reproduction des téléostéens. Elle sert principalement d'intermédiaire dans la synthèse des dérivés progestagènes (figure 19).

## 2.2. Les autres sources de stéroïdes sexuels.

D'autres glandes que les gonades peuvent participer à la production de stéroïdes sexuels soit en synthétisant activement des stéroïdes, soit en sécrétant des précurseurs qui pourront être utilisés par les gonades, soit en transformant les stéroïdes en d'autres composés actifs.

### 2.2.1. L'interrénal.

L'interrénal est une glande à fonctionnement équivalant à la corticosurrénale des vertébrés supérieurs.

La prégnénolone, la  $17\alpha$ -hydroxyprégnénolone, la progestérone, la  $17\alpha$  ou  $11\beta$ -hydroxyprogestérone sont les métabolites qui peuvent être produits *in vitro* après incubations d'interrénals (IDLER et TRUSCOTT, 1972). Ceux-ci peuvent être des précurseurs d'hormones sexuelles élaborés dans les gonades. Certains d'entre-eux ont même une activité directe sur la maturation finale.

Le cortisol est métabolisé en précurseurs d'androgènes dans le foie de certaines espèces et KIME (1978) a proposé l'existence d'un axe interrénal-foie-gonade pour la synthèse d'androgènes. De plus, durant les incubations *in vitro* de tissu interrénal de truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), la  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone est transformée en androsténédione, celle-ci en testostérone ou en  $11\beta$ -hydroxyandrosténédione (ARAI et al., 1969). Le tissu interrénal est donc capable d'élaborer lui-même des androgènes actifs.

### 2.2.2. Les corpuscules de Stannius.

Les corpuscules de Stannius se présentent comme de petits corps sphériques, généralement pairs (sauf pour les Salmonidés où l'on en trouve plus de deux). Leur localisation est variable mais ils sont toujours associés aux reins.

Pour IDLER et TRUSCOTT (1972), les corpuscules de Stannius sont capables d'élaborer des stéroïdes. CEDARD et FONTAINE (1963) ont d'ailleurs découvert, chez le saumon atlantique (*Salmo salar*), la présence d'androgènes et d'oestrogènes dans des extraits de corpuscules de Stannius.

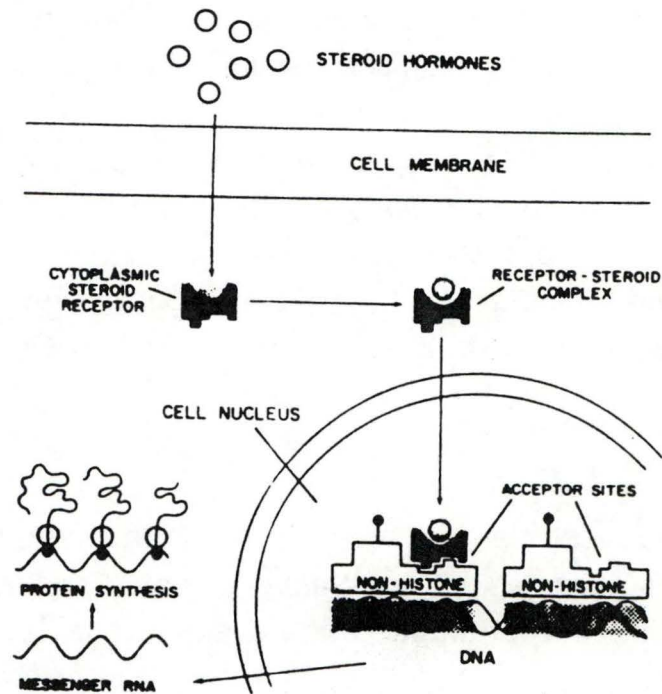
### 2.2.3. Le foie.

Il peut également contribuer à la synthèse de précurseurs d'androgènes. Chez *Salmo trutta*, *Esox lucius* et *Perca fluviatilis*, il est capable de transformer le cortisol en cortisone, en androsténédione et en 11 $\beta$ -hydroxyandrosténédione lesquels peuvent être utilisés comme précurseurs pour la synthèse des androgènes 11-oxygénés dans le testicule (KIME, 1978).

### 2.2.4. Le cerveau.

La détection d'une activité aromatasase dans le cerveau du poisson a soulevé la question de sa contribution dans la maintenance du taux d'oestrogènes plasmatiques spécialement pour des espèces telles que *Myoxocephalus octadecimspinosus* où l'aromatase gonadale apparaît négligeable en comparaison avec celle du cerveau (FOSTIER et al., 1983). Par contre, chez la truite arc-en-ciel, la 17 $\beta$ -oestradiol n'est pas détectable dans le plasma après ovariectomie puisqu'aucune activité de la 3 $\beta$ -HSDH n'est décelée dans le cerveau (LAMBERT et VAN BOHEMEN, 1980).





**Figure 20** : Schéma du mécanisme d'action des hormones stéroïdiennes. D'après NOCK et FERDER, 1981 in BISTER, 1989.

## 2.3. Action des hormones stéroïdes sur les cellules germinales.

Les hormones sexuelles agissent sur des tissus très divers. Leur mécanisme d'action peut se résumer comme suit : (figure 20) (BISTER, 1989)

- Les hormones stéroïdes, petites molécules hydrophobes, traversent la membrane plasmique par simple diffusion.

- A l'intérieur de la cellule cible, chaque type d'hormone stéroïde se fixe fortement mais réversiblement à un récepteur protéique différent se trouvant dans le cytoplasme.

- La fixation de l'hormone entraîne une modification allostérique de la conformation du récepteur protéique qui augmente sa capacité à se fixer sur un accepteur non histonique de la chromatine.

- Des mécanismes de transcription génique sont ainsi déclenchés, aboutissant à la synthèse d'ARN messager qui, dans le cytoplasme cellulaire, provoque la synthèse de protéines spécifiques responsables des actions hormonales.

### 2.3.1. Action des stéroïdes oestrogènes.

Chez les téléostéens femelles adultes, l'hormone maturante (GtH) sécrétée par l'hypophyse induit la vitellogenèse exogène en stimulant la synthèse des oestrogènes par l'ovaire au niveau du follicule. KAGAWA et al. (1982) ont montré que la thèque contribue à la synthèse des oestrogènes en fournissant des androgènes à la *granulosa* où ils subissent leur aromatisation.

Chez les vertébrés ovipares, les oestrogènes stimulent la formation du vitellus dans l'ovocyte. Cet effet a également été vérifié chez quelques espèces de téléostéens (pour synthèse FOSTIER et al., 1983). Le foie synthétise des protéines vitellines, qui sont transportées vers l'ovaire où elles sont absorbées, éventuellement modifiées, et déposées



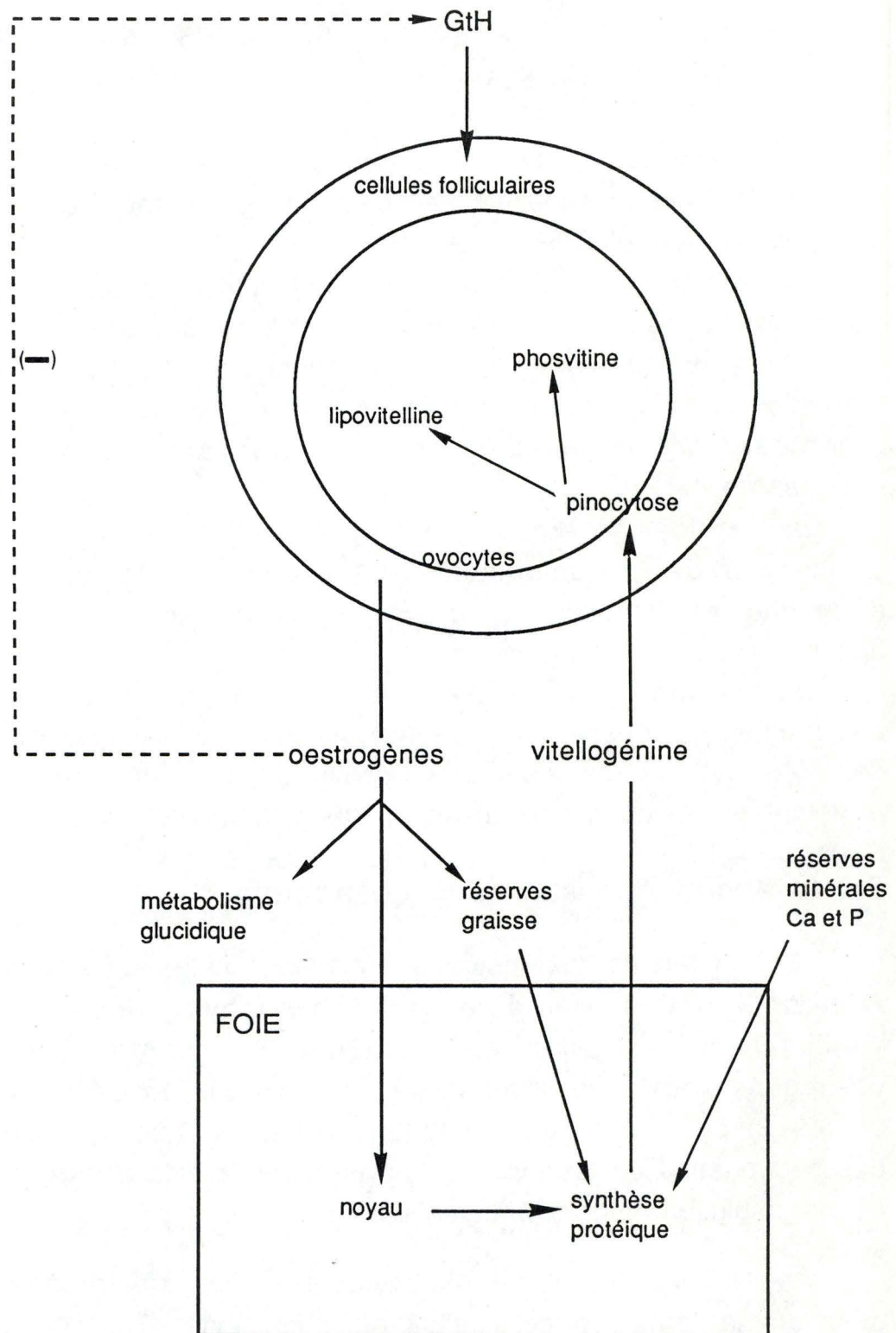


Figure 21 : Schéma synthétisant les différentes étapes de la vitellogénèse. D'après REDSHAW, 1972.

sous forme de vitellus. Les analyses de sang pendant la vitellogenèse montrent en effet un accroissement considérable de la quantité de lipides et de protéines sur lesquelles se lient du calcium et du phosphore. Le précurseur du vitellus, la vitellogénine ou vitelline sérique est une phospholipoprotéine complexée au calcium. L'oestrogène sécrété par l'ovaire stimule la synthèse de vitellogénine dans le foie comme l'ont montré REDSHAW, 1972 ; EMMERSEN et KJAER, 1974 (figure 21).

Cette action indirecte des oestrogènes peut également être suggérée chez les poissons téléostéens par les résultats d'analyses de sang après injection hormonale. Chez *Carassius auratus*, l'oestrone induit une hypertrophie hépatique et l'apparition d'un nouveau complexe protéique renfermant du calcium, du phosphore, des phospholipides et des lipides (REMACLE, 1975). Chez *Oncorhynchus nerka* et *Gadus morrhua* (PLACK et PRITCHARD, 1968), l'oestradiol augmente la teneur en protéines et phospholipides plasmatiques.

En plus de cette participation à la synthèse de vitellogénine, les oestrogènes régulent le métabolisme des carbohydrates et des lipides (FOSTIER et al., 1983).

Les oestrogènes n'ont généralement pas de rôle stimulant dans la maturation finale, mais ils peuvent jouer un rôle indirect dans le moment de cette maturation. Les antioestrogènes stimulent l'ovulation chez le poisson rouge (PANDEY et HOAR, 1972) et la  $17\beta$ -oestradiol diminue les effets des gonadotropines et des préparations pituitaires sur la maturation finale *in vitro* des ovocytes de truite (JALABERT, 1975 ; THEOFAN, 1981 in KESTEMONT, 1988). La  $17\beta$ -oestradiol est toutefois sans effet sur la maturation induite par les stéroïdes. Les oestrogènes exerceraient en fait une inhibition de la conversion de prégnénone en progestérone, bloquant de cette manière l'action de la gonadotropine (THEOFAN, 1981 in KESTEMONT, 1988). Ils



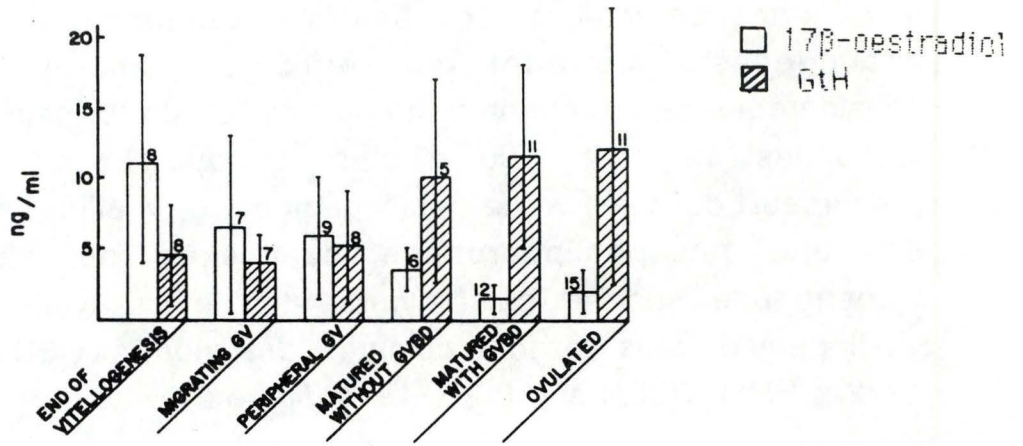


Figure 22 : Taux de GtH et de 17β-oestradiol chez une truite femelle à différents stades de maturité. D'après FOSTIER et al., 1978 in GOETZ, 1983.

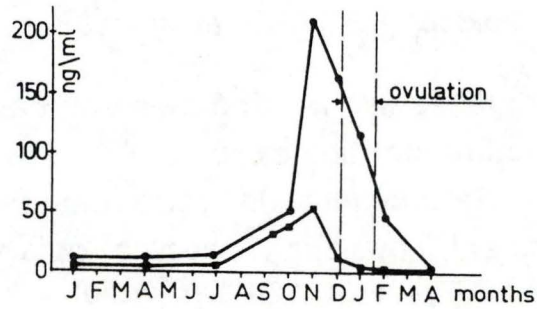


Figure 23 : Taux moyens de la testostérone ● et de la 17β-oestradiol ■ dans le plasma de la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. D'après SCOTT et al., 1980 in FOSTIER et al., 1983.

joueraient de plus un rôle majeur en contrôlant le moment de la maturation finale naturelle en affectant la stimulation gonadotrope de la stéroïdogénèse ovariennne. Les taux d'oestradiol et de gonadotropines ont d'ailleurs des profils de concentration opposés, le niveau d'oestradiol, généralement élevé en fin de vitellogenèse décroît progressivement au cours de la maturation finale et de l'ovulation, alors que c'est l'inverse qui est observé avec la GtH (JALABERT et al., 1978 ; FOSTIER et al., 1981) (figure 22).

Chez les téléostéens mâles adultes, les oestrogènes inhibent, dans la plupart des cas, la spermatogénèse, vraisemblablement par rétroaction négative sur le système hypothalamo-hypophysaire.

### 2.3.2. Action des stéroïdes androgènes.

Chez les téléostéens mâles adultes, la GtH induit la synthèse d'androgènes par les cellules de Leydig et/ou les "lobule-boundary cells" du testicule.

Les androgènes ont divers rôles sur l'activité sexuelle du mâle. Ils exercent une action bénéfique sur la spermatogénèse et sont responsables de la spermiation.

Chez les téléostéens femelles adultes, le taux de testostérone peut être plus élevé que chez les mâles, avec un maximum à la fin de la vitellogenèse (*Oncorhynchus mykiss*, SCOTT et al., 1980) (figure 23). Des études *in vitro* suggèrent que cette testostérone plasmatique constitue le précurseur des stéroïdes oestrogènes tels que la 17 $\beta$ -oestradiol. KATZ et ECKSTEIN (1974) ont montré que l'initiation de la ponte par augmentation de la température était suivie d'une hausse de la 11-ketotestostérone, de la testostérone et de la 11 $\beta$ -hydroxytestostérone dans le plasma de *Sarotherodon aureus*.





### 2.3.3. Action des stéroïdes progestagènes et des corticostéroïdes.

Au niveau des cellules germinales, l'effet le plus manifeste de ces stéroïdes affecte les processus de fin de maturation ovocytaire et d'ovulation.

Un modèle de schéma général du contrôle hormonal de la maturation finale et de l'ovulation a été proposé par JALABERT (1976). Ce schéma a été complété et actualisé par KESTEMONT (1988) à partir de travaux récents sur la physiologie des téléostéens (figure 24).

La gonadotropine maturante (GtH) est d'une importance capitale dans la maturation des ovocytes. Cependant son action n'est pas directe, mais médiée par la production folliculaire d'une hormone induisant la maturation finale (maturation-inducing hormone ou MIH). Cette MIH est la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP. La production de ce stéroïde a lieu via une interaction entre les cellules de la thèque et de la *granulosa*.

En effet, la GtH active l'adénylate cyclase et la formation d'AMP cyclique via des récepteurs spécifiques situés à la fois sur les cellules de la thèque et de la *granulosa*. La présence de ces récepteurs spécifiques sur ces deux types cellulaires a été démontrée par KANAMORI et NAGAHAMA (1988) chez *Oncorhynchus rhodurus*. Au niveau de la thèque, la GtH paraît promouvoir la formation d'une ou plusieurs protéines labiles nécessaires à la libération du cholestérol par le cytochrome P450 mitochondrial. Le cholestérol ainsi libéré sera utilisé pour former la  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone (NAGAHAMA et YAMOSHITA, 1989). Au niveau de la *granulosa*, la GtH active la  $20\beta$ -HSDH, enzyme qui convertit la  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone en  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP. La nature et le mécanisme d'action des messagers intracellulaires générés par l'AMP cyclique sont encore imprécis (NAGAHAMA, 1987).



Certaines expériences utilisant des inhibiteurs de la traduction et de la transcription ont clairement démontré que la synthèse de protéines est nécessaire pour obtenir une maturation complète induite par les stéroïdes. DETTLAFF et SKOBLINA (1969, in GOETZ, 1983) ont été les premiers à signaler que, dans les ovocytes d'esturgeon, la puromycine, inhibiteur de la traduction, bloquait la maturation induite par la progestérone, alors que l'actinomycine D -un inhibiteur de la transcription- ne la bloquait pas. Des travaux ultérieurs effectués sur d'autres espèces ont conduit à des résultats similaires. En combinant ces différents résultats, il apparaît que la transcription de l'ARN n'est pas requise pour la maturation finale (induite par les stéroïdes) alors que la traduction l'est (GOETZ, 1983).

Bien que des études similaires n'aient pas encore été réalisées chez les poissons, plusieurs travaux sur les mécanismes d'action des stéroïdes chez les amphibiens (voir synthèse de MASVI et CLARKE, 1979 ; MALLER, 1985 in KESTEMONT, 1988) ont démontré que les stéroïdes maturationnels agissent au niveau de la membrane de l'ovocyte, en inhibant probablement l'adénylate-cyclase et en abaissant par ce moyen le niveau d'AMP cyclique. Cette diminution d'AMP semble nécessaire à la stimulation de la G.V.B.D. par les stéroïdes, via une inactivation partielle d'une protéine-kinase, dépendante de l'AMP cyclique, qui maintenait des protéines initiateuses sous une forme phosphorylée inactive. L'activation de ces protéines induirait, via des étapes de synthèses protéiques encore inconnues, l'activation d'un facteur favorisant la maturation cytoplasmique (maturation-promoting factor ou MPF) qui serait autocatalytiquement amplifiée. Ce MPF est probablement une phosphoprotéine présente dans le cytoplasme des ovocytes (KESTEMONT, 1988). Plusieurs études *in vitro* menées sur des poissons montrent que les ovocytes nus sont encore sensibles aux effets des stéroïdes



et que les couches folliculaires ne sont pas indispensables à l'induction de la maturation finale par les stéroïdes (JALABERT et al., 1973). Il apparaît également que seuls les stéroïdes extrêmement efficaces dans l'induction de la maturation finale des ovocytes intacts peuvent provoquer la G.V.B.D. dans les ovocytes dénudés. Ces stéroïdes sont les progestagènes ( $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP,  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone et la  $20\beta$ -dihydroprogestérone) et les 11-désoxycorticostéroïdes.

Plusieurs chercheurs ont démontré que la combinaison de certains stéroïdes produit une réponse maturationnelle plus grande lorsque les stéroïdes sont utilisés individuellement. Ainsi le cortisol établit une synergie avec la désoxycorticostérone en induisant la G.V.B.D. dans les ovocytes de poisson-chat (SUNDARARAJ et GOSWAMI, 1971 in KESTEMONT, 1988). Le cortisol et la cortisone augmentent l'efficacité de la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP chez la truite. L'action de ces corticostéroïdes serait la suivante : il existe, dans le sang, des protéines qui se lieraient aux stéroïdes et qui empêcheraient notamment la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP d'exercer son effet. Les stéroïdes 11-désoxycortisol et 11-désoxycorticostérone se lieraient avec les protéines liantes du sang. Cela saturerait ces protéines et rendrait plus disponible la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP par simple déplacement d'équilibre (JALABERT et al., 1972 in KESTEMONT, 1988).

Rappelons enfin que l'ovulation consiste en une rupture du follicule et l'expulsion de l'ovocyte mature. Chez le poisson rouge, l'ovulation a été induite *in vivo* par injection de prostaglandines (STACEY et PANDEY, 1975) et *in vitro* chez la carpe (EPLER, 1978 ; EPLER et al., 1985) ainsi que par l'adrénaline (EPLER, 1978). L'action des prostaglandines est indépendante de la température (EPLER et al., 1985) alors que l'ovulation *in vivo* en dépend (WEIL et al., 1986). Le mécanisme d'action de ces prostaglandines a été vu précédemment (voir 1.1.2.1.).



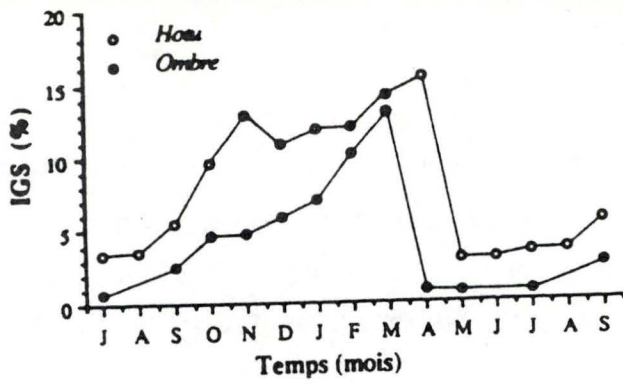


Figure 25 : Variations saisonnières de l'index gonadosomatique (I.G.S.) chez des poissons à ovogenèse synchrone. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.

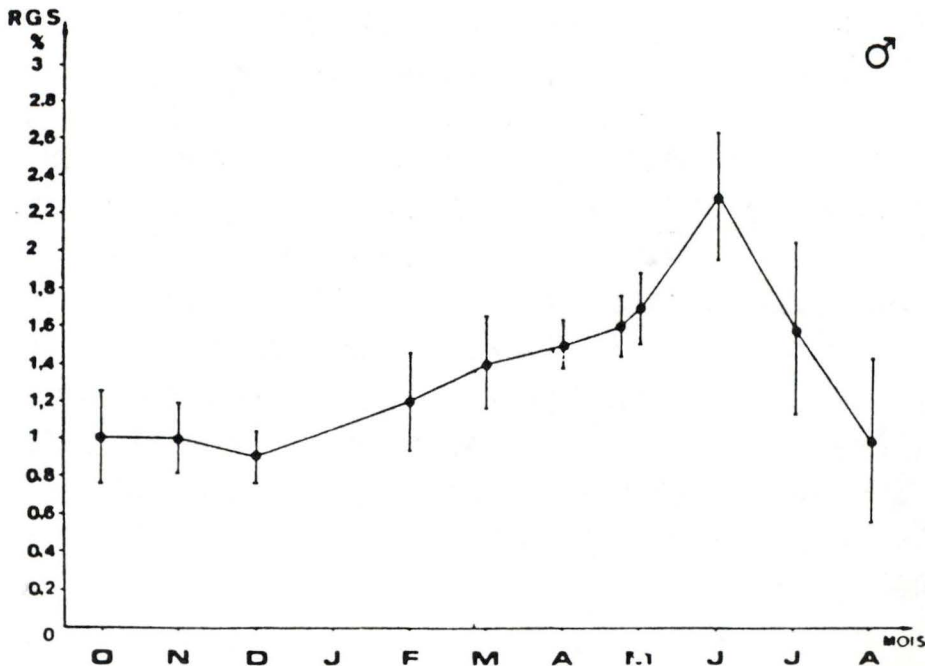
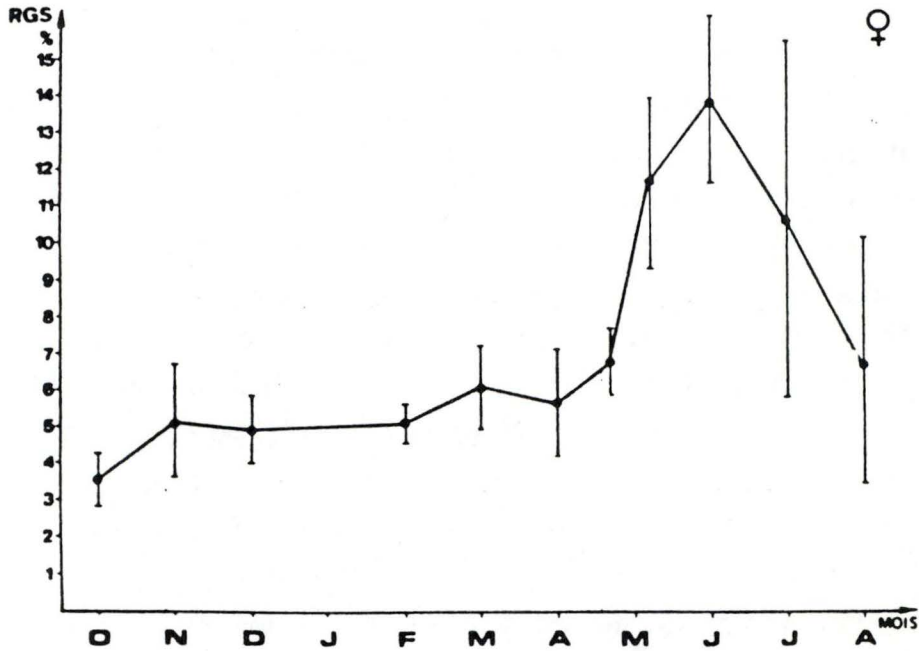


Figure 26 : Variation saisonnière de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) chez les femelles (♀) et les mâles (♂) de goujon (*Gobio gobio*) durant un cyclez annuel. D'après KESTEMONT, 1988.

## 2.4. Evolution de l' indice gonadosomatique et de quelques hormones circulantes chez les poissons téléostéens femelles des régions tempérées.

### 2.4.1. Evolution de l'indice gonadosomatique (I.G.S.).

Les gonades, une fois développées, constituent une part importante du poids corporel du poisson qui peut être exprimée par l'indice gonadosomatique (I.G.S. = rapport en pour-cent entre le poids des gonades et le poids corporel du poisson).

L'examen des variations saisonnières de l' I.G.S. montre que chez les poissons à ponte unique, l' I.G.S. s'élève fortement au moment de la saison de reproduction puis décroît brutalement dès que la ponte a lieu (figure 25).

Au contraire, chez un poisson à ponte multiple, l' I.G.S. augmente nettement dès le retour des conditions favorables, mais le pic d'I.G.S. décroît progressivement et des pontes se produisent durant plusieurs mois et de façon répétée chez une même femelle (KESTEMONT et PHILIPPART, 1991).

L'évolution de l'I.G.S. chez les femelles et les mâles du goujon (*Gobio gobio*) en fonction du temps est présentée à la figure 26. KESTEMONT (1988) observe que chez les femelles, l'I.G.S. augmente très légèrement et de façon non significative pendant les mois d'hiver et au début du printemps. A partir de fin avril, l'augmentation est très rapide et coïncide avec la brusque élévation de la température de l'eau. Les valeurs maximales de l'I.G.S. sont atteintes pendant le mois de juin, mais restent relativement élevées jusqu'en juillet. Les variations individuelles sont à ce moment très importantes, les extrêmes allant de 5 à 16,5 %. En août, l'I.G.S. diminue nettement, à mesure que progresse la phase de régression gonadale. La période de



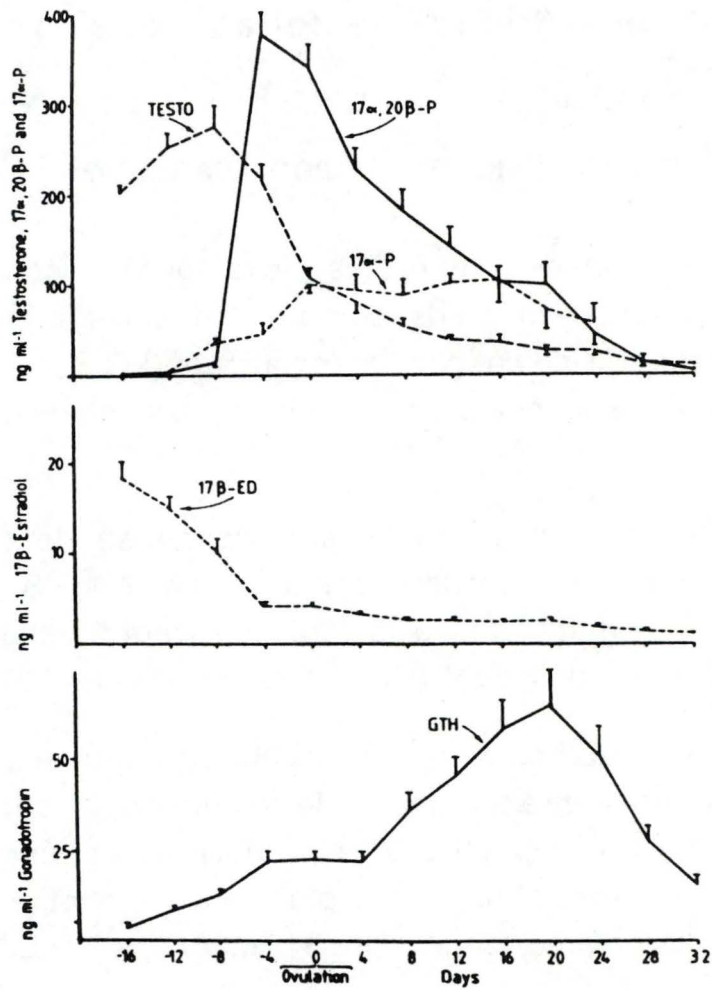


Figure 27 : Evolution du taux de testostérone, de la 17 $\beta$ -oestradiol, de la 17 $\alpha$ -hydroxyprogestérone, de la 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP et de la GtH chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. D'après SCOTT, 1987.

reproduction apparaît donc limitée à quelques mois seulement (mai à juillet).

#### 2.4.2. Evolution de quelques hormones circulantes.

De nombreux travaux ont été réalisés, principalement chez les Salmonidés et les Cyprinidés, sur les variations des taux hormonaux au cours de la saison de reproduction. Ces profils de variations fournissent des informations importantes sur la dynamique et l'évolution du cycle sexuel.

##### 2.4.2.1. La GtH.

Une caractéristique commune aux Cyprinidés et aux Salmonidés est l'augmentation du taux de GtH avant l'ovulation. Ce pic préovulatoire, stimulant la synthèse des stéroïdes ovariens (principalement la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP) impliqués dans la maturation finale des ovocytes et celle des prostaglandines ( $PGF_{2\alpha}$ ) impliquées dans l'ovulation, résulte d'une hausse de la teneur en GnRH associée à la réduction de la concentration en dopamine.

STACEY et al. (1979) ont observé que chez le poisson rouge (*Carassius auratus*) le pic de GtH coïncidait avec l'ovulation et pouvait atteindre une concentration maximum comprise entre 140 et 180 ng/ml (figure 11). Chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), par contre, GOETZ (1983) a constaté que la GtH commençait à augmenter approximativement 10 jours avant l'ovulation et pouvait atteindre une concentration de 10 à 25 ng/ml juste avant ou au moment de l'ovulation.

Contrairement aux Cyprinidés où la GtH retombe rapidement à son niveau de base après l'ovulation (figure 11), celle-ci continue à augmenter durant plusieurs jours chez les Salmonidés (figure 27) suite à la réduction de la rétro-action négative de la testostérone et/ou de la  $17\alpha$ -



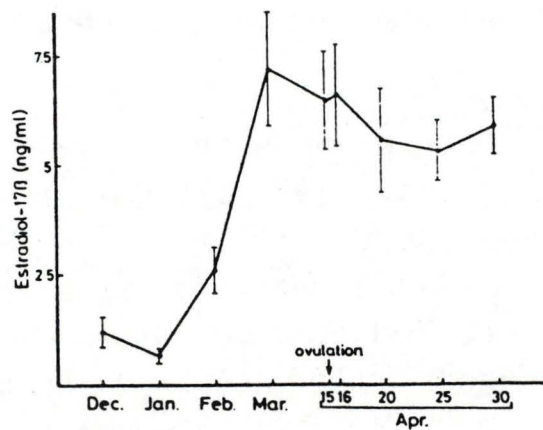
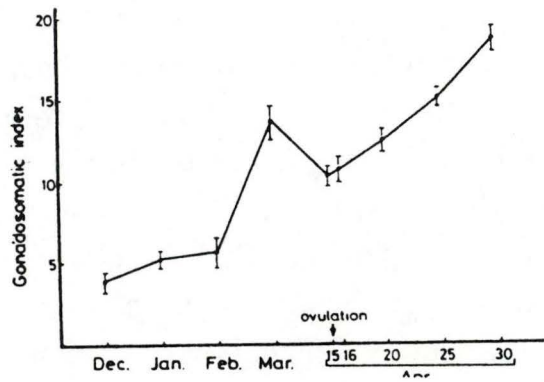
20 $\beta$ -DHP sur l'hypophyse. La GtH revient ensuite à son niveau initial. L'action de la GtH, après l'ovulation, n'est pas connue mais sa présence serait liée à la capacité des Salmonidés de conserver leurs oeufs plusieurs semaines après l'ovulation (KIME, 1987).

Signalons qu'en dehors des périodes d'ovulation et de ponte, le niveau de GtH dans le sang est relativement faible. Cependant, BRETON et al. (1972) ont montré, chez le poisson rouge (*Carassius auratus*), l'existence d'un cycle nyctéméral dans la concentration en GtH circulante, avec un pic maximum de décharge hypophysaire à 11 heures. BILLARD et al. (1983) précisent que ce cycle se réalise via les interactions de la GnRH et de la GRIF, le rétro-contrôle négatif des stéroïdes et l'action des divers facteurs exogènes.

Chez la femelle du goujon (*Gobio gobio*), KESTEMONT (1988) a enregistré une concentration en GtH hypophysaire élevée durant l'hiver, au moment de l'accumulation des vésicules vitellines et une réduction marquée de celle-ci lorsque la température et la photopériode augmentent au printemps. La concentration reste alors faible durant la phase de vitellogenèse active et la période de reproduction. Cependant, les valeurs obtenues par KESTEMONT (1988) sont largement sous-estimées car les échantillons d'hypophyse ont été dosés dans un système R.I.A., calibré pour la GtH de carpe, qui s'est révélée être très spécifique.

#### 2.4.2.2. La 17 $\beta$ -oestradiol.

Durant la vitellogenèse, il existe une bonne corrélation entre l'I.G.S. et le taux de 17 $\beta$ -oestradiol, preuve indirecte que cette hormone est bien impliquée dans le contrôle de la synthèse de vitellogénine par le foie (KAGAWA et al., 1983 ; BRETON et al., 1983) (figure 27).



**Figure 28** : Evolution de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et du taux de la  $17\beta$ -oestradiol plasmatique durant la maturation des gonades chez le poisson rouge (*Carassius auratus*). D'après KAGAWA et al., 1983.



L'augmentation du taux de la  $17\beta$ -oestradiol circulant durant la vitellogenèse active a notamment été montrée par PONCIN (1988). En effet, celui-ci constate un taux moyen de  $17\beta$ -oestradiol nettement supérieur chez des femelles ayant débuté leur vitellogenèse exogène que chez des femelles immatures.

A la fin du cycle sexuel, principalement avant la maturation et l'ovulation, la concentration en oestrogènes décline chez les poissons à ovogenèse synchrone (figure 27). Cette chute réduit la rétro-action négative qu'exercent les hormones stéroïdiennes sur l'hypothalamus et l'hypophyse et permet une décharge ovulatoire de GtH comme le suggèrent HARVEY et HOAR (1980 in PONCIN, 1988).

Les taux d'oestradiol et de GtH, déterminés depuis la fin de la vitellogenèse jusqu'à l'ovulation chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) par FOSTIER et al. (1978 in GOETZ, 1983), indiquent qu'il existe une évolution progressive et opposée de la concentration de ces deux hormones durant cette période (figure 22). L'oestradiol se trouve en concentration élevée à la fin de la vitellogenèse et décroît progressivement durant la maturation finale et l'ovulation. De façon inverse, la concentration en GtH est relativement faible durant la vitellogenèse et augmente régulièrement jusqu'au moment de l'ovulation. La décroissance du taux d'oestrogènes serait le stimulus qui provoquerait l'augmentation de la GtH observée durant la G.V.B.D. et l'ovulation.

Chez le poisson rouge (*Carassius auratus*), poisson à ovogenèse asynchrone, le taux de  $17\beta$ -oestradiol plasmatique reste élevé après l'ovulation (KAGAWA et al., 1983) (figure 28). Ces auteurs signalent que cette différence observée entre le poisson rouge et les Salmonidés est due aux stades de développement des groupes d'ovocytes dans l'ovaire. Après l'ovulation, l'ovaire du *C. auratus* contient

encore des ovocytes protoplasmiques, prévitellogéniques et vitellogéniques, tandis que celui des Salmonidés ne possède plus que des ovocytes protoplasmiques. Des expériences *in vitro* révèlent que les ovocytes vitellogéniques du *C. auratus* sont capables de produire la  $17\beta$ -oestradiol quand ils sont incubés avec de la H.C.G. (Human Chorionic Gonadotropin). Par conséquent, les ovocytes vitellogéniques restant, après l'ovulation, seraient donc responsables de la production de la  $17\beta$ -oestradiol et maintiendraient ce stéroïde à un taux élevé.

#### 2.4.2.3. La testostérone.

En dehors de la période de reproduction, le taux de testostérone est faible chez les femelles. Durant la vitellogenèse, la concentration de cet androgène, synthétisé par l'ovaire puis libéré dans le plasma et converti en oestrogènes au niveau du cerveau et de l'hypophyse qui contiennent une activité aromatase importante, commence à augmenter. Après la vitellogenèse, comme l'activité aromatase est réduite, le taux de testostérone atteint un maximum (figures 27 et 23). Ce pic de testostérone précédant l'ovulation est une caractéristique commune à tous les téléostéens mais son rôle précis n'a pas été établi (KIME, 1987).

FOSTIER et al. (1983) ont montré *in vitro* que les androgènes pouvaient avoir, sur la maturation ovocytaire, un effet direct ou une action en synergie avec la GtH. Ainsi l'injection de testostérone ou d'autres androgènes aromatisables chez des saumons immatures augmente la capacité de synthèse et d'accumulation de GtH au niveau de leur hypophyse mais ne provoque pas sa décharge (KIME, 1987).



#### 2.4.2.4. La 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP.

De nombreux travaux ont montré que la 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP joue un rôle important dans le processus d'ovulation de nombreuses espèces. Ce stéroïde est en effet produit *in vivo* lors d'ovulations naturelles ou induites par injection de GtH (FOSTIER et al, 1981) et déclenche, *in vitro*, la maturation finale (GVBD) des ovocytes matures (JALABERT, 1976).

GOETZ (1983) indique que le taux de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP augmente juste avant l'ovulation et coïncide avec la maturation de la G.V.. Cependant, une différence notable, entre les Salmonidés et certaines espèces de Cyprinidés, est l'absence de quantités importantes de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP durant l'ovulation. Chez la carpe (KIME et DOLBEN, 1985) et chez le poisson rouge (KAGAWA et al., 1983), le taux de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP peut atteindre respectivement des valeurs comprises entre 5 et 25 ng/ml et 150 et 270 pg/ml tandis qu'il peut atteindre 70 à 350 ng/ml chez les Salmonidés (figure 27). Les follicules de ces derniers auraient une capacité plus importante à produire ce stéroïde.

KAGAWA et al. (1983) observent que le taux de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP décroît un jour après l'ovulation chez le poisson rouge. Par contre, chez le saumon amago, le taux postovulatoire de ce stéroïde reste élevé durant un à trois jours. YOUNG et al. (1983) ont montré que ce taux élevé de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP après l'ovulation résultait de la sécrétion de ce stéroïde par les follicules postovulatoires qui posséderaient une activité stéroïdogénique plus longue.

### 3. CONCLUSION.

Comme nous venons de le voir, de très nombreuses investigations entreprises depuis des années sur le déroulement et le contrôle de la reproduction chez les poissons ont débouché sur des résultats importants.

La part relative des différents facteurs est difficile à préciser. Au niveau de l'animal, il y a une sommation et une intégration des stimuli externes et internes et la réalisation de chaque séquence du cycle sexuel résulte d'une combinaison particulière.

L'ensemble des processus de la gamétogenèse est contrôlé par des neurohormones ou des hormones originaires soit de l'hypophyse soit des gonades. Les mesures des quantités d'hormones présentes dans le sang permettent de donner une indication des besoins pour chacune des phases de la gamétogenèse. On est alors capable de mieux comprendre les mécanismes mis en oeuvre pour la régulation de la gamétogenèse et, le cas échéant, il sera possible d'intervenir par ajout d'hormones pour contrôler telle ou telle phase du cycle.

D'autre part, les nombreux facteurs de l'environnement agissent sur la reproduction par l'intermédiaire d'hormones et de neurohormones. L'utilisation de ces facteurs sur les phases de recrudescence ou de régression gonadale peut ainsi accélérer, maintenir ou retarder la gamétogenèse. Il est également possible de manipuler les facteurs impliqués dans la maturation finale et l'ovulation afin d'induire ou d'inhiber la ponte des femelles.

KESTEMONT (1987, 88, 89, 90) ayant entrepris une étude approfondie de la gamétogenèse chez le goujon pour définir d'une part, l'importance des variations saisonnières sur la gamétogenèse sous différents régimes thermiques et photopériodiques et d'autres part pour définir les différents



changements cellulaires intervenant dans les gonades mâles et femelles. Il s'avérait intéressant de réaliser une analyse approfondie de l'évolution des hormones sexuelles plasmatiques ( $17\beta$ -oestradiol, testostérone et  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone) afin de pouvoir contrôler efficacement le déroulement du cycle reproducteur de cette espèce. Cette analyse a été mise en relation avec l'évolution des ovocytes au sein de l'ovaire.

DEUXIEME PARTIE :  
PARTIE EXPERIMENTALE.



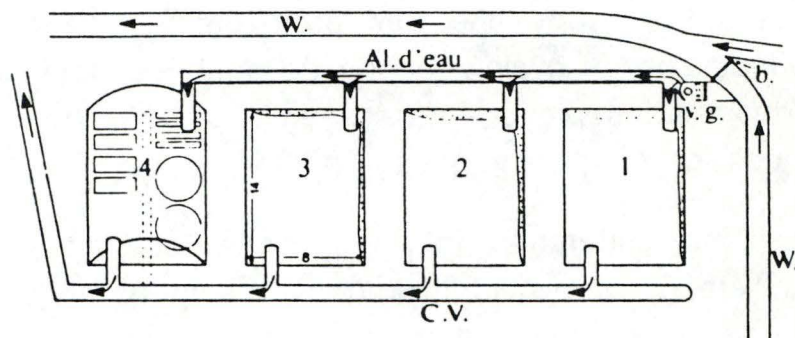
## Deuxième partie : partie expérimentale.

### INTRODUCTION.

Dans cette partie expérimentale, nous avons mesuré chez le goujon *Gobio gobio*, l'évolution simultanée de plusieurs hormones ( $17\beta$ -oestradiol, testostérone et  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone) au cours du cycle sexuel en augmentant la fréquence des prélèvements pendant les phases principales du cycle (période de ponte) et tenté de les relier à des stades d'ovogenèse définis à partir de critères histologiques et morphologiques.

Nos recherches ont été réalisées sur des poissons élevés en étang de pisciculture (milieu semi-naturel) et les résultats comparés aux valeurs obtenues pour des poissons capturés en rivière (milieu naturel).

La présentation du goujon (à savoir sa position systématique, sa description morphologique, sa distribution géographique, ses exigences écologiques, sa croissance et son régime alimentaire) ne sera pas envisagée dans le cadre de cette étude. Une synthèse sur ces différentes informations ayant déjà été réalisée par CHAPEAU (1983) et KESTEMONT (1988). Rappelons toutefois que le goujon est un petit poisson téléostéen appartenant à la famille des Cyprinidés (photo 1). Il possède une paire de barbillons courts. Poisson omnivore, fousseur, affectionnant les fonds de gravier, il se reproduit de mai à juin et sa ponte est fractionnée (développement asynchrone des ovocytes).



**Figure 29** : Infrastructure de recherche à la pisciculture expérimentale d'Haugimont. 1-3 : étangs de 112 m<sup>2</sup> ; 4 : serre équipée de bassin d'élevage; W : ruisseau le Wanet; Al d'eau : alimentation en eau; c.v. : canal de vidange; v : vanne; g : grille; b : barrage. D'après KESTEMONT, 1988.



## 4. MATERIEL ET METHODES.

### **4.1. Conditions expérimentales.**

#### 4.1.1. Le milieu semi-naturel.

##### 4.1.1.1. Constitution du stock de géniteurs et conditions de stockage.

Le 4 octobre 1990, 504 goujons adultes, âgés de 2 ou 3 ans, d'une taille de 86 à 155 mm et provenant de la pisciculture d'Haugimont, ont été placés dans un des étangs du Domaine des Facultés Universitaires de Namur à Haugimont (Faulx-les-Tombes).

L'étang, d'une superficie de 112 m<sup>2</sup> (14 x 8 m) à fond vaso-graveleux, est alimenté en eau de façon intermittente grâce à une dérivation du Wanet, petit affluent du Samson (rivière salmonicole) (figure 29 et photos 2 et 3). Le Wanet traverse en amont de la dérivation une zone agricole dont les eaux de ruissellement constituent une part importante de son débit. Il possède de la sorte une eau riche en nitrates et phosphates, favorisant un développement abondant d'algues filamenteuses (*Spirogyra*). Durant l'été, un apport ponctuel d'eau compense les pertes dues à l'infiltration et l'évaporation.

L'alimentation des goujons se compose de zooplancton et de macroinvertébrés benthiques constituant la faune endémique de l'étang. Un apport de granulés (aliment pour truites à 46 % protéines brutes : Trouvit 1, Trow & Co, Gent) complète cette nourriture naturelle disponible.



PLANCHE 1 : 1. Le goujon (*Gobio gobio* L.). 2-3. Pisciculture expérimentale (UNECE) à Haugimont (Faulx-les-Tombes).



Tableau 4 : Nombre de poissons prélevés pour nos expériences lors des pêches effectuées dans l'étang entre le 10 octobre 1990 et le 27 juin 1991

Date	Nombre de poissons prélevés		
	Males	Femelles	Total
18/10/90	9	3	12
7/12/90	6	10	16
12/12/90	6	4	10
14/3/91	6	6	12
4/4/91	8	3	11
11/4/91	9	9	18
17/4/91	9	6	15
26/4/91	7	3	10
3/5/91	7	3	10
13/5/91	6	3	9
22/5/91	7	5	12
29/5/91	9	3	12
5/6/91	6	3	9
19/6/91	4	0	4
27/6/91	0	0	0
	99	61	160

La température de l'eau est mesurée toutes les semaines à l'aide d'un thermomètre à mercure avec une précision de 0,5°C.

#### 4.1.1.2. Méthode de capture.

Les goujons sont capturés par pêche électrique. Son principe est basé sur une propriété particulière du courant électrique qui peut pénétrer dans l'organisme à travers la peau et exciter les cellules nerveuses sensibles ou motrices. Son application est simple: il suffit de créer un champ électrique dans le milieu à prospecter. Ce champ électrique est limité d'un côté par l'anode (disque grillagé de 40 cm de diamètre muni d'un manche) et de l'autre par la cathode (grille flottante). Ces deux électrodes sont reliées à un groupe électrogène de marque DEKA de 3 kilowatts de puissance, par des câbles. Le groupe électrogène génère un courant alternatif redressé et lissé de 300 volts et d'une intensité de 2 à 4 ampères.

Deux personnes sont nécessaires pour réaliser la pêche, l'une manipulant l'anode, l'autre récoltant les poissons à l'aide d'une épuisette.

Les réactions et mécanismes physiologiques des poissons lors de la pêche électrique ont été décrits par MICHA et RUWET (1970).

Les poissons capturés sont directement placés dans une cuve remplie d'eau, ils sont ensuite acheminés au laboratoire de la pisciculture d'Haugimont où ils reçoivent une aération continue. Le tableau 4 reprend les dates auxquelles ont été réalisées les différentes pêches dans l'étang ainsi que le nombre de poissons qui ont été prélevés



Tableau 5 : Nombre de poissons prélevés pour nos expériences lors des pêches organisées sur la Semois entre le 25 avril et le 4 juillet 1991.

Date	Station	Nombre de poissons prélevés		
		Males	Femelles	Total
25/4/91	Auby	8	9	17
27/5/91	Herbeumont	6	6	12
17/6/91	Herbeumont	5	3	8
4/7/91	Herbeumont	6	7	13
		25	25	50

pour l'expérimentation. Les poissons qui n'ont pas été utilisés sont ensuite remis dans l'étang.

#### 4.1.2. Le milieu naturel.

Le milieu naturel qui a été choisi est la Semois (rivière de la zone à barbeau supérieure). Ce milieu présente deux avantages : premièrement, le goujon s'y rencontre en abondance; deuxièmement, sa capture a pu être réalisée conjointement au suivi scientifique des populations de saumons dans le cadre du projet Saumon 2000.

##### 4.1.2.1. Méthode de capture.

Comme dans l'étang, les goujons sont capturés par pêche à l'électricité (grâce au même matériel). Une fois capturés, les goujons sont placés directement dans une cuve, alimentée par une bonbonne d'oxygène. Le transport, qui s'effectue en camionnette jusqu'au laboratoire, ne pose généralement pas de problème. Là, les poissons sont transférés dans un aquarium muni d'un aérateur et d'un filtre.

La température de l'eau, lors de chaque pêche, a été relevée à l'aide d'un thermomètre à mercure avec une précision de 1°C.

Le tableau 5 reprend les dates et les lieux des différentes pêches qui ont été réalisées sur la Semois ainsi que le nombre de poissons qui ont été prélevés pour l'expérience.



## 4.2. Mesure des paramètres morphologiques.

Les goujons préalablement anesthésiés avec de l'éther monophénylique d'éthylèneglycol (2-5 ml/10 l d'eau) sont pesés à l'aide d'une balance BRAINWEIGH B1500 OHAUS avec une précision de 0,1g et mesurés au millimètre près avec une règle à butée. Une fois le prélèvement sanguin réalisé, les poissons sont décapités, les gonades sont prélevées, pesées avec une balance SARTORIUS B120S avec une précision de 0,1 mg, puis l'une d'entre elles est placée dans une solution de bouin (fixateur histologique dont la composition est la suivante : solution aqueuse saturée en acide picrique, 75%, formol de commerce, 20% et acide acétique glacial, 5%), l'autre est congelée et sera analysée par SOPHIE CEULEMANS dans le cadre de son mémoire (Mobilisation des réserves énergétiques du foie vers l'ovaire et évolution de la qualité des ovules au cours de la saison de reproduction chez un poisson à ovogenèse asynchrone le goujon (*Gobio gobio*)).

### 4.2.1. Le facteur de condition.

Le facteur de condition K permet d'estimer la façon dont les poissons réagissent aux conditions de stockage en fonction de la saison et de leur état de maturité. Il se calcule par la formule:

$$K = P \times 100 / L^3$$

où P est le poids total du poisson intact (en g) et L sa longueur totale (en cm).

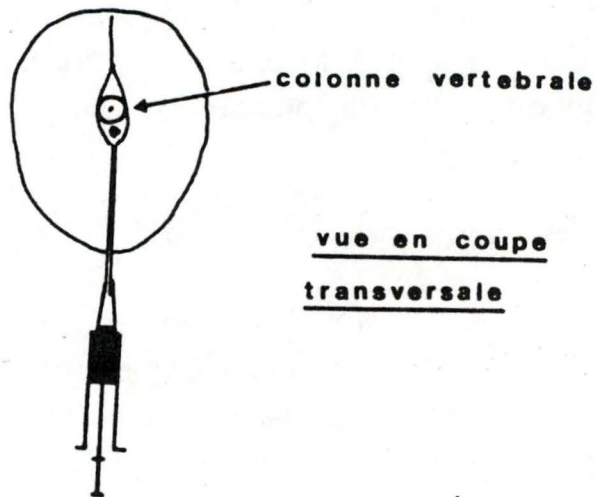
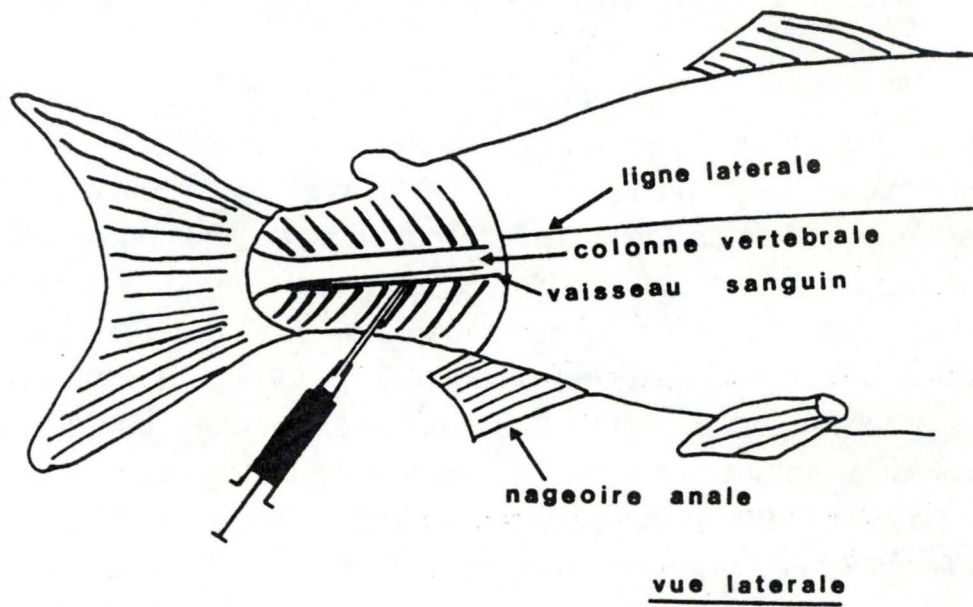


Figure 30 : Schéma montrant la position de l'aiguille lors de la prise de sang.



Ce rapport étant dépendant du poids des gonades, nous sommes amenés à définir un facteur  $K_1$ , en relation avec le développement de la masse gonadale.

$$K_1 = (P-G) \times 100 / L^3$$

où P et L sont les mêmes que précédemment et G représente le poids des gonades (en g).

$K - K_1$  donne une estimation du développement gonadal corrélée à la condition de l'animal. Cette valeur est représentée par une aire comprise entre les profils de ces deux paramètres.

#### 4.2.2. L'indice gonadosomatique ou I.G.S.

L'I.G.S. est le rapport entre le poids des gonades (G en g) et le poids total du poisson (P en g).

$$\text{I.G.S.} = G \times 100 / P$$

### 4.3. Examen endocrinologique.

#### 4.3.1. Prélèvements sanguins.

Les poissons étant anesthésiés, les prises de sang sont effectuées au niveau du pédoncule caudal au moyen de seringues héparinées (figure 30). Un maximum de sang est prélevé chez chaque individu et placé dans des eppendorfs préalablement héparinés. Le plasma séparé des éléments figurés par centrifugation (15 min à 10000g) est ensuite recueilli à l'aide d'une pipette pasteur et surgelé à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment du dosage.

Les prélèvements sanguins s'effectuent toujours le matin entre 10 et 12 heures.

#### 4.3.2. Dosages hormonaux.

Les taux de  $17\beta$ -oestradiol et de testostérone ont été dosés par R.I.A. (RadioImmunoAssay) après extraction du plasma avec une solution de cyclohexane/éthylacétate, en utilisant des kits commerciaux ( $17\beta$ -oestradiol : BIOTECX Labs ; testostérone: MALLINCKRODT). Ces dosages ont été réalisés au Laboratoire d'Endocrinologie Comparée du Professeur KUHN à la Katholiek Universiteit van Leuven (K.U.L.).

Le taux de  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone a été également dosé par R.I.A., après extraction du plasma avec une solution de cyclohexane/éthylacétate. Ce dosage a été effectué au Laboratoire de Physiologie des Poissons de l'I.N.R.A. (Institut National de la Recherche Agronomique) à Rennes (France) grâce à l'aide du Dr A. FOSTIER.

##### 4.3.2.1. Extraction.

Le dosage des stéroïdes par R.I.A. dans les liquides biologiques est effectué après extraction par un solvant organique. L'extraction par des solvants de polarité adaptée à celle des stéroïdes à extraire permet de les concentrer. En effet, après addition de solvant, il se produit une rupture des liaisons hormone-protéine par dénaturation des protéines.



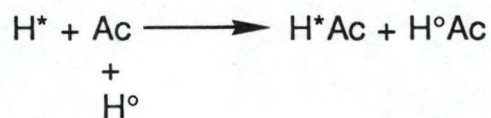
La méthodologie de l'extraction est la suivante :

- Prélever 25, 50 ou 75  $\mu$ l de plasma (suivant la quantité disponible) dans des tubes en verre.
- Ajouter respectivement 400, 800 ou 1200  $\mu$ l d'une solution de cyclohexane/éthylacétate (v/v).
- Passer au vortex 1 minute.
- Laisser décanter pendant 5 minutes.
- Prélever toute la phase aqueuse au moyen d'une pipette pasteur et la placer dans un tube en verre.
- Evaporer cette phase aqueuse à l'aide d'air sous pression.
- Boucher les tubes avec du parafilm et les conserver à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au moment du dosage.

#### 4.3.2.2. Dosage.

##### 4.3.2.2.1. Principe du dosage (FRANCHIMONT, 1970).

Les dosages hormonaux sont réalisés par la méthode R.I.A., celle-ci est basée sur la compétition entre une quantité déterminée d'hormone marquée ( $\text{H}^*$ ) radioactivement ( $^{125}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$ ) et une quantité variable et inconnue d'hormone non marquée ( $\text{H}^{\circ}$ ), se trouvant dans l'échantillon à analyser, vis-à-vis d'un anticorps qui leur est spécifique.



La quantité d'anticorps (Ac) et d'hormone marquée ( $\text{H}^*$ ) restant constante, toute augmentation d'hormone non marquée ( $\text{H}^{\circ}$ ) entraîne une réduction de l'hormone marquée qui se fixe aux anticorps.

Pour réaliser un dosage, une courbe standard est d'abord établie, elle montre la décroissance du pourcentage d'hormone marquée qui se fixe aux anticorps en présence d'une quantité progressivement croissante d'hormone non marquée. Le pourcentage d'hormone marquée qui se fixe aux anticorps est alors déterminé dans des conditions identiques mais en utilisant à la place des quantités connues d'hormone non marquée, les milieux biologiques dont on désire connaître le taux en cette hormone. Cette valeur est alors portée sur la courbe de référence et la quantité d'hormone présente dans l'échantillon utilisé peut être déduite.

#### 4.3.2.2.2. Remise en solution des stéroïdes extraits.

Avant le dosage, les stéroïdes sont remis en solution dans du tampon phosphate 0,01 M à pH 7,5 à savoir 40  $\mu$ l pour les femelles et 13  $\mu$ l pour les mâles.

Le tampon phosphate est préparé à partir de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,3450 g/250 ml) et de  $\text{Na HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (1,7799 g/l). L'acide est ajouté au sel jusqu'à ce que le pH soit atteint. Ensuite, les produits suivants y sont additionnés :

- 7.31 g/l NaCl (0.126 mole/l);
- 0.975 g/l  $\text{NaN}_3$  (0.015 mole/l);
- 1 g/l B.S.A. (Bovine Serum Albumine).

#### 4.3.2.2.3. Dosage de la $17\beta$ -oestradiol.

Le kit pour le dosage radioimmunologique de l'oestradiol provient de la firme BIOTECX LABORATORIES (U.S.A.). Il est composé :

- D'un flacon de 10 ml d'oestradiol marquée à l'iode 125 (activité < 4  $\mu$ Ci).



- D'un flacon de 10 ml d'antisérum de lapin anti-oestradiol.
- De 6 flacons de 2 ml, correspondant aux 6 standards de concentrations suivantes : 0, 10, 100, 400, 1000 et 3000 pg/ml en sérum humain.
- D'un flacon de 100 ml d'une solution d'antisérum de chèvre antigammaglobuline de lapin et de polyéthylène glycol (PEG).

Le taux d'oestradiol est mesuré chez les femelles de la façon suivante :

- Prélever 13  $\mu$ l de chaque échantillon dans des tubes en verre.
- Ajouter 25  $\mu$ l d'antisérum de lapin anti-oestradiol.
- Laisser incuber 2 heures à température ambiante.
- Ajouter 25  $\mu$ l d'oestradiol  $^{125}$ I.
- Laisser incuber toute la nuit à température ambiante.
- Ajouter 125  $\mu$ l de la solution d'antisérum de chèvre antigammaglobuline de lapin et de PEG dans tous les tubes et passer au vortex pour favoriser le mélange. Cet anticorps associé au PEG a pour but de précipiter l'oestradiol liée au premier anticorps (antisérum de lapin anti-oestradiol).
- Centrifuger à 3000g pendant 15 minutes.
- Aspirer le surnageant directement après la centrifugation.
- Compter l'activité résiduelle de chaque tube au compteur à scintillation gamma (GAMMA MASTER COUNTER 1277). Le temps de comptage est fixé à 1 minute.

La courbe standard est réalisée en remplaçant les 13  $\mu$ l d'échantillon par 13  $\mu$ l de standard d'oestradiol à des concentrations de 3000 ; 1500 ; 750 ; 375 ; 187,5 ; 93,70 ;

47,80 ; 23,90 ; 0 pg/ml. Les différentes dilutions sont faites en triple à partir du standard 3000 pg/ml fourni dans le kit.

Un ordinateur relié au compteur nous donne l'activité de chaque tube en cpm (coup par minute), il calcule aussi le rapport entre cette activité (B) et l'activité du standard zéro (B<sub>0</sub>) en %.

$$B/B_0 \text{ en \%} = \frac{\text{activité des tubes}}{\text{activité du standard zéro}} \times 100$$

Enfin, il déduit de la courbe standard (réalisée en portant les valeurs B/B<sub>0</sub> obtenues pour chaque standard en fonction de leur concentration respective) la concentration en oestradiol de chaque tube (C<sub>t</sub>).

La concentration en oestradiol en pg/ml est donnée par la formule :

$$\frac{C_t \times 0,04 \times 1000}{\text{quantité de plasma de départ (75,50 ou 25 } \mu\text{l)}} = \text{cc (pg/ml)}$$

#### 4.3.2.2.4. Dosage de la testostérone.

Le dosage radioimmunologique de la testostérone a été réalisé à la fois chez les goujons mâles et femelles. Le kit est fourni par la firme MALLINCKRODT DIAGNOSTICA (FRANCE). Il se compose :

- De 2 flacons de 10 ml de testostérone marquée à l'iode 125 (activité < 4 μCi).



- De 2 flacons de 10 ml d'antisérum de lapin anti-testostérone.
- De 8 flacons de 0,5 ml, correspondant aux 8 standards de concentrations suivantes : 0 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 ; 2,5 ; 5 ; 10 et 20 ng/ml en sérum humain.
- D'un flacon de 50 ml d'une solution d'antisérum de chèvre antigammaglobuline de lapin et de polyéthylène glycol (PEG).

Le dosage se réalise comme suit :

- Prélever 13  $\mu$ l de chaque échantillon dans des tubes en verre.
- Ajouter 25  $\mu$ l d'antisérum de lapin anti-testostérone.
- Laisser incuber 2 heures à température ambiante.
- Ajouter 25  $\mu$ l de testostérone  $^{125}$ I.
- Laisser incuber toute la nuit à température ambiante.
- Ajouter 125  $\mu$ l de la solution d'antisérum de chèvre antigammaglobuline de lapin et de PEG dans tous les tubes et passer au vortex pour favoriser le mélange. Ce deuxième anticorps associé au PEG précipite la testostérone liée au premier anticorps (antisérum de lapin anti-testostérone).
- Centrifuger à 3000g pendant 15 minutes.
- Aspirer le surnageant directement après la centrifugation.
- Compter l'activité résiduelle de chaque tube au compteur à scintillation gamma (GAMMA MASTER COUNTER 1277). Le temps de comptage est fixé à 1 minute.

La courbe standard est réalisée en remplaçant les 13  $\mu$ l d'échantillon par 13  $\mu$ l de standard de testostérone à des concentrations de 20 ; 10 ; 5 ; 1,25 ; 0,625 ; 0,312 ; 0

ng/ml. Les différentes dilutions sont faites en triple à partir du standard 20 ng/ml fourni dans le kit.

L'activité de chaque tube (en cpm), le rapport B/B<sub>0</sub> en % et la concentration de chaque tube (C<sub>t</sub>) sont données par l'ordinateur.

La concentration de testostérone en ng/ml se calcule pour les mâles comme suit :

$$\frac{C_t \times 0,013 \times 1000}{\text{quantité de plasma de départ (75,50 ou 25 } \mu\text{l)}} = \text{cc (ng/ml)}$$

et pour les femelles :

$$\frac{C_t \times 0,04 \times 1000}{\text{quantité de plasma de départ (75,50 ou 25 } \mu\text{l)}} = \text{cc (ng/ml)}$$

#### 4.3.2.2.5. Dosage de la 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone.

Le taux de 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone (17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP) a été dosé chez les goujons femelles.

Pour ce dosage, nous avons besoin :

- De tampon R.I.A. (ou tampon phosphate-gelatine 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub>). Le tampon phosphate 0,01 M est réalisé à partir de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> anhydre (1,2g/l), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> anhydre (1,42 g/l) et de NaCl 9<sup>0</sup>/<sub>00</sub> (9g/l). Le pH est ajusté à 7,25 avec du NaOH 2N. La gelatine (1<sup>0</sup>/<sub>00</sub>) diluée dans une partie du



tampon, chauffée à 60°C et bien mélangée est ensuite ajoutée.

- D'anticorps : l'immunosérum anti-17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -DHP a été obtenu par immunisation d'un lapin par le dérivé 3-ométhylcarboxyméthyltoxine couplé à l'albumine sérique bovine.
- D'hormone marquée : la 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP a été préparée par réduction de la 1.2.6.7-<sup>3</sup>H-17 $\alpha$ -DHP (AMERSHAM CENTER, activité spécifique = 2.52 TBq/mM). Elle est utilisée à une concentration de 10000 à 15000 cpm/100  $\mu$ l.
- De PEG 25% : mélanger 25 g de PEG à 75 ml de tampon phosphate.
- De gammaglobulines de lapin (50 mg/100ml de tampon R.I.A.).
- D'éthanol absolu non distillé.
- D'OCS (scintillateur xylène).

Le dosage a été effectué de la façon suivante :

- Ajouter 100  $\mu$ l de tampon R.I.A. aux 14  $\mu$ l restant des échantillons.
- Passer au vortex.
- Reprendre 100  $\mu$ l d'échantillon et les répartir dans les tubes de dosage (tube en polyéthylène).
- Ajouter 100  $\mu$ l d'anticorps en solution dans les gammaglobulines de lapin.
- Passer au vortex.
- Préincuber 2 heures à 4°C.
- Ajouter 100  $\mu$ l d'hormone marquée.
- Passer au vortex.
- Incuber 3 heures à 4°C.
- Ajouter 2 ml de PEG 25%.
- Incuber la nuit à 4°C.

Tableau 6 : Méthodologie suivie pour l'étalonnage du dosage de la 17 $\alpha$ -hydroxy-20  $\beta$ -dihydroprogestérone.

- Tampon R.I.A. avec gelatine.
- Solution mère de 100  $\mu$ g/ml de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP dans de l'éthanol. La solution mère (M) doit être équilibrée à la température de sa préparation.
- Solution A : 1 ml de M dans 100 ml de tampon (1mg/ml) en fiole jaugée.
- Solution B : 1 ml de A dans 10 ml de tampon (100 ng/ml).
- Solution C : 1 ml de B dans 10 ml de tampon ( 10 ng/ml).
- Solution D : 1 ml de C dans 10 ml de tampon (1ng/ml).

Les solutions B, C, D doivent être préparées dans des grands tubes. Dans des tubes à hémolyse en verre préparez ensuite :

Dose (pg)	Vol. tampon (ml)	Vol. sol. B (ml)	Vol. sol. C (ml)	Vol. sol. D (ml)
3000	700	300	-	-
1800	820	180	-	-
1100	890	110	-	-
650	350	-	650	-
400	600	-	400	-
250	750	-	250	-
150	850	-	150	-
90	100	-	-	900
55	450	-	-	550
35	650	-	-	350
20	800	-	-	200
12	880	-	-	120
8	920	-	-	80
4	960	-	-	40
2	980	-	-	20



- Centrifuger à 3500g pendant 30 minutes à 10°C.
- Eliminer le surnageant par retournement des tubes.
- Ajouter 2 ml de PEG 25%.
- Centrifuger à 3500g pendant 20 minutes à 10°C.
- Eliminer le surnageant par retournement des tubes.
- Ajouter 100 µl d'éthanol absolu non distillé.
- Passer au vortex.
- Ajouter 2,8 ml d'OCS.
- Chauffer à 56°C et agiter vigoureusement.
- Passer au compteur à scintillation β (MINAXI TRICARB 4000 SERIES, UNITED TECHNOLOGIES PACKARD).

La courbe standard est réalisée de la même manière mais les 100 µl d'échantillon sont remplacés par 100 µl de stéroïdes purs à des doses croissantes : 2, 4, 8, 12, 20, 35, 55, 90, 150, 250, 400, 650, 1100, 1800 et 3000 pg et en triplicat. Nous avons également fait 6 blancs et 4 standards totaux, la méthodologie de cet étalonnage est reprise dans le tableau 6.

Le compteur nous donne l'activité de chaque tube en cpm ainsi que la concentration en 17α-20β-DHP dans chaque tube (C<sub>t</sub>). La concentration en pg/ml est donnée par la formule :

$$\frac{C_t \times 40 \times 1000}{14 \times \text{quantité de plasma de départ (75,50 ou 25 } \mu\text{l)}} = \text{cc (pg/ml)}$$





- Monter la préparation au DPX après avoir nettoyé la lame du tissu avec un chiffon.

#### 4.4.2. Détermination des stades de maturité.

Bien que l'ovogenèse soit un processus continu, nous avons été amenés à définir différents stades de maturité. Nous nous attachons directement à la croissance de l'ovocyte sans prendre en considération les étapes de la transformation de l'ovogonie primordiale en ovocyte primaire.

a) Le stade 1 ou protoplasmique :

Les ovocytes sont de petite taille et possèdent un gros noyau central. De nombreux nucléoles sont accolés à la membrane nucléaire. Le cytoplasme est très basophile et les membranes ovocytaires ont un aspect indifférencié.

b) Le stade 2 ou le début de la prévitellogenèse :

Accumulation de vitellus sous forme de vésicules de vitellus en périphérie du cytoplasme (anneau de 2 ou 3 rangées). Ces vésicules sont de nature glycoprotéique. Augmentation du volume cellulaire.

c) Le stade 3 ou la prévitellogenèse avancée :

Le cytoplasme est rempli par les vésicules glycoprotéiques. Sa basophilie a diminué. Les membranes cellulaires et folliculaires sont bien différenciées. Il y a toujours augmentation de la taille des ovocytes.

d) Le stade 4 ou la vitellogenèse précoce :

Apparition de petites inclusions, fortement colorables à la phloxine, dans la zone périphérique du cytoplasme. Ces inclusions sont de nature lipoprotéique.

e) Le stade 5 ou la vitellogenèse :

Les inclusions de vitellus exogène sont rassemblées en globules et sont disposées dans la zone périnucléaire. L'accumulation centrifuge de ces globules repousse progressivement les vésicules glycoprotéiques sur la périphérie contre la membrane ovocytaire. La taille des ovocytes a encore augmenté.

f) Le stade 6 ou la fin de la vitellogenèse :

Formation du micropyle par invagination des cellules folliculaires et début de la migration du noyau (ou vésicule germinative : V.G.) vers le pôle animal.

g) Le stade 7 ou la migration de la V.G. :

La V.G. a quitté la partie centrale de l'ovocyte, le micropyle est bien visible.

h) Le stade 8 ou la V.G. périphérique :

La V.G. est en périphérie de l'ovocyte accolée au micropyle.

Le stade suivant aurait dû être celui de la G.V.B.D. (Germinal Vesicle BreakDown) où le noyau est éclaté, mais ce stade très fugace n'a pu être observé.

i) Le stade 9 ou la préparation à une nouvelle ponte :

Présence de follicules postovulatoires : les cellules de la thèque et de la *granulosa* ont un aspect de sac vide plissé appelé *corpus atreticum postovulationis*. Ces cellules vont se confondre peu à peu avec celles du stroma. Dans ce type d'ovaire, on peut encore observer un certain nombre d'ovocytes en vitellogenèse qui seront expulsés lors de la prochaine ponte.



j) Le stade 10 ou la phase de récupération :

Ce stade s'observe en fin du cycle reproducteur. Il se caractérise par la présence de follicules postovulatoires, mais également par des ovocytes atrétiques préovulatoires.

k) Les ovocytes atrétiques préovulatoires :

Ils sont présents pendant toute la durée du cycle et ils concernent tous les stades de maturité (rarement les stades 1 et 2). On observe une désorganisation des membranes ovocytaires et folliculaires. Quant au cytoplasme, il subit une autolyse générale. En fin d'atrésie, il ne reste plus qu'un amas de cellules de la *granulosa* qui progressivement seront résorbées ou se confondront avec le stroma ovarien. Il faut toutefois remarquer qu'une fois l'atrésie bien entamée, la distinction entre follicules préovulatoires et postovulatoires n'est pas toujours aisée.

A l'aide d'un microscope DIAPLAN LEITZ (type 020) muni des objectifs 4x, 10x, 25x, 40x et 63x, nous avons recensé dans chaque ovaire les différents stades que nous pouvions observer.

#### **4.5. Analyse des résultats.**

Les statistiques descriptives ont été utilisées pour décrire et condenser l'ensemble de nos résultats. Nous avons ainsi calculé, pour chaque date de prélèvement, la moyenne arithmétique et l'écart-type (racine carrée de la variance) des valeurs de l'I.G.S., de K et K1, et des teneurs plasmatiques de la  $17\beta$ -oestradiol, de la testostérone et de la  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone. L'écart-type est une mesure de l'écart quadratique moyen des données autour de la moyenne et il a les mêmes unités que les observations et que la moyenne.

Les valeurs moyennes de l'I.G.S., des facteurs de condition K et  $K_1$ , du  $(K-K_1)$  et des concentrations plasmatiques des trois stéroïdes dosés ont été ensuite traitées par une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1), après avoir vérifié préalablement l'homogénéité des variances par un test de Bartlett.

Pour les goujons femelles, une analyse de la variance à 2 critères de classification fixes (ANOVA 2) sur ces mêmes données a également été réalisée afin de comparer le milieu semi-naturel et naturel au cours du temps. Toutefois, cette analyse ne porte que sur les prélèvements d'avril, de mai et de juin. Le nombre d'individus devant être identique pour chaque prélèvement, nous avons donc été limités à 4 individus pour les paramètres morphologiques et à 3 pour les teneurs hormonales. Ces individus ont été choisis au hasard.

Remarquons que les données des concentrations plasmatiques en  $17\beta$ -oestradiol ont subi une transformation logarithmique ( $\log X$ ) afin d'en homogénéiser les variances.



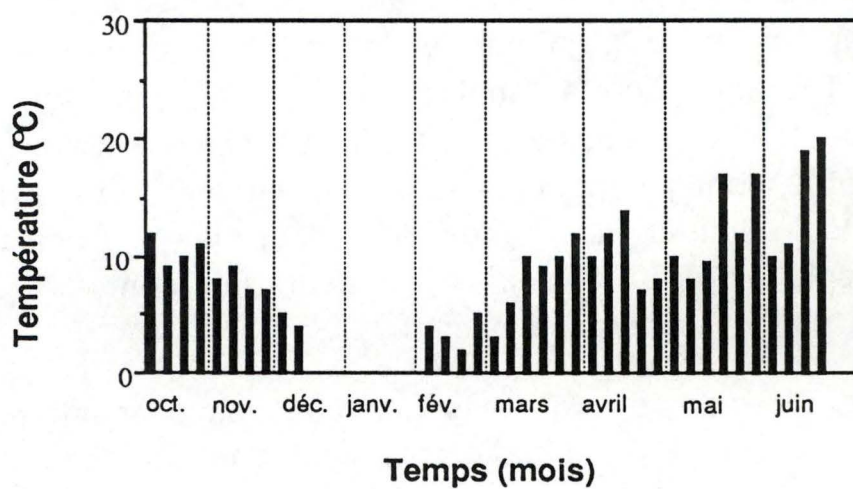


Figure 31 : Evolution de la température dans l'étang de stockage des goujons, *Gobio gobio* L. d'octobre 1990 à juin 1991.

## 5. Résultats.

L'expérience s'est déroulée du 18 octobre 1990 au 4 juillet 1991. Cependant, aucune donnée n'a été recueillie durant le mois de janvier, l'hiver particulièrement rigoureux ayant provoqué la formation d'une couche de glace épaisse empêchant les prélèvements de goujons pendant cette période. L'ensemble des résultats individuels est repris dans l'annexe 1.

### **5.1. Conditions expérimentales.**

#### 5.1.1. Conditions de stockage dans le milieu semi-naturel.

Les conditions de stockage se sont révélées satisfaisantes durant la durée de l'expérience. Cependant, au fur et à mesure des pêches, nous avons constaté une diminution importante du nombre de poissons dans l'étang. La dernière pêche, effectuée le 27 juin 1991, n'a d'ailleurs donné aucun résultat.

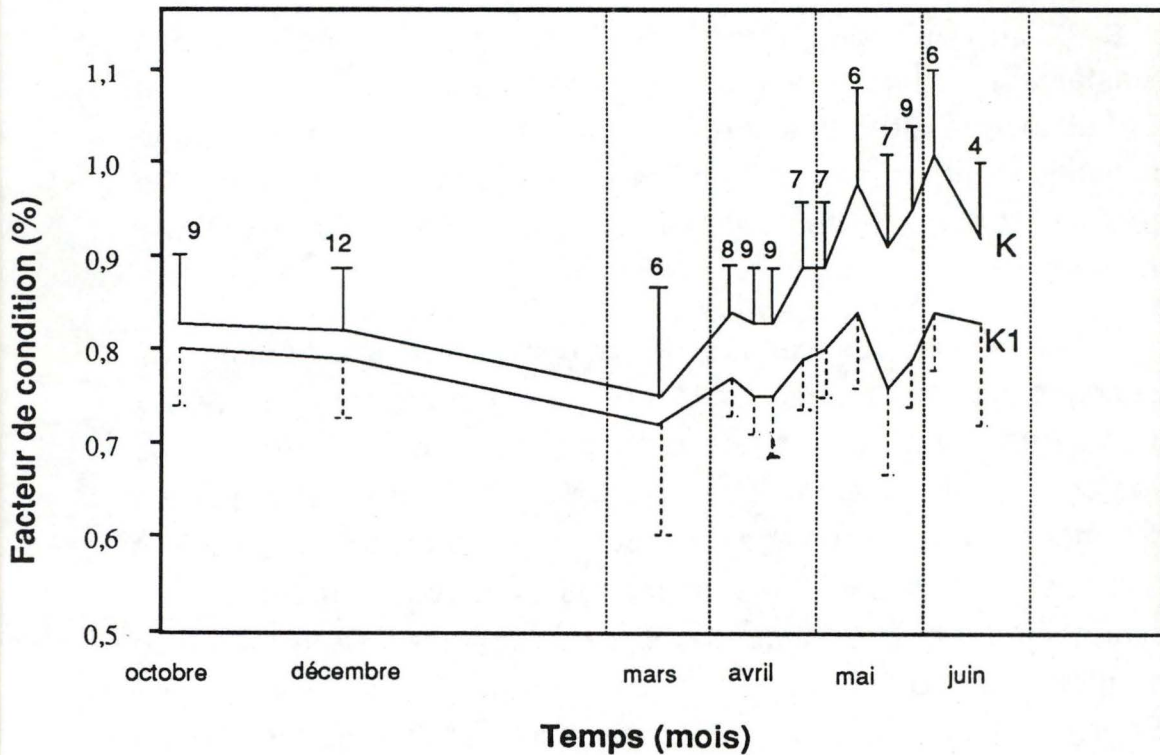
Une des causes de la disparition des goujons de l'étang est la présence sur le domaine d'Haugimont d'oiseaux piscivores (martin-pêcheur, héron cendré). Nous avons également pu observer chez quelques individus, la présence de taches ouateuses de couleur gris-blanc ou légèrement brunâtres sur la peau, les nageoires, la bouche et les yeux : symptômes caractéristiques de saprolégnose. Cette mousse résultant du développement de champignons des genres *Saprolegnia* et *Achlya* sur les goujons serait responsable de leur mort.

La figure 31 indique que la température a baissé progressivement pour atteindre des valeurs très faibles durant le mois de février. Le réchauffement de l'eau ne



**Tableau 7** : Températures (°C) relevées dans le Semois et dans l'étang lors de l'année 1991.

date	Température (°C) de l'eau dans la Semois	Température (°C) de l'eau dans l'étang
le 25 avril	6	8
le 27 mai	10	12
le 17 juin	17	19
le 4 juillet	21	-



**Figure 32** : Evolution des facteurs de conditions (K et K1) chez les femelles de goujon *Gobio gobio* stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

devient important qu'à partir de la mi-mai. La température atteint alors le seuil généralement admis pour la reproduction du goujon (15-17°C).

#### 5.1.2. Le milieu naturel.

Aucun problème ne s'est présenté lors des différentes campagnes de pêche sur la Semois.

Le tableau 7 reprend les températures mesurées dans la Semois lors des différentes campagnes. Celles-ci sont toujours inférieures à celles de l'étang pour une même date.

### **5.2. Evolution des paramètres morphologiques.**

#### 5.2.1. Le facteur de condition.

##### 5.2.1.1. Chez les femelles.

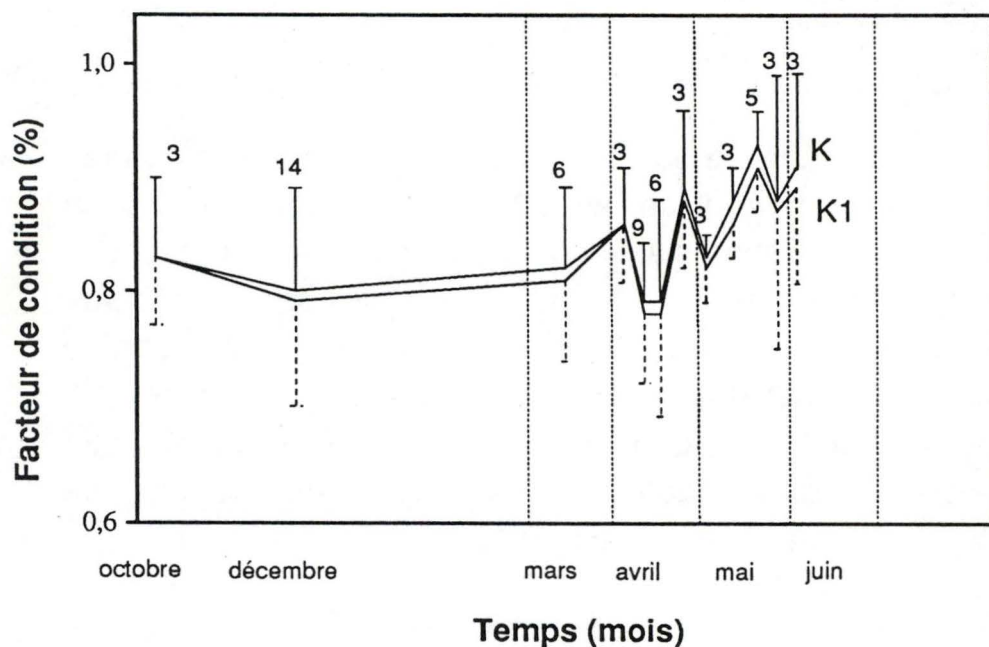
La figure 32 laisse apparaître un cycle saisonnier dans le facteur de condition, avec un niveau minimum à la fin de l'hiver et un niveau maximum en période de reproduction (mai-juin). Pendant la période hivernale, la formation d'une épaisse couche de glace, empêchant tout apport extérieur de nourriture, a probablement contribué à l'amaigrissement des poissons, d'autant plus que la productivité est à ce moment très faible. Notons également la chute du facteur de condition, les 11 avril et 22 mai 1991.

Au sein d'un même groupe, il existe des variations individuelles. Celles-ci apparaissent d'autant plus grandes que les poissons sont proches de la saison de reproduction, de la maturité, ainsi que de la période de régression postovulatoire, celle-ci n'étant pas atteinte au



**Tableau 8 :** Comparaison des facteurs de condition (K et K<sub>1</sub>) et de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) des goujons femelles prélevés dans la Semois et dans l'étang.

Date	Semois			Etang		
	K (%)	K <sub>1</sub> (%)	I.G.S.(%)	K (%)	K <sub>1</sub> (%)	I.G.S.(%)
le 25 avril	0,86	0,79	8,21	-	-	-
le 26 avril	-	-	-	0,92	0,78	13,44
le 27 mai	0,90	0,79	12,59	-	-	-
le 29 mai	-	-	-	0,99	0,82	16,86
le 17 juin	0,82	0,74	10,09	-	-	-
le 19 juin	-	-	-	0,92	0,83	9,99



**Figure 33 :** Evolution des facteurs de conditions (K et K<sub>1</sub>) chez les mâles de goujon *Gobio gobio* stockés en étang au cours de l'année 1990-91 (Γ = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

même moment par toutes les femelles. C'est l'écart-type qui rend compte de ces variations individuelles.

Le tableau 8 montre la comparaison entre les facteurs de condition ( $K$  et  $K_1$ ) des goujons femelles prélevés dans l'étang et dans la Semois aux mois d'avril, mai et juin. Même s'ils sont du même ordre de grandeur, ils sont toutefois plus élevés dans l'étang.

L'analyse de la variance (ANOVA 1) révèle un effet significatif du temps sur l'évolution des facteurs de condition  $K$  et  $K_1$  (annexe 2). En se basant sur la variation de l'aire  $K-K_1$ , il apparaît cependant qu'une proportion de plus en plus importante de la nourriture disponible pour la croissance en poids est consacrée au développement des produits sexuels.

L'analyse de la variance à 2 critères de classification fixes (ANOVA 2) permettant de comparer les poissons de l'étang et ceux de la Semois montre un effet significatif du lieu sur le facteur de condition  $K$  (annexe 3). Le temps et le lieu ont un effet significatif sur l'estimation du développement gonadal ( $K-K_1$ ). Leur interaction est, par contre, non significative.

#### 5.2.1.2. Chez les mâles.

Le facteur de condition montre chez les mâles un cycle annuel marqué par une valeur faible pendant la période hivernale et un pic maximum durant la période de reproduction. Cependant, durant les mois d'avril et de mai, l'augmentation n'est pas continue : deux chutes ont lieu, respectivement le 11 avril et le 3 mai 1991 (figure 33).

L'ANOVA 1 révèle un effet significatif du temps sur les valeurs de  $K$  et  $K_1$  (annexe 2), mais les différences



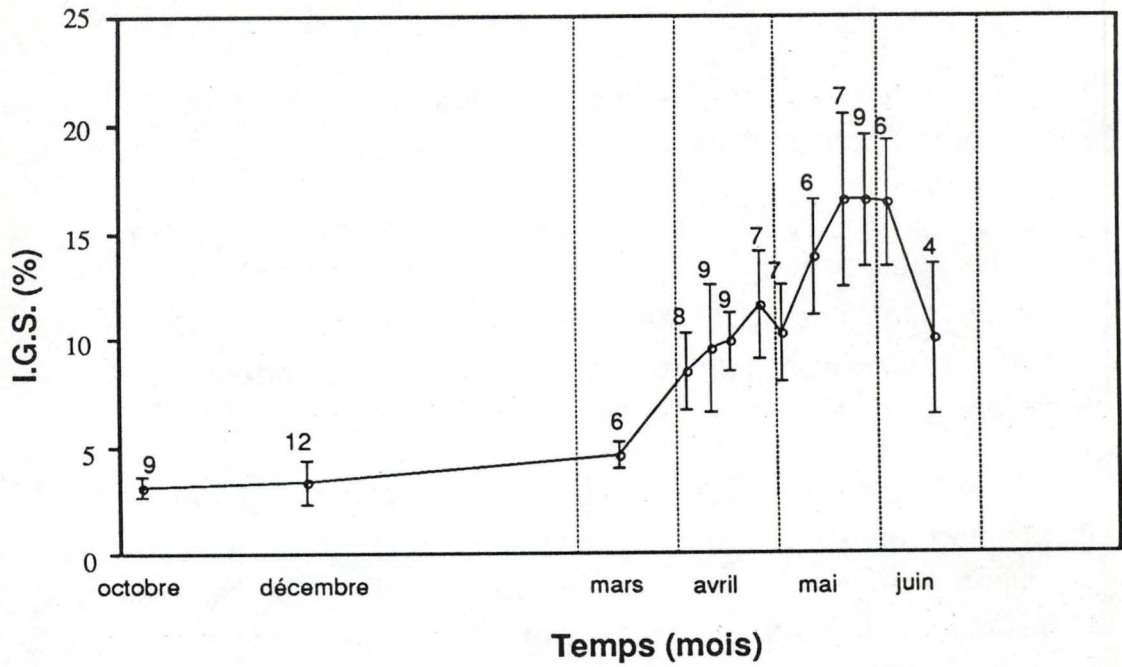


Figure 34 : Variation de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

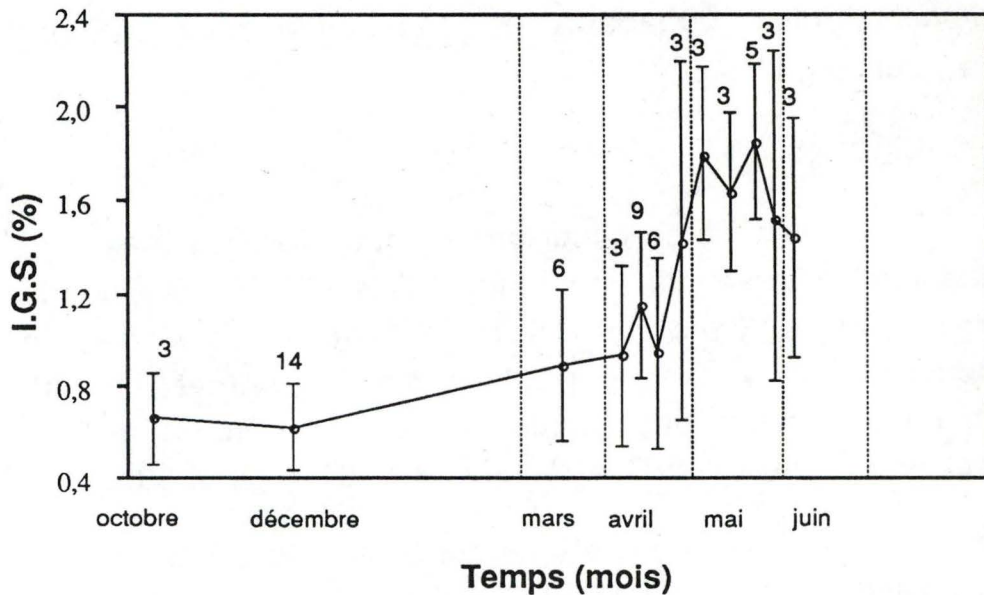


Figure 35 : Variation de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) chez les mâles de goujon *Gobio gobio*, stockés en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

entre ces deux paramètres sont, à l'inverse de la situation constatée chez les femelles, très faibles et l'aire reste constante durant toute la durée du cycle (figure 33 ). La part énergétique réservée au développement des gonades est donc beaucoup plus faible.

### 5.2.2. L'indice gonadosomatique ou I.G.S.

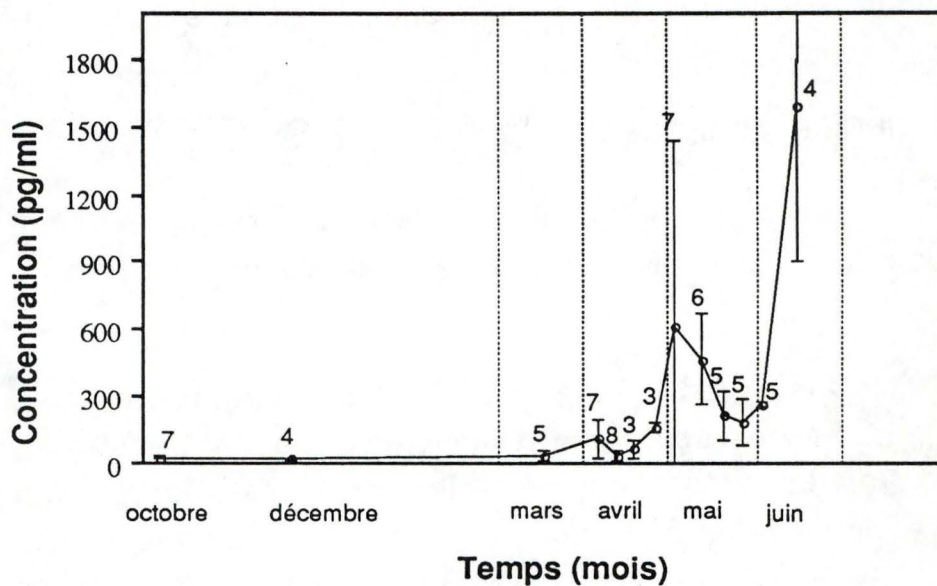
Les figures 34 et 35 décrivent respectivement l'évolution de l'I.G.S. des femelles et des mâles au cours du temps.

Chez les femelles, l'I.G.S. augmente très légèrement et de façon non significative pendant les mois d'hiver. Par la suite, l'augmentation est très rapide pour atteindre une valeur maximale à la fin du printemps (I.G.S. moyen = 16.46%). A la mi-juin, l'I.G.S. diminue nettement, ce qui correspond au début de la phase de régression gonadale (figure 34).

Chez les mâles, l'I.G.S. augmente à partir du mois de décembre de façon non significative et ce jusqu'au 11 avril 1991. A partir du 17 avril (où il a baissé), l'I.G.S. augmente rapidement et atteint un maximum au mois de mai (I.G.S. moyen = 1,76%). Fin mai, l'I.G.S. commence à diminuer (figure 35). Comme chez les femelles, les variations individuelles sont très importantes durant la période de reproduction.

Le tableau 8 nous montre qu'aux mois d'avril et de mai, l'I.G.S. des femelles prélevées dans l'étang est plus élevé que l'I.G.S. de celles pêchées dans la Semois . Par contre, au mois de juin, c'est l'inverse qui se produit. A ce moment, certaines femelles de l'étang ont déjà terminé leur cycle reproducteur et le poids de leurs gonades a diminué.





**Figure 36** : Evolution du taux moyen de  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

L'ANOVA 1 révèle un effet hautement significatif du temps sur l'I.G.S à la fois chez les femelles et les mâles (annexe 4).

L'ANOVA à 2 critères de classification fixes montre un effet significatif du lieu et du temps sur l'I.G.S. des femelles. Comme pour le K-K<sub>1</sub>, l'interaction entre ces deux facteurs est non significative (annexe 5).

### **5.3. Sécrétions hormonales.**

#### **5.3.1. Evolution des sécrétions hormonales.**

##### **5.3.1.1. La 17 $\beta$ -oestradiol.**

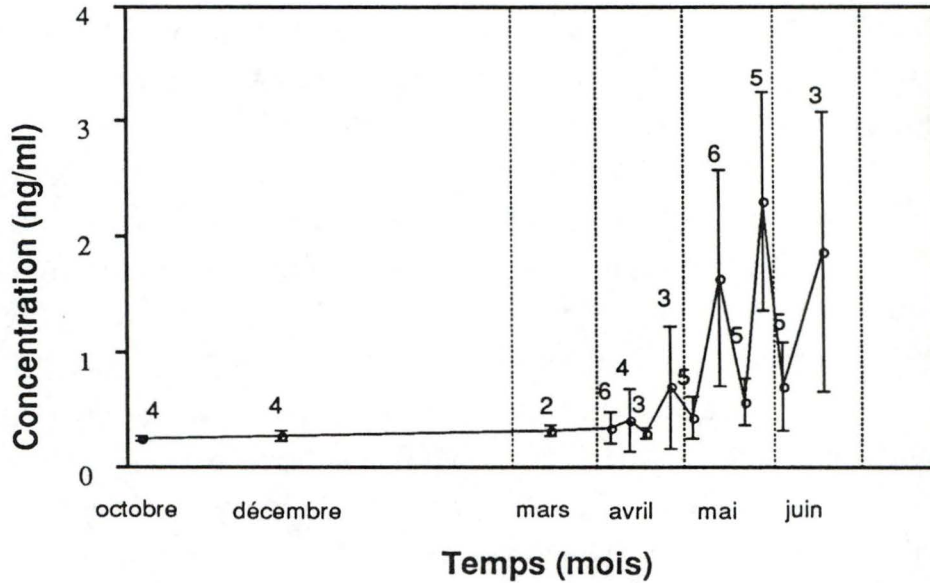
La figure 36 représente l'évolution du taux moyen de 17 $\beta$ -oestradiol au cours du temps chez les goujons femelles provenant du milieu semi-naturel.

Nous pouvons constater que le taux moyen de 17 $\beta$ -oestradiol reste faible durant l'automne et l'hiver (20 à 35 pg/ml). A la mi-avril, la chute de concentration de ce stéroïde coïncide avec celle de la température. A la fin du mois d'avril, elle commence à augmenter de façon significative pour atteindre une valeur de 611 pg/ml début mai. Elle diminue ensuite sans jamais retomber à sa valeur hivernale. Le 19 juin 1991, le taux plasmatique de 17 $\beta$ -oestradiol atteint un maximum (1595 pg/ml). Cependant, nous ne savons pas si, par la suite, la concentration de cette hormone tend à retomber à son niveau de base ou au contraire continue à augmenter. Toutefois, le prélèvement réalisé sur la Semois le 4 juillet 1991 nous montre que la teneur en 17 $\beta$ -oestradiol diminue puisqu'elle passe de 1163 pg/ml (le 17 juin) à 216 pg/ml (le 4 juillet). Il faut aussi souligner que



**Tableau 9** : Comparaison des concentrations moyennes en  $17\beta$ -oestradiol (E), en testostérone (T) et en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone (DHP) entre les goujons femelles provenant dans l'étang et ceux capturés dans la Semois.

Date	Semois			Etang		
	E (pg/ml)	T (ng/ml)	DHP (pg/ml)	E (pg/ml)	T (ng/ml)	DHP (pg/ml)
le 25 avril	495	0,695	441	-	-	-
le 26 avril	-	-	-	162	1,306	955
le 27 mai	231	2,617	2071	-	-	-
le 29 mai	-	-	-	116	0,466	2387
le 17 juin	757	1,856	2899	-	-	-
le 19 juin	-	-	-	1926	3,567	2083



**Figure 37** : Evolution du taux moyen de testostérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

les variations individuelles sont toujours plus importantes lors des pics de  $17\beta$ -oestradiol.

En avril et en mai, la concentration moyenne en  $17\beta$ -oestradiol des femelles provenant de l'étang est beaucoup plus faible (2 fois moins élevée) que celle observée chez les femelles prélevées dans la Semois. En juin, par contre, ce sont les femelles provenant de l'étang qui possèdent un taux en  $17\beta$ -oestradiol plus élevé (2,5 fois supérieur) (tableau 9).

Après transformation logarithmique des données pour en homogénéiser les variances, l'ANOVA 1 montre un effet hautement significatif du temps sur l'évolution de la concentration moyenne en  $17\beta$ -oestradiol (annexe 6).

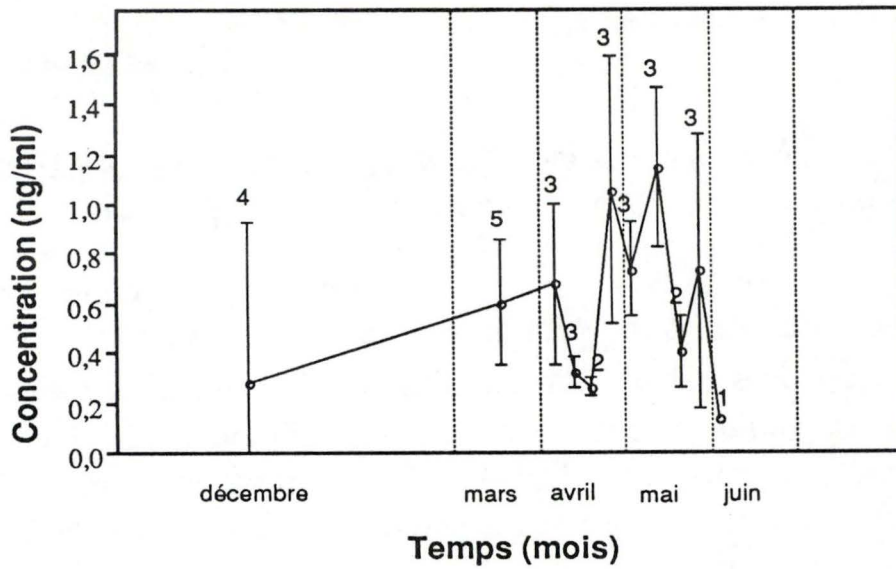
L'ANOVA 2 révèle aussi un effet hautement significatif du temps sur cette concentration. L'interaction lieu/temps est significative (annexe 7).

#### 5.3.1.2. La testostérone.

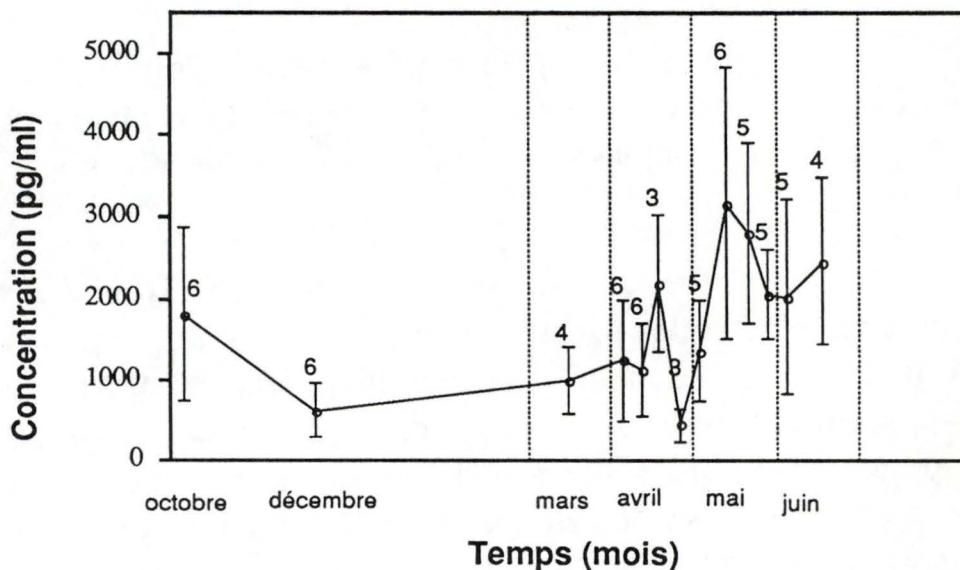
Les figures 37 et 38 montrent l'évolution du taux moyen de testostérone au cours du temps respectivement chez les goujons femelles et mâles provenant du milieu semi-naturel.

Chez les femelles, la concentration en testostérone plasmatique reste faible durant l'automne et l'hiver (0,250 à 0,320 ng/ml). Durant le printemps 1991, on voit apparaître 4 pics de testostérone : le premier, le 26 avril (0,695 ng/ml); le second et le troisième en mai (le 13 mai : 1,633 ng/ml et le 29 mai : 2,302 ng/ml); enfin, le quatrième le 19 juin (1,856 ng/ml). Durant ces différentes augmentations significatives de testostérone, les valeurs





**Figure 38** : Evolution du taux moyen de testostérone chez les mâles de goujon *Gobio gobio*, stockés en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).



**Figure 39** : Evolution du taux moyen de 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\bar{i}$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

individuelles au sein d'un même groupe sont très importantes (figure 37).

Le tableau 9 permet de comparer le taux de testostérone chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois.

L'ANOVA 1 révèle un effet hautement significatif du temps sur l'évolution de la concentration moyenne en testostérone (annexe 8). L'ANOVA 2, quant à elle, ne montre aucun effet significatif (annexe 9).

Chez les mâles, le taux de testostérone commence déjà à augmenter durant l'hiver pour atteindre, à la fin de celui-ci, une concentration de 0,600 ng/ml. Le début avril est caractérisé par une chute du taux de testostérone (0,262 ng/ml), celle-ci coïncide avec l'abaissement de la température. Les teneurs plasmatiques en testostérone sont élevées fin avril/début mai (concentration moyenne = 0,976 ng/ml). Celles-ci commencent à baisser dès le 13 juin (figure 38).

L'ANOVA 1 révèle un effet significatif du temps sur l'évolution de la concentration moyenne en testostérone (annexe 8).

#### 5.3.1.3. La 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone.

La figure 39 représente l'évolution de la concentration moyenne en 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP plasmatique au cours du temps chez les goujons femelles provenant de l'étang.

L'automne est marqué par une chute du taux de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP pour atteindre en décembre une valeur de 629 pg/ml. A la fin de l'hiver, ce taux n'a pas beaucoup évolué



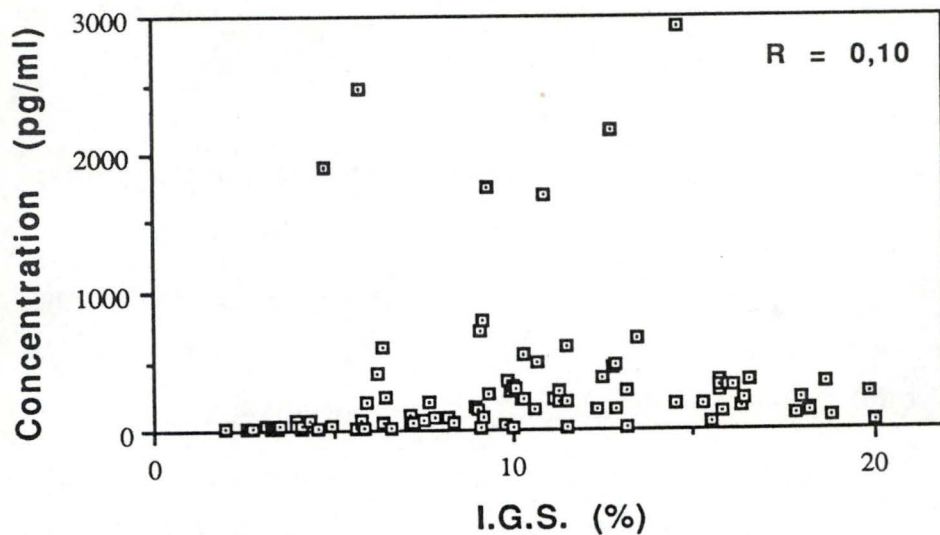


Figure 40 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 ( $R$  = coefficient de corrélation).

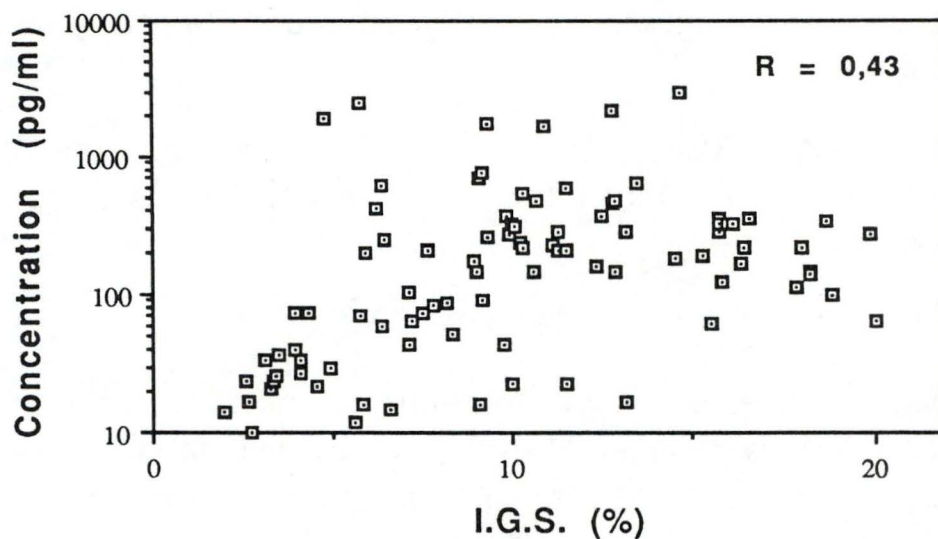


Figure 41 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 ( $R$  = coefficient de corrélation).

(1000 pg/ml). Au printemps 1991, deux pics de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP peuvent être observés. Le premier se produit le 17 avril (2200 pg/ml), mais celui-ci est suivi d'une chute significative (441 pg/ml). Le second se présente le 22 mai (2808 pg/ml). Ces deux pics apparaissent lorsque les concentrations en  $17\beta$ -oestradiol sont faibles (respectivement 67 et 218 pg/ml). Durant la période de reproduction (mai-juin), les valeurs individuelles au sein d'un même groupe sont importantes.

Le tableau 9 indique que la concentration en  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP reste faible en avril. Par contre, en mai et en juin, celle-ci augmente de façon significative et ce, qu'on se trouve dans le milieu naturel ou dans le milieu semi-naturel.

L'ANOVA 1 montre un effet hautement significatif du temps sur l'évolution de la concentration moyenne en  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP (annexe10). L'ANOVA 2 révèle ce même effet et un effet non significatif de l'interaction lieu/temps (annexe 11).

### 5.3.2. Relation entre l'I.G.S. et les sécrétions hormonales.

#### 5.3.2.1 Relation entre l'I.G.S. et la concentration en $17\beta$ -oestradiol.

Les coefficients de corrélation mesurant l'intensité de la relation linéaire entre l'I.G.S. et le taux de  $17\beta$ -oestradiol sont respectivement de 0,10 en échelle arithmétique et de 0,43 en échelle semi-logarithmique. Il n'existe donc pas de relation entre l'I.G.S. et le taux de  $17\beta$ -oestradiol (figures 40 et 41).

Par contre, nous avons constaté que le taux moyen de  $17\beta$ -oestradiol des femelles dont l'I.G.S. est plus



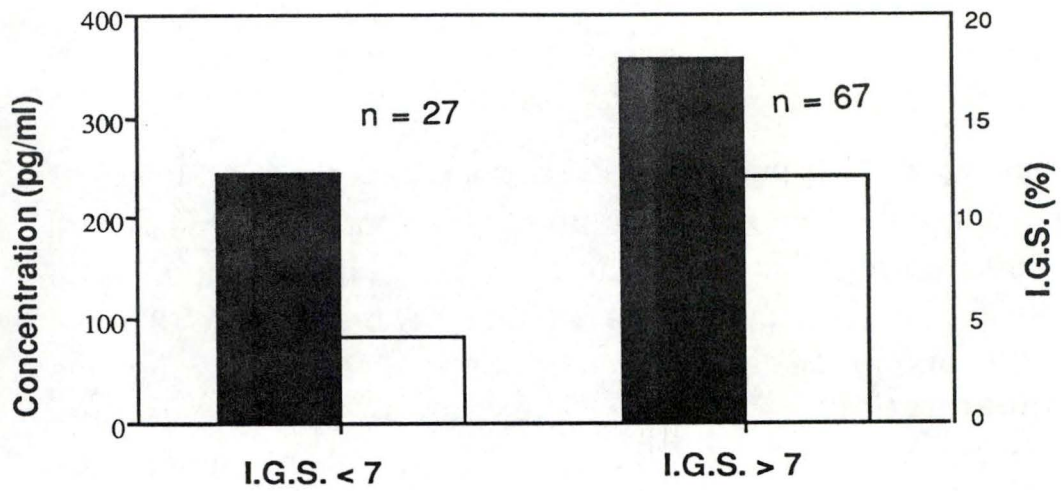


Figure 42 : Taux moyen de  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujons, dont l'I.G.S. est inférieur ou supérieur à 7%.

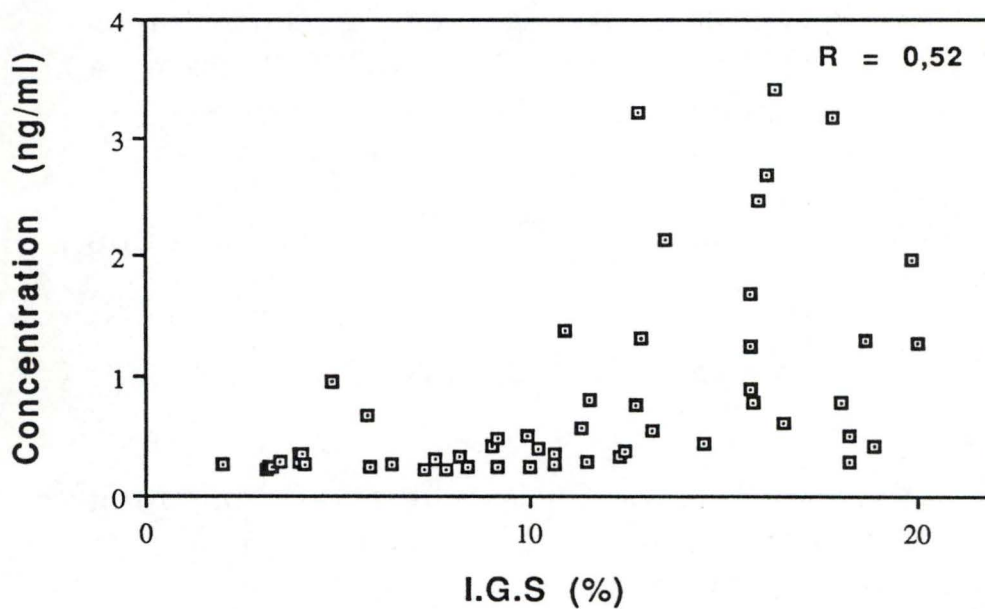


Figure 43 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 ( $R =$  coefficient de corrélation).

petit que 7, est inférieur à celui des femelles ayant un I.G.S. supérieur à 7. Il est intéressant de remarquer que c'est à partir d'un I.G.S. supérieur à 7 que nous avons observé les premiers ovaires présentant une vitellogenèse exogène (figure 42).

#### 5.3.2.2. Relation entre l'I.G.S. et la concentration en testostérone.

Chez les mâles comme chez les femelles, il n'existe pas de relation entre l'I.G.S. et le taux de testostérone. En effet, le coefficient de corrélation est trop faible. Chez les femelles, il est respectivement de 0,52 en échelle arithmétique et de 0,63 en échelle semi-logarithmique (figures 43 et 44). Chez les mâles, il est de 0,40 en échelle arithmétique et de 0,29 en échelle semi-logarithmique (figures 45 et 46).

Cependant, chez les mâles non spermiantes présentant un I.G.S. faible (généralement proche de 0,6), la concentration en testostérone est peu élevée (proche de 0,5 ng/ml) (figure 45).

#### 5.3.2.3. Relation entre l'I.G.S. et la concentration en $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP.

Comme pour les deux autres stéroïdes, aucune relation entre l'I.G.S. et la concentration en  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP ne peut être mise en évidence (figures 47 et 48). Les coefficients de corrélation étant respectivement de 0,35 en échelle arithmétique et de 0,37 en échelle semi-logarithmique.



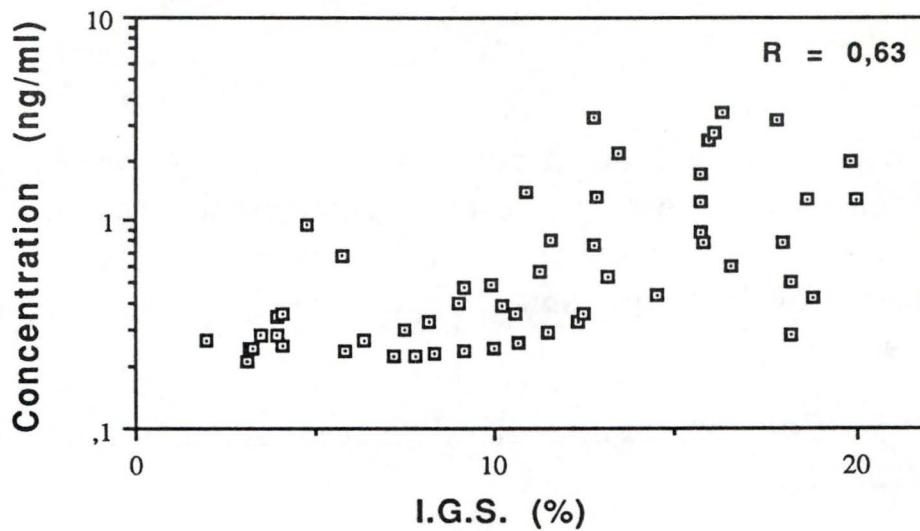


Figure 44 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 ( $R =$  coefficient de corrélation).

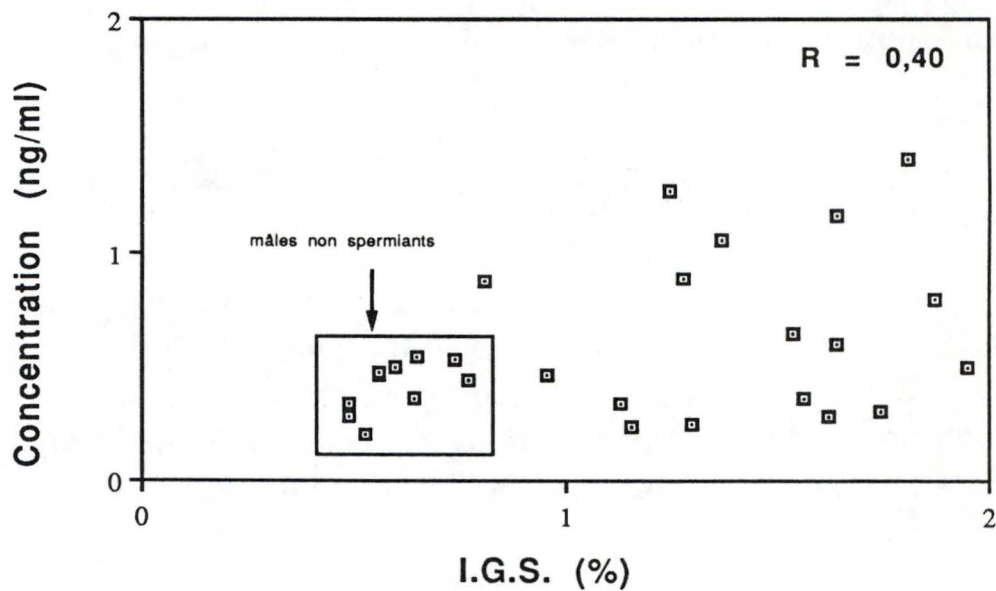


Figure 45 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les mâles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 ( $R =$  coefficient de corrélation).

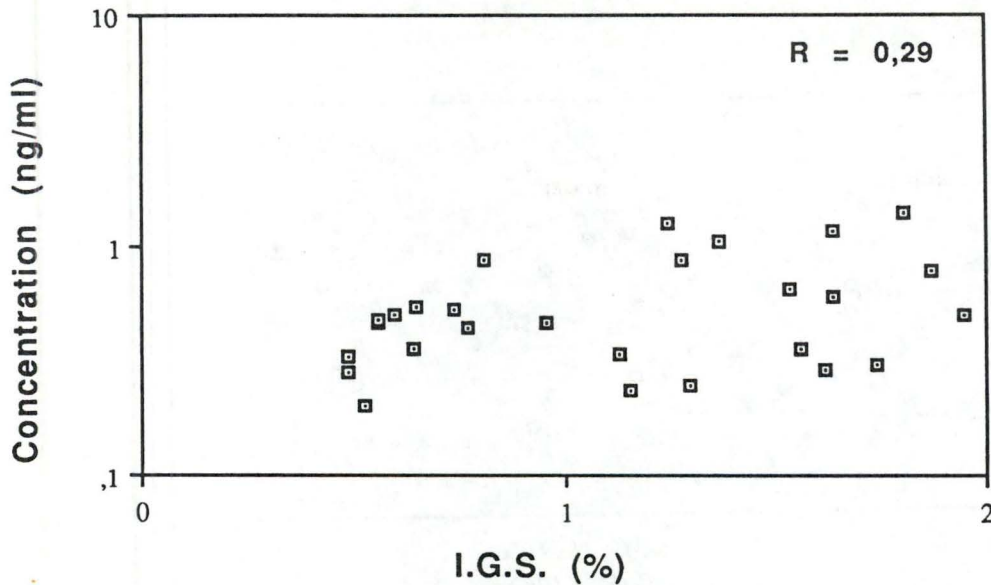


Figure 46 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les mâles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

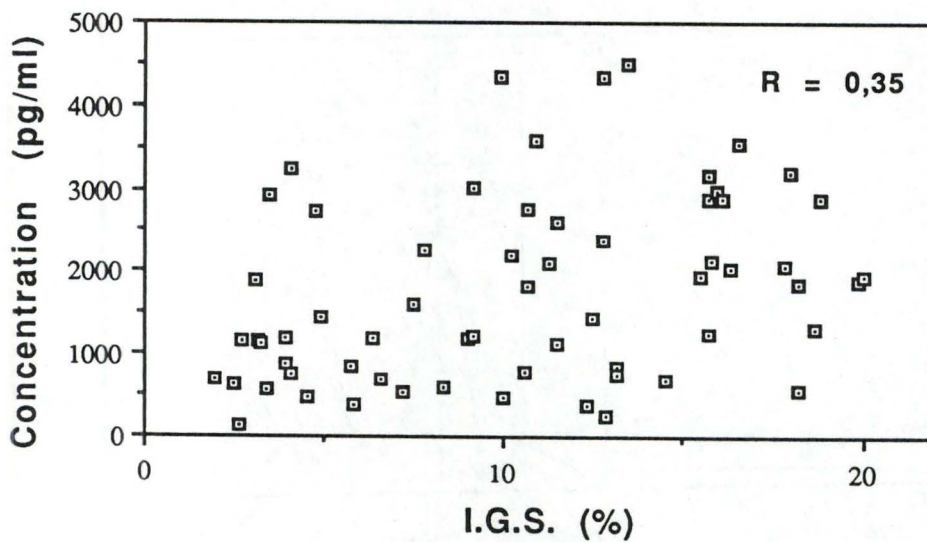


Figure 47 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogesterone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).



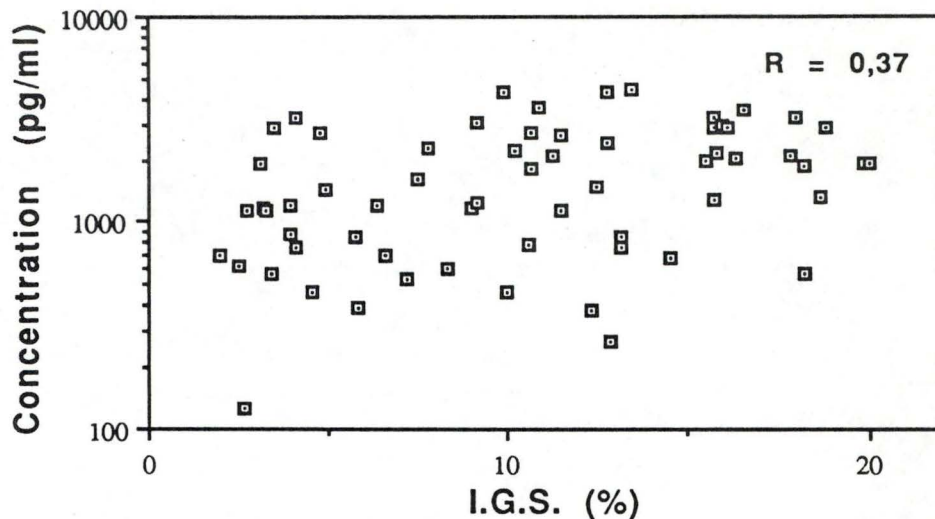


Figure 48 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogesterone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

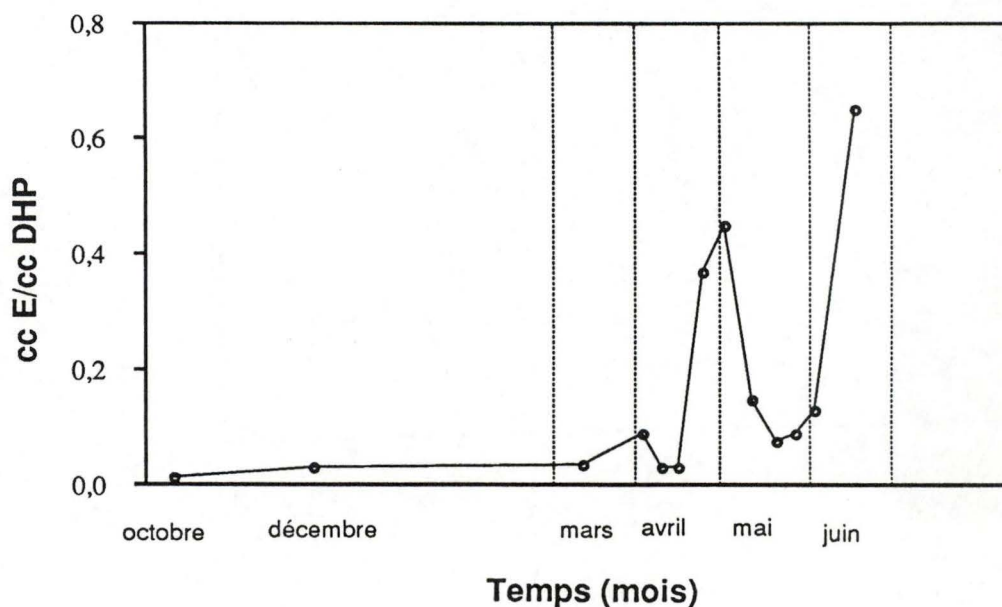


Figure 49 : Evolution du rapport de la concentration en  $17\beta$ -oestradiol et de  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogesterone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91

### 5.3.3. Evolution du rapport entre la concentration en $17\beta$ -oestradiol et celle en $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP.

La figure 49 représente l'évolution du rapport entre la concentration en  $17\beta$ -oestradiol et celle en  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP au cours du temps. Nous pouvons observer, à partir du mois de mars, 3 augmentations graduelles de ce rapport. La première au début avril, la seconde début mai et la troisième à la mi-juin. En fait, ces 3 pics coïncident avec ceux de la  $17\beta$ -oestradiol. Cette figure nous montre donc que lorsque la concentration en  $17\beta$ -oestradiol est élevée, celle de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP est faible.

## 5.4. Evolution des stades de maturité.

### 5.4.1. Evolution des stades de maturité au cours du temps.

L'évolution des stades de maturité des ovocytes au cours du temps est représentée à la figure 50. La présence des ovocytes atrétiques préovulatoires n'y est pas renseignée.

En octobre, tous les individus possèdent déjà des ovocytes en prévitellogenèse avancée (stade 3). Les vésicules vitellines de ces ovocytes sont toutefois de petite taille et peu nombreuses (photos 4 et 5). Au cours du mois de décembre et de mars, ces ovocytes (stade 3) continuent à croître par accumulation progressive des vésicules glycoprotéiques et finalement ces vésicules vont s'associer (photo 6).



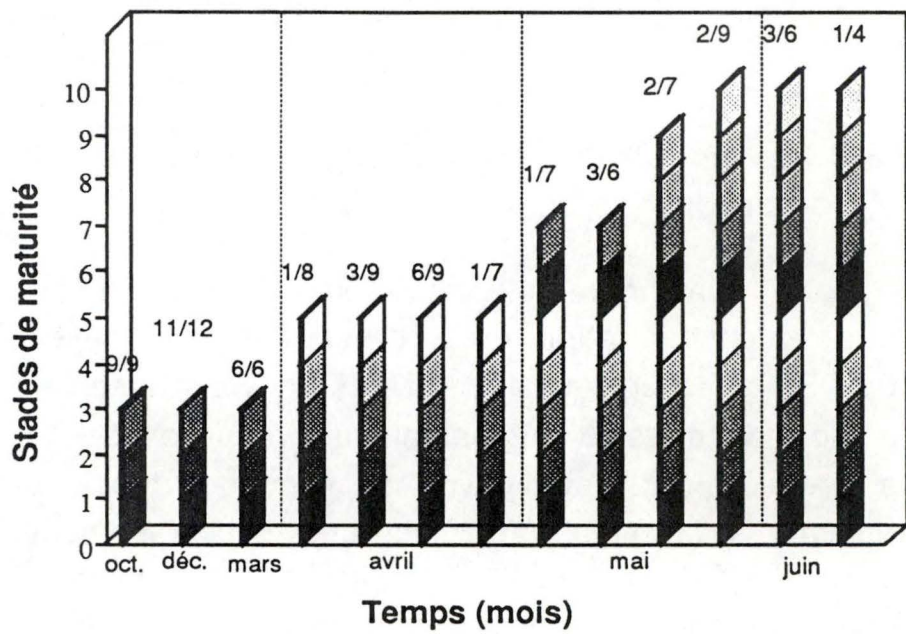


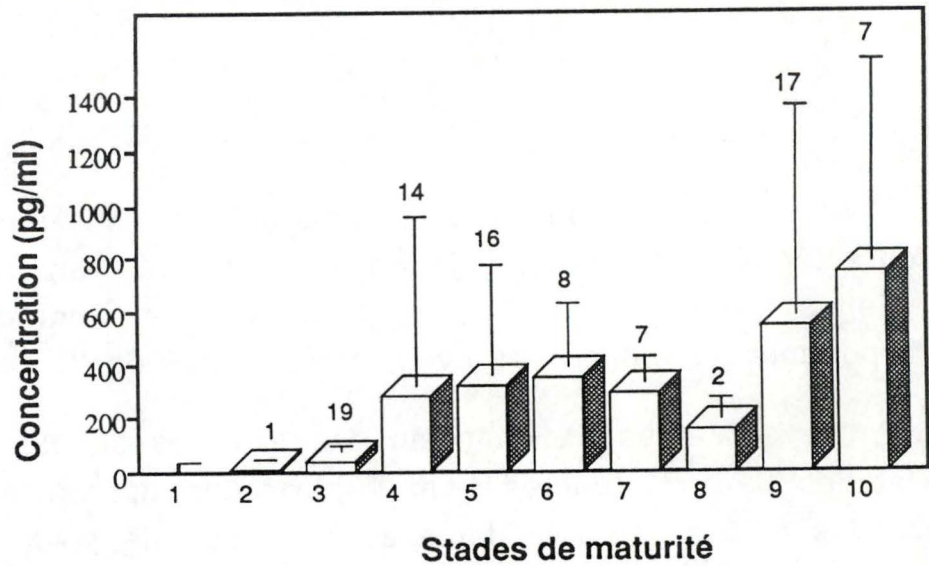
Figure 50 : Evolution des stades de maturité des ovocytes au cours de l'année 1990-91 chez les goujons femelles *Gobio gobio* (nombre de poissons ayant atteint le stade le plus élevé/nombre de poissons prélevés)

Les mois d'avril, de mai et de juin sont caractérisés par l'accumulation massive des globules de vitellus (stades 4 et 5) provoquant une augmentation importante du volume des ovocytes (photos 8 et 9).

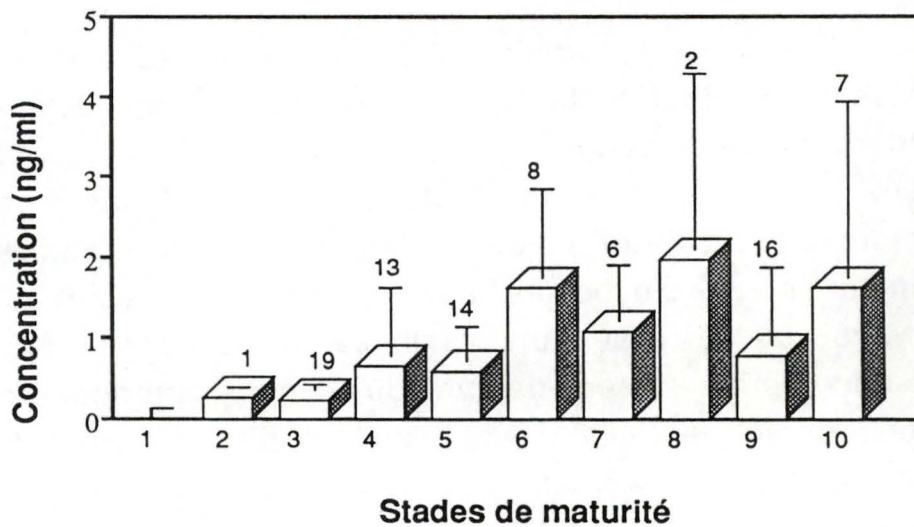
La maturation finale des ovocytes débute en mai (stades 6 et 7) (photos 9 et 10), ensuite apparaissent les stades 8, 9 et 10. Les femelles présentant le stade 8 sont proche de l'ovulation. Le noyau (ou vésicule germinative) de chaque ovocyte est alors accolé au micropyle (photo 11). Celles ayant atteint le stade 9 se préparent à une nouvelle ponte. L'ovaire possède déjà un certain nombre d'ovocytes en fin de vitellogenèse et de nombreux follicules postovulatoires (photos 13 et 15), preuve d'une ponte antérieure. Enfin, le 29 mai, les 5 et 19 juin, on voit apparaître respectivement 2, 3 et 1 poissons ayant terminé leur cycle reproducteur (stade 10) et présentant des signes de régression avancée.

Les ovocytes atrétiques préovulatoires (photo 14) sont présents pendant toute la durée du cycle reproducteur et concernent des ovocytes à tout stade de maturité (rarement stades 1 et 2). Excepté lors de la phase de régression postovulatoire durant laquelle un nombre relativement élevé d'ovocytes non ovulés sont résorbés, l'atrésie préovulatoire est toutefois faible et ne semble être liée à une période bien définie du cycle reproducteur. Néanmoins, durant le mois d'avril, l'atrésie préovulatoire est très importante et coïncide avec l'abaissement de la température.





**Figure 51** : Evolution de la concentration en  $17\beta$ -oestradiol pour les différents stades de maturité chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois ( $\bar{\Gamma}$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).



**Figure 52** : Evolution de la concentration en testostérone selon les différents stades de maturité chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois ( $\bar{\Gamma}$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

#### 5.4.2. Evolution des sécrétions hormonales en fonction des stades de maturité.

Les figures 51, 52 et 53 montrent respectivement l'évolution de la  $17\beta$ -oestradiol, de la testostérone et de la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP en fonction des stades de maturité à la fois chez les poissons provenant de l'étang et chez ceux de la Semois.

##### 5.4.2.1. La $17\beta$ -oestradiol.

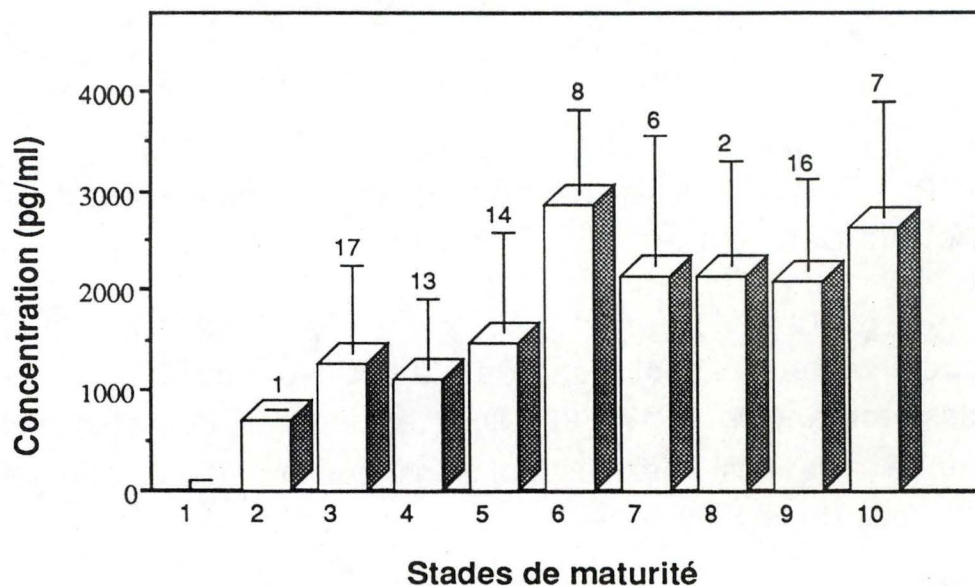
Durant l'évolution des ovocytes en prévitellogenèse (stades 2 à 3), le niveau de  $17\beta$ -oestradiol reste faible (36 pg/ml). Il ne s'accroît significativement que lors de l'apparition du vitellus proprement dit (stade 4). Ensuite, durant le reste de la vitellogenèse, il reste à un taux élevé (concentration moyenne = 318 pg/ml). Après la vitellogenèse, il tombe pour atteindre avant la G.V.B.D. une concentration de 155 pg/ml. Après l'ovulation, le taux de  $17\beta$ -oestradiol augmente de façon significative, que ce soit chez des poissons se préparant à une nouvelle ponte (545 pg/ml) ou chez des poissons en phase de récupération (745 pg/ml).

Les variations individuelles sont très importantes au sein d'un même stade, lorsque la concentration en  $17\beta$ -oestradiol augmente.

##### 5.4.2.2. La testostérone.

Durant la prévitellogenèse, la concentration en testostérone est faible (concentration moyenne = 0,243 ng/ml). Elle augmente légèrement durant le début de la vitellogenèse (concentration moyenne = 0,609 ng/ml). A la fin de la vitellogenèse, son niveau plasmatique s'accroît de





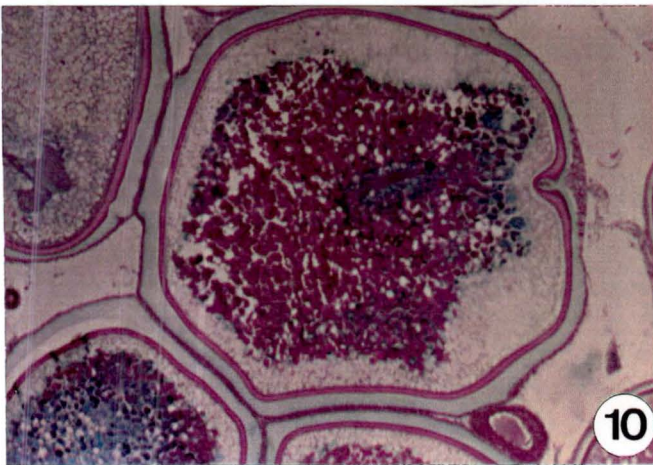
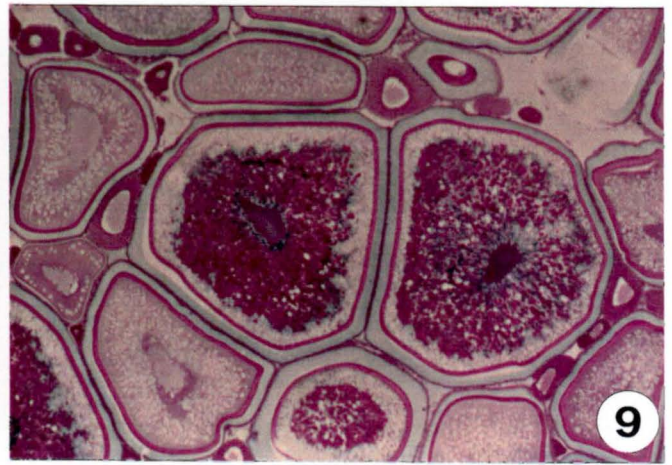
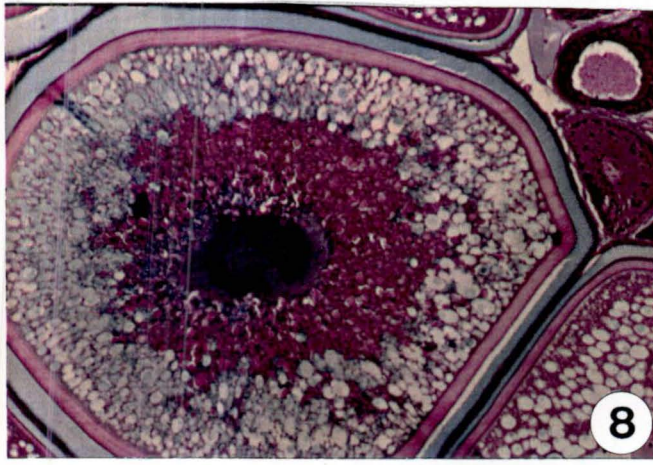
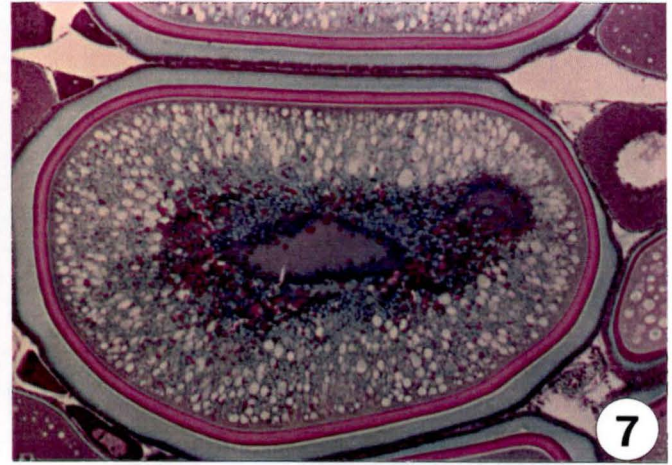
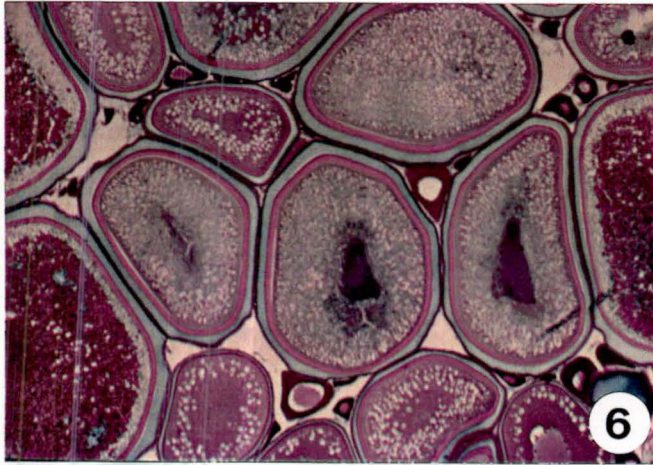
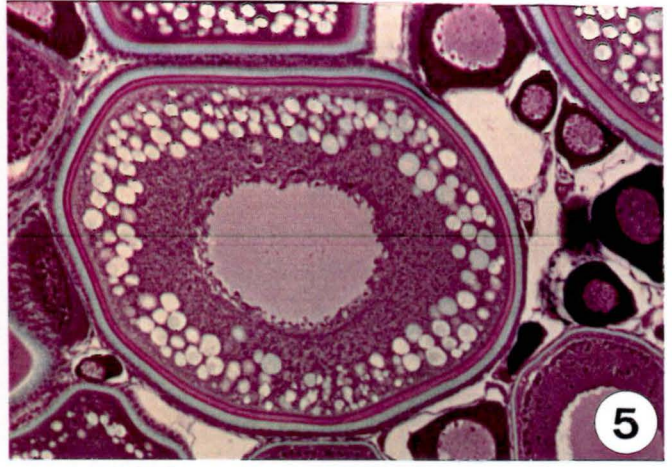
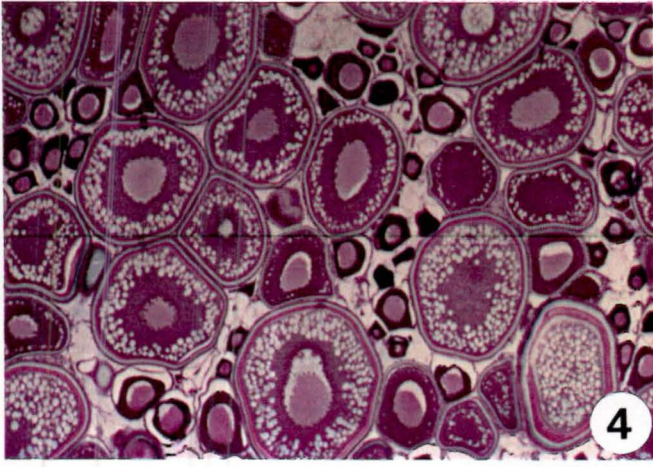
**Figure 53** : Evolution de la concentration en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogesterone selon les différents stades de maturité chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (l = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

façon significative (1,610 ng/ml). Pendant la maturation finale, elle reste à une valeur élevée (concentration moyenne = 1,514 ng/ml). Chez les poissons ayant déjà pondu et se préparant à une nouvelle ponte, son niveau atteint 0,780 ng/ml et est voisin de celui obtenu durant le début de la vitellogenèse. Par contre, chez les poissons en phase de récupération, son taux est voisin de celui obtenu en fin de vitellogenèse (1,626 ng/ml).

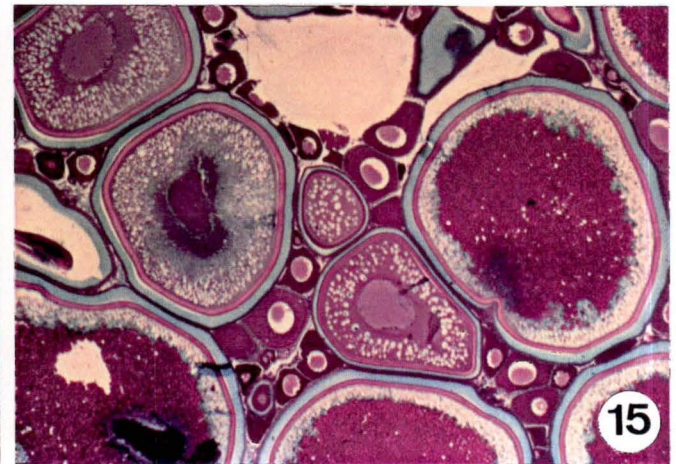
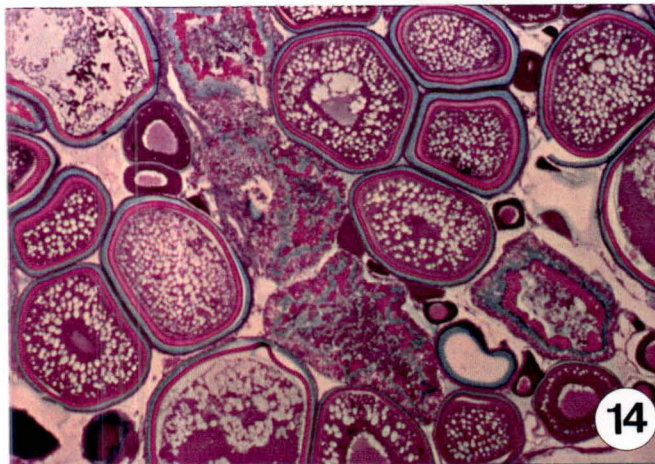
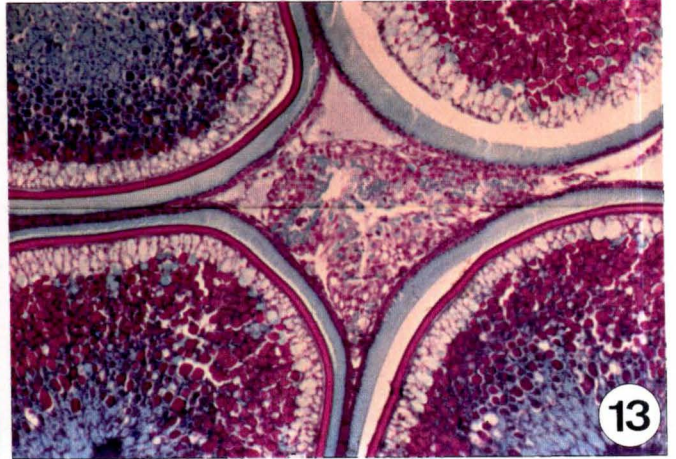
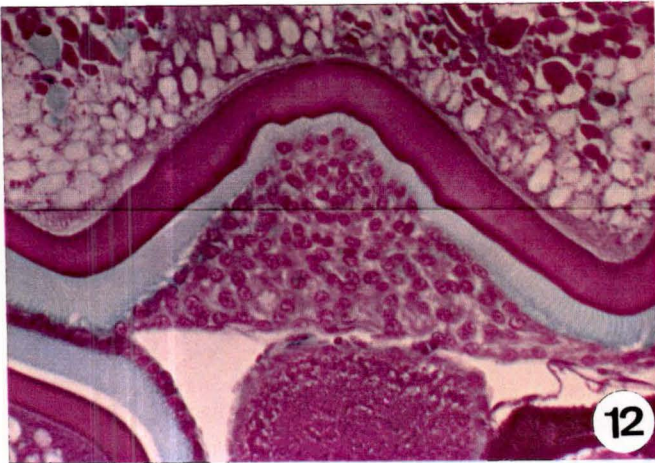
#### 5.4.2.3. la 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone.

Durant la prévitellogenèse (stade 3) et la vitellogenèse (stades 4 et 5), le niveau de 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -DHP reste constant (concentration moyenne = 1284 pg/ml). A la fin de la vitellogenèse (stade 6), sa concentration augmente significativement à une valeur de 2870 pg/ml. Durant toute la maturation finale, son taux reste stationnaire (2142 pg/ml). Chez les poissons devant à nouveau pondre, sa concentration est proche de celle observée lors de la maturation finale (2078 pg/ml). Chez les poissons en phase de récupération, son niveau est de 2641 pg/ml et est voisin de celui obtenu à la fin de la vitellogenèse. Les variations individuelles au sein d'un même stade sont pratiquement toujours constantes.









**PLANCHE 2** : 4. ovocytes au stade protoplasmique (stade 1), en début prévitellogenèse (stade 2) et en prévitellogenèse avancée (stade 3) (grossissement = 12,8x). 5. ovocytes en début de prévitellogenèse (grossissement=32x). 6. ovocytes en prévitellogenèse avancée (grossissement = 12,8x). 7. ovocyte en vitellogenèse précoce (stade 4) (grossissement = 12,8x). 8-9. ovocytes en vitellogenèse avancée (stade 5 et 6) (grossissement = 32x). 10. Migration de la vésicule germinative (stade 8) (grossissement = 80x). 11. vésicule germinative en périphérie (stade 9) (grossissement = 32x). 12. Détail d'un micropyle (grossissement = 80x). 13. Follicule postovulatoire entouré d'ovocytes en fin de vitellogenèse (stade 9) (grossissement = 32x). 14. Ovocyte en atresie préovulatoire (grossissement = 32x). 15. Ovaire asynchrone : présence simultanée de différents stades ovocytaires.



## 6. DISCUSSION.

Nos résultats, en accord avec divers auteurs (BERNET, 1960; BRUNET ET HOESTLANDT, 1972; KESTEMONT, 1987,88,89,90), montrent l'existence chez le goujon d'un cycle reproducteur saisonnier. Celui-ci présente une évolution lente et progressive durant la période hivernale et le début du printemps; puis, une accélération dans le déroulement de sa gamétogenèse dès le réchauffement de l'eau, permettant ainsi aux ovocytes d'atteindre le stade de maturité et d'ovulation à la fin du printemps et au début de l'été. Une température minimale de 16 à 17°C semble donc nécessaire pour observer la ponte des géniteurs en milieu semi-naturel.

### **6.1. Evolution des paramètres morphologiques.**

Le cycle saisonnier transparaît dans la variation des caractères morphologiques qui présentent un profil saisonnier évident. L'évolution du facteur de condition et de l'indice gonadosomatique est similaire à celui des facteurs environnementaux (température et photopériode).

#### **6. 1.1. Le facteur de condition.**

Durant la période hivernale, les facteurs de condition ( $K$  et  $K_1$ ) sont faibles tant chez les mâles que chez les femelles. L'épaisse couche de glace qui s'est formée en janvier sur l'étang, empêchant tout apport extérieur de nourriture, a probablement contribué à l'amaigrissement des poissons, d'autant plus que la productivité naturelle est à ce moment très faible. Au début du printemps, la hausse de température déclenche la reprise du métabolisme, dès lors le  $K$  augmente. Toutefois, il diminue dès le 11 avril 1991 de

façon importante chez les mâles ( $K = 0,79\%$ ). Les causes de cet amaigrissement sont à rechercher au niveau de la biologie du goujon. Comme à cette époque les poissons ne jeûnent plus et qu'on ne peut attribuer ce fait aux gonades (comme le montre le  $K_1 = 0,78\%$ ), il faut donc admettre, comme le suggère BERNET (1960), que les goujons subissent une diminution de leur musculature et de leurs réserves au profit de leur activité reproductrice.

Ensuite, le facteur de condition s'accroît pour atteindre un maximum en période de reproduction. Notons que chez les femelles, la prise de poids se fait essentiellement au niveau des gonades en plein développement, tandis que chez les mâles, la part énergétique réservée au développement gonadal est beaucoup plus faible, comme le montre d'ailleurs la différence entre  $K$  et  $K_1$  qui reste très faible et relativement constante durant toute la durée du cycle. Finalement, au mois de juin, le  $K$  et le  $K_1$  diminuent, cette diminution peut s'expliquer par la libération des produits sexuels.

#### 6.1.2. L'indice gonadosomatique.

L'indice gonadosomatique, toujours plus élevé chez les mâles que chez les femelles (développement plus important des ovaires), présente une évolution sensiblement différente selon le sexe des poissons. Durant toute la période de basses températures, l'I.G.S. des femelles reste pratiquement constant, alors que celui des mâles montre une croissance continue et régulière durant l'hiver et le printemps. L'augmentation est toutefois plus rapide à l'approche du frai, mais ne montre pas de brusque élévation comparable à celle observée chez les femelles. Cette hausse résulte, chez les mâles, des divisions méiotiques des spermatoocytes, suivies de la spermiogenèse; chez les



femelles, de la croissance des ovocytes durant la vitellogenèse. Le stade ultime de maturation est atteint plus tôt chez les mâles que chez les femelles. Il est caractérisé par la présence de boutons nuptiaux et le réflexe de spermiation provoqué par une pression manuelle des flancs, faits qui apparaissent dès le début du mois d'avril. Chez les femelles, le stade correspondant (maturation finale des ovocytes) n'apparaît que dans les prélèvements de mai.

L'importance des écarts-types observés en période de reproduction indique que si l'I.G.S. nous permet d'estimer globalement l'état de maturité des poissons, il est très imprécis lorsqu'on se situe à la limite de la saison de frai. Seule l'analyse histologique nous permet de savoir quelle sera l'évolution de l'ovaire. Deux facteurs influencent d'ailleurs le schéma général de développement : d'une part, le pourcentage du poids ovarien dans chaque ovaire qui augmente avec la longueur du poisson et d'autre part, le fait que la majorité des femelles pondent 2 à 4 lots d'oeufs par saison. Des variations dans l'I.G.S. résultant de ces facteurs risquent donc d'être attribuées aux variations temporelles (KESTEMONT, 1988).

## **6.2. Sécrétions hormonales et stades de maturité.**

L'utilisation de techniques de dosage radioimmunologique de la  $17\beta$ -oestradiol, de la testostérone et de la  $17\alpha$ -hydroxy-20- $\beta$ -dihydroprogestérone a permis de suivre l'évolution des niveaux plasmatiques de ces hormones, au cours du cycle reproducteur du goujon (*Gobio gobio*) en relation, chez les femelles, avec le stade d'avancement de la gamétogenèse.

### 6.2.1. La $17\beta$ -oestradiol et la testostérone chez les goujons femelles.

L'évolution plasmatique de la  $17\beta$ -oestradiol et de la testostérone chez les goujons femelles est en accord avec les études réalisées pour ces mêmes stéroïdes chez le poisson rouge *Carassius auratus* (KAGAWA et al. 1983), le barbeau *Barbus barbus* (PONCIN, 1988) et la carpe *Cyprinus carpio* (GALAS et BIENARZ, 1989).

Rappelons que chez les téléostéens femelles, les oestrogènes (principalement la  $17\beta$ -oestradiol) synthétisés dans les cellules de la *granulosa* des follicules ovariens et sécrétés par l'ovaire stimulent la synthèse par le foie de la vitellogénine qui, transportée par le sang jusqu'à l'ovaire, est à l'origine des constituants des ovocytes que sont les réserves nutritives indispensables au développement de l'embryon (voir 2.3.1.). Les androgènes, qui ont été décelés dans le plasma de nombreuses femelles, notamment chez la carpe *Cyprinus carpio* (GALAS et BIENARZ, 1989), le poisson rouge *Carassius auratus* (KAGAWA et al., 1983) et la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (SCOTT et al., 1983), sont considérés comme précurseurs des oestrogènes (voir 2.3.2.).

Chez le goujon, la recrudescence gonadale démarre en automne, sous photopériode et température décroissantes, mais elle est bloquée en fin de prévitellogenèse (stade 3) durant la période hivernale, la température très basse réduisant fortement l'ensemble des activités métaboliques. L'examen histologique permet d'observer à ce stade des ovocytes remplis de vésicules glycoprotéiques entourés par les membranes cellulaires et folliculaires qui ont pris un aspect nettement différencié. L'ooplasme est entouré successivement par une étroite



membrane vitelline et par le chorion constitué de la *zona radiata* interne (fortement colorable à la phloxine) d'aspect homogène et de la *zona radiata* externe (colorable au vert lumière) d'aspect strié. Ces différentes couches constituent les membranes ovocytaires. Les membranes folliculaires sont caractérisées par une couche de cellules ovoïdes (les cellules folliculaires ou *granulosa*) entourant étroitement le chorion, et par une couche de cellules aplaties (les cellules thécales ou thèque) d'aspect plutôt lâche. Ce sont ces membranes folliculaires qui sont responsables de la production des différents stéroïdes. Les cellules de la thèque produisent en réponse à la GtH des androgènes aromatisables, principalement la testostérone, lesquels sont convertis en  $17\beta$ -oestradiol au niveau de la *granulosa*.

A cette période, les teneurs plasmatiques à la fois en  $17\beta$ -oestradiol et en testostérone sont peu élevées (respectivement 20 à 35 pg/ml et 0,250 à 0,350 ng/ml). Ces valeurs sont très faibles par rapport à celles observées chez le poisson rouge *Carassius auratus* (Kagawa et al., 1983) où la concentration hivernale en  $17\beta$ -oestradiol est inférieure à 3 ng/ml, tandis que celle de testostérone atteint un taux de 1 à 2 ng/ml. Chez le barbeau *Barbus barbus*, la concentration en  $17\beta$ -oestradiol est aussi plus élevée durant cette période (50 à 100 pg/ml) (Poncin 1988).

Comme nous l'avons déjà signalé dans notre synthèse bibliographique, les facteurs de l'environnement interviennent dans la régulation de la reproduction (DE VLAMING, 1974). Ainsi, au début du mois d'avril, nous observons une augmentation légère de la concentration en  $17\beta$ -oestradiol, celle-ci est toutefois suffisante pour faire démarrer la vitellogenèse. L'examen histologique révèle d'ailleurs à cette époque des ovocytes en vitellogenèse précoce (stade 4) et en vitellogenèse (stade 5). La baisse de

température, observée à partir de cette période, fait retomber le taux de  $17\beta$ -oestradiol à son niveau de base. La vitellogenèse est alors stoppée et il est possible d'observer, sur les coupes histologiques du 11 et du 17 avril 1991, que pratiquement tous les ovocytes qui étaient entrés en vitellogenèse subissent une atrophie. L'activité aromatase des ovocytes non atrophés étant restreinte, le taux de testostérone peut augmenter (figure 37). La vitellogenèse qui permet l'élaboration de réserves pour le futur alevin est donc particulièrement sensible aux perturbations de l'environnement.

En mai, la hausse de température va accélérer la vitellogenèse et le développement des gonades va se précipiter. Le taux plasmatique de ces deux stéroïdes atteint alors un maximum, mais le pic de  $17\beta$ -oestradiol précède celui de testostérone. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus chez la carpe *Cyprinus carpio* (GALAS et BIENIARZ, 1989) et la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (SCOTT et al., 1983) où le pic de  $17\beta$ -oestradiol est observé quand la vitellogenèse est active. Celle-ci est caractérisée sur les coupes histologiques par l'accumulation d'inclusions de vitellus de nature lipoprotéique au sein des ovocytes, provoquant l'augmentation de leur taille (stades 4, 5 et 6).

Au moment de la maturation finale (stades 7 et 8), la concentration en  $17\beta$ -oestradiol baisse, mais elle ne retombe pas à son niveau de base comme chez les Salmonidés (SCOTT et al., 1983; KAGAWA et al., 1983) où tous les ovocytes entament le processus de maturation finale et d'ovulation de façon synchronisée et simultanée. C'est à ce moment qu'apparaît le pic de testostérone. Celui-ci peut s'expliquer aisément puisqu'à la fin de la vitellogenèse, l'activité aromatase est réduite. KIME (1987) signale que si ce pic de testostérone est commun à tous les téléostéens



femelles, son rôle n'est pas bien établi. Pour JALABERT (1976), les androgènes plasmatiques pourraient provoquer le renforcement de la levée du rétro-contrôle négatif que joue la  $17\beta$ -oestradiol sur la sécrétion de GtH et ainsi stimuler le processus de maturation finale et d'ovulation.

Le goujon étant un poisson à ovogenèse asynchrone, il peut pondre 2 à 4 fois durant sa période de reproduction. Par conséquent, après une ponte, deux phénomènes peuvent avoir lieu : ou bien la femelle se prépare à une nouvelle ponte ou bien l'ovaire entre dans une phase de récupération.

Chez les individus ayant ovulé et se préparant à une nouvelle ponte (stade 9), le taux de  $17\beta$ -oestradiol est encore élevé. Signalons qu'il est même supérieur à celui observé durant la vitellogenèse, contrairement à ce qui est relevé chez le poisson rouge *Carassius auratus* (un autre poisson à ovogenèse asynchrone) où celui-ci est plus faible sans pour autant retomber à son niveau de base. L'examen histologique nous permet d'expliquer facilement cette valeur, puisqu'après l'ovulation, l'ovaire du goujon contient encore des ovocytes au stade protoplasmique (stade 1), en prévitellogenèse (stades 2 et 3) et en vitellogenèse (stades 4, 5 et 6), et ces derniers sont capables de produire la  $17\beta$ -oestradiol afin de stimuler la synthèse de vitellogénine par le foie. A ce moment, le taux de testostérone diminue puisque l'activité aromatase a repris. Cependant il ne retombe pas à son niveau de base puisque les follicules postovulatoires sont encore capables de produire de la testostérone comme le suggèrent KAGAWA et al. (1983) chez le poisson rouge où les follicules postovulatoires ont encore une activité stéroïdogénique 6 à 10 heures après l'ovulation.

Chez les femelles en phase de récupération (stade 10), nous avons constaté que les follicules postovulatoires et les ovocytes en vitellogenèse étaient en atrésie débutante. Les niveaux de  $17\beta$ -oestradiol et de testostérone sont anormalement élevés, ceux-ci dépassant ceux obtenus durant la période de reproduction, du moins pour la  $17\beta$ -oestradiol. Mais, comme KAGAWA et al. (1983), KOBAYASHI et al. (1987) ont également montré que chez le poisson rouge *Carassius auratus*, les follicules postovulatoires sont encore capables de produire des stéroïdes et qu'il faut attendre leur dégénérescence complète afin de voir apparaître une réduction de leur teneur plasmatique.

#### 6.2.2. La $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone chez les goujons femelles.

Comme la  $17\beta$ -oestradiol et la testostérone, la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP plasmatique présente un profil saisonnier.

Son taux augmente en fin de vitellogenèse, puis se maintient à une valeur élevée durant la maturation finale. De nombreux travaux ont montré que c'était cette hormone, produite par l'enveloppe folliculaire des ovocytes en réponse à la GtH, qui était impliquée dans le processus de maturation finale (*Oncorhynchus rhodulus*, YOUNG et al., 1983; *Carassius auratus*, KAGAWA et al., 1983; *Cyprinus carpio*, KIME et DOLBEN, 1985) (voir également 2.3.3.). Cependant, les teneurs maximales de ce stéroïde sont très peu élevées (2 à 3 ng/ml), comparées à celles rapportées chez les Salmonidés (70 à 400 ng/ml pour *Oncorhynchus rhodulus*, YOUNG et al., 1983). Toutefois, chez les Salmonidés, la maturation finale et l'ovulation se déroulent simultanément pour tous les ovocytes et les quantités élevées de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP justifieraient ce fait.



De plus, les enveloppes folliculaires des ovocytes de goujon pourraient avoir une capacité plus faible à produire la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP, comme le font remarquer KAGAWA et al. (1983) chez le poisson rouge *Carassius auratus*, où la concentration de ce stéroïde ne dépasse pas 200 à 300 pg/ml avant l'ovulation. Mais ces auteurs signalent aussi que les valeurs maximales obtenues au cours de leur expérience sont inférieures aux concentrations plasmatiques réelles. Ainsi, après avoir injecté de l'H.C.G. (Human Chorionic Gonadotropin) à des poissons rouges immatures maintenus à 20°C, ils constatent, après 6 heures, un accroissement du taux de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP, jusqu'à 5 ng/ml.

Si on comprend aisément pourquoi le taux de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP est toujours élevé chez les poissons se préparant à une nouvelle ponte, cela est plus ambigu chez les poissons en phase de récupération. Toutefois, YOUNG et al. (1983) ont mis en évidence chez *Oncorhynchus rhodulus* de hautes teneurs en  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP après l'ovulation. Celles-ci seraient dues à la sécrétion de ce stéroïde par les follicules postovulatoires dont l'activité stéroïdogénique serait prolongée pendant 1 à 3 jours.

Chez les poissons à ovogenèse asynchrone comme le goujon, des valeurs élevées de  $17\beta$ -oestradiol peuvent être associées à des valeurs élevées de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP, puisque des ovocytes en vitellogenèse cohabitent avec des ovocytes en maturation finale ou en régression postovulatoire. C'est au niveau des récepteurs que les différences se marquent.

Il faut également souligner que chez *Fundulus heteroclitus* (poisson à ovogenèse groupe-synchrone : voir 1.1.2.1.) la  $17\beta$ -oestradiol est sécrétée à tous les stades de

développement des follicules, même par des follicules qui produisent de la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP et qui sont capables de subir la maturation finale en réponse à la GtH. Des études réalisées sur des follicules ovariens isolés ont aussi montré que les cellules de la granulosa chez *F. heteroclitus* possèdent toutes les enzymes nécessaires pour la synthèse de la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP, la testostérone et la  $17\beta$ -oestradiol. Le modèle ainsi décrit pour les Salmonidés faisant intervenir 2 types cellulaires pour la stéroïdogénèse n'est donc pas applicable chez cette espèce (LIN, 1991)

### 6.2.3. La testostérone chez les goujons mâles.

Les testicules de goujons sont de structure lobulaire. Ils contiennent des spermatogonies A et B tout au long du cycle annuel et les autres stades cellulaires (spermatocytes, spermatides et spermatozoïdes) apparaissent uniquement à l'approche de la reproduction (KESTEMONT, 1989).

La spermatogénèse se déroule chez le goujon en automne et se termine à la fin du printemps, les basses températures ne provoquant pas un arrêt de la maturation comparable à celui observé chez les femelles. Durant cette période, les teneurs plasmatiques en testostérone sont déjà importantes. La chute constatée au mois d'avril, tout comme celle de la  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles, coïncide avec celle de la température.

Durant la spermiogénèse, se déroulant sous température élevée, le taux de testostérone augmente comme l'ont d'ailleurs observé PONCIN (1988) chez le barbeau *Barbus barbus*, KOBAYASHI et al. (1986) chez le poisson rouge *Carassius auratus*.



Au dernier prélèvement de mâles, effectué dans l'étang le 5 juin 1991, ceux-ci étaient toujours spermiant, même si quelques femelles (3 sur 10 prélevées) étaient déjà entrées en phase de récupération. KESTEMONT (1989) signale d'ailleurs qu'en août, certains mâles peuvent encore posséder un pourcentage élevé de spermatozoïdes, alors que toutes les femelles sont entrées en phase de récupération. Le réflexe de spermiation semble, par contre, avoir disparu.

#### 6.2.4. REMARQUES.

Aucune concentration ( $17\beta$ -oestradiol, testostérone et  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP) ne retombe à son niveau de base à la fin de notre étude, les poissons n'ayant pas tous terminé leur cycle reproducteur. A cet effet, un prélèvement de sang a été réalisé, lors de la vidange de l'étang, le 2 août 1991. Malheureusement, les différents dosages n'ont pas encore pu être effectués, faute de temps.

### 6.3. Le milieu et la technique de pêche.

#### 6.3.1. Le milieu.

Nous avons pu constater que les poissons de l'étang présentaient toujours un état de maturité plus avancé que ceux prélevés dans la Semois (surtout au mois d'avril). Ce fait peut s'expliquer facilement puisque l'étang subit un réchauffement relativement plus rapide que le milieu naturel et que la gamétogenèse est fonction de la température. Ainsi, chez le goujon, une température inférieure à  $10^{\circ}\text{C}$  ne permet pas l'accumulation vitellogénique.

Aucune autre différence importante n'a pu être observée entre les poissons provenant du milieu semi-naturel et ceux issus du milieu naturel. Les conditions de

stockage n'ont donc pas influencé le déroulement de la gamétogenèse.

### 6.3.2. La technique de pêche.

Il est important de signaler que certains auteurs (BERLINSKY et SPECKER, 1991; CARRAGHER et SUMPTER, 1990) indiquent que le stress que subit le poisson, notamment lors de la pêche électrique, pourrait avoir un effet sur le déroulement de la gamétogenèse. CARRAGHER et SUMPTER (1990) ont ainsi montré, chez la truite commune *Salmo trutta* que le maintien élevé du taux de cortisol plasmatique pouvait avoir un effet répressif sur l'hypophyse, sur le taux plasmatique des hormones impliquées dans la reproduction et même sur la taille des gonades. Ainsi, une heure après un stress important, le cortisol plasmatique peut augmenter fortement et être associé à une diminution relativement marquée des stéroïdes sexuels. On considère toutefois une période de réaction d'environ 3 à 4 heures. Toutefois, nous ne pensons pas que le stress causé par la pêche électrique a pu modifier les concentrations en stéroïdes de façon significative puisque le laps de temps s'écoulant entre la pêche et le prélèvement sanguin était très court.



## 7. RESUME, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.

L'objectif de ce travail était d'étudier l'évolution saisonnière de quelques hormones sexuelles plasmatiques ( $17\beta$ -oestradiol, testostérone et  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone) chez un poisson à ovogenèse asynchrone, le goujon *Gobio gobio*.

Pour atteindre ce but, nous avons, dans un premier temps, fait la synthèse des connaissances actuelles sur la reproduction des poissons téléostéens. Il ressort de cette analyse que :

- L'activité ovarienne des poissons revêt dans nos régions un caractère saisonnier réglé par les conditions de l'environnement (principalement température et photopériode). La maturation des ovocytes est ainsi principalement induite par une photopériode décroissante chez les Salmonidés alors que la température constitue le facteur primordial chez les Cyprinidés.
- Cette activité présente en outre un certain nombre de spécificité par rapport à celle des vertébrés supérieurs, notamment l'existence d'un renouvellement du stock de cellules germinales par mitoses goniales même à l'âge adulte et l'accumulation de réserves vitellines importantes dans les ovocytes (vitellogenèse).
- Si l'on s'attache à la dynamique de l'ovogenèse, il est possible de distinguer deux grands types de développement ovocytaire: synchrone et asynchrone.

Dans le premier cas, on assiste à une croissance plus ou moins synchrone d'une seule cohorte d'ovocytes qui atteindront au même moment le stade ultime de

maturité, à savoir la maturation finale et l'ovulation. Ces espèces ne pondent qu'une seule fois durant leur cycle sexuel et concentrent donc tout leur potentiel reproductif en une seule ponte. La régulation endocrine des mécanismes de reproduction est actuellement bien comprise comme nous l'avons montré dans notre synthèse bibliographique. Ainsi la vitellogenèse est stimulée par les oestrogènes, eux-mêmes sous la dépendance de la GtH alors que la maturation finale et l'ovulation sont provoquées par une chute d'oestrogènes et un pic de  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone (également par la GtH).

Dans le second cas, les poissons disposent durant la période de reproduction, d'ovocytes se situant à différents stades de maturité et atteignant donc la maturation finale et la ponte à des moments divers. Les équilibres hormonaux sont donc plus complexes. Ainsi, la concentration plasmatique en  $17\beta$ -oestradiol augmente pendant la vitellogenèse. Mais lors de la maturation finale, elle ne retombe pas à son niveau de base. Cette valeur élevée de  $17\beta$ -oestradiol est donc associée à une teneur élevée en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone. Ces poissons fraient à plusieurs reprises durant une même saison de reproduction divisant de la sorte leur potentiel reproductif.

Dans un deuxième temps, nous avons établi les profils plasmatiques des stéroïdes gonadiques ( $17\beta$ -oestradiol, testostérone,  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone) chez le goujon au cours de la maturation sexuelle et du cycle ovarien et nous avons corrélié ces variations de teneurs avec l'évolution histologique de l'ovaire.



Nous avons ainsi montré que les variations annuelles du taux d'hormones sexuelles sont liées à la reproduction. Le taux de  $17\beta$ -oestradiol, de testostérone et de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP chez les femelles et de testostérone chez les mâles sont maxima en mai-juin. Ces résultats rejoignent ceux déjà connus pour diverses espèces de poissons, mais ils devaient être mis en évidence chez le goujon, car cet aspect de sa biologie était encore inconnu à ce jour.

Nos résultats apportent des éléments nouveaux car peu d'études endocrinologiques ont été jusqu'à présent consacrées à des espèces à pontes multiples. Ainsi, entre deux pontes, un taux élevé de  $17\beta$ -oestradiol peut être associé à un taux élevé de  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP puisque des ovocytes en cours de vitellogenèse, toujours sous dépendance d'oestrogènes, cohabitent avec des ovocytes en fin de vitellogenèse et soumis à l'action des progestagènes. En dehors des périodes de reproduction le taux des 3 stéroïdes étudiés est faible et pratiquement constant. Chez les mâles, il ressort que le taux moyen de testostérone est significativement supérieur chez les mâles spermants par rapport aux individus non spermants.

Nos résultats ont également montré que certaines phases-clés de l'ovogenèse sont particulièrement sensibles aux perturbations de l'environnement, notamment la vitellogenèse qui permet l'élaboration des réserves pour le futur alevin.

Cette étude ne constitue qu'une première approche et ultérieurement, il serait intéressant tout d'abord de la compléter en étudiant l'évolution des différents stéroïdes à la fin du cycle reproducteur du goujon, afin de

savoir à quel moment les concentrations retombent à leur niveau de base.

Une étude des effets des facteurs de l'environnement sur la reproduction du goujon au niveau des stéroïdogénèses ovarienne et testiculaire est à envisager, nous pourrions ainsi déterminer ce qui permet l'accélération de la vitellogenèse, ce qui déclenche les phénomènes d'atrésie... .

Une analyse précise des modifications cytologiques et hormonales se produisant durant la maturation finale et l'ovulation, soit par prélèvements réguliers d'ovocytes *in vivo* et mesure de concentrations en hormones circulantes, soit par incubation *in vitro* d'ovocytes à différents stades de maturité et mesure des concentrations en stéroïdes dans les enveloppes folliculaires et au sein de l'ovocyte est à envisager afin de comprendre les mécanismes mis en place lors de la reproduction.



BIBLIOGRAPHIE.

- ABRAHAM, M., 1988. Recent trends in research on induced spawning of fish in aquaculture. *J. Appl. Ichthyol.*, 4, 49-64.
- ARAI, R., TAJIMA, H. & TAMAOKI, B., 1969. *In vitro* transformation of steroids by the head kidney, the body kidney and the corpuscles of Stannius of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 12, 99-109.
- BAGGERMAN, B., 1980. Photoperiodic and endogenous control of the annual reproductive cycle in teleost fishes. In : *Environmental physiology of fishes*, Ed. M.A. ALI, Plenum, New-York, 553-567.
- BARA, G., 1965. Histochemical localization of 5-3 $\beta$  hydroxysteroid dehydrogenase in the ovaries of a teleost fish, *Scomber scomber*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 5, 284-296.
- BARR, W.A., 1968. Patterns of ovarian activity. In : *Perspectives in endocrinology*. Eds. E.J.W. BARRINGTON & C.B. JORGENSEN, Acad. Press, London & New-York, 230p.
- BERLINSKY, D.L. & SPECKER J.L., 1991. Changes in gonadal hormones during oocyte development in the striped bass, *Morone saxatilis*. *Fish Phys. Biochem.*, 9, n°1, 51-62.
- BERNET B., 1960. Recherches biologiques sur les populations de *Gobio gobio* L. de la Nivelle. *Ann. Stn. Cent. Hydrob. Appl.*, 8, 127-180.
- BILLARD, R., BRETON, B., FOSTIER, A., JALABERT, B. & WEIL, C., 1978. Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors : Salmonid and Cyprinid models. In : *Comparative endocrinology*. Eds. P.J. GAILLARD & H.H. BOER, Elsevier, North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 37-48.
- BILLARD, R., 1979. La gamétogenèse, le cycle sexuel et le contrôle de la reproduction chez les poissons téléostéens. *Bull. Franç. de Pisc.*, 273, 117-135.
- BILLARD, R., BRETON, B. & RICHARD M., 1981. On the inhibitory effect of some steroids on spermatogenesis in adult rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Can. J. Zool.*, 59, 1479-1487.



BILLARD, R., FOSTIER, A., WEIL, C. & BRETON, B., 1982. The endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 65-79.

BILLARD, R., BRETON, B., DODD, J.M., FOSTIER, A., GORBMAN, A., IDLER, D.R., JALABERT, B., NAGAHAMA, V., PETER, R.E., PEUTE, J., VAN DER KRAAK, G., VAN OORDT, P.G.W.J. & ZOHAR, R.V., 1983. Endocrines tissues and hormones. In *Fish Physiology*, vol. IX, part A, reproduction. Eds. W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E.M. DONALSON. Acad. Press, 258-427.

BISTER, J.L., 1989. Physiologie spéciale 3 : système endocrinien-système nerveux. Cours première licence, 115p. Inédit.

BLANC-LIVNI, N. & ABRAHAM, M., 1970. The influence of environmental salinity on the prolactin and gonadotropin secreting regions in the pituitary of *Mugil* (Teleostei). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 14, 184-197.

BRETON, B., JALABERT, B., BILLARD, R. & WIEL, C., 1971. Stimulation *in vitro* de la libération d'hormone gonadotrope par un facteur hypothalamique chez la carpe (*Cyprinus carpio*). *C.R. Acad. Sci.*, 273, 2591-2595.

BRETON, B., BILLARD, R., JALABERT, B. & KANN, G., 1972. Dosage radioimmunologique des gonadotropines plasmatiques chez *Carasius auratus* au cours du nyctémère et pendant l'ovulation. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 18, 463-468.

BRETON, B. & BILLARD, B., 1977. Effects of photoperiod and temperature on plasma gonadotropin and spermatogenesis in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 17, 331-340.

BRETON, B., FOSTIER, A., ZOHAR, Y., LEBAIL, P.Y. & BILLARD, R., 1983. Gonadotropin glycoprotéique et estradiol-17 $\beta$  pendant le cycle reproducteur chez la truite fario (*Salmo trutta*) femelle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49, 220-231.

BRETON, B., MONTIN, A., KAH, O., LE MENN, F., GEOFFRE, S., PRECIGOUX, G. & CHAMBOLLE, P., 1984. Dosage radioimmunologique homologue d'un facteur hypothalamique de stimulation de la fonction gonadotrope hypophysaire de saumon s-GnRH. *C.R. Acad. Sci.*, 299, 383-388.

BURNET R. & HOESTLANDT H., 1972. Recherches biologiques et pisciculture expérimentale du goujon (*Gobio gobio* L.). *Bull. Franç. Piscicult.*, 45, 246, 7-32.

BURZAWA-GERARD, E., 1981. Les hormones gonadotropes des poissons. *Oceanis*, vol. 6, 665-676.

BYE, V.J., 1982. The role of environmental factors in the timing of reproductive cycles. In : *fish reproduction* ,Acad. Press, 11, 187-205.

CARRAGHER, J.F. & SUMPTER J.P., 1989. The effect of cortisol on the secretion of sex steroids from cultured ovarian follicles of rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 77, 403-407.

CEDARD, L. & FONTAINE, M., 1963. Sur la présence de stéroïdes sexuels dans les corpuscules de Stannius du saumon atlantique, *Salmo salar* L. . *C.R. Hebd. Séances Acad. Sci.*, 257, 3095-3097.

CHAN, S.T.H. & PHILLIPS, J.P., 1969. The biosynthesis of steroids by the gonads of the ricefield eel, *Monopterus albus* , at various phases during natural sex reversal. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 12, 619-636.

CHANG, J.J. & PETER, R.E., 1983. Effects of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus* . *Neuroendocrinology*, 36, 351-357.

COLOMBO, L. & COLOMBO-BELVEDERE, P., 1977. Gonadal steroidogenesis in teleost fishes. *Invest. Pesq.*, 41, 147-164.

COLOMBO, L., BELVEDERE, P.C., MARCONATO, A. & BENTIVEGNA, F., 1982. Pheromones in teleost fish. In *Reproductive physiology of fish* . Eds. C.J.J. RICHTER & H.J.Th. GOOS. PUDOC, Wageningen, 84-94.

DEMORTIER, D., 1990. Influence de la photopériode et de la température sur le développement gonadal des femelles de vairon européen (*Phoxinus phoxinus* , L. 1958) et production hivernale d'alevins de vairon européen. Dissertation présentée en vue de l'obtention du grade d'Ingénieur Agronome, Faculté des Sciences agronomiques, Gembloux, 106p. Inédit.



DEPECHE, J. & SIRE, O., 1982. *In vitro* metabolism of progesterone and  $17\alpha$ -hydroxy-progesterone in the testis of rainbow trout, *Salmo gairdneri* R., at different stages of spermatogenesis. *Reprod. Nutr. Develop.*, 22, 427-438.

DE VLAMING, V. L., 1974. Environmental and endocrine control of teleost reproduction. In : *Control of sex in fish*, Ed. C.B. SCHRECK. Extension Division Virginia. Polytechnic Institute and State University ; Blacksburg, Virginia. 13-83.

DE VLAMING, V.L., 1975. Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity in the cyprinid teleost, *Notemigonus crysoleucas*. *Copeia*, n°4, 793-796.

DE VLAMING, V.L. & VODICNICK, M.J., 1977. Diurnal variations in pituitary gonadotropin content and in gonadal response to exogenous gonadotropin and prolactin in *Notemigonus crysoleucas*. *J. Fish Biol.*, 10, 371-383.

ECKSTEIN, B. & KATZ, Y., 1971. Steroidogenesis in post- and pre-spawned ovaries of a cichlid fish *Tilapia aurea*. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 38, 329-338.

ELLIOT, J.A.K., BROMAGE, N.R. & SPINGATE, J.R.C., 1984. Changes in reproductive function of three strains of rainbow trout exposed to constant and seasonally-changing light cycles. *Aquaculture*, 43, 23-34.

EMMERSEN, B. & KJAER, K., 1974. Seasonal and hormonally-induced changes in the serum level of the precursor protein vitellogenin in relation to ovarian vitellogenic growth in the toad, *Bufo bufo bufo* (L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 22, 261-267.

EPLER, P., 1978. Effect of gonadotropin and steroid hormones on ovarian maturity on carp. *Zesz. Nauk. Akad. Roln. Kvakow*, 146, 7-51.

EPLER, P., 1981. Effect of steroid and gonadotropic hormones on the maturation of carp ovaries. Part I. Effects of steroid or gonadotropic hormones of mammals and fish on the carp oocyte maturation *in vivo*. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 28, 85-100.

- EPLER, P., BIENIARZ, K. & SOKOLOWSKA, M., 1985. The effects of low dosages of steroid hormones and carp hypophysial homogenate on carp (*Cyprinus carpio* L.) oocyte maturation *in vitro*. *Aquaculture*, 47, 231-238.
- FONTAINE, M., 1976. Hormones and the control of reproduction in aquaculture. *J. Fish Res. Bord. Can.*, 33, 922-939.
- FOSTIER, A., BRETON, B., JALABERT, B. & MARCUZZI, O., 1981. Evolution des niveaux plasmatiques de la gonadotropine glycoprotéique et de la  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogesterone au cours de la maturation et de l'ovulation chez la truite arc-en-ciel, *Salmo gairneri*. *C.R. hebd. Séances Acad. Sci.*, 293, 817-820.
- FOSTIER, A., JALABERT, B., BILLARD, R., BRETON, B. & ZOHAR, Y., 1983. The gonadal steroids. In : *Fish physiology*, vol. IX, part A, reproduction. Eds. W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E.M. DONALDSON. Acad. Press, 277-371.
- GALAS, J. & BIENIARZ, K., 1989. Seasonal changes of sex steroids in mature and male carp, (*Cyprinus carpio* L.). *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 36,407-416.
- GILLET, C., BRETON, B. & BILLARD, R., 1978. Seasonal effects of exposure to temperature and photoperiod regims on gonad growth and plasma gonadotropin in goldfish (*Carassius auratus* ). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18, 1045-1049.
- GOETZ, F.W., 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In : *Fish physiology*, Eds. W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E.M. DONALSON ; vol. IX, part B, Behavior and fertility control, Acad. Press, 117-170.
- GOTTFRIED, H. & VAN MULLEN, P.J., 1967. On the histology of the interstitium and the occurrence of steroids in the stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) testis. *Acta endocr.*, 56, 1-15.
- GRIER, H. J. , 1981. Cellular organisation of the testis and spermatogenesis in fishes. *Amer. Zool.*, 21, 345-357.
- HEMING, T.A., 1982. Effects of temperature on utilisation of yolk by chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* ) eggs and alevins. *J. Can. Sc. holicutiques aquatiques*, 35, n°1, 184-190.



HOAR, W.S. & NAGAHAMA, Y., 1978. The cellular sources of sex steroids in teleost gonads. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 18, 893-898.

HURLBURT, M.E., 1977. Role of the thyroid gland in a ovarian maturation of the goldfish, *Carassius auratus* L. . *Can. J. Zool.*, 55, 1906-1913.

IDLER, D.R. & MACNAB, H.C., 1967. The biosynthesis of 11-ketotestosterone and 11 $\beta$ -hydroxy-testosterone by atlantic salmon tissues *in vitro* . *Can. J. Biochem.*, 45, 581-589.

IDLER, D.R., TRUSCOTT, B. & STEWARD, H.C., 1968. Some distinctive aspects of steroidogenesis in fish. *Excerpta medica*, 184, 724-729.

IDLER, D.R. & TRUSCOTT, B., 1972. Corticosteroids in fish. In : *Steroids in Nonmammalian Vertebrates* . Ed. D.R. IDLER, Acad. Press, London & New-York, 127-252.

JALABERT, B., BRETON, B. & BRY, C., 1972. Maturation et ovulation *in vitro* des ovocytes de la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.). *C.R. Hebd. Séances Acad. Sci.*, 275, 1139-1142.

JALABERT, B., BRY, C., SZOLLOSI, D. & FOSTIER, A., 1973. Etude comparée de l'action des hormones hypophysaires sur la maturation *in vitro* des ovocytes de la truite et du carassin (poissons téléostéens). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 13, 59-72.

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. Can.*, 33, 974-988.

JALABERT, B., BRETON, B., BRZUSKA, E., FOSTIER, A. & WIENIAWSKI, J., 1977. A new tool for induced spawning : the use of 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogesterone to spawn carp at low temperature. *Aquaculture*, 10, 353-364.

JALABERT, B., BRETON, B. & FOSTIER, A., 1978. Precocious induction of oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, R.). Problems when using 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogesterone. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 18, 977-984.

KAGAWA, H., YOUNG, G., ADACHI, S. & NAGAHAMA, Y., 1982. Estradiol-17 $\beta$  production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: role of the thecal and *granulosa* cells. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 47, 440-448.

KAGAWA, H., YOUNG, G. & NAGAHAMA, Y., 1983. Changes in plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in female goldfish (*Carassius auratus*). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49, 1783-1787.

KANAMORI & NAGAHAMA, 1988. Developmental changes in the properties of gonadotropin receptors in the ovarian follicles of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) to chum salmon gonadotropin during oogenesis. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 72, 25-38.

KANINGINI, M., 1984. Contribution à l'étude de la croissance, de la reproduction et du régime alimentaire du goujon, *Gobio gobio* L. dans la Meuse à Argenteau. Mém. UNCED, FUN, 103p (inédit).

KATZ, Y. & ECKSTEIN, B., 1974. Changes in steroid concentration in blood female *Tilapia aurea* (Teleostei, Cichlidae) during initiation of spawning. *Endocrinology*, 95, 963-966.

KESTEMONT, P., 1987. Etude du cycle reproducteur du goujon, *Gobio gobio* L. 1. variations saisonnières dans l'histologie de l'ovaire. *J. Applied. Ichthyol.*, 4, 145-157.

KESTEMONT, P., 1988. Etude des potentialités d'élevage intensif du goujon, *Gobio gobio*, L. . Reproduction et croissance larvaire. Dissertation présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences, Facultés Universitaires Notre-Dame de la paix, Namur, 233p. (Inédit).

KESTEMONT, P., 1989. Etude du cycle reproducteur du goujon, *Gobio gobio* L. 2. variations saisonnières dans l'histologie des testicules. *J. Applied. Ichthyol.*, 5, 111-121.

KESTEMONT, P., 1990. Dynamic aspects of ovogenesis in an asynchronous fish, the gudgeon *Gobio gobio* L. (Teleostei, Cyprinidae), under controlled temperature and photoperiod conditions. *Aquat. Living Resour.*, 3, 61-74.



- KESTEMONT, P. & PHILIPPART, J. C., 1991. Considérations sur la croissance ovocytaire chez les poissons à ovogenèse synchrone et asynchrone. *Belg. J. Zool.*, 120, 263-274.
- KIME, D.E., 1978. The hepatic catabolism of cortisol in the teleost fish-adrenal origin of 11-oxotestosterone precursors. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 35, 322-328.
- KIME, D.E., 1979. Androgen biosynthesis in teleost and elamobranch fishes. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.*, part B, 45, 429-435.
- KIME, D.E. & DOLBEN, I.P., 1985. Hormonal changes during induced ovulation of the carp *Cyprinus carpio*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 58, 137-149.
- KIME, D.E., 1987. The steroids. In *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. Eds. I. CHESTER-JONES, P.M. INGLETON & J.G. PHILLIPS, Plenum Press, New-York & London, 3-56.
- KOBAYASHI, M, AIDA, K. & HANYU I., 1988. Hormone changes during ovulatory cycle in goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 69, 301-307.
- KOCH, W., 1958. Le sandre (*Sander lucioperca*, Linné). *Bulletion officiel d'information du conseil supérieur de la pêche*, 31, 3-8.
- LAM, T.J. & LOY, G.L., 1985. Effect of L-thyroxine on ovarian development and gestation in the viviparous guppy, *Poecilia reticulata*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 60, 324-330.
- LAMBERT, J.G.D., 1970. The ovary of the guppy, *Poecilia reticulata*. The *granulosa* cells as sites of steroid biosynthesis. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 15, 464-476.
- LAMBERT, J.G.D., MATTHEIJ, J.A.M. & VAN OORDT, P.G.W.J., 1972. The ovary and hypophysis of the zebrafish *Brachydanio rerio* during the reproduction cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 18, 602.
- LAMBERT, J.G.D. & VAN BOHEMEN, C.G., 1980. Oestrogen synthesis in the female trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 40, 323.

LEGENDRE, M. & JALABERT, B., 1988. Physiologie de la reproduction. In : *Biologie et écologie des poissons d'eau douces africains* . Eds. C. LEVEQUE, M.N. BRUTON, G.W. SSENTONGO, collection Travaux et Documents n°216, Paris, 8, 153-187.

LIN, Y-W., P., PETRINO, T.R. & WALLACE, R.A., 1991. A non-salmonid model for the study of fish reproduction. In *4th International Symposium on Reproductive physiology of fish*. University of East Anglia, Norwich, U.K., 7-12 July 1991 : Abstracts 90.

LOFTS, B., PICKFORD, G.E. & ARTZ, J.W., 1968. The effects of low temperature and cortisol, on testicular regression in the hypophysectomized cyprinodont fish, *Fundulus heteroclitus* . *Biol. Bull.*, 134, 74-86.

LUPO, C. & CHIEFFI, G., 1963. Estrogens and progesterone in ovaries of the marine teleost *Conger conger* . *Nature*, 197, 596.

MAHIOUS, A., 1990. Influence du régime alimentaire sur les performances de reproduction du goujon. Mém. UNECED FUN, 88p (inédit).

NAGAHAMA, Y., 1987.  $17\alpha$ - $20\beta$ -dihydro-4-pregnen-3-one : a teleost maturation-inducing hormone. *Develop. Growth and Differ.*, 29, 1-12.

NAGAHAMA, Y. & YAMASHITA, M., 1989. Mechanisms of synthesis and action of  $17\alpha$ - $20\beta$ -dihydro-4-pregnen-3-one, a teleost maturation-inducing substance. *Fish physiol. Biochem.*, vol 7, n°1-4, 193-200.

O'HALLORAN, M.J. et IDLER, D.R., 1970. Identification and distribution of the Leydig cell homologue in the testis of sexually mature atlantic salmo (*Salmo salar* ). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 15, 361-364.

OZON, R., 1972. Estrogens in fishes, amphibiens, reptiles and birds. In : *Steroids in Nonmammalian Vertebrates* . Ed. D.R. IDLER, Acad. Press, London & New-York, 390-410.

PANDEY, S. & HOAR, W.S., 1972. Induction of ovulation in goldfish by clomiphene citrate. *Can. J. Zool.*, 50, 1679-1680.



PETER, R.E. & CRIM, L.W., 1979. Reproductive endocrinology of fishes : gonadal cycles and gonadotropin in teleosts. *Ann. Rev. Physiol.*, 41, 323-335.

PETER, R.E., 1981. Gonadotropin secretion during reproductive cycles in teleosts : influences of environmental factors. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 45, 294-305.

PETER, R.E., 1982. Neuroendocrine control of reproduction in teleosts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 48-55.

PETER, R.E., 1983. The brain and neurohormones in teleost reproduction. In : *Fish Physiology*, Eds. W.S. HOAR, D.J. RANDALL, E.M. DONALDSON ; vol. IX, part A, Endocrine Tissues and Hormones, Acad. Press, 97-135.

PICKFORD, G.E. & ATZ, J.W., 1957. The physiology of the pituitary gland of fishes. New-York Zoological Society, 613p.

PLACK, P.A. & PRITCHARD, D.J., 1968. Effect of estradiol-3-benzoate on the concentrations of retinal and lipids in cod plasma. *Biochem. J.*, 106, 257-262.

PONCIN, P., 1988. Le contrôle environnemental et hormonal de la reproduction en captivité du barbeau et du chevaie. *Cahiers d'Ethologie Appliquée*, fascicule 2, vol. 8, 173-316.

PONCIN, P., 1989. Effects of different photoperiods on the reproduction of the barbel, *Barbus barbus* (L.), reared at constant temperature. *J. Fish Biol.*, 35, 395-400.

REDSHAW, M.R., 1972. The hormonal control of the amphibian ovary. *Amer. Zool.*, 12, 289-306.

REMACLE, C., 1975. Contribution à l'étude de la différenciation des cellules germinales chez les poissons téléostéens. Dissertation présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences, Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, 470p. Inédit.

ROYAUX, A., 1976. Contribution à l'étude de la biologie et de la reproduction du goujon *Gobio gobio*, L.. Mém. UNECED, FUN, 123p. (inédit).

SCOTT, A.P., BYE, V.J. & BAYNES, S.M., 1980. Seasonal variations in sex steroids of female rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 17, 587-592.

SCOTT, A.P., SUMPTER, J.P. & HARDIMAN, P.A., 1983. Hormones changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* RICHARDSON). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49, 128-134.

SCOTT, A.P., 1987. Reproductive endocrinology of fish. In *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. Eds. I. CHESTER-JONES, P.M. INGLETON & J.G. PHILLIPS, Plenum Press, New-York & London, 223-256.

SHERWOOD, N.M., EIDEN, L., BROWNSTEIN, M., SPIESS, J., RIVIER, J. & VALE, W., 1983. Characterization of a teleost GnRH. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 80, 2794-2798.

SHERWOOD, N.M., HARVEY, B., BROWNSTEIN, M. & EIDEN L.E., 1984. Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) in striped mullet (*Mugil cephalus*) milkfish (*Chanos chanos*) and the rainbow trout (*Salmo gairdneri*): comparaison with salmon GnRH. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 55, 174-181.

SOWER, S.A., 1990. Neuroendocrine control of reproduction in lampreys. *Fish. Physiol. Biochem.*, vol. 8, n° 5, 365-374.

SPILLMAN, Ch. J., 1961. Faune de France, 65 poissons d'eau douce. Eds P. LECHEVALIER, Paris, 303p.

STACEY, N.E. & PANDEY, S., 1975. Effects of indomethacin and prostaglandins on ovulation of goldfish. *Prostaglandins*, 9, 597-607.

STACEY, N.E., COOK, A.F. & PETER, R.E., 1979. Spontaneous and gonadotropin-induced ovulation in the goldfish, *Carassius auratus* L. : the effects of external factors. *J. Fish Biol.*, 15, 349-361.

SUNDARARAJ, B.I. & KESHAVANATH, P., 1976. Effects of melatonin and prolactin treatment on the hypophysial ovarian system in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 29, 84-96.



SUNDARARAJ, B.I. & GOSWAMI, S.V., 1977. Hormonal regulation of *in vivo* and *in vitro* oocyte maturation in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Gen. Comp. Endocrinol.*, suppl. 3, 688-702.

TAMAOKI, B., ARAI, B., TAJIMA, H. & SUZUKI, K., 1970. Comparative aspects of steroidogenesis in testicular tissue of vertebrates. *Excerpta medica*, 219, 976-982.

VAN DEN BURK, R., HART, L.A., LAMBERT, J.G.D. & VAN OORDT, P.G.W.J., 1982. On the regulation of sexual behaviour of male zebrafish, *Brachydanio rerio*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 46, 403.

WEIL, C., FOSTIER, A. & BILLARD, R., 1986. Induced spawning (ovulation and spermiation) in carp and related species. In : *Aquaculture of Cyprinids*, Eds. BILLARD et MARCELL, INRA, Paris, 119-137.

YARON, Z., 1966. Demonstration of 3  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase in the testis of *Tilapia mossambica* (Cichlidae, Teleostei). *J. Endocr.*, 34, 127-128.

YARON, Z., COCOS, M. & SALZER, H., 1980. Effects of temperature and photoperiod on ovarian recrudescence in the cyprinid fish, *Mirogrix terrae-sanctae*. *J. Fish. Biol.*, 16, 371-382.

YOUNG, G. & BALL, J.N., 1983. Ultrastructural changes in the adenohipophysis during the ovarian cycle of the viviparous teleost *Poecilia latipinna*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 52, 86-101.

YOUNG, G., CRIM, L.W., KAGAWA, H., KAMBEGAWA, A. & NAGAHAMA, Y., 1983. Plasma 17 $\alpha$ -20 $\beta$ -dihydro-4-pregnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodulus*) : correlation with plasma gonadotropin and *in vitro* production by ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 51, 96-105.

LISTES DES FIGURES.



Figure 1 : (A) Représentation schématique des deux types de structures testiculaires rencontrées chez les téléostéens. Ve : *vas efferens*, Vd : *vas deferens*, Sp : spermatozoïdes, Sp-zg : spermatozeugme. (B) Coupe transversale d'un lobule. G.A. : spermatogonie du type A. D'après BILLARD et al., 1982.

Figure 2 : Schéma hypothétique décrivant le contrôle de l'ovulation chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. D'après JALABERT, 1976.

Figure 3 : Histogramme de répartition des tailles des ovocytes de l'ombre commun *Thymallus thymallus* avant la ponte. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.

Figure 4 : Histogramme de répartition des tailles des ovocytes du barbeau fluviatile *Barbus barbus* avant la ponte. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.

Figure 5 : Histogramme de répartition des tailles des ovocytes du goujon *Gobio gobio* à différents moments de son cycle gamétogénique. Stade 1 : ovocytes protoplasmiques, stade 2 : ovocytes en début de prévitellogenèse, stade 3 : ovocytes en fin de prévitellogenèse, stade 4 : ovocytes en vitellogenèse. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.

Figure 6 : Représentation schématique d'un follicule ovarien d'un poisson téléostéen. D'après HOAR et NAGAHAMA, 1978.

Figure 7 : Pourcentage journalier de femelles mûres et hebdomadaire de mâles spermiantes de barbeaux *Barbus barbus*. (A) photopériode naturelle simulée (latitude de la Belgique). (B) cycle annuel condensé en 6 mois. \* résultats significatifs (test de  $X^2$ ). D'après PONCIN, 1989.

Figure 8 : Contrôles photopériodiques testés chez *Oncorhynchus mykiss*. Le moment du frai des poissons est indiqué par une flèche. Les poissons du groupe contrôle (j) ont frayé fin janvier/début février. Les graduations sur l'axe horizontal représentent le premier jour du mois. D'après BROMAGE et al., 1984 in DEMORTIER, 1990.

Figure 9 : Représentation schématique des mécanismes impliqués dans le contrôle de la reproduction chez les poissons téléostéens. D'après LEGENDRE et JALABERT, 1988.

Figure 10 : Structure primaire de la GnRH de différents vertébrés. D'après SOWER, 1990.

Figure 11 : Profil de c-GTH sérique chez le poisson-rouge, *Carassius auratus*, durant l'ovulation. Photopériode de 16L/8N et élévation de la température de l'eau de  $13 \pm 1^\circ\text{C}$  à  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ . Le nombre de poissons ovulant à chaque heure est indiqué sur le graphe inférieur. D'après STACEY et al., 1979.

Figure 12 : Relais hypophyse-ovaire pour la stimulation de la maturation finale. M.S. : stéroïde maturationnel. D'après FOSTIER et al., 1983.

Figure 13 : Relais hypophyse-interrénal-ovaire pour la stimulation de la maturation finale. M.S. : stéroïde maturationnel. D'après SUNDARARAJ et GOSWAMI, 1977 in FOSTIER et al., 1983.

Figure 14 : Relais hypophyse-ovaire et influence des corticostéroïdes pour la stimulation de la maturation finale. M.S. : stéroïde maturationnel, C.S.1 : 11 déoxycorticostéroïdes, C.S. 2 : 11 oxycorticostéroïdes, B : protéines plasmatiques, ACTH : Hormone AdrenoCorticoTropé. D'après JALABERT, 1976 in FOSTIER et al., 1983.

Figure 15 : Représentation schématique des sites de synthèse des stéroïdes chez les téléostéens. D'après HOAR et NAGAHAMA, 1978.

Figure 16 : Inter-relations entre les différentes hormones stéroïdiennes. D'après KIME, 1987.

Figure 17 : Biosynthèse des stéroïdes androgènes chez les poissons téléostéens. I : cholestérol-20 $\alpha$ -hydroxylase, II : cholestérol-22 R-hydroxylase, III : cholestérol-C 20-C 22-lyase, IV :  $\Delta$  5-3 $\beta$ -hydroxustéroïde-déhydrogénase, V :  $\Delta$ 4- $\Delta$ 5-isomérase VI : 17 $\alpha$ -hydroxylase, VII : 17 $\alpha$ -hydroxypregnène-C 17-C 20-lyase, VIII : 17 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase, IX : 20 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase, X : 11 $\beta$ -hydroxylase, XI : 17 $\beta$ -réductase, XII : 21-hydroxylase. Modifié, d'après KIME, 1987.



Figure 18 : Biosynthèse des stéroïdes oestrogènes chez les poissons téléostéens. I : 19 $\beta$ -hydroxylase, II : Systeme Enzymatique d'Aromatisation (SEA), III : 17 $\beta$ -hydroxystéroïde-oxydo-réductase. D'après KIME, 1987.

Figure 19 : Biosynthèse des stéroïdes progestagènes et de leurs dérivés. I : cholestérol-20 -hydroxylase, II : cholestérol-22 R-hydroxylase, III :  $\Delta$ 5-3 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase, IV :  $\Delta$ 4- $\Delta$ 5-isomérase, V : 17 $\alpha$ -hydroxylase, VI : 20 $\beta$ -hydroxystéroïde-déhydrogénase, VII : 21-hydroxylase. D'après KIME, 1987.

Figure 20 : Schéma du mécanisme d'action des hormones stéroïdiennes. D'après NOCK et FERDER, 1981 in BISTER, 1989.

Figure 21 : Schéma synthétisant les différentes étapes de la vitellogenèse. D'après REDSHAW, 1972.

Figure 22 : Taux de GtH et de 17 $\beta$ -oestradiol chez une truite femelle à différents stades de maturité. D'après FOSTIER et al., 1978 in GOETZ, 1983.

Figure 23 : Taux moyens de la testostérone 0 et de la 17 $\beta$ -oestradiol dans le plasma de la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. D'après SCOTT et al., 1980 in FOSTIER et al., 1983.

Figure 24 : Schéma général décrivant le contrôle endocrinien de la maturation finale et de l'ovulation chez les poissons téléostéens. NTL = noyau latéral du Tuber, ---- voie certaine, - - - - voie hypothétique, + action stimulante, - action inhibitrice. Modifié, d'après JALABERT, 1976 in KESTEMONT, 1988.

Figure 25 : Variations saisonnières de l'index gonadosomatique (I.G.S.) chez des poissons à ovogenèse synchrone. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1991.

Figure 26 : Variation saisonnière de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) chez les femelles (o) et les mâles (o) de goujon (*Gobio gobio*) durant un cyclez annuel. D'après KESTEMONT, 1988.

Figure 27 : Evolution du taux de testostérone, de la  $17\beta$ -oestradiol, de la  $17\alpha$ -hydroxyprogestérone, de la  $17\alpha$ - $20\beta$ -DHP et de la GtH chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. D'après SCOTT, 1987.

Figure 28 : Evolution de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et du taux de la  $17\beta$ -oestradiol plasmatique durant la maturation des gonades chez le poisson rouge (*Carassius auratus*). D'après KAGAWA et al., 1983.

Figure 29 : Infrastructure de recherche à la pisciculture expérimentale d'Haugimont. 1-3 : étangs de 112 m<sup>2</sup> ; 4 : serre équipée de bassin d'élevage; W : ruisseau le Wanet; Al d'eau : alimentation en eau; c.v. : canal de vidange; v : vanne; g : grille; b : barrage. D'après KESTEMONT, 1988.

Figure 30 : Schéma montrant la position de l'aiguille lors de la prise de sang.

Figure 31 : Evolution de la température dans l'étang de stockage des goujons, *Gobio gobio* L. d'octobre 1990 à juin 1991.

Figure 32 : Evolution des facteurs de conditions (K et K1) chez les femelles de goujon *Gobio gobio* stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\bar{I}$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 33 : Evolution des facteurs de conditions (K et K1) chez les mâles de goujon *Gobio gobio* stockés en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\bar{I}$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 34 : Variation de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\bar{\Gamma}$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).



Figure 35 : Variation de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) chez les mâles de goujon *Gobio gobio*, stockés en étang au cours de l'année 1990-91 ( $T$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 36 : Evolution du taux moyen de  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 37 : Evolution du taux moyen de testostérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 38 : Evolution du taux moyen de testostérone chez les mâles de goujon *Gobio gobio*, stockés en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 39 : Evolution du taux moyen de  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio*, stockées en étang au cours de l'année 1990-91 ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 40 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 ( $R$  = coefficient de corrélation).

Figure 41 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 ( $R$  = coefficient de corrélation).

Figure 42 : Taux moyen de  $17\beta$ -oestradiol chez les femelles de goujons, dont l'I.G.S. est inférieur ou supérieur à 7%.

Figure 43 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

Figure 44 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

Figure 45 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les mâles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

Figure 46 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en testostérone chez les mâles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

Figure 47 : Relation arithmétique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

Figure 48 : Relation semi-logarithmique entre l'indice gonadosomatique (I.G.S.) et la concentration en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91 (R = coefficient de corrélation).

Figure 49 : Evolution du rapport de la concentration en  $17\beta$ -oestradiol et de  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone chez les femelles de goujon *Gobio gobio* au cours de l'année 1990-91

Figure 50 : Evolution des stades de maturité des ovocytes au cours de l'année 1990-91 chez les goujons femelles *Gobio gobio* (nombre de poissons ayant atteint le stade le plus élevé/nombre de poissons prélevés)



Figure 51 : Evolution de la concentration en  $17\beta$ -oestradiol pour les différents stades de maturité chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 52 : Evolution de la concentration en testostérone selon les différents stades de maturité chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

Figure 53 : Evolution de la concentration en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone selon les différents stades de maturité chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois ( $\Gamma$  = écart-type ; au-dessus de chaque écart-type est indiqué le nombre de poissons qui a été pris en compte).

LISTES DES TABLEAUX.



Tableau 1 : Classement, selon leur mode de développement ovocytaire des principales espèces de poissons d'eau douce se reproduisant dans les cours d'eau de Belgique. (?) : classement incertain. D'après KESTEMONT et PHILIPPART, 1990.

Tableau 2 : Seuil minimal de température pour la reproduction. D'après SPILLMANN, 1961.

Tableau 3 : Effets de la température et de la photopériode sur la gamétogenèse et la ponte chez quelques espèces des Cyprinidés et chez les Salmonidés. Modifié, d'après BILLARD et al., 1981.

Tableau 4 : Nombre de poissons prélevés pour nos expériences lors des pêches effectuées dans l'étang entre le 10 octobre 1990 et le 27 juin 1991.

Tableau 5 : Nombre de poissons prélevés pour nos expériences lors des pêches organisées sur la Semois entre le 25 avril et le 4 juillet 1991.

Tableau 6 : Méthodologie suivie pour l'étalonnage du dosage de la 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone.

Tableau 7 : Températures ( $^{\circ}$ C) relevées dans le Semois et dans l'étang lors de l'année 1991.

Tableau 8 : Comparaison des facteurs de condition (K et K<sub>1</sub>) et de l'indice gonadosomatique (I.G.S.) des goujons femelles prélevés dans la Semois et dans l'étang.

Tableau 9 : Comparaison des concentrations moyennes en 17 $\beta$ -oestradiol (E), en testostérone (T) et en 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone (DHP) entre les goujons femelles provenant dans l'étang et ceux capturés dans la Semois.

LISTES DES ANNEXES.



Annexe 1 : Résultats individuels obtenus chez les goujons mâles et femelles au cours de la saison 1990-1991. L = longueur totale du poisson (cm), P = le poids total (g), G = le poids des gonades (g), K et K<sub>1</sub> = les facteurs de condition (%), K-K<sub>1</sub> = la différence entre ces deux paramètres, I.G.S. = l'indice gonadosomatique (%), cc E = concentration plasmatique en 17 $\beta$ -oestradiol (pg/ml), cc T = concentration plasmatique en testostérone (ng/ml), cc DHP = concentration plasmatique en 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone, stade = stade de maturité des ovocytes le plus avancé présent au sein de l'ovaire, f = femelle, m = mâle, H = Haugimont, S = Semois.

Annexe 2 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données des facteurs de condition (K et K<sub>1</sub>) et de la différence entre ces deux paramètres chez les goujons mâles et les femelles (\* = significatif, \*\* = hautement significatif).

Annexe 3 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) réalisée sur les données des facteurs de condition (K et K<sub>1</sub>) et de la différence entre ces deux paramètres chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\* = significatif, \*\* = hautement significatif).

Annexe 4 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données de l'indice gonadosomatique des goujons mâles et femelles (\*\* = hautement significatif).

Annexe 5 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) réalisée sur les données de l'indice gonadosomatique des goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\* = significatif).

Annexe 6 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée après transformation logarithmique des données sur les concentrations plasmatiques moyennes en  $17\beta$ -oestradiol chez les goujons femelles (\*\* = hautement significatif).

Annexe 7 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) effectuée après transformation logarithmique sur les données des concentrations plasmatiques moyennes en  $17\beta$ -oestradiol chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\* = significatif, \*\* = hautement significatif).

Annexe 8 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée données des concentrations plasmatiques moyennes en testostérone chez les goujons femelles et mâles (\* = significatif, \*\* = hautement significatif).

Annexe 9 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) effectuée sur les données des concentrations plasmatiques moyennes en testostérone chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois.

Annexe 10 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée données des concentrations plasmatiques moyennes en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone chez les goujons femelles (\*\* = hautement significatif).

Annexe 11 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) effectuée sur les données des concentrations plasmatiques moyennes en  $17\alpha$ -hydroxy- $20\beta$ -dihydroprogestérone chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\*\* = hautement significatif).



Annexes

Annexe 1 : Résultats individuels obtenus chez les goujons mâles et femelles au cours de la saison 1990-1991. L = longueur totale du poisson (cm), P = le poids total (g), G = le poids des gonades (g), K et K<sub>1</sub> = les facteurs de condition (%), K-K<sub>1</sub> = la différence entre ces deux paramètres, I.G.S. = l'indice gonadosomatique (%), cc E = concentration plasmatique en 17 $\beta$ -oestradiol (pg/ml), cc T = concentration plasmatique en testostérone (ng/ml), cc DHP = concentration plasmatique en 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone, stade = stade de maturité des ovocytes le plus avancé présent au sein de l'ovaire, f = femelle, m = mâle, H = Haugimont, S = Semois.



n°	sexe	date	lieu	L (cm)	P (g)	G (g)	K (%)	K1 (%)	K-K1	I.G.S.(%)	cc E pg/m	cc Tng/m	cc DHP pg/ml	stade
1	f	18/10/90	H	15,5	26,9	0,73	0,72	0,70	0,02	2,71	10	0,134	1149	3
2	f	18/10/90	H	14,9	31,1	1,06	0,94	0,91	0,03	3,41	26	0,155	576	3
3	f	18/10/90	H	15,9	34,1	1,10	0,85	0,82	0,03	3,23	21	0,248	1127	3
4	m	18/10/90	H	14,4	27,1	0,24	0,91	0,90	0,01	0,89	-	-	-	
5	f	18/10/90	H	13,9	21,5	0,57	0,80	0,78	0,02	2,65	-	-	-	3
6	f	18/10/90	H	13,6	20,3	0,55	0,81	0,79	0,02	2,71	-	-	-	3
7	f	18/10/90	H	12,9	19,3	0,49	0,90	0,88	0,02	2,54	24	-	-	3
8	m	18/10/90	H	13,5	19,6	0,11	0,80	0,79	0,00	0,56	-	-	-	
9	f	18/10/90	H	13,2	17,7	0,55	0,77	0,75	0,02	3,11	34	0,212	1896	3
10	f	18/10/90	H	12,2	15,7	0,54	0,86	0,83	0,03	3,44	37	0,286	2910	3
11	m	18/10/90	H	12,4	15,1	0,08	0,79	0,79	0,00	0,53	-	-	-	
12	f	7/12/90	H	12,9	17,4	0,71	0,81	0,78	0,03	4,08	34	0,256	3243	
13	m	7/12/90	H	12,0	15,0	0,09	0,87	0,86	0,01	0,60	-	0,174	-	
14	m	7/12/90	H	13,8	22,6	0,11	0,86	0,86	0,00	0,49	-	0,284	-	
15	m	7/12/90	H	14,4	24,9	0,16	0,83	0,83	0,01	0,64	-	0,36	-	
16	f	7/12/90	H	13,4	20,0	0,81	0,83	0,80	0,03	4,05	27	0,354	763	3
17	f	7/12/90	H	13,9	22,0	0,43	0,82	0,80	0,02	1,95	14	0,266	706	2
18	m	7/12/90	H	13,9	20,0	0,16	0,74	0,74	0,01	0,80	-	0,111	-	
19	f	7/12/90	H	11,6	14,2	0,45	0,91	0,88	0,03	3,17	9	0,248	1159	3
20	m	7/12/90	H	12,4	18,5	0,14	0,97	0,96	0,01	0,76	-	0,103	-	
21	m	7/12/90	H	13,2	19,5	0,11	0,85	0,84	0,00	0,56	-	0,192	-	
22	m	7/12/90	H	13,3	15,2	0,08	0,65	0,64	0,00	0,53	-	0,204	-	
23	f	7/12/90	H	11,7	12,9	0,34	0,81	0,78	0,02	2,64	17	0,097	127	3
24	m	7/12/90	H	11,9	13,1	0,09	0,78	0,77	0,01	0,69	-	-	-	
25	f	7/12/90	H	10,9	11,5	0,33	0,89	0,86	0,03	2,87	-	-	-	3
26	m	7/12/90	H	11,7	11,4	0,05	0,71	0,71	0,00	0,44	-	-	-	
27	m	7/12/90	H	10,7	10,5	0,12	0,86	0,85	0,01	1,15	-	-	-	
28	f	7/12/90	H	11,7	12,6	0,39	0,79	0,76	0,02	3,10	-	-	-	3
29	m	12/12/90	H	12,6	15,9	0,09	0,79	0,79	0,00	0,57	-	-	-	
30	f	12/12/90	H	11,6	11,8	0,39	0,76	0,73	0,02	3,31	24	-	-	3
31	m	12/12/90	H	11,4	11,7	0,07	0,79	0,78	0,00	0,60	-	0,25	-	
32	m	12/12/90	H	12,2	12,1	0,06	0,67	0,66	0,00	0,50	-	0,084	-	

33	f	12/12/90	H	10,9	9,9	0,25	0,76	0,75	0,02	2,53	9	0,143	626	3
34	f	12/12/90	H	11,4	13,6	0,79	0,92	0,86	0,05	5,81	7	0,24	392	3
35	f	12/12/90	H	11,6	13,6	0,39	0,87	0,85	0,02	2,87	-	-	-	3
36	m	12/12/90	H	11,8	12,8	0,05	0,78	0,78	0,00	0,39	-	0,034	-	
37	f	12/12/90	H	11,8	12,4	0,47	0,75	0,73	0,03	3,79	-	-	-	3
38	f	12/12/90	H	11,8	12,0	0,47	0,73	0,70	0,03	3,92	-	-	-	3
39	m	14/3/91	H	10,8	11,7	0,15	0,93	0,92	0,01	1,28	-	0,876	-	
40	f	14/3/91	H	12,5	16,7	0,94	0,86	0,81	0,05	5,63	12	0,079	N.D.	3
41	m	14/3/91	H	11,7	12,6	0,07	0,79	0,78	0,00	0,56	-	0,461	-	
42	f	14/3/91	H	11,3	11,1	0,44	0,77	0,74	0,03	3,96	40	0,351	1203	3
43	m	14/3/91	H	11,4	11,1	0,09	0,75	0,74	0,01	0,81	-	0,871	-	
44	m	14/3/91	H	11,4	12,5	0,12	0,84	0,84	0,01	0,96	-	0,459	-	
45	m	14/3/91	H	10,5	9,8	0,12	0,85	0,84	0,01	1,22	-	-	-	
46	f	14/3/91	H	11,6	13,2	0,52	0,85	0,81	0,03	3,94	73	0,282	877	3
47	f	14/3/91	H	11,5	11,1	0,51	0,73	0,70	0,03	4,59	-	-	-	3
48	f	14/3/91	H	12,3	14,0	0,69	0,75	0,72	0,04	4,93	29	0,195	1456	3
49	f	14/3/91	H	12,8	11,3	0,51	0,54	0,51	0,02	4,51	22	0,08	464	3
50	m	14/3/91	H	11,8	12,3	0,06	0,75	0,74	0,00	0,49	-	0,335	-	
51	f	4/4/91	H	12,1	14,6	1,05	0,82	0,76	0,06	7,19	66	0,223	539	4
52	m	4/4/91	H	13,5	22,0	0,17	0,89	0,89	0,01	0,77	-	0,444	-	
53	f	4/4/91	H	12,5	16,5	1,25	0,84	0,78	0,06	7,58	-	-	-	3
54	f	4/4/91	H	11,6	12,6	0,73	0,81	0,76	0,05	5,79	16	-	-	3
55	f	4/4/91	H	10,4	9,0	0,70	0,80	0,74	0,06	7,78	85	0,224	2265	3
56	f	4/4/91	H	11,0	10,8	1,22	0,81	0,72	0,09	11,30	282	0,565	2114	4
57	f	4/4/91	H	10,8	11,5	1,22	0,91	0,82	0,10	10,61	148	0,358	793	5
58	m	4/4/91	H	10,5	9,3	0,06	0,80	0,80	0,01	0,65	-	0,543	-	
59	f	4/4/91	H	10,5	10,6	0,95	0,92	0,83	0,08	8,96	150	0,407	1180	4
60	f	4/4/91	H	10,7	10,3	0,86	0,84	0,77	0,07	8,35	52	0,234	608	4
61	m	4/4/91	H	12,7	18,2	0,25	0,89	0,88	0,01	1,37	-	1,05	-	
62	m	11/4/91	H	11,6	12,9	0,18	0,83	0,81	0,01	1,40	-	-	-	
63	m	11/4/91	H	12,4	16,0	0,25	0,84	0,83	0,01	1,56	-	0,361	-	
64	m	11/4/91	H	12,1	14,0	0,20	0,79	0,78	0,01	1,43	-	-	-	
65	f	11/4/91	H	10,8	10,9	1,04	0,87	0,78	0,08	9,54	-	-	-	5



66	m	11/4/91	H	12,2	13,8	0,18	0,76	0,75	0,01	1,30	-	0,248	-	
67	f	11/4/91	H	10,6	9,3	0,61	0,78	0,73	0,05	6,56	15	0,08	689	4
68	f	11/4/91	H	10,7	10,4	0,66	0,85	0,80	0,05	6,35	59	0,267	1209	3
69	f	11/4/91	H	10,0	9,4	1,46	0,94	0,79	0,15	15,53	63	0,813	1957	5
70	f	11/4/91	H	10,2	8,9	0,81	0,84	0,76	0,08	9,10	16	-	-	4
71	m	11/4/91	H	10,1	7,3	0,08	0,71	0,70	0,01	1,10	-	-	-	
72	m	11/4/91	H	12,0	14,1	0,16	0,82	0,81	0,01	1,13	-	0,342	-	
73	f	11/4/91	H	10,2	7,9	0,59	0,74	0,69	0,06	7,47	73	0,298	1614	4
74	f	11/4/91	H	10,0	7,8	0,63	0,78	0,72	0,06	8,08	44	-	-	4
75	f	11/4/91	H	10,4	9,5	0,95	0,84	0,76	0,08	10,00	23	0,244	468	5
76	f	11/4/91	H	9,6	7,7	1,01	0,87	0,76	0,11	13,12	17	0,102	862	4
77	m	11/4/91	H	10,1	8,2	0,07	0,80	0,79	0,01	0,85	-	-	-	
78	m	11/4/91	H	10,8	8,9	0,05	0,71	0,70	0,00	0,56	-	-	-	
79	m	11/4/91	H	10,9	11,2	0,11	0,86	0,86	0,01	0,98	-	-	-	
80	m	17/4/91	H	14,8	24,1	0,28	0,74	0,73	0,01	1,16	-	0,237	-	
81	m	17/4/91	H	11,4	11,6	0,11	0,78	0,78	0,01	0,95	-	0,111	-	
82	m	17/4/91	H	14,3	28,4	0,46	0,97	0,96	0,02	1,62	-	0,288	-	
83	f	17/4/91	H	14,8	22,8	2,62	0,70	0,62	0,08	11,49	23	0,294	2609	5
84	f	17/4/91	H	12,2	15,4	1,41	0,85	0,77	0,08	9,16	93	0,238	1238	5
85	f	17/4/91	H	10,4	9,3	0,90	0,83	0,75	0,08	9,68	-	-	-	5
86	f	17/4/91	H	9,3	7,3	0,66	0,91	0,83	0,08	9,04	-	-	-	5
87	f	17/4/91	H	9,6	7,4	0,79	0,84	0,75	0,09	10,68	5	0,08	2754	4
88	m	17/4/91	H	10,1	7,6	0,06	0,74	0,73	0,01	0,79	-	0,07	-	
89	f	17/4/91	H	9,4	6,9	0,55	0,83	0,76	0,07	7,97	-	-	-	
90	f	17/4/91	H	9,5	7,7	0,90	0,90	0,79	0,10	11,69	-	-	-	5
91	f	17/4/91	H	9,5	6,9	0,76	0,80	0,72	0,09	11,01	-	-	-	3
92	f	17/4/91	H	9,6	7,0	0,57	0,79	0,73	0,06	8,14	86	0,33	-	3
93	m	17/4/91	H	9,7	6,9	0,04	0,76	0,75	0,00	0,58	-	-	-	
94	m	17/4/91	H	10,1	7,6	0,04	0,74	0,73	0,00	0,53	-	-	-	
95	f	25/4/91	S	12,5	19,8	2,04	1,01	0,91	0,10	10,30	538	0,65	1085	5
96	m	25/4/91	S	11,8	13,9	0,14	0,85	0,84	0,01	1,01	-	1,183	-	
97	m	25/4/91	S	12,4	15,7	0,19	0,82	0,81	0,01	1,21	-	4,58	-	
98	m	25/4/91	S	11,7	13,4	0,16	0,84	0,83	0,01	1,19	-	4,229	-	

99	f	25/4/91	S	11,1	11,7	0,82	0,86	0,80	0,06	7,01	-	-	-	5
100	f	25/4/91	S	12,0	15,1	1,37	0,87	0,79	0,08	9,07	708	1,071	370	5
101	m	25/4/91	S	11,4	13	0,10	0,88	0,87	0,01	0,77	-	0,252	-	
102	f	25/4/91	S	10,5	9,3	0,81	0,80	0,73	0,07	8,71	-	-	-	4
103	m	25/4/91	S	11,9	12,8	0,15	0,76	0,75	0,01	1,17	-	0,528	-	
104	f	25/4/91	S	11,5	12,1	0,71	0,80	0,75	0,05	5,87	240	2,197	1411	4
105	m	25/4/91	S	11,6	13,1	0,09	0,84	0,83	0,01	0,69	-	0,502	-	
106	f	25/4/91	S	12,1	13,4	1,02	0,76	0,70	0,06	7,61	213	2,747	831	4
107	f	25/4/91	S	11,5	10,2	0,48	0,67	0,64	0,03	4,71	-	-	-	3
108	m	25/4/91	S	10,8	10,0	0,06	0,79	0,79	0,00	0,60	-	0,559	-	
109	m	25/4/91	S	11,2	11,3	0,12	0,80	0,80	0,01	1,06	-	4,178	-	
110	f	25/4/91	S	12,4	11,2	0,80	0,59	0,55	0,04	7,14	106	0,219	633	5
111	m	25/4/91	S	11,5	12,6	0,10	0,83	0,82	0,01	0,79	-	-	-	
112	f	26/4/91	H	10,4	9,6	1,18	0,85	0,75	0,10	12,29	158	0,331	376	4
113	f	26/4/91	H	9,6	8,9	1,29	1,01	0,86	0,15	14,49	183	0,439	682	4
114	f	26/4/91	H	9,8	8,8	0,92	0,93	0,84	0,10	10,45	-	-	-	4
115	f	26/4/91	H	10,5	9,6	0,90	0,83	0,75	0,08	9,38	-	-	-	3
116	m	26/4/91	H	12,0	15,2	0,25	0,88	0,87	0,01	1,64	-	1,154	-	
117	m	26/4/91	H	11,2	13,6	0,28	0,97	0,95	0,02	2,06	-	1,526	-	
118	m	26/4/91	H	10,9	10,8	0,06	0,83	0,83	0,00	0,56	-	0,471	-	
119	f	26/4/91	H	9,7	7,5	0,57	0,82	0,76	0,06	7,60	-	-	-	4
120	f	26/4/91	H	10,0	8,8	1,24	0,88	0,76	0,12	14,09	-	-	-	4
121	f	26/4/91	H	9,5	8,0	1,03	0,93	0,81	0,12	12,88	146	1,314	266	5
122	f	3/5/91	H	13,3	18,2	1,04	0,77	0,73	0,04	5,71	2467	0,679	836	4
123	f	3/5/91	H	13,7	23,6	2,32	0,92	0,83	0,09	9,83	362	-	-	5
124	f	3/5/91	H	12,1	15,6	1,66	0,88	0,79	0,09	10,64	494	0,262	1829	5
125	f	3/5/91	H	11,0	11,6	1,29	0,87	0,77	0,10	11,12	226	-	-	5
126	m	3/5/91	H	10,9	11,2	0,25	0,86	0,85	0,02	2,23	-	0,952	-	
127	f	3/5/91	H	10,4	9,8	1,29	0,87	0,76	0,11	13,16	285	0,537	758	7
128	m	3/5/91	H	12,8	17,1	0,28	0,82	0,80	0,01	1,64	-	0,6	-	
129	m	3/5/91	H	12,2	14,9	0,23	0,82	0,81	0,01	1,54	-	0,647	-	
130	f	3/5/91	H	11,0	13,0	1,49	0,98	0,86	0,11	11,46	206	0,295	1137	5
131	f	3/5/91	H	10,9	11,9	1,21	0,92	0,83	0,09	10,17	234	0,395	2199	6



132	f	13/5/91	H	10,8	11,6	1,85	0,92	0,77	0,15	15,95	324	2,466	3000	7
133	f	13/5/91	H	10,7	13,8	1,86	1,13	0,97	0,15	13,48	652	2,152	4499	6
134	m	13/5/91	H	12,1	15,0	0,28	0,85	0,83	0,02	1,87	-	0,786	-	
135	m	13/5/91	H	14,5	27,3	0,34	0,90	0,88	0,01	1,25	-	1,257	-	
136	f	13/5/91	H	10,0	9,8	1,54	0,98	0,83	0,15	15,71	279	1,24	1269	7
137	m	13/5/91	H	11,6	13,8	0,25	0,88	0,87	0,02	1,81	-	1,388	-	
138	f	13/5/91	H	11,8	17,2	2,77	1,05	0,88	0,17	16,10	327	2,691	2887	6
139	f	13/5/91	H	10,7	10,5	1,34	0,86	0,75	0,11	12,76	451	0,767	4331	7
140	f	13/5/91	H	10,5	10,6	0,97	0,92	0,83	0,08	9,15	785	0,482	3023	6
141	f	22/5/91	H	11,8	14,7	2,90	0,89	0,72	0,18	19,73	-	-	-	7
142	f	22/5/91	H	11,7	15,1	3,16	0,94	0,75	0,20	20,93	-	-	-	8
143	f	22/5/91	H	11,9	16,7	3,15	0,99	0,80	0,19	18,86	102	0,423	2899	8
144	m	22/5/91	H	12,3	16,6	0,36	0,89	0,87	0,02	2,17	-	0,298	-	
145	m	22/5/91	H	11,6	14,9	0,19	0,95	0,94	0,01	1,28	-	-	-	
146	m	22/5/91	H	11,4	14,1	0,27	0,95	0,93	0,02	1,91	-	-	-	
147	m	22/5/91	H	11,9	15,0	0,29	0,89	0,87	0,02	1,93	-	-	-	
148	f	22/5/91	H	10,7	11,2	1,11	0,91	0,82	0,09	9,91	275	0,492	4348	9
149	f	22/5/91	H	10,4	11,0	1,37	0,98	0,86	0,12	12,45	368	0,361	1461	9
150	f	22/5/91	H	12,4	13,1	2,07	0,69	0,58	0,11	15,80	123	0,78	2132	7
151	m	22/5/91	H	11,6	14,9	0,29	0,95	0,94	0,02	1,95	-	0,501	-	
152	f	22/5/91	H	10,6	11,6	2,09	0,97	0,80	0,18	18,02	220	0,79	3198	6
153	f	27/5/91	S	11,5	14,8	1,90	0,97	0,85	0,12	12,84	469	0,323	1535	5
154	f	27/5/91	S	11,4	13,0	1,16	0,88	0,80	0,08	8,92	174	0,274	1538	5
155	f	27/5/91	S	10,0	8,3	0,81	0,83	0,75	0,08	9,76	43	-	-	4
156	m	27/5/91	S	11,3	11,9	0,16	0,82	0,81	0,01	1,34	-	-	-	
157	m	27/5/91	S	13,3	18,3	0,26	0,78	0,77	0,01	1,42	-	-	-	
158	m	27/5/91	S	12,2	15,4	0,20	0,85	0,84	0,01	1,30	-	1,169	-	
159	f	27/5/91	S	11,6	13,3	1,33	0,85	0,77	0,09	10,00	326	0,487	2307	6
160	f	27/5/91	S	11,7	15,1	2,48	0,94	0,79	0,15	16,42	220	0,622	1614	6
161	m	27/5/91	S	12,8	19,9	0,39	0,95	0,93	0,02	1,96	-	-	-	
162	m	27/5/91	S	13,3	18,5	0,21	0,79	0,78	0,01	1,14	-	1,153	-	
163	f	27/5/91	S	12,4	18,2	2,78	0,95	0,81	0,15	15,27	193	0,636	3315	7
164	m	27/5/91	S	14,6	24,3	0,37	0,78	0,77	0,01	1,52	-	0,631	-	

165	m	29/5/91	H	13,4	21,2	0,45	0,88	0,86	0,02	2,12	-	1,352	-	
166	f	29/5/91	H	12,4	17,7	2,78	0,93	0,78	0,15	15,71	321	1,686	3190	6
167	m	29/5/91	H	15,2	34,9	0,26	0,99	0,99	0,01	0,74	-	0,532	-	
168	m	29/5/91	H	14,3	22,4	0,39	0,77	0,75	0,01	1,74	-	0,305	-	
169	f	29/5/91	H	11,3	13,9	2,48	0,96	0,79	0,17	17,84	112	3,165	2085	9
170	f	29/5/91	H	11,6	15,9	3,16	1,02	0,82	0,20	19,87	269	1,973	1899	10
171	f	29/5/91	H	10,4	12,4	2,47	1,10	0,88	0,22	19,92	7	-	-	10
172	f	29/5/91	H	11,3	14,4	2,35	1,00	0,84	0,16	16,32	171	3,414	2033	6
173	f	29/5/91	H	11,2	13,7	2,74	0,98	0,78	0,20	20,00	66	1,272	1934	6
174	f	29/5/91	H	11,7	14,4	1,72	0,90	0,79	0,11	11,94	-	-	-	9
175	f	29/5/91	H	11,0	11,0	1,54	0,83	0,71	0,12	14,00	-	-	-	6
176	f	29/5/91	H	10,7	10,3	1,32	0,84	0,73	0,11	12,82	-	-	-	5
177	f	5/6/91	H	10,6	12,8	2,01	1,07	0,91	0,17	15,70	352	0,887	2901	10
178	f	5/6/91	H	13,4	25,1	4,69	1,04	0,85	0,19	18,69	334	1,281	1332	7
179	f	5/6/91	H	12,0	15,3	1,65	0,89	0,79	0,10	10,78	-	-	-	9
180	f	5/6/91	H	13,8	25,5	4,22	0,97	0,81	0,16	16,55	356	0,602	3544	10
181	m	5/6/91	H	14,0	27,0	0,34	0,98	0,97	0,01	1,26	-	0,075	-	
182	m	5/6/91	H	12,9	19,7	0,40	0,92	0,90	0,02	2,03	-	0,137	-	
183	m	5/6/91	H	12,1	14,5	0,15	0,82	0,81	0,01	1,03	-	0,046	-	
184	f	5/6/91	H	11,6	17,6	3,21	1,13	0,92	0,21	18,24	150	0,282	562	10
185	f	5/6/91	H	11,0	12,6	2,30	0,95	0,77	0,17	18,25	140	0,507	1843	9
186	f	17/6/91	S	12,1	14,0	1,30	0,79	0,72	0,07	9,29	1762	6,43	2765	10
187	m	17/6/91	S	12,9	19,0	0,23	0,89	0,87	0,01	1,21	-	1,928	-	
188	m	17/6/91	S	12,9	18,6	0,21	0,87	0,86	0,01	1,13	-	3,009	-	
189	m	17/6/91	S	14,5	26,7	0,35	0,88	0,86	0,01	1,31	-	2,31	-	
190	f	17/6/91	S	12,5	16,3	1,84	0,83	0,74	0,09	11,29	207	3,527	1394	10
191	f	17/6/91	S	11,0	11,3	1,14	0,85	0,76	0,09	10,09	303	0,745	2091	9
192	f	17/6/91	S	11,7	13,7	2,01	0,86	0,73	0,13	14,67	2932	0,855	1700	9
193	f	17/6/91	S	11,4	11,7	0,74	0,79	0,74	0,05	6,32	611	0,267	762	9
194	f	19/6/91	H	11,6	14,3	1,64	0,92	0,81	0,11	11,47	600	0,172	1143	9
195	f	19/6/91	H	10,2	9,3	1,19	0,88	0,76	0,11	12,80	2178	3,223	2389	9
196	f	19/6/91	H	9,2	6,7	0,73	0,86	0,77	0,09	10,90	1697	1,387	3584	5
197	f	19/6/91	H	16,7	48,2	2,31	1,03	0,99	0,05	4,79	1904	0,957	2725	10



198	m	4/7/91	S	13,6	17,6	0,32	0,70	0,69	0,01	1,82	-	0,056	-	
199	m	4/7/91	S	11,6	13,7	0,13	0,88	0,87	0,01	0,95	-	0,598	-	
200	f	4/7/91	S	10,4	9,5	0,59	0,84	0,79	0,05	6,21	424	0,251	4088	9
201	m	4/7/91	S	12,2	17,4	0,32	0,96	0,94	0,02	1,84	-	0,743	-	
202	f	4/7/91	S	10,4	11,4	1,06	1,01	0,92	0,09	9,30	259	0,222	3643	9
203	m	4/7/91	S	11,8	14,9	0,10	0,91	0,90	0,01	0,67	-	0,695	-	
204	f	4/7/91	S	9,8	7,9	0,81	0,84	0,75	0,09	10,25	222	0,296	-	7
205	m	4/7/91	S	11,0	11,3	0,08	0,85	0,84	0,01	0,71	-	0,171	-	
206	f	4/7/91	S	11,9	13,6	0,87	0,81	0,76	0,05	6,40	245	0,71	2126	5
207	m	4/7/91	S	10,9	10,1	0,16	0,78	0,77	0,01	1,58	-	0,064	-	
208	m	4/7/91	S	11,1	11,2	0,17	0,82	0,81	0,01	1,52	-	0,036	-	
209	f	4/7/91	S	10,2	9,0	0,52	0,85	0,80	0,05	5,78	70	0,123	1473	9
210	f	4/7/91	S	10,7	11,4	0,49	0,93	0,89	0,04	4,30	74	0,162	2586	5

Annexe 2 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données des facteurs de condition (K et K1) et de la différence entre ces deux paramètres chez les goujons mâles et les femelles (\* = significatif, \*\* = hautement significatif).

sexe	facteur	source	SCE	dl	CM	F	Prob
♂	K	totale	0,386	60			
		factorielle	0,133	11	0,012	2,335*	0,0211
		résiduelle	0,253	49	0,005		
	K1	totale	0,375	60			
		factorielle	0,119	11	0,011	2,081*	0,0399
		résiduelle	0,256	49	0,005		
	K-K1	totale	0,003	60			
		factorielle	0,001	11		4,023**	0,0003
		résiduelle	0,001	49			
♀	K	totale	0,94	98			
		factorielle	0,433	12	0,036	6,127**	0,0001
		résiduelle	0,507	86	0,006		
	K1	totale	0,471	98			
		factorielle	0,107	12	0,009	2,103*	0,0248
		résiduelle	0,364	86	0,004		
	K-K1	totale	0,293	98			
		factorielle	0,231	12	0,019	26,615**	0,0001
		résiduelle	0,0062	86	0,001		



Annexe 3 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) réalisée sur les données des facteurs de condition (K et K<sub>1</sub>) et de la différence entre ces deux paramètres chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\* = significatif, \*\* = hautement significatif).

facteur	source	SCE	dl	CM	F	Prob.
K	totale	0,17	23			
	lieu	0,04	1	0,04	6,763*	0,0181
	temps	0,022	2	0,011	1,885	0,1806
	interaction	0,002	2	0,001	0,161	0,8523
	résiduelle	0,106	18	0,006		
K <sub>1</sub>	totale	0,098	23			
	lieu	0,01	1	0,01	2,284	0,8251
	temps	0,002	2	0,001	0,194	0,1481
	interaction	0,01	2	0,005	1,225	0,317
	résiduelle	0,076	18	0,004		
K-K <sub>1</sub>	totale	0,046	23			
	lieu	0,008	1	0,008	6,931*	0,0107
	temps	0,014	2	0,007	5,9*	0,0169
	interaction	0,003	2	0,002	1,303	0,2961
	résiduelle	0,021	18	0,001		

Annexe 4 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données de l'indice gonadosomatique des goujons mâles et femelles (\*\* = hautement significatif).

sexe	source	SCE	dl	CM	F	Prob.
♂	totale	17,427	60			
	factorielle	10,685	11	0,971	7,06**	0,0001
	résiduelle	6,742	49	0,138		
♀	totale	2679,25	98			
	factorielle	2185,668	12	182,139	31,735**	0,0001
	résiduelle	493,582	86	5,739		

Annexe 5 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) réalisée sur les données de l'indice gonadosomatique des goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\* = significatif).

source	SCE	dl	CM	F	Prob.
totale	366,97	23			
lieu	58,781	1	58,781	6,04*	0,0244
temps	100,755	2	50,378	5,177*	0,0167
interaction	32,264	2	16,132	1,658	0,2184
résiduelle	175,17	18	9,732		

Annexe 6 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée après transformation logarithmique des données sur les concentrations plasmatiques moyennes en  $17\beta$ -oestradiol chez les goujons femelles (\*\* = hautement significatif).

source	SCE	dl	CM	F	Prob.
totale	24,155	68			
factorielle	19,803	12	1,65	21,233**	0,0001
résiduelle	4,352	56	0,078		

Annexe 7 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) effectuée après transformation logarithmique sur les données des concentrations plasmatiques moyennes en  $17\beta$ -oestradiol chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\* = significatif, \*\* = hautement significatif).

source	SCE	dl	CM	F	Prob.
totale	8832898	17			
temps	4829718	2	2414859	16,397**	0,0004
lieu	260160	1	260161	1,767	0,2085
interaction	1975737	2	987868	6,708*	0,0111
résiduelle	1767283	12	147274		



Annexe 8 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée données des concentrations plasmatiques moyennes en testostérone chez les goujons femelles et mâles (\* = significatif,\*\* = hautement significatif).

sexe	source	SCE	dl	CM	F	Prob.
♀	totale	37,794	54			
	factorielle	25,262	12	2,105	7,055**	0,0001
	résiduelle	12,533	42	0,298		
♂	totale	4,764	31			
	factorielle	2,798	10	0,28	2,989*	0,0165
	résiduelle	1,966	21	0,094		

Annexe 9 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) effectuée sur les données des concentrations plasmatiques moyennes en testostérone chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois.

source	SCE	dl	CM	F	Prob.
totale	44,808	17			
temps	9,18	2	4,59	2,321	0,1405
lieu	0,015	1	0,0015	0,007	0,9326
interaction	11,883	2	5,941	3,004	0,0875
résiduelle	23,73	12	1,978		

Annexe 10 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée données des concentrations plasmatiques moyennes en 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone chez les goujons femelles (\*\* = hautement significatif).

source	SCE	dl	CM	F	Prob.
totale	77759732,4	63			
factorielle	34785438,2	12	2898786,5	3,44**	0,001
résiduelle	42974294,3	51	842633,2		

Annexe 11 : Résultats de l'analyse de la variance à deux critères de classification fixes (ANOVA 2) effectuée sur les données des concentrations plasmatiques moyennes en 17 $\alpha$ -hydroxy-20 $\beta$ -dihydroprogestérone chez les goujons femelles provenant de l'étang et de la Semois (\*\* = hautement significatif).

source	SCE	df	OM	F	Prob.
totale	16678495,1	17			
temps	11119152,4	2	5559576,2	16,849**	0,0003
lieu	2266,9	1	2266,9	0,007	0,9353
interaction	1597421,8	2	798710,9	2,421	0,1309
résiduelle	3959654	12	329971,1		