

NEUROENDOCRINOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE L'ANGUILLE : DE LA RECHERCHE FONDAMENTALE AUX PROBLÈMES APPLIQUÉS.

Sylvie DUFOUR

Laboratoire de Physiologie Générale et Comparée, Muséum National d'Histoire Naturelle,
URA 90 CNRS, 7 rue Cuvier, 75231 Paris Cedex 05, France.

RÉSUMÉ

Au stade argenté (au moment du départ pour la migration de reproduction), les anguilles sont encore sexuellement immatures («impubères») et elles demeurent bloquées à ce stade aussi longtemps que la migration n'a pas lieu. Les étapes ultérieures du cycle de l'anguille (maturation sexuelle, reproduction, mort) nous sont encore inconnues dans les conditions naturelles et l'anguille argentée représente donc le dernier stade accessible à l'expérimentation, que l'objectif soit fondamental ou appliqué.

Du point de vue fondamental, l'anguille est un modèle d'étude pour la physiologie de la puberté, le rôle des facteurs externes dans la reproduction et les relations entre l'environnement et l'évolution des espèces. Des expérimentations variées ont permis de démontrer que l'immaturité sexuelle au stade argenté résulte d'une déficience dans la production d'hormone gonadotrope hypophysaire, due elle-même à un double blocage cérébral (déficience en gonadolibérine et inhibition dopaminergique). C'est uniquement sous l'effet des facteurs externes rencontrés lors de la migration et sur l'aire de ponte que doit se déclencher l'activation pubertaire de l'axe cérébro-hypophysaire gonadotrope. Un rétrocontrôle positif des stéroïdes gonadiques sur cet axe permet alors d'amplifier cette activation. Le rôle incontournable des facteurs externes dans la reproduction de l'anguille a dû représenter une force conservatrice majeure, au cours de l'évolution des espèces d'anguilles, pour le maintien du cycle migratoire nécessaire pour rejoindre le site de ponte. La grande profondeur atteinte lors de la migration océanique serait l'un de ces facteurs (pression hydrostatique).

Du point de vue appliqué, ce cycle original présente plusieurs difficultés majeures dans le but d'une maîtrise de la reproduction des anguilles en aquaculture : — l'ensemble de la gamétogenèse doit être induite expérimentalement (et non seulement les étapes finales) ; — aucun modèle naturel d'anguille sexuellement mûre n'est disponible, ce qui permettrait, par comparaison, d'établir des traitements hormonaux adéquats (types d'hormones, doses, chronologie) ; — la méconnaissance des conditions environnementales de la reproduction, tant qu'un site de ponte n'aura pas été découvert, empêche l'utilisation de l'ensemble des facteurs externes comme agents nécessaires ou favorables à la reproduction et au développement.

Mots-clés : anguille, reproduction, puberté, endocrinologie, évolution, environnement, aquaculture.

THE NEUROENDOCRINOLOGY OF EEL REPRODUCTION : FROM FONDAMENTAL RESEARCH TO APPLIED PROBLEMS.

ABSTRACT

At the silver stage (when eels start the reproductive migration), eels are still sexually immature and remain blocked at this stage as long as the migration does not occur. The following phases of eel cycle (sexual maturation, reproduction, death) are still unknown in natural conditions and the silver eel represents the last phase available for fundamental or applied experimentations.

From a fundamental point of view, the eel provides a model for studying physiology of puberty, role of external factors in reproduction and relationships between environment and species evolution. Various experimentations demonstrated that sexual immaturity at the silver stage results from a deficient production of pituitary gonadotropic hormone, due to a dual brain blockade (a lack of gonadotropin-releasing hormone and a dopaminergic inhibition). It is only under the effects of external factors encountered during the migration and on the spawning ground that pubertal activation of the brain-pituitary gonadotropic axis will be triggered. A positive feedback by gonadal steroids on the activity of this axis will then amplify this activity. The necessary role of external factors in eel reproduction probably represented a major conservatory strength during eel species evolution, for maintaining the migratory cycle required to reach the spawning ground. The great depth reached during the oceanic migration would be one of these factors (hydrostatic pressure).

From an applied point of view, this special cycle presents several major difficulties for a futur control of eel reproduction in aquaculture : — the whole gametogenesis (and not only the last steps) must be experimentally induced ; — there is no natural model of sexually mature eel available, which would allow (by comparison) to establish suitable hormonal treatments (kind of hormones, doses, timing) ; — ignorance of the environmental conditions of reproduction, as long as a spawning ground is not discovered, prevents the use of the whole external factors as necessary or propitious agents for eel reproduction and development.

Key-words : eel, reproduction, puberty, endocrinology, evolution, environment, aquaculture.

A. LE CYCLE DE L'ANGUILLE ET LE BLOCAGE PRÉPUBERTAIRE DE LA REPRODUCTION

1. Données et inconnues sur la vie et la reproduction de l'anguille

1.1. Bref rappel des découvertes sur le cycle de vie de l'anguille européenne (pour revue : SCHMIDT, 1923 ; BERTIN, 1951 ; D'ANCONA, 1960 ; SINHA et JONES, 1975 ; TESCH, 1977)

Le mystère de la reproduction de l'Anguille fut soulevé dès l'Antiquité par ARISTOTE qui, dans l'*Histoire des Animaux* et le *Traité sur la Génération des Animaux*, posa la question de l'origine de ces poissons chez lesquels on ne trouve ni liqueur séminale ni oeufs. Il supposa que les anguilles naissaient spontanément des "entrailles de la terre" (de la vase) et nombre d'autres hypothèses imaginatives furent également émises au long des siècles suivants ; mais pour avoir décelé l'originalité de l'anguille et mis en lumière la question de sa reproduction, ARISTOTE avait marqué le point de départ d'une suite de découvertes sur le cycle de vie de l'anguille réalisées à travers les siècles, les nationalités et les disciplines.

C'est au XII^e siècle qu'un naturaliste italien, REDI, franchissait la première étape, en concluant à une reproduction marine d'après l'observation des migrations de l'anguille.

La deuxième étape fut réalisée au XIX^e siècle par la découverte de la phase larvaire : ce fut d'abord la description, en 1856, par un allemand, KAUP, d'une nouvelle espèce de petit poisson en Méditerranée, *Leptocephalis brevirostris*, puis la démonstration, quarante ans plus tard, par deux italiens, GRASSI et CALENDRUCCIO, qu'il s'agissait en fait, non d'une nouvelle espèce, mais de la larve d'anguille capable de se transformer par une métamorphose en civelle ; de son premier baptême, la larve d'anguille a gardé le nom de leptocéphale.

La troisième étape fut franchie au début du XX^e siècle par l'océanographe danois SCHMIDT qui, après une vingtaine d'années de recherche et collecte des leptocéphales, localisa l'aire présumée de reproduction dans l'ouest de l'Atlantique, dans la région de la mer des Sargasses, là où pouvaient être capturées les plus petites larves.

Certains annoncèrent alors prématurément que le mystère du cycle de l'anguille était enfin levé mais d'autres étapes restent à franchir encore aujourd'hui, et non les moindres, telles que l'observation dans les conditions naturelles du stade adulte sexuellement mature et la découverte du site lui-même de reproduction.

1.2. Le dernier stade accessible : le stade argenté «impubère» (pour revue : DUFOUR, 1986)

Les données actuelles sur le cycle de l'anguille européenne se résument brièvement ainsi : les larves pélagiques migrent depuis la région de la mer des Sargasses vers les côtes européennes et se métamorphosent en civelles à leur arrivée au dessus du plateau continental. Les civelles sont capables de pénétrer dans les estuaires et les cours d'eau et grandissent en anguillettes puis anguilles jaunes. Après cette période de grossissement dans les eaux continentales, qui peut durer de quelques années à plus d'une dizaine d'années, les anguilles se métamorphosent en anguilles argentées et retournent vers l'océan pour assurer la reproduction.

L'anguille argentée représente le dernier stade naturel connu du cycle biologique de l'anguille car les anguilles n'ont pas encore pu être suivies au-delà du plateau continental et aucune n'a jamais été capturée dans l'aire présumée de frai.

Or l'anguille argentée, qualifiée souvent trop vite d'adulte, représente un animal encore sexuellement juvénile. C'est ce faible développement sexuel, même au stade argenté, qui a rendu difficile, historiquement, la description des gonades de l'anguille. Chez la femelle, les ovaires, qui représentent au stade argenté de 1 à 2 % du poids du corps et qui contiennent des ovocytes en début de vitellogénèse, ont été décrits en 1777 par MONDINI ; il a fallu un siècle de plus (1874) pour la description, par SYRSKI, des testicules qui représentent chez le mâle argenté seulement de l'ordre de 0,1 % du poids du corps, et qui ne contiennent que des gonies et parfois quelques spermatozoïdes.

Ainsi, après la longue période de croissance juvénile que représente le stade jaune, l'anguille argentée est encore "impubère". De plus, il s'agit là du dernier stade naturel accessible à l'observation et à l'expérimentation car les anguilles demeurent bloquées dans cet état impubère aussi longtemps que la migration océanique n'a pas lieu (dans les conditions de captivité). C'est en effet uniquement sous l'influence des facteurs externes rencontrés lors de la migration de reproduction et sur l'aire de ponte que se déclenche la maturation sexuelle.

1.3. Les inconnues du cycle : de la puberté à la mort (pour revue : LARSEN et DUFOUR, 1993)

Ainsi, toutes les phases naturelles de la vie de l'anguille qui suivent l'argenture nous sont encore inconnues : nous ignorons donc à la fois les modalités et la chronologie de la maturation sexuelle, de la reproduction et de la mort, les régulations internes qui les contrôlent et enfin les conditions environnementales (de la migration océanique et du site de reproduction) qui les déterminent.

Cette absence de données avait même permis à TUCKER (1959) de proposer que les anguilles européennes succomberaient sans se reproduire et que leur renouvellement proviendrait du stock de l'anguille américaine (*Anguilla rostrata*). Cette hypothèse fut réfutée par des arguments anatomiques, physiologiques (pour revue : FONTAINE, 1961), enzymatiques (pour revue : LECOMTE-FINIGER, 1984) et enfin génétiques (AVISE *et al.*, 1986, 1990).

A l'heure actuelle, seules les expériences de maturation sexuelle provoquée par des traitements hormonaux (Voir Point B § 2) nous donnent un accès aux étapes ultérieures du cycle de vie de l'anguille. Il faut cependant garder à l'esprit que ces observations expérimentales peuvent être très éloignées de la situation naturelle, en particulier en ce qui concerne le temps nécessaire pour le déroulement de la maturation sexuelle et le degré de croissance atteint par les gonades.

En ce qui concerne la mort des anguilles dans les conditions naturelles, elle n'a pas pu être davantage observée que le stade adulte et la reproduction. Dans les expériences de maturation provoquée, l'émission des gamètes est très souvent suivie de peu par la mort, les animaux ayant épuisé leurs réserves énergétiques. Il a été possible cependant de réalimenter les anguilles après le frai et, une fois leur poids initial retrouvé, d'induire une nouvelle maturation chez le mâle et la femelle (TODD, 1981b ; DOLLERUP et GRAVER,

1985 ; LE BELLE et FONTAINE, 1987) : ceci démontre que les gonades de l'anguille sont capables, comme celles des autres Téléostéens, de réaliser plusieurs cycles gamétogénétiques ; cependant, il demeure fort probable que, dans les conditions naturelles, la mort suit la reproduction, les dépenses énergétiques de la migration océanique s'ajoutant à celles du développement des gonades.

1.4. La généralité de ce cycle chez les différentes espèces d'anguilles dans le monde

L'ensemble des espèces d'anguilles dans le monde (l'autre espèce de l'océan Atlantique : l'espèce américaine, *Anguilla rostrata*, ainsi que la quinzaine d'espèces des océans Indien et Pacifique) partagent toutes ce même schéma de vie avec une reproduction dans des aires océaniques et une phase de croissance dans les eaux continentales.

Comme dans le cas de l'anguille européenne, ce sont les captures de larves qui permettent de localiser approximativement les aires de ponte pour différentes espèces d'anguilles (pour revue : TESCH, 1977). Ainsi, récemment, l'aire de reproduction de l'anguille japonaise a été localisée approximativement dans l'océan Pacifique à l'ouest des îles Mariannes (TSUKAMOTO, 1992) ; cependant, comme dans le cas de l'anguille européenne, le site lui-même n'a pas été découvert et aucun adulte n'a été capturé.

Des variations interspécifiques sont observées dans le développement gonadique atteint au stade argenté : par exemple, chez les femelles, le rapport gonadosomatique (RGS) est le plus faible chez l'anguille européenne (1,5 à 2 %), un peu plus élevé chez les anguilles américaine (*Anguilla rostrata*), japonaise (*Anguilla japonica*) et australienne (*Anguilla australis*) (3-5 %) et nettement plus important chez l'anguille néo-zélandaise (*Anguilla dieffenbachii*) (jusqu'à 9 %). Une différence similaire est observée chez les mâles avec un RGS au stade argenté d'environ 0,1 % chez *A. Anguilla*, 0,3 % chez *A. australis* et 1,4 % chez *A. dieffenbachii*. L'hypothèse a été émise (par exemple : TODD, 1981a) que ces différences interspécifiques pourraient être reliées à des distances plus au moins grandes entre l'aire de croissance continentale et l'aire de ponte ; l'anguille européenne aurait ainsi probablement la plus grande migration à accomplir.

Dans tous les cas, le développement atteint est encore loin de la maturité sexuelle et, comme dans le cas de l'anguille européenne, reste bloqué à ce stade immature tant que la migration océanique n'a pas lieu. L'importance économique de ces poissons, en particulier dans les pays asiatiques, suscite un développement actuel des recherches sur sa biologie et sa reproduction afin de pouvoir maîtriser un jour sa production.

2. Questions fondamentales et appliquées de la reproduction de l'anguille

2.1. L'anguille comme modèle pour la neuroendocrinologie de la reproduction

Le cycle de vie original de l'anguille offre plusieurs points d'intérêt pour la recherche en neuro-endocrinologie de la reproduction et en particulier de la puberté :

- La période relativement longue de croissance juvénile et la taille assez grande atteinte par les anguilles au stade argenté offrent des possibilités d'investigation des stades juvéniles, ce qui est beaucoup plus difficilement réalisable dans le cas d'autres poissons plus classiquement étudiés tels que les Salmonidés ou plus encore le poisson rouge. L'anguille offre ainsi un modèle original à l'étude générale des relations entre croissance, puberté et reproduction. En effet, chez les poissons, comme chez les Mammifères et l'homme en particulier, des questions fondamentales sont encore ouvertes telles que la nature des critères anatomo-physiologiques qui servent de signal pour l'achèvement de la période juvénile et l'entrée en puberté (âge, taux de croissance, réserves énergétiques, métabolisme...).
- Si l'argenture peut être considérée comme l'achèvement des conditions endogènes nécessaires pour l'entrée en puberté, cette transformation est cependant insuffisante, la poursuite de la stimulation pubertaire dépendant entièrement des conditions externes de la migration. L'anguille offre alors un modèle d'étude des relations entre environnement et reproduction.

- Enfin, le blocage du développement gonadique, qui se maintient aussi longtemps que la migration océanique n'a pas lieu, permet de rechercher et d'analyser les mécanismes cérébraux et hormonaux responsables du blocage de la fonction de reproduction. Un tel blocage est en effet un phénomène général chez les Vertébrés dans des situations normales physiologiques (telles que l'enfance ou les périodes de repos sexuel saisonnier) ou dans des situations pathologiques d'origine endogène (telles que des stérilités congénitales hypothalamiques chez l'homme) ou d'origine exogène (telles que les stérilités liées à la captivité chez de nombreuses espèces sauvages).

2.2. Les problèmes appliqués

Si l'originalité du cycle de l'anguille en fait un objet de choix pour les esprits curieux, il apporte comme corollaire des difficultés, à ce jour encore insurmontées, pour son exploitation. En effet, toutes les captures d'anguilles depuis la civelle jusqu'à l'anguille argentée, en passant par les anguillettes et les anguilles jaunes, puisent dans le stock d'animaux juvéniles (qui n'ont pas eu encore leur chance de reproduction). La maîtrise de la production de l'anguille implique donc la capacité à induire sa reproduction et à contrôler son développement, ce qui n'a pas encore pu être réalisé jusqu'à présent.

De ce point de vue, l'anguille présente plusieurs difficultés majeures :

- le blocage de son développement sexuel se fait à un stade précoce de l'ovogénèse et de la spermatogénèse, contrairement à la majorité des espèces aquacoles : chez celles-ci en effet, si un blocage de la reproduction se produit dans les conditions de captivité, il concerne en général les dernières étapes (telles que maturation ovocytaire, ovulation et spermiation) et peut être levé relativement facilement (pour revue : CRIM, 1991). Chez l'anguille, au contraire, ce ne sont pas seulement l'ovulation, la spermiation et le frai qu'il faut stimuler mais tout le déroulement de l'ovogénèse et de la spermatogénèse.
- l'incapacité, encore aujourd'hui, de capturer des anguilles sexuellement développées, au cours de leur migration ou sur les sites de ponte, a pour conséquence l'absence totale de modèles naturels auxquels nous pourrions comparer et confronter les essais d'induction expérimentale de la maturation sexuelle : ainsi nous manquons totalement de données de références concernant la chronologie naturelle du développement gonadique, l'ensemble des hormones impliquées et les taux qu'elles atteignent, la qualité et la quantité des réserves de l'ovocyte et, même simplement, le degré d'accroissement des gonades physiologiquement atteint. C'est donc en aveugle, sans modèle naturel de référence, que les recherches appliquées sur la reproduction de l'anguille doivent être effectuées.
- enfin, tant qu'un lieu de ponte n'aura pas été effectivement découvert et caractérisé, la méconnaissance des conditions environnementales de la reproduction représentera un frein très important : d'une part, pour essayer de stimuler la fonction de reproduction non par des traitements hormonaux exogènes mais par des facteurs environnementaux capables d'activer les propres régulations neuro-hormonales de l'anguille ; d'autre part, pour induire le frai, la fécondation et le développement larvaire précoce dans des conditions environnementales les plus favorables.

B. LA FONCTION GONADOTROPE HYPOPHYSIAIRE

1. Schéma général de l'axe cerveau-hypophyse-gonades chez les Vertébrés

Chez les poissons, comme chez les autres Vertébrés, l'activité des gonades est sous le contrôle stimulateur d'une glande située à la base du cerveau : l'hypophyse (Figure 1). L'ablation de l'hypophyse (hypophysectomie) entraîne en effet l'inactivité et la régression des gonades (ovaires et testicules) ; inversement, l'administration d'extraits hypophysaires rétablit chez les animaux hypophysectomisés l'activité des gonades.

L'hypophyse agit sur les gonades en sécrétant dans la circulation générale des hormones gonadotropes (GTH). Les cellules cibles gonadiques possèdent sur leur surface membranaire des molécules réceptrices auxquelles l'hormone gonadotrope se lie spécifiquement. C'est cette liaison qui déclenche une réaction en chaîne dans la cellule

cible, induisant les effets stimulants finaux (voir article DUFOUR *et al.*, ce numéro). Les hormones gonadotropes stimulent les deux fonctions des gonades : la production des gamètes (ovocytes et spermatozoïdes) et la production des hormones stéroïdes sexuelles (estrogènes, androgènes, progestagènes). A leur tour, les stéroïdes stimulent un grand nombre de tissus cibles tels que les organes sexuels, le foie pour la production de vitellogénine chez la femelle (voir article BURZAWA-GERARD *et al.*, ce numéro), les caractères sexuels secondaires, etc...

L'hypophyse est elle-même sous le contrôle du cerveau qui joue un rôle primordial en intégrant les informations du milieu intérieur et extérieur. Il assure ainsi l'activation ou l'inactivation de la fonction de reproduction en relation avec les conditions internes (état de développement de l'animal, conditions physiologiques) et externes (environnement physico-chimique, présence de partenaires...). Le cerveau assure le contrôle des cellules gonadotropes hypophysaires par l'intermédiaire de neurohormones dont la principale est un neuropeptide, la gonadolibérine (GnRH).

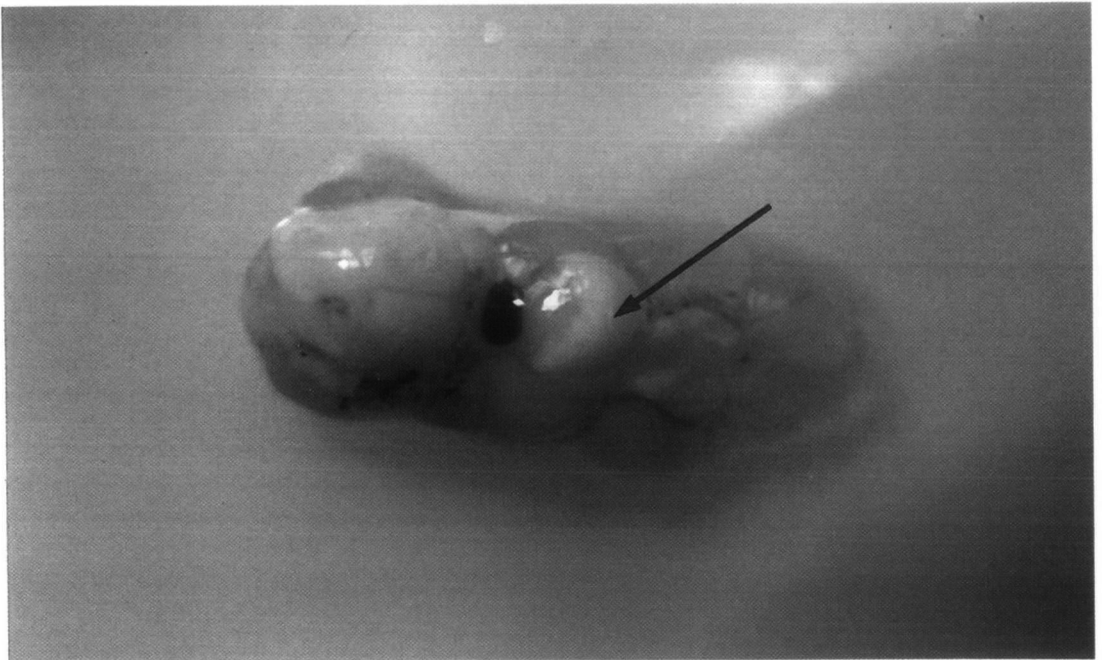


Figure 1 : Vue ventrale du cerveau d'anguille avec l'hypophyse (flèche) située à la base de l'hypothalamus (Photo Guy MEUNIER, CSP Compiègne).

L'hypophyse sécrète dans la circulation générale différents types d'hormones, dont l'hormone gonadotrope qui stimule l'activité des gonades (ovaires ou testicules). L'activité de l'hypophyse est elle-même sous le contrôle du cerveau qui intègre les informations internes (état de l'animal) et externes (environnement).

Figure 1 : Ventral view of eel brain with the pituitary (arrow) located at the bottom of the hypothalamus (Photo Guy MEUNIER, CSP Compiègne).

The pituitary secretes into blood circulation various hormones, amongst them gonadotropin stimulates gonadal (ovarian or testicular) activity. Pituitary activity itself is under the control of the brain which integrates internal (state of the animal) and external (environment) cues.

Enfin, les stéroïdes gonadiques agissent en retour sur l'activité de l'axe cerveau-hypophyse par des actions inhibitrices ou stimulatrices selon l'étape du cycle reproducteur (rétrocontrôles négatif ou positif).

2. Les traitements gonadotropes pour l'induction de la maturation expérimentale

2.1. Les expériences pionnières chez l'anguille européenne

Les travaux pionniers de M. FONTAINE et ses collaborateurs ont montré que le développement des gonades et l'émission de gamètes chez l'anguille européenne argentée pouvaient être induits par l'administration de traitements gonadotropes : chez le mâle, par l'injection d'extrait d'urine de femme enceinte (extrait qui contient d'importantes quantités d'hormone gonadotrope d'origine placentaire : hCG) (FONTAINE, 1936) et, chez la femelle, par l'injection d'extrait hypophysaire de carpe (extrait riche en hormone gonadotrope hypophysaire) (FONTAINE *et al.*, 1964).

D'une part, ces expériences ont permis d'observer, pour la première fois chez l'anguille, le développement des gonades, les gamètes et la fécondation ; d'autre part, elles ont aussi apporté la première démonstration du fait que l'absence de développement sexuel au stade argenté devait résulter non pas d'une insensibilité des gonades au stimulus gonadotrope mais d'une déficience dans la production hypophysaire d'hormone gonadotrope.

2.2. Les tentatives de maturation sexuelle et reproduction expérimentales chez différentes espèces d'anguilles

A la suite de ces travaux, un grand nombre d'essais de maturation expérimentale ont été réalisés (et le sont encore aujourd'hui), chez différentes espèces d'anguilles, sous l'effet de traitements gonadotropes.

Chez le mâle, le développement des testicules et l'émission de sperme sont facilement induits par l'administration d'hCG : par exemple chez *A. anguilla*, travaux de l'équipe danoise (BOETIUS et BOETIUS, 1967), de l'équipe biélorusse (PROKHORCHIK *et al.*, 1987) et de notre laboratoire (KHAN *et al.*, 1987) ; chez *A. japonica*, travaux des équipes japonaises (YAMAMOTO et YAMAUCHI, 1974) ; chez *A. Australis* et *A. dieffenbachii*, travaux néozélandais (TODD, 1981b) ; chez *A. rostrata*, travaux américains (SORENSEN et WINN, 1984). Une seule injection d'hCG peut même se révéler suffisante, probablement du fait de la très lente élimination de cette hormone de la circulation de l'anguille (FONTAINE *et al.*, 1984). Après la spermiation, il a été possible, en renouvelant le traitement hormonal, d'induire une seconde maturation expérimentale chez *A. australis* et *A. dieffenbachii* (TODD, 1981b) et même une troisième chez *A. anguilla* (DOLLERUP et GRAVER, 1985).

Chez la femelle, à la différence du mâle, l'hCG seule (dont l'utilisation est simple et économique) n'est pas efficace, et le développement des ovaires et la ponte sont couramment obtenus par l'administration chronique d'extrait hypophysaire de poisson (carpe, saumon) : par exemple, chez *A. anguilla* (FONTAINE *et al.*, 1964 ; BOETIUS et BOETIUS, 1980 ; LE BELLE et FONTAINE, 1987), chez *A. japonica* (YAMAUCHI *et al.*, 1976), chez *A. rostrata* (SORENSEN et WINN, 1984), chez *A. australis* et *A. dieffenbachii* (TODD, 1981b) ; l'addition d'hCG et de stéroïdes à ce traitement hypophysaire est parfois employée mais n'est pas indispensable. Deux maturations expérimentales successives ont pu être induites chez *A. anguilla* (LE BELLE et FONTAINE, 1987).

A partir des gamètes ainsi produits, des essais de fécondation et de développement embryonnaire ont été réalisés : chez *A. anguilla*, le stade gastrula a été observé par BOETIUS et BOETIUS (1980) et un développement plus avancé (développement embryonnaire et éclosion) a été obtenu par une équipe biélorusse (PROKHORCHIK *et al.*, 1987). Actuellement, les meilleurs résultats ont été atteints chez *A. japonica* par des équipes japonaise et taiwanaise : des larves ont été obtenues avec une survie maximale de trois semaines (YAMAUCHI *et al.*, 1976).

2.3. Des voies pour le futur

Cependant, le record de YAMAUCHI *et al.* (1976) date maintenant de près de vingt ans et jusqu'à présent le cycle de l'anguille n'a toujours pas pu être bouclé. Afin de surmonter cette impasse, certaines voies nouvelles de recherche devraient être abordées :

- Varier et affiner les traitements hormonaux : la nature et la quantité des réserves de l'oeuf, dont dépend la qualité du développement de l'embryon, résultent en effet directement du contrôle hormonal de la vitellogenèse (nature et taux des hormones, chronologie de leur sécrétion). Or l'ensemble des expériences de maturation réalisées jusqu'à présent l'ont été de façon accélérée, sous l'effet à la fois de doses importantes d'hormone gonadotrope et d'une température élevée (en s'appuyant sur les premières hypothèses concernant les conditions de la migration et du frai : cf. plus loin Point E § 2.1.) ; de plus, le rôle potentiel important d'autres hormones, comme l'hormone de croissance, dans le contrôle de la vitellogenèse (voir article de BURZAWA-GERARD *et al.*, ce numéro) n'a encore jamais été envisagé de ce point de vue appliqué.
- En l'absence de modèle naturel d'anguille en maturation, comme on l'a souligné plus haut, des informations importantes pourraient être données par l'étude de ce contrôle hormonal chez une espèce voisine, comme le congre.
- Envisager le rôle des facteurs externes de la migration et du lieu de ponte (et en particulier, la pression hydrostatique élevée, la température basse, comme on le discutera plus loin) dans la qualité et le déroulement des étapes du développement de l'oeuf.

3. La déficience gonadotrope chez l'anguille au stade argenté

Du point de vue endocrinien, ces expériences de maturation expérimentale indiquent, de façon indirecte, qu'une déficience dans la production d'hormone gonadotrope endogène est responsable de l'immaturité gonadique au stade argenté.

Au stade jaune, la situation est encore davantage bloquée car les traitements gonadotropes ont un effet nettement moindre sur le développement gonadique (par exemple chez la femelle : LOPEZ et FONTAINE, 1990) : une relative incapacité des gonades elles-mêmes à répondre à la stimulation hypophysaire gonadotrope serait aussi impliquée.

Afin de démontrer directement la faiblesse de l'activité gonadotrope chez l'anguille argentée, des dosages de l'hormone gonadotrope (GTH) ont été mis au point (voir article DUFOUR *et al.*, ce numéro). Un dosage biologique a été basé sur la stimulation par la GTH d'un messenger intracellulaire dans l'ovaire d'anguille incubé *in vitro* (FONTAINE-BERTRAND *et al.*, 1978). Nous avons également mesuré la GTH d'anguille au moyen d'un dosage radioimmunologique (plus sensible que le dosage biologique) en utilisant des anticorps dirigés contre la GTH de carpe (DUFOUR *et al.*, 1983a). Ces dosages ont montré, chez l'anguille argentée, une teneur hypophysaire faible et des taux circulants très bas en GTH, indiquant une faible activité de la fonction gonadotrope (DUFOUR *et al.*, 1983a,b). Ces résultats étaient en accord avec les observations cytologiques mettant en évidence, dans l'hypophyse d'anguille argentée, des cellules gonadotropes petites, peu nombreuses et peu actives (OLIVEREAU et CHAMBOLLE, 1978).

Cette situation rappelle l'état de la fonction gonadotrope chez des poissons juvéniles d'autres espèces comme par exemple les Salmonidés (CRIM et PETER, 1978 ; CRIM et EVANS, 1979). L'originalité de l'anguille réside dans l'âge et la taille atteints par les animaux encore à ce stade juvénile et ensuite dans la persistance de cette déficience de la fonction gonadotrope, aussi longtemps que la migration océanique n'a pas lieu.

C. LE CONTRÔLE CÉRÉBRAL DE LA FONCTION GONADOTROPE

1. Particularité fonctionnelle chez les Téléostéens : le double contrôle des cellules gonadotropes hypophysaires par la gonadolibérine et la dopamine

Chez les Mammifères et la majorité des Vertébrés, le contrôle cérébral des cellules hypophysaires gonadotropes est assuré uniquement par un neuropeptide, la gonadolibérine (GnRH), qui a une action stimulatrice. Ainsi des expériences de lésions cérébrales entraînent un arrêt de l'activité gonadotrope de l'hypophyse, qui peut être rétablie par l'administration d'extrait cérébral ou de GnRH. C'est l'activation ou, inversement, l'inactivation des neurones à GnRH qui contrôle la stimulation ou l'inhibition de l'activité des cellules gonadotropes et, en conséquence, de la fonction de reproduction.

Cependant, les travaux du groupe canadien de R. PETER chez le poisson rouge puis ceux d'autres équipes, chez différentes espèces de Téléostéens, ont montré l'existence, en plus de ce contrôle positif par GnRH, d'un contrôle neurohormonal négatif par la dopamine agissant directement sur les cellules gonadotropes et inhibant l'action de GnRH (pour revue : PETER *et al.*, 1991).

Cette action inhibitrice directe de la dopamine apparaît comme une régulation originale chez les Téléostéens. Toutefois, elle peut se retrouver également dans des situations pathologiques chez l'homme : dans des cas de tumeurs hypophysaires gonadotropes qui peuvent être réduites, *in vivo* et *in vitro*, par la dopamine (KLIBANSKI *et al.*, 1988 ; pour revue : BEVAN *et al.*, 1992). Inversement, certains travaux, en particulier ceux de l'équipe américaine de P. THOMAS sur des Téléostéens marins, suggèrent que l'inhibition dopaminergique pourrait être absente chez certaines espèces de Téléostéens (COPELAND et THOMAS, 1989).

2. Les traitements neurohormonaux pour la stimulation de la fonction hypophysaire gonadotrope chez l'anguille

Nous avons essayé de stimuler la fonction gonadotrope hypophysaire déficiente de l'anguille argentée au moyen de traitements neurohormonaux.

2.1. Traitements à la gonadolibérine

Dans une première série d'expériences, nous avons recherché l'effet chez l'anguille de l'injection répétée de gonadolibérine ou d'un agoniste superactif (GnRH-A), dérivé synthétique utilisé couramment chez les Mammifères et ayant la propriété d'être éliminé de la circulation sanguine beaucoup moins rapidement que le peptide natif (lequel est éliminé en quelques minutes).

Chez la femme par exemple, des traitements chroniques, pulsatiles, à la gonadolibérine sont maintenant couramment employés pour remédier à une stérilité d'origine hypothalamique. Chez certains poissons, des traitements chroniques à la gonadolibérine sont capables également de stimuler la fonction gonadotrope : c'est le cas chez des mutants du Xiphophore présentant une puberté très retardée ou bloquée (BAO et KALLMAN, 1982).

Cependant, chez l'anguille argentée, les traitements à la gonadolibérine ou à GnRH-A, avec des doses, des fréquences d'administration et des durées variées, ont tous été incapables de modifier l'activité gonadotrope (DUFOUR, 1985).

2.2. Traitements combinés : gonadolibérine et anti-dopaminergique

La stimulation par GnRH-A s'avérant insuffisante chez l'anguille argentée, nous avons cherché à supprimer une éventuelle inhibition dopaminergique de la fonction gonadotrope.

Nous avons utilisé des bloquants des récepteurs dopaminergiques, agents pharmaceutiques couramment employés chez l'homme, et fournis par les Laboratoires JANSSEN. Il s'agit du pimozide et du dompéridone, tous deux bloquants des récepteurs dopaminergiques de type D2 mais présentant la différence suivante chez les Mammifères : le pimozide traverse la barrière hémato-encéphalique et peut donc agir sur le cerveau comme sur l'hypophyse, même s'il est administré périphériquement, tandis que le dompéridone ne la traverse pas (il peut donc agir sur l'hypophyse mais pas sur le cerveau).

Des traitements avec l'un ou l'autre de ces bloquants, donnés seuls, ont été sans effet sur la fonction gonadotrope de l'anguille argentée. En revanche, la combinaison des deux types de traitements (agoniste de GnRH et l'un ou l'autre des bloquants des récepteurs dopaminergiques) s'est révélée capable de stimuler la production d'hormone gonadotrope hypophysaire : des taux hypophysaires en GTH beaucoup plus élevés que chez les anguilles témoins ont été atteints (DUFOUR *et al.*, 1991). Ces résultats démontraient que la déficience en GTH chez l'anguille argentée résulte à la fois d'un manque de GnRH (puisqu'il faut en administrer) et d'un blocage par la dopamine de l'action de GnRH (puisqu'il faut donner un bloquant des récepteurs dopaminergiques).

Combinés à GnRH-A, les deux agents, pimozide et dompéridone, ont montré une capacité similaire à stimuler la fonction gonadotrope de l'anguille. Cependant une différence est apparue dans leurs effets secondaires : en effet, au bout de quelques semaines de ces traitements chroniques, une très forte agitation s'est manifestée chez les anguilles recevant le traitement combiné à GnRH-A et pimozide mais pas chez celles traitées à GnRH-A et dompéridone. Cette activité motrice très intense rappelait le comportement d'anguilles argentées aux périodes aigües d'avalaison (DUFOR *et al.*, 1991).

Ce résultat comportemental indique les points suivants : — du point de vue pharmacologique, les propriétés des deux bloquants vis-à-vis de la barrière hémato-encéphalique seraient les mêmes chez un poisson, l'anguille, que chez les Mammifères, puisque le pimozide et non le dompéridone apparaît induire des effets cérébraux ; — du point de vue physiologique, des interactions entre la dopamine et la GnRH pourraient jouer un rôle, chez l'anguille, non seulement en tant que neurohormones au niveau hypophysaire pour le contrôle des cellules gonadotropes mais aussi en tant que neuromédiateurs cérébraux pour le contrôle de certains comportements moteurs peut-être liés à la migration de reproduction. Ce type d'hypothèse devra être étudié avec des moyens objectifs et quantitatifs d'investigation du comportement moteur.

3. Le double blocage cérébral chez l'anguille au stade argenté

Ces traitements neurohormonaux nous ont permis de démontrer qu'un double verrou cérébral est responsable du blocage de la fonction gonadotrope (et en conséquence de la fonction de reproduction) chez l'anguille argentée : une production insuffisante de GnRH et une intense inhibition dopaminergique (DUFOR *et al.*, 1988 ; 1991).

3.1. Déficience en GnRH

La déficience en GnRH apparaît comme un mécanisme général chez les Vertébrés pour assurer le blocage de la fonction de reproduction dans les situations physiologiques normales telles que la période juvénile (en particulier l'enfance chez l'homme) et les périodes de repos sexuel saisonnier. Une telle déficience peut aussi être responsable de cas de stérilités pathologiques liées à un problème endogène ou environnemental.

Chez les poissons juvéniles, la production de GnRH est faible et augmente à la puberté (par exemple chez les Salmonidés : GOOS *et al.*, 1986 ; AMANO *et al.*, 1992). Chez certains poissons adultes d'intérêt aquacole, la production de GnRH est insuffisante dans les conditions environnementales artificielles d'élevage et l'injection de GnRH peut être utilisée pour provoquer la décharge de GTH et stimuler les étapes finales de la reproduction (ovulation, spermiation, frai) ou même, dans certains cas, la reprise du cycle gamétogénétique lui-même (pour revue : CRIM, 1991). L'activation et l'inactivation des neurones à GnRH peut dépendre ainsi, chez les poissons comme chez les autres Vertébrés, à la fois des conditions internes (âge, croissance, métabolisme...) et des facteurs environnementaux.

En plus de la dépendance vis-à-vis des conditions internes (conditions absolument nécessaires mais non suffisantes, dont l'acquisition est marquée par l'argenture), l'anguille offre un exemple extrême de dépendance de son activation pubertaire vis-à-vis des facteurs externes : en effet, la déficience en GnRH est maintenue tant que la migration de reproduction n'est pas effectuée. L'anatomie des neurones à GnRH telle que nous l'avons observée chez l'anguille (KAH *et al.*, 1989 ; MONTERO *et al.*, 1994), avec leurs projections dans les régions cérébrales sensorielles et dans l'hypophyse, en fait des candidats pour la perception directe de facteurs externes, leur intégration et le contrôle de la fonction de reproduction.

3.2. Blocage dopaminergique

Le blocage direct de l'activité des cellules gonadotropes par la dopamine apparaît comme une possibilité supplémentaire de verrou, propre à certains Téléostéens (pour revue chez le poisson rouge adulte : PETER *et al.*, 1991).

Cette inhibition n'avait été démontrée jusqu'à présent que chez des poissons adultes, sexuellement matures, mais présentant un blocage (dépendant des conditions

environnementales) des dernières étapes de la reproduction (ovulation, spermiation). Cette découverte a ouvert la voie à la méthode LinPe (résultant de la collaboration entre l'équipe chinoise de H. R. LIN et l'équipe canadienne de R. PETER) : cette méthode consiste à traiter de façon aigüe les Cyprinidés en aquaculture, avec une combinaison d'agoniste de GnRH et de pimozide, pour induire l'ovulation. Chez ces poissons cependant, si l'administration de pimozide potentialise largement l'effet de GnRH sur la décharge ovulante de GTH, l'administration de GnRH seul a tout de même une certaine efficacité. L'inhibition dopaminergique n'est donc pas aussi drastique que chez l'anguille.

Aucune autre recherche n'a encore été effectuée sur l'existence possible d'une inhibition dopaminergique au stade juvénile chez d'autres poissons que l'anguille. Indirectement, les expériences ayant démontré que des traitements avec GnRH seul ont une certaine efficacité pour stimuler la fonction gonadotrope et avancer l'âge à la puberté chez certains téléostéens (comme le Xiphophore : BAO et KALLMAN, 1982) suggèrent que, si elle existe, l'inhibition dopaminergique chez ces espèces au stade juvénile serait beaucoup moins forte que chez l'anguille.

3.3. Schéma des mécanismes neuroendocriniens du blocage prépubertaire de l'anguille argentée (Figure 2)

Chez l'anguille argentée, les gonades sont donc maintenues à un stade impubère du fait d'un défaut de production d'hormone gonadotrope hypophysaire, résultant lui-même d'un défaut de production de GnRH et d'une inhibition dopaminergique (Figure 2). Ce double verrou cérébral empêche toute maturation sexuelle tant que les facteurs externes de la migration de reproduction et du lieu de ponte ne sont pas rencontrés.

Ce verrou neuroendocrinien drastique, exercé au stade juvénile et bloquant en conséquence l'ensemble de la gamétogenèse, témoigne, d'une part, de l'importance fondamentale des facteurs externes dans le cycle de l'anguille et représente, d'autre part, une difficulté majeure du point de vue appliqué pour une stimulation expérimentale de la fonction gonadotrope endogène de l'anguille.

D. LE RÉTROCONTRÔLE STEROÏDIEN

Afin de connaître le rôle des stéroïdes gonadiques sur l'activité de l'axe cérébro-hypophysaire gonadotrope de l'anguille, nous avons recherché l'effet, sur la production de GTH hypophysaire et de GnRH cérébral, des traitements suivants :

- de la suppression des stéroïdes gonadiques endogènes (par la castration),
- ou inversement, de l'élévation des taux de stéroïdes par l'augmentation de leur production endogène (lors de l'induction expérimentale de la maturation sexuelle) ou par l'administration de stéroïdes exogènes (traitements chroniques avec des stéroïdes).

1. Effets de la modification des teneurs en stéroïdes endogènes

1.1. Effets de la castration

L'ablation des ovaires ou des testicules, particulièrement délicate à réaliser chez l'anguille, a été mise au point au laboratoire par N. LE BELLE (voir article DUFOR *et al.*, ce numéro).

Chez l'anguille argentée, la production ovarienne ou testiculaire de stéroïdes sexuels est faible (KHAN *et al.*, 1987 ; LELOUP-HATEY *et al.*, 1988). Leur suppression par la castration n'entraîne aucune modification significative de la production de GTH hypophysaire ni de GnRH cérébrale (DUFOR *et al.*, 1989).

1.2. Effets de la maturation expérimentale

L'induction expérimentale du développement des gonades de l'anguille argentée, sous l'effet de traitements chroniques hormonaux gonadotropes, stimule la gamétogenèse et la stéroïdogénèse avec une augmentation de la production d'androgènes chez le mâle ainsi que d'androgènes et d'estrogènes chez la femelle (KHAN *et al.*, 1987 ; LELOUP-HATEY *et al.*, 1988).

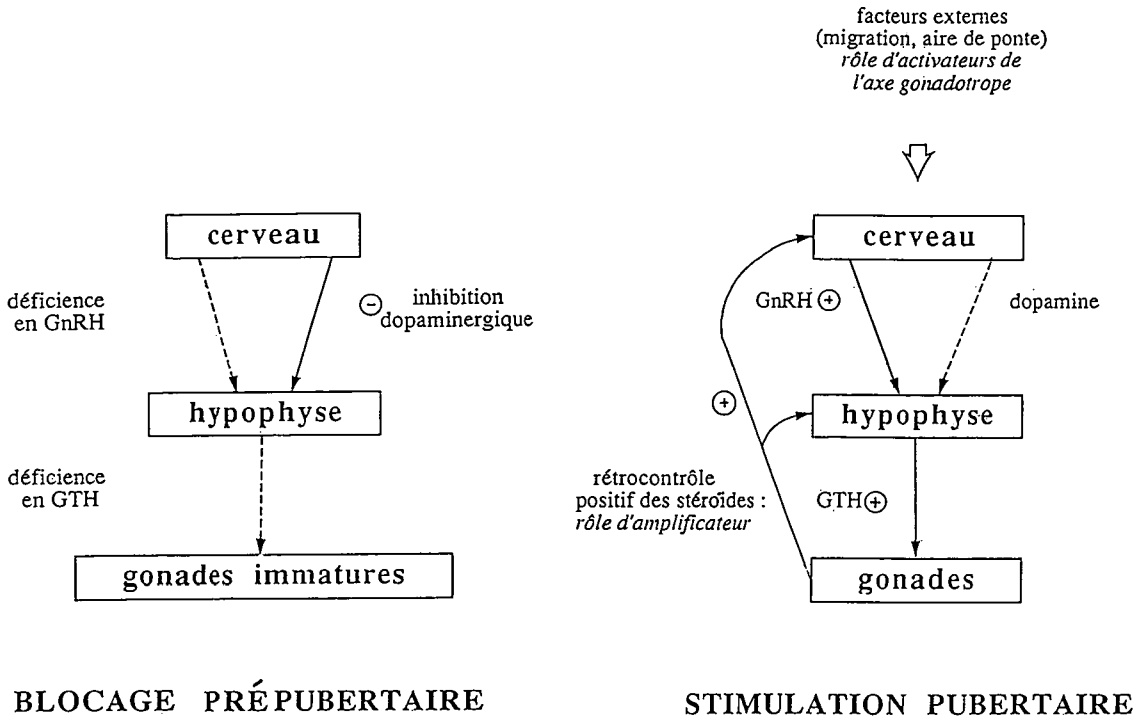


Figure 2 : Schéma des mécanismes neuroendocriniens du blocage prépubertaire (au stade argenté) et de la stimulation pubertaire (sous l'effet des facteurs externes de la migration océanique et de l'aire de ponte) de la fonction de reproduction de l'anguille.

Chez l'anguille argentée, un double blocage cérébral (manque de gonadolibérine (GnRH) et inhibition par la dopamine) est responsable du manque de production d'hormone gonadotrope hypophysaire (GTH) et, en conséquence, de l'immaturité des gonades.

L'activation pubertaire de l'axe gonadotrope cérébro-hypophysaire doit se produire sous l'action des facteurs externes rencontrés lors de la migration océanique et sur l'aire de ponte ; l'activité des gonades (gamétogénèse et stéroïdogénèse) est stimulée. En retour, les hormones stéroïdes exercent un rétrocontrôle positif sur la production de GnRH et GTH, jouant le rôle d'amplificateur.

Figure 2 : Diagram of neuroendocrine mechanisms for prepubertal blockade (at the silver stage) and for pubertal stimulation (under the effects of external factors of the oceanic migration and spawning ground) of eel reproductive function.

In the silver eel, a dual cerebral blockade (lack of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and inhibition by dopamine) is responsible for the lack of production of pituitary gonadotropin (GTH) and consequently for gonadal immaturity.

Pubertal activation of brain-pituitary gonadotropic axis would occur under the action of external factors encountered during oceanic migration and on the spawning ground ; gonadal activity (gametogenesis and steroidogenesis) is stimulated. In return, steroid hormones exert a positive feedback on GnRH and GTH productions, playing the role of an amplifier.

Chez les animaux ainsi traités, nous avons pu mesurer par dosage radioimmunologique (RIA) une forte augmentation des teneurs en GTH et en GnRH (DUFOUR *et al.*, 1985, 1989).

Ces modifications des teneurs en GTH et GnRH, observées chez les anguilles mûres expérimentalement, sont totalement supprimées chez les animaux recevant le même traitement gonadotrope mais ayant été castrés préalablement. Cette suppression indique que les hormones gonadiques produites lors de la maturation expérimentale doivent être responsables des modifications de la production de GTH et GnRH observées (DUFOUR *et al.*, 1989).

2. Effets de l'administration de stéroïdes sexuels exogènes

Afin de vérifier si les stéroïdes gonadiques étaient bien responsables des modifications des taux de GTH et GnRH observés chez les animaux en maturation expérimentale, nous avons étudié les effets de traitements chroniques avec des stéroïdes exogènes.

Un traitement chronique à l'œstradiol chez la femelle, à l'œstradiol ou à la testostérone chez le mâle, stimule fortement la synthèse de GTH hypophysaire dont les taux, dosés par RIA, augmentent avec la dose et la durée du traitement. Ainsi, au bout de plusieurs semaines à plusieurs mois de traitement, nous pouvons atteindre des taux de GTH hypophysaire 100 à 1000 fois plus élevés que chez les animaux témoins (DUFOUR *et al.*, 1983 b). Cet effet passe par une augmentation des ARN messagers codant pour les sous-unités de la GTH (COUNIS *et al.*, 1987 ; QUERAT *et al.*, 1991 ; voir DUFOUR *et al.*, ce numéro).

L'administration d'œstradiol, parallèlement à son effet positif sur la GTH hypophysaire, stimule également les taux de GnRH (DUFOUR *et al.*, 1985 ; MONTERO *et al.*, sous presse).

Ces effets, tout à fait similaires à ceux observés chez les animaux recevant un traitement gonadotrope, confirment que les stéroïdes sexuels produits lors de la maturation sexuelle expérimentale sont bien responsables de la stimulation de la production de GTH et GnRH.

3. Le rétrocontrôle positif des stéroïdes sexuels sur l'axe GnRH-GTH : un mécanisme d'amplificateur.

Les résultats que nous avons obtenus sous l'effet des stéroïdes endogènes (chez les animaux recevant un traitement gonadotrope) ou sous l'effet des stéroïdes exogènes (chez les animaux recevant un traitement stéroïdien) convergent pour démontrer l'existence d'un rétrocontrôle positif intense des stéroïdes sur la production de GTH et de GnRH.

Ce rétrocontrôle positif doit jouer un rôle important d'amplificateur sur l'activité de l'axe cérébro-hypophysaire (GnRH-GTH), une fois déclenchée la stimulation pubertaire de la reproduction chez l'anguille (Figure 2).

D'un point de vue appliqué, ces traitements stéroïdiens représentent un moyen simple et économique d'obtenir une importante quantité de GTH d'anguille et de ses ARN messagers, ce qui est impossible chez l'anguille dans les conditions naturelles. Ils ont été ainsi à la base de la réalisation d'une banque hypophysaire d'ARN messagers à partir de laquelle il a été possible de cloner et caractériser les sous-unités de la GTH d'anguille (QUERAT *et al.*, 1990a, b ; voir article DUFOUR *et al.*, ce numéro).

E. RÔLE DES FACTEURS EXTERNES

1. Une dépendance totale

L'anguille montre une dépendance totale vis-à-vis des facteurs externes rencontrés lors de la migration de reproduction et sur le lieu de ponte, pour la stimulation de sa fonction de reproduction.

D'après nos données neuroendocriniennes sur les mécanismes du blocage de la reproduction au stade argenté, on peut supposer que ces facteurs externes doivent être capables d'induire la stimulation pubertaire de la fonction gonadotrope hypophysaire par l'intermédiaire de l'activation des neurones à GnRH et l'inactivation des neurones à dopamine qui la contrôlent (Figure 2).

La méconnaissance, encore aujourd'hui, du trajet de migration des anguilles et de leur site de ponte nous maintient dans le domaine des hypothèses, quant aux facteurs externes impliqués. Des expériences menées il y a déjà longtemps par M. FONTAINE et ses collaborateurs ont permis de montrer que certains facteurs étaient insuffisants à eux seuls pour stimuler la reproduction :

Il s'agit par exemple de l'eau de mer : en effet, le transfert en eau de mer d'anguilles argentées, capturées en eau douce, n'entraîne pas de modification significative de la fonction gonadotrope (DUFOUR et FONTAINE, 1985). De toutes façons, il faut noter qu'un certain nombre d'anguilles effectuent leur phase de croissance juvénile non pas dans les eaux continentales douces mais en eaux saumâtres ou même en eaux de mer côtières et ne subissent donc pas cet important changement de salinité lors de leur départ en migration de reproduction.

M. FONTAINE et ses collaborateurs avaient également soumis les anguilles à une activité motrice intense, forcée, dans des bassins à fort courant tournant, afin de simuler l'effort énergétique qu'elles doivent produire lors de leur migration transocéanique. Là encore, ce facteur n'a pas eu d'effet déterminant sur la fonction de reproduction.

2. Arguments pour une migration en profondeur

2.1. Le poids des traditions

Lors de sa démonstration de la localisation de l'aire de ponte des anguilles européennes et américaines dans l'océan atlantique, dans la région de la mer des Sargasses, SCHMIDT avait émis l'hypothèse d'un lieu de ponte situé dans des eaux chaudes, à une profondeur d'environ 200 à 500 mètres (SCHMIDT, 1923). De la même façon, plus récemment, CASTONGUAY et McCLEAVE (1987) concluaient d'après la capture des petites larves entre 50 et 300 m, que cette zone représentait la gamme de profondeur de l'aire de frai des anguilles (HARO, 1991). Cependant, ces conclusions reposent implicitement sur l'hypothèse, ainsi que le soulignent par exemple BOETIUS et HARDING (1985), d'une faible dérive des oeufs entre le lieu de ponte et l'éclosion.

Ces conclusions sur le site de ponte ont été à la base de campagnes océaniques, à ce jour infructueuses, visant à la capture de géniteurs (voir TESCH, 1982). Elles ont aussi conduit à l'élaboration de nombreuses hypothèses quant aux facteurs externes potentiellement impliqués dans la reconnaissance du site de frai (dans l'orientation puis l'arrêt de la migration) ainsi que dans le contrôle de la reproduction de l'anguille. En particulier, le rôle d'une température élevée de l'aire de ponte, pour l'orientation de la migration et la stimulation de la maturation sexuelle, a été largement évoqué (par exemple : WESTIN et NYMAN, 1975 ; McCLEAVE et KLECKNER, 1985 ; WESTIN, 1990 ; HARO, 1991).

Encore très récemment, en suivant le même type de raisonnement, TSAKUMOTO (1992), après avoir localisé les leptocéphales de l'espèce *Anguilla japonica*, conclut prématurément à la découverte du site de ponte lui-même qui serait situé, comme les larves, à une faible profondeur (moins de 100 mètres) ; ce site serait caractérisé par un front de salinité, à la différence du site de l'anguille européenne qui, dans ce type d'hypothèse, serait caractérisé par un front thermique. Cependant, là encore, et malgré la faible profondeur envisagée par l'auteur, aucune capture ni observation d'adulte n'ont pu être réalisées.

Nous nous sommes intéressés à une possibilité différente, qui avait déjà été suggérée depuis longtemps par plusieurs auteurs comme RODOLICO (1911-1932) et DELSMAN (1929), mais qui avait été très largement négligée : celle d'une migration et d'une aire de ponte situées en profondeur. Ceci nous permettait d'émettre l'hypothèse d'un rôle possible de la pression hydrostatique dans la stimulation de la fonction de reproduction (DUFOUR et FONTAINE, 1985 ; FONTAINE *et al.*, 1985 a, b) :

2.2. Arguments anatomiques et physiologiques

Un certain nombre de modifications anatomo-physiologiques, qui se produisent lors de l'argenture, préparent l'anguille aux conditions environnementales ultérieures de la migration (pour revue : FONTAINE M., 1975 ; LECOMTE-FINIGER, 1990 ; FONTAINE M., 1991 ; FONTAINE Y.A. ce numéro). Certaines de ces transformations concernent des adaptations à la salinité (par exemple : modification de l'épithélium branchial) tandis que d'autres concernent des adaptations à la profondeur :

Il s'agit par exemple des changements dans les yeux : en effet, entre le stade jaune et argenté, le diamètre de l'oeil augmente, le nombre de cônes décroît alors que le nombre de bâtonnets s'accroît et les pigments rétinien sont modifiés (de porphyrine et rhodopsine à chrysopsine) (ES-SOUNNI et ALI, 1986 ; PANKHURST et LYTHGOE, 1983 ; McCLEAVE et KLECKNER, 1985). Ces propriétés oculaires nouvelles du stade argenté rappellent des caractéristiques des poissons de profondeur et prépareraient l'anguille à la perception d'une lumière monochromatique bleue de faible intensité (EVANS et FERNALD, 1990). Ces changements se poursuivent probablement par la suite, lors de la migration océanique et de la maturation sexuelle, comme le suggère l'accroissement encore plus important du diamètre oculaire observé chez les anguilles dont la maturation sexuelle a été induite expérimentalement (par exemple chez *A. anguilla* : PANKHURST et LYTHGOE, 1983 ; chez *A. dieffenbachii* et *A. australis* : TODD, 1981 b).

Des changements préparant l'anguille aux conditions de profondeur concernent également la vessie natatoire. Les travaux de KLECKNER et collaborateurs sur *A. rostrata* montrent en effet que, chez l'anguille argentée par rapport à l'anguille jaune, la dimension du réseau capillaire responsable de la sécrétion des gaz de la vessie (le *rete mirabilis*) s'accroît, ce qui permet une production accrue de gaz, et la conductance de la paroi de la vessie se réduit, ce qui diminue la perte de gaz : ces deux modifications permettent un maintien du volume de la vessie dans des conditions de forte pression hydrostatique (KLECKNER 1980a, b ; KLECKNER et KRUEGER, 1981). De ce point de vue, il est important de noter que l'infection récente des anguilles européennes par le Nématode parasite *Anguillicola crassus* affecte précisément les propriétés de la vessie natatoire (son réseau sanguin et sa paroi) et la question du maintien de l'intégrité de ses capacités fonctionnelles se pose.

Enfin, des expériences *in vitro* ont permis à GENNSER *et al.* (1990) de montrer que le muscle cardiaque de l'anguille argentée est plus résistant à la pression que celui de l'anguille jaune.

2.3. Arguments géographiques

Ainsi que cela avait déjà été souligné par DELSMAN (1929) et BERTIN (1951), les aires supposées de reproduction des différentes espèces d'anguilles à travers le monde sont toujours situées dans des régions de grande profondeur océanique (plusieurs milliers de mètres). C'est le cas par exemple (même si les auteurs n'en tiennent pas compte), dans l'océan Atlantique pour la région correspondant à l'aire de collecte des petites larves leptocéphales des espèces *A. anguilla* et *A. rostrata* (SCHMIDT, 1923 ; BOETIUS et HARDING, 1985), dans l'océan Pacifique pour *A. japonica* (TSUKAMOTO, 1992), *A. australis*, *A. dieffenbachii* (JELLYMAN, 1987), ou dans l'océan Indien pour *A. celebensis* (DELSMAN, 1929 ; JESPERSEN, 1942).

2.4. Arguments directs d'observation

Les arguments les plus marquants proviennent des observations directes mais sont très rares.

D'une part, les expériences réalisées par TESCH (1987) ont permis de suivre des anguilles marquées, durant les premiers jours de leur migration océanique au-dessus du plateau continental : elles ont montré que les anguilles atteignent rapidement des profondeurs de l'ordre de 700 mètres.

D'autre part, le seul spécimen d'anguille jamais observé dans le voisinage possible de l'aire de ponte des anguilles atlantiques (près des Bahamas) a été photographié par le

sous-marin américain Alvin : il nageait sur le fond océanique à une profondeur de 2000 mètres (ROBINS *et al.*, 1979). Cette anguille présentait un certain gonflement de l'abdomen, tout à fait similaire à celui que nous pouvons observer en laboratoire chez les anguilles femelles dont le développement ovarien a été induit expérimentalement par des traitements gonadotropes. Il s'agit ainsi de l'unique document d'un futur géniteur dans les conditions naturelles.

3. Expérimentations sur la pression hydrostatique

3.1. Capacité de l'anguille à résister à la pression : expériences en caisson hyperbare

Les expériences, réalisées couramment par l'équipe de L. BARTHELEMY (Faculté de Médecine de Brest), de compression d'anguilles jaunes ou argentées en caisson hyperbare jusqu'à 100 atm (équivalent de 1000 mètres de profondeur), montrent une capacité remarquable des anguilles à supporter des compressions et décompressions, même effectuées très rapidement sur la journée (par exemple : BELAUD *et al.*, 1976 ; SEBERT *et al.*, 1987).

Cependant, comme le souligne WARDLE *et al.* (1987), ce type d'expérience en caisson hyperbare montre qu'au-delà de 100 atm les anguilles présentent des convulsions et qu'elles se paralysent et meurent pour 150 atm (équivalent de 1500 mètres de profondeur). Il s'agit du syndrome nerveux des hautes pressions, résultant des effets de la pression hydrostatique *per se* (BELAUD *et al.*, 1976). Cette constatation conduisait certains auteurs à mettre en doute la capacité des anguilles à atteindre de grandes profondeurs océaniques et à conclure que le poisson photographié à -2000 mètres à partir du sous-marin Alvin (ROBINS *et al.*, 1979) ne pouvait pas être une anguille. WARDLE *et al.* (1987), quant à eux, suggéraient que si le poisson photographié à -2000 mètres était un spécimen d'*A. anguilla* ou *A. rostrata*, ces animaux devaient subir une métamorphose physiologique considérable, par rapport au stade argenté, pour être capables de survivre à une telle profondeur.

3.2. Des limites repoussées : expériences en cage immergée

Afin d'étudier l'effet d'immersion prolongée en eau profonde, nous avons, avec Y.A. FONTAINE et le Commandant J. ALINAT du Musée océanographique de Monaco, établi un dispositif de cage immergée, grâce à l'utilisation du matériel hyperbare du PIROCEAN (Figure 3) : nous avons pu ainsi réaliser plusieurs expériences, au large de Monaco (ce qui permettait d'atteindre rapidement des fonds importants), à partir du bateau océanographique Winaretta-Singer, entre les années 1984 et 1988.

L'immersion elle-même, réalisée à la vitesse de descente du lest, était rapide (de l'ordre de l'heure) et conduisait aux mêmes résultats qu'en caisson : c'est-à-dire une bonne survie des anguilles pour des immersions allant de 450 à 850 mètres mais une paralysie et mort immédiates pour des descentes plus profondes (des essais ont été réalisés jusqu'à 2000 mètres) (DUFOUR et FONTAINE, 1985 ; FONTAINE *et al.*, 1985 a, b).

Des données de BARTHELEMY *et al.*, (1981) et HALSEY (1982) indiquant que l'anesthésie pouvait réduire le syndrome nerveux des hautes pressions, nous avons réalisé des expériences après une anesthésie des anguilles au pentobarbital, une heure avant l'immersion : cependant, cette anesthésie n'a pas permis d'augmenter significativement la résistance des anguilles.

Estimant que la rapidité de l'immersion pouvait être en cause, nous avons décidé de réaliser, en 1988, une expérience de descente plus progressive, en deux étapes, au moyen de deux largeurs de lest. La cage a été descendue ainsi pour six semaines à une profondeur de 800 mètres puis pour six semaines supplémentaires à une profondeur de 1650 mètres. A la différence des expériences précédentes d'immersion directe à une profondeur similaire, nous avons cette fois obtenu une survie des anguilles (mâles et femelles) qui ont pu être remontées vivantes en fin d'expérience.

Ces résultats indiquent que les capacités (déjà extraordinaires) des anguilles à résister à la pression hydrostatique doivent encore s'accroître au fur et à mesure de la

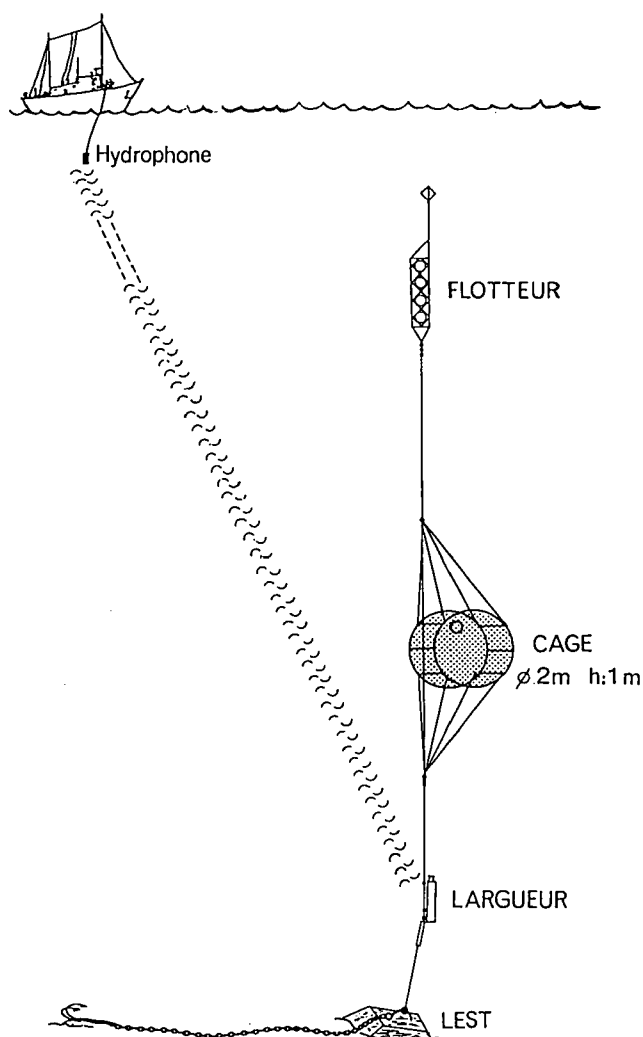


Figure 3 : Schéma du dispositif expérimental pour l'immersion d'anguilles en cage. (Cdt J. ALINAT ; équipements du Musée Océanographique de Monaco et du PIROCEAN).

La cage est maintenue au fond par le lest. A la fin de l'expérience, l'ouverture du largueur est commandée par l'hydrophone et l'ensemble de la cage et du largueur est remonté par les flotteurs hyperbares. Des immersions ont été réalisées, pour une durée de 3 mois, en une étape, pour des profondeurs de 450 à 850 mètres. Pour des profondeurs plus importantes, une étape intermédiaire est nécessaire à la survie des anguilles (6 semaines à 800 mètres puis 6 semaines à 1650 mètres).

Figure 3 : Diagram of the experimental device for eel immersion in cages. (Cdt J. ALINAT ; equipments from Monaco Oceanographic Museum and PIROCEAN). The cage is held at the bottom by a ballast (LEST). At the end of the experiment, releaser (LARGUEUR) opening is driven by hydrophone ; both cage and releaser are taken up by hyperbaric floats (FLOTTEUR). Immersions were performed for a 3 month period, in one step for depth from 450 to 850 meters. For more important depths, one intermediary step is necessary to eel survival (6 weeks at 800 meters then 6 weeks at 1650 meters).

descente des anguilles lors de la migration océanique : ceci représente une accommodation progressive au milieu benthique. Une telle accommodation est tout à fait compatible avec la durée de la migration océanique qu'on estime au moins à plusieurs mois.

Il nous paraît donc tout à fait plausible de conserver la conclusion de ROBINS *et al.* (1979), que le poisson photographié par l'Alvin représente bien un spécimen d'anguille et de poursuivre l'hypothèse d'une migration océanique et probablement aussi d'un lieu de ponte en grande profondeur.

3.3. Effet sur la fonction gonadotrope

Nous avons recherché si la pression hydrostatique pouvait représenter l'un des facteurs externes de la migration océanique affectant la fonction de reproduction de l'anguille.

Lors d'expériences de compression en caisson hyperbare à court terme (6 heures), réalisées avec P. SEBERT et L. BARTHELEMY, nous n'avons observé aucune modification significative de l'activité gonadotrope hypophysaire.

En revanche, lors des expériences d'immersion en cage à long terme (3 mois), réalisées avec J. AILINAT, nous avons mesuré une augmentation très significative de la teneur hypophysaire en hormone gonadotrope ainsi qu'une élévation du taux d'œstradiol dans la circulation, par rapport aux anguilles témoins maintenues à pression atmosphérique (en aquarium) ou à faible profondeur (en mer, à quelques mètres) (DUFOUR et FONTAINE, 1985 ; FONTAINE *et al.*, 1985 a, b).

Il s'agit là des premiers et seuls résultats démontrant jusqu'à présent l'efficacité de conditions environnementales à stimuler la fonction gonadotrope de l'anguille argentée. Nous avons vérifié en Laboratoire que l'autre facteur essentiel de ces immersions (l'obscurité) n'était pas en cause (DUFOUR et FONTAINE, 1985). Cet effet sur la fonction gonadotrope de la pression hydrostatique, un facteur environnemental que l'anguille ne peut rencontrer qu'à la faveur de la migration océanique, apporte une première signification physiologique à l'extraordinaire cycle migratoire de ce poisson (pour revue, DUFOUR, 1986 ; FONTAINE, 1989 ; FONTAINE et DUFOUR, 1991).

La stimulation par la pression hydrostatique de la fonction gonadotrope hypophysaire passe très probablement par des actions sur la production des neurohormones cérébrales qui la contrôlent (gonadolibérine et dopamine, comme nous l'avons vu plus haut). La pression hydrostatique exerce en effet, sur le système nerveux central des Vertébrés, un grand nombre d'actions qui ont pu être observées à différents niveaux d'organisation (cerveau, neurones isolés, activités moléculaires) (pour revue : HALSEY, 1982). De nouvelles expériences devront être réalisées afin de rechercher l'effet de la pression sur l'activité des neurones à gonadolibérine et à dopamine chez l'anguille : ceci devra être facilité par la mise au point récente, par SEBERT *et al.* (1990), d'un système de renouvellement de l'eau sous pression pour le caisson hyperbare, ce qui permet la réalisation d'expériences à long terme en laboratoire.

Les expériences que nous avons pu réaliser jusqu'à présent suggèrent cependant qu'à elle seule la pression n'est pas suffisante pour induire la maturation sexuelle (le développement des gonades restant très limité). On peut déjà signaler que les expériences d'immersion en Méditerranée sont très loin de reproduire les conditions de la migration océanique en Atlantique : — la température est élevée (environ 13 °C) même à grande profondeur ; — les anguilles sont maintenues en cage : elles ne peuvent donc pas avoir l'activité motrice de la migration et la contention les soumet aussi probablement à un état de stress important, etc... Enfin, il est raisonnable de faire l'hypothèse que d'autres facteurs, cette fois propres au lieu de ponte lui-même, peuvent être essentiels au moins pour l'activation des étapes finales de la reproduction.

3. Le lieu de ponte

3.1. Origine des anguilles et importance du lieu de ponte

On peut faire l'hypothèse que les ancêtres des anguilles étaient des poissons océaniques benthiques, comme les autres espèces actuelles du groupe des

Elopomorphes, avec une larve pélagique assurant leur dispersion ; les anguilles auraient acquis secondairement la capacité d'une phase de croissance continentale, encadrée par les deux métamorphoses (métamorphose larvaire et argenture) (voir article de Y.A. FONTAINE, ce numéro). Un témoin de cette origine benthique peut être la complète dépendance actuelle de la reproduction vis-à-vis des conditions océaniques profondes desquelles les anguilles ne se seraient jamais libérées.

Comme nous venons de le discuter, la pression hydrostatique pourrait représenter l'un des facteurs environnementaux indispensables, du fait de son rôle dans la stimulation de la fonction gonadotrope ; il est possible en outre qu'elle intervienne également, ultérieurement, dans les modalités et la qualité du déroulement des premières étapes du développement de l'œuf (DUFOR, 1986 ; FONTAINE, 1989). Une telle possibilité n'a encore jamais été envisagée du point de vue appliqué et devrait être prise en compte lors des essais de fécondation et de développement embryonnaire chez l'anguille.

En plus de la pression hydrostatique, d'autres éléments, et en particulier certains facteurs caractéristiques du lieu de ponte, doivent intervenir, d'une part, dans la reconnaissance par les futurs géniteurs de l'aire de frai et, d'autre part, probablement aussi dans l'induction finale de la fonction de reproduction.

L'importance du lieu de ponte apparaît particulièrement frappante avec l'exemple de l'espèce européenne, *A. anguilla* : en effet ce site, du fait de sa localisation à l'ouest de la ride médio-atlantique (à partir de laquelle s'écartent les plaques européenne et américaine), s'éloigne toujours progressivement, d'un à deux centimètres par an, de l'aire de croissance européenne. L'espèce européenne a ainsi probablement allongé ses migrations océaniques pour continuer à rejoindre son aire de ponte au fur et à mesure de la dérive des continents. La situation a dû, au contraire, se maintenir de façon plus stable au cours de l'évolution pour l'espèce américaine, *A. rostrata*, pour laquelle l'aire de ponte (dans une région voisine de celle de l'anguille européenne) et l'aire de croissance continentale se trouvent du même côté de la zone d'expansion océanique.

3.2. Hypothèses sur les caractéristiques du lieu de ponte

L'importance du lieu de ponte rend cruciale la connaissance de ses caractéristiques. En attendant la découverte réelle d'un site de ponte (quelle que soit l'espèce d'anguille), nous ne pouvons que faire des hypothèses quant à ses propriétés.

La comparaison des aires présumées de reproduction pour les différentes espèces d'anguilles apporte une base majeure de réflexion. Leur nombre relativement restreint laisse supposer des caractéristiques océanographiques assez rares. Ainsi dans l'Atlantique, les espèces américaine et européenne se reproduisent très probablement dans deux sites très voisins, comme le confirme la description récente d'hybrides entre les deux espèces (AVISE *et al.*, 1990).

Certaines de ces aires présumées représentent des zones profondes de subduction océanique : c'est le cas par exemple des fosses de Java, Sumatra et des Philippines, à la surface desquelles ont été rapportées d'importantes collectes de leptocéphales et qui représentent des sites possibles de ponte d'espèces indo-pacifiques (pour revue : TESCH, 1977). On peut signaler également que d'autres aires de collectes de leptocéphales se trouvent peu éloignées de telles fosses : par exemple, celle d'*A. japonica* et la fosse des Mariannes, celles d'*A. australis* et *A. dieffenbachii* et les fosses des Nouvelles-Hébrides et de Tonga. De ce point de vue, il est intéressant de noter que l'aire de ponte supposée des deux espèces atlantiques est située non loin de l'unique zone de subduction de l'Atlantique, la zone de subduction caraïbe (DUFOR, 1986). La possibilité de sites de ponte plus nombreux dans les océans Indien et Pacifique a probablement représenté un élément ayant favorisé la diversification plus grande des espèces d'anguilles dans ces océans.

Les études actuelles océanologiques montrent des propriétés originales de ces régions de subduction ("zones de suintements froids"), avec des propriétés physico-chimiques et une faune particulière (pour revue : LAUBIER, 1992). On peut faire l'hypothèse que des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de ces zones pourraient être perçues spécifiquement par les anguilles et permettre à la fois l'orientation finale de leur migration et la stimulation des dernières étapes de leur reproduction.

Quoi qu'il en soit, la découverte d'un lieu de ponte représente actuellement l'étape majeure à franchir dans la connaissance du cycle de l'anguille :

- d'un point de vue fondamental, pour déterminer ses caractéristiques physico-chimiques et biologiques et comprendre les rôles respectifs de ces différents facteurs à la fois dans l'orientation des anguilles et dans l'induction finale de la reproduction ;
- d'un point de vue appliqué, pour tenter de maîtriser la reproduction et le développement précoce de l'anguille, par la reconstitution expérimentale de certaines de ces conditions environnementales.

CONCLUSION

Le cycle biologique extraordinaire de l'anguille en fait un modèle d'un point de vue fondamental pour la physiologie de la puberté, pour les relations entre la reproduction et l'environnement ainsi qu'entre l'environnement et l'évolution des espèces.

D'un point de vue appliqué, les trous noirs qui existent encore actuellement dans la connaissance de son cycle représentent un handicap essentiel pour une maîtrise de sa reproduction : il s'agit en particulier des contrôles hormonaux naturels de la maturation sexuelle, des conditions environnementales de la migration océanique et du site de ponte et du rôle de ces facteurs externes dans la maturation sexuelle et le développement embryonnaire. En l'absence d'une telle maîtrise, il apparaît crucial aujourd'hui de connaître, protéger et gérer ses populations naturelles.

Les prochaines étapes dans la découverte et la maîtrise du cycle de l'anguille nécessiteront une approche multidisciplinaire et complémentaire, réunissant les compétences des biologistes, océanologues, aquaculteurs, pêcheurs et gestionnaires.

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés ici sont le résultat des études réalisées avec les membres du Laboratoire de Physiologie du Muséum et, en particulier, avec M. FONTAINE, Y.A. FONTAINE, N. LE BELLE, M. MONTERO, B. QUERAT, C. SALMON, B. VIDAL, J. MARCHELIDON, A. HARDY, E. FONTAINE-BERTRAND, E. BURZAWA-GERARD, S. BALOCHE, J. LELOUP-HATEY, E. LOPEZ. Si des approches expérimentales variées ont pu être abordées, c'est grâce à des collaborations suivies avec des équipes en France et à l'étranger : Laboratoire d'Anatomie Comparée du Muséum (J. REPERANT), Laboratoire de Neurocytochimie Fonctionnelle de l'Université de Bordeaux (O. KAH), Laboratoire des Hormones Peptidiques, CNRS, Gif-sur-Yvette, et Unité de Neuroendocrinologie de la Reproduction, INRA/CNRS, Jouy-en-Josas (B. KERDELHUE, R. COUNIS, M. JUTISZ), Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Brest (P. SEBERT, L. BARTHELEMY), Musée Océanographique de Monaco (J. ALINAT), Université de Copenhague, Danemark (L. LARSEN), Université du Cap, RSA (J. KING, R. MILLAR), Université d'Alberta, Edmonton, Canada (R. PETER). Nous remercions le CNRS, le MNHN, la DRED, le Musée Océanographique de Monaco, l'IFREMER et le CSP qui ont apporté ou apportent leur soutien à nos travaux.

BIBLIOGRAPHIE

- AMANO M., AIDA K., OKUMOTO N., HASEGAWA Y., 1992. Changes in salmon GnRH and chicken GnRH-II contents in the brain and pituitary, and GTH contents in the pituitary in female Masu salmon, *Oncorhynchus masou*, from hatching through ovulation. *Zool. Sci.*, 9, 375-386.
- ANCONA U. d', 1960. The life-cycle of the Atlantic eel. *Symp. Zool. Soc. London*, 1 : 61-75.
- AVISE J.C., HELFMAN G.S., SAUNDERS N.C., HALES L.S., 1986. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 4350-4354.

- AVISE J.C., NELSON W.S., ARNOLD J., KOEHN R.K., WILLIAMS G.C., THORSTEINSSON V., 1990. The evolutionary genetic status of icelandic eels. *Evolution*, 44, 1254-1262.
- BAO I., KALLMAN K.D., 1982. Genetic control of the hypothalamo-pituitary axis and the effect of hybridization on sexual maturation (*Xiphophorus*, *Pisces*, *Poeciliidae*).
- BARTHELEMY L., BELAUD A., SALIOU A., 1981. A study of the specific action of *per se* hydrostatic pressure on fish considered as a physiological model. In BACHRACH A.J., MATZEN M.M. (eds), *Proc. 7th Symp. Underwater Physiol.*, 641-649, Undersea Medical Society, Bethesda.
- BELAUD A., MABIN D., BARTHELEMY L., PEYRAUD C., 1976. Activité électroencéphalographique d'un poisson (*Anguilla anguilla* L.) soumis à diverses conditions hyperbares. *J. Physiol. Paris*, 72, 639-652.
- BERTIN L., 1951. Les anguilles. Payot, Paris, 191 p.
- BEVAN J.S., WEBSTER J., BURKE C.W., SCANLON M.F., 1992. Dopamine agonist and pituitary tumor shrinkage. *Endocr. Rev.*, 13, 220-240.
- BOETIUS I., BOETIUS J., 1967. Studies in the European eel, *Anguilla anguilla* L. Experimental induction of the male sexual cycle, its relation to temperature and other factors. *Meddr. Danm. Fisk. og. Harvunders*, 4, 339-405.
- BOETIUS I., BOETIUS J., 1980. Experimental maturation of female silver eels, *Anguilla anguilla*. Estimates of fecundity and energy reserves for migration and spawning. *Dana*, 1, 1-28.
- BOETIUS J., HARDING E.F., 1985. A re-examination of Johannes Schmidt's Atlantic eel investigations. *Dana*, 4, 129-162.
- BURZAWA-GERARD E., BALOCHE S., LELOUP-HATEY J., LE MENN F., MESSAOURI H., NUNEZ-RODRIGUEZ J., PEYON P., ROGER C., 1994. Ovogenèse chez l'anguille, *Anguilla anguilla* : ultrastructure de l'ovaire à différents stades de développement et implication des lipoprotéines au cours de la vitellogenèse. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 335.
- CASTONGUAY M., McCLEAVE J.D., 1987. Vertical distributions, ontogenic vertical migrations and net avoidance of leptocephali of *Anguilla* and other common species in Sargasso Sea. *J. Plankton Res.*, 9, 195-214.
- COPELAND P.A., THOMAS P., 1989. Control of gonadotropin release in the Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*): evidence for lack of dopaminergic inhibition. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 74, 474-483.
- COUNIS R., DUFOUR S., RIBOT G., QUERAT B., FONTAINE Y.A., JUTISZ M., 1987. Estradiol has inverse effects on pituitary glycoprotein hormone α -subunit messenger ribonucleic acid in the immature European eel and the gonadectomized rat. *Endocrinology*, 121, 1178-1184.
- CRIM L.W., 1991. Hormonal manipulation of fish seasonal reproductive cycles. In SCOTT A.P., SUMPTER J.P., KIME D.E., ROLFE M.S. (eds), *Reproductive Physiology of Fish*, 43-47, FishSymp 91, Sheffield, Publ.
- CRIM L.W., PETER R.E., 1978. The influence of testosterone implantation in the brain and pituitary gonadotropin levels in Atlantic salmon parr. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18, 689-694.
- CRIM L.W., EVANS D.M., 1979. Stimulation of pituitary gonadotropin by testosterone in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 37, 192-196.
- DELSMAN H.C., 1929. The distribution of freshwater eels in Sumatra and Borneo, *Treubia, Buitenzorg*, 11, 287-295.
- DOLLERUP J., GRAVER C.M., 1985. Repeated induction of testicular maturation and spermiation, alternating with periods of feeding and growth in silver eels, *Anguilla anguilla* (L.). *Dana*, 4, 19-39.

- DUFOUR S., 1985. La fonction gonadotrope de l'anguille européenne, *Anguilla anguilla* L., au stade argenté (au moment du départ pour la migration de reproduction) : les mécanismes de son blocage et sa stimulation expérimentale. Thèse de Doctorat d'Etat, MNHN/Univ. Paris VI, 158 p.
- DUFOUR S., 1986. La saga des anguilles. *La Recherche*, 182: 1456-1459.
- DUFOUR S., DELERUE-LE BELLE N., FONTAINE Y.A., 1983 (a). Development of a heterologous radioimmunoassay for eel (*Anguilla anguilla*) gonadotropin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49, 404-413.
- DUFOUR S., DELERUE-LE BELLE N., FONTAINE Y.A., 1983 (b). Effects of steroid hormones on pituitary immunoreactive gonadotropin in European freshwater eel, *Anguilla anguilla* L. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 52, 190-197.
- DUFOUR S., FONTAINE Y.A., 1985. La migration de reproduction de l'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.) : un rôle probable de la pression hydrostatique dans la stimulation de la fonction gonadotrope. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 110, 291-299.
- DUFOUR S., FONTAINE Y.A., KERDELHUE B., 1985. Increase in brain and pituitary radioimmunoassayable gonadotropin releasing, *Neuropeptides*, 6, 495-502.
- DUFOUR S., LOPEZ E., LE MENN F., LE BELLE N., BALOCHE S., FONTAINE Y.A., 1988. Stimulation of gonadotropin release and of ovarian development by the administration of a gonadoliberein agonist and of dopamine antagonists, in female silver eel pretreated with estradiol. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 70, 20-30.
- DUFOUR S., LE BELLE N., BALOCHE S., FONTAINE Y.A., 1989. Positive feedback by the gonads on gonadotropin (GTH) and gonadoliberein (GnRH) levels in experimentally matured female eels, *Anguilla anguilla*. *Fish Physiol. Biochem.*, 7, 157-162.
- DUFOUR S., BASSOMPIERRE M., MONTERO M., LE BELLE N., BALOCHE S., FONTAINE Y.A., 1991. Stimulation of pituitary gonadotropic function in female silver eel treated by a gonadoliberein agonist and dopamine antagonist. In SCOTT A.P., SUMPTER J.P., KIME D.E., ROLFE M.S. (eds), *Reproductive Physiology of Fish*, 54-56, FishSymp 91, Sheffield, Publ.
- DUFOUR S., MARCHELIDON J., MILET C., QUERAT B., SALMON C., 1994. Méthodologie de l'étude endocrinienne d'une espèce sauvage, l'anguille. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 335.
- ES-SOUNNI A., ALI M.A., 1986. Ultrastructure of the retinal pigmented epithelium of light- and dark-adapted young, pigmented, and mature silver eels, *Anguilla anguilla* (Pisces, Teleostei). *Zoomorph.*, 106, 179-184.
- EVANS B.I., FERNALD R.D., 1990. Metamorphosis and fish vision. *J. Neurobiol.*, 21, 1037-1052.
- FONTAINE M., 1936. Sur la maturation complète des organes génitaux de l'anguille mâle et l'émission spontanée des produits sexuels. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 202, 1312-1315.
- FONTAINE M., 1961. L'anguille succombe-t-elle sans se reproduire? *C. R. Acad. Sci. Paris*, 252, 1258-1260.
- FONTAINE M., 1975. Physiological mechanisms in the migration of marine and amphihaline fish. *Adv. mar. Biol.*, 13, 241-355.
- FONTAINE M., 1991. Fonction osmorégulatrice et écophysiologie d'anticipation chez les poissons migrateurs amphihalins. *Arch. Int. Physiol. Biochem. Biophys.*, 99, 221-225.
- FONTAINE M., BERTRAND E., LOPEZ E., CALLAMAND O., 1964. Sur la maturation des organes génitaux de l'anguille femelle (*Anguilla anguilla* L.) et l'émission spontanée des oeufs en aquarium. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 259, 2907-2910.
- FONTAINE Y.A., 1989. Les anguilles : migration et reproduction. *Océanis*, 15, 197-206.

- FONTAINE Y.A., 1994. L'argenture de l'anguille : métamorphose, anticipation, adaptation. *Bull. Fr. Pêche Piscic.*, 335.
- FONTAINE Y.A., DUFOUR S., TANGUY G., KHAN I.A., CEDARD U., LELOUP-HATEY J., 1984. Clairances métaboliques de la gonadotropine de Carpe (cGTH). *Résumés de la Réunion sur la Physiologie des Poissons, Paimpont, 1984, INRA*, p.10.
- FONTAINE Y.A., DUFOUR S., FONTAINE M., 1985 (a). Un vieux problème très actuel : la reproduction des anguilles. *La Vie des Sciences. C. R. Acad. Sci. Paris, Sér. gén.*, 2, 1-10.
- FONTAINE Y.A., DUFOUR S., ALINAT J., FONTAINE M., 1985 (b). L'immersion prolongée en profondeur stimule la fonction hypophysaire gonadotrope de l'anguille européenne (*Anguilla anguilla* L.) femelle. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sér III*, 300, 83-87.
- FONTAINE Y.A., DUFOUR S., 1991. The eels: from life cycle to reproductive endocrinology. *Bull. Inst. Zool. Acad Sinica., Monograph 16*, 237-248.
- FONTAINE-BERTRAND E., SALMON C., FONTAINE Y.A., 1978. Effet d'hormones gonadotropes *in vitro* sur la concentration de l'adénosine monophosphate cyclique dans l'ovaire de l'anguille (*Anguilla anguilla* L.). *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18, 805-811.
- GENNSER M., KARPE F., ORNHAGEN H. Ch., 1990. Effects of hyperbaric pressure and temperature on atria from ectotherm animals (*Rana pipiens* and *Anguilla anguilla*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 95A, 219-228.
- GOOS H.J.TH., DE LEEUW R., COOK H., VAN OORDT P.G.W.J., 1986. Gonadotropic hormone releasing-hormone (GnRH) bioactivity in the brain of the immature rainbow trout, *Salmo gairdneri* : the effect of testosterone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 64, 80-84.
- HALSEY M.J., 1982. Effects of high pressure on the central nervous system. *Physiol. Rev.*, 62, 1341-1377.
- HARO A.J., 1991. Thermal preferenda and behavior of Atlantic eels (genus *Anguilla*) in relation to their spawning migration. *Environmental Biol. Fishes*, 31, 171-184.
- JELLYMAN D.J., 1987. Review of the marine life history of Australian temperate species of *Anguilla*. *Am. Fish. Soc. Symp.*, 1, 276-285.
- JESPERSEN P., 1942. Indo-pacific leptocephalids of the genus *Anguilla*. *Dana-Report Carlsberg Foundation*, 22.
- KAH O., DUFOUR S., BALOCHE S., BRETON B., 1989. The GnRH systems in the brain and pituitary of normal and hCG treated European silver eels. *Fish Physiol. Biochem.*, 6, 279-284.
- KHAN I.A., LOPEZ E., LELOUP-HATEY J., 1987. Induction of spermatogenesis and spermiation by a single injection of human chorionic gonadotropin in intact and hypophysectomized immature European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.* 68, 91-103.
- KLECKNER R.C., 1980 (a). Swimbladder volume maintenance related to initial oceanic migratory depth in silver-phase *Anguilla rostrata*. *Science*, 208, 1481-1482.
- KLECKNER R.C., 1980 (b). Swimbladder wall guanine enhancement related to migratory depth in silver phase *Anguilla rostrata*. *Comp. Biochem. Biophys.*, 65A, 351-354.
- KLECKNER R.C., KRUEGER W.H., 1981. Changes in swimbladder retial morphology in *Anguilla rostrata* during premigration metamorphosis. *J. Fish Biol.*, 18, 569-577.
- KLIBANSKI A., SHUPNIC M.A., BIKKAL H.A., BLACK P.M., KLIMAN B., ZERVAS N.T., 1988. Dopaminergic regulation of alpha-subunit secretion and messenger ribonucleic acid levels in alpha-secreting pituitary tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 66, 96.
- LARSEN L.O., DUFOUR S., 1993. Growth, reproduction and death in lampreys and eels. *In* RANKIN J.C., JENSEN F.B. (eds), *Fish Ecophysiology*, 72-104, Chapman & Hall, London, Publ.

- LAUBIER L., 1992. Vingt mille vies sous la mer. Odile Jacob, Paris, 332 p.
- LE BELLE N., FONTAINE M., 1987. Toutes les anguilles mâles et femelles peuvent-elles frayer une seconde fois dans la nature? *Ichthyophysiol. Acta.*, 11, 7-11.
- LECOMTE-FINIGER R., 1984. Cycle biologique et problématique de l'anguille européenne *Anguilla anguilla* L. 1758. Point actuel des connaissances. *Ann. Biol.*, 23, 339-366.
- LECOMTE-FINIGER R., 1990. Métamorphose de l'anguille jaune en anguille argentée *Anguilla anguilla* L. et sa migration catadrome. *Ann. Biol.*, 29, 183-194.
- LELOUP-HATEY J., HARDY A., NAHOUL K., QUERAT B., ZOHAR Y., 1988. Influence of a gonadotropic treatment upon the ovarian steroidogenesis in European silver eel (*Anguilla anguilla* L.). In *Reproduction in fish-Basic and applied aspects in endocrinology and genetics*, INRA (ed), *Les colloques de l'INRA*, 44, 127-130.
- LOPEZ E., FONTAINE Y.A., 1990. Stimulation hormonale, *in vivo*, de l'ovaire d'anguille européenne au stade jaune. *Reprod. Nutr. Dev.*, 30, 577-582.
- MCCLEAVE J.D., KLECKNER R.C., 1985. Oceanic migrations of Atlantic eels (*Anguilla* spp.): adults and their offspring. *Contributions in Marine Sciences*, 27 suppl. (*Migration mechanisms and adaptative significance*), 316-337.
- MONTERO M., VIDAL B., KING J., TRAMU G., VANDESANDE F., DUFOUR S., KAH O., 1994. Immunocytochemical localization of mammalian GnRH (gonadotropin-releasing hormone) and chicken GnRH-II in the brain of the European silver eel (*Anguilla anguilla* L.). *J. Chem. Neuroanat.*, 7, 227-241.
- MONTERO M., LE BELLE N., KING J.A., MILLAR R.P., DUFOUR S., sous presse. Differential regulation of the two forms of gonadotropin-releasing hormone (mGnRH and cGnRH-II) by sexual steroids in the European female eel (*Anguilla anguilla*). *Neuroendocrinology*.
- OLIVEREAU M., CHAMBOLLE P., 1978. Ultrastructure des cellules gonadotropes de l'Anguille normale et après injection d'oestradiol. *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser D.*, 287, 1409-1412.
- PANKHURST N.W., LYTHGOE J.N., 1983. Changes in vision and olfaction during sexual maturation in the European eel *Anguilla anguilla* (L.). *J. Fish Biol.*, 23, 229-240.
- PETER R.E., TRUDEAU V.L., SLOLEY B.D., PENG C., NAHORNIK, C.S., 1991. Actions of catecholamines, peptides and sex steroids in regulation of gonadotropin-II in the goldfish. In SCOTT A.P., SUMPTER J.P., KIME D.E., ROLFE M.S. (eds), *Reproductive Physiology of Fish*, 30-34, FishSymp 91, Sheffield, Publ.
- PROKHORCHIK G.A., PETUKHOV V.B., PETRIKOV A.M., 1987. Embryonic development of the European eel *Anguilla anguilla* (L.) under experimental conditions. *Problèmes d'Ichthyologie (version russe)* 27, 124-131.
- QUERAT B., JUTISZ M., FONTAINE Y.A., COUNIS R., 1990 (a). Cloning and sequence analysis of the cDNA for the pituitary glycoprotein hormone α -subunit of the European eel. *Mol. Cell. Endoc.*, 71, 253-259.
- QUERAT B., MOUMNI M., JUTISZ M., FONTAINE Y.A., COUNIS R., 1990 (b). Molecular cloning and sequence analysis of the cDNA for the putative β subunit of the type-II gonadotrophin from the European eel. *J. Mol. Endoc.*, 4, 257-264.
- QUERAT B., HARDY A., FONTAINE Y.A., 1991. Regulation of the type II gonadotrophin α and β subunit mRNAs by oestradiol and testosterone in the European eel. *J. Mol. Endocrinol.*, 7, 81-86.
- ROBINS C.R., COHEN D.M., ROBINS C.H., 1979. The eels, *Anguilla* and *Histiobranchus*, photographed on the floor of the deep Atlantic in the Bahamas. *Bull. Mar. Sci.*, 29, 401-405.
- RODOLICO A., 1911-1932. Differenziamento dei sessi e ovo-spermatogenesi nell'anguilla. in *Ricerche di biologia.*, p97-110, Felice Le Monnier, Firenze, Publ.

- SCHMIDT J., 1923. The breeding places of the eel. *Phil. Trans. R. Soc. London*, 211, 179-208.
- SEBERT P., BARTHELEMY L., CAROFF J., HOURMANT A., 1987. Effects of hydrostatic pressure *per se* (101 ATA) on energetic processes in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 86A, 491-495.
- SEBERT P., BARTHELEMY L., SIMON B., 1990. Laboratory system enabling long-term exposure (>30d) to hydrostatic pressure (<101 atm) of fishes or other animals breathing water. *Mar. Biol.*, 104, 165-168.
- SINHA V.R.P., JONES J.W., 1975. The European freshwater eel. Liverpool University Press, 146 p.
- SORENSEN P.W., WINN H.E., 1984. The induction of maturation and ovulation in American eels, *Anguilla rostrata* (LeSueur), and the relevance of chemical and visual cues to male spawning behavior. *J. Fish Biol.*, 25, 261-268.
- TESCH F.W., 1977. The eel. Biology and management of anguillid eels. (P.H. Greenwood, ed.), Chapman and Hall, London, 434 p.
- TESCH F.W., 1982. The Sargasso Sea eel expeditions 1979. *Helgolander Meeresuntersuchungen*, 35, 263-277.
- TESCH F.W., 1987. Changes in swimming depth and direction of silver eels (*Anguilla anguilla* L.) from continental shelf to deep sea. *EIFAC Working party on Eel.*, 1-35.
- TODD P.R., 1981 (a). Morphometric changes, gonad histology, and fecundity estimates in migrating New Zealand freshwater eels (*Anguilla* spp.). *New Zealand J. Marine Freshwater Res.*, 15, 155-170.
- TODD P.R., 1981 (b). Hormone-induced maturation in male New Zealand freshwater eels (*Anguilla* spp.). *New Zealand J. Marine Freshwater Res.*, 15, 237-246.
- TSUKAMOTO K., 1992. Discovery of the spawning area for Japanese eel. *Nature*, 336, 789-791.
- TUCKER D.W., 1959. A new solution to the Atlantic eel problem. *Nature*, 4660, 495-500.
- WARDLE C.S., TETTEH-LARTEY N., MACDONALD A.G., HARPER A.A., PENNEC J.P., 1987. The effect of pressure on the lateral swimming muscle of the European eel *Anguilla anguilla* and the deep sea eel *Histiobranchus bathybius* ; results of Challenger cruise 6B/85. *Comp. Biochem. Physiol.*, 88A, 595-598.
- WESTIN L., 1990. Orientation mechanisms in migrating European silver eel (*Anguilla anguilla*): temperature and olfaction. *Marine Biol.*, 106, 175-179.
- WESTIN L., NYMAN L., 1975. Temperature as an orientation cue in migrating silver eels, *Anguilla anguilla* (L.). *Contrib. Asko Lab. Univ. Stockholm*, 17, 1-16.
- YAMAMOTO K., YAMAUCHI K., 1974. Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature*, 251, 220-221.
- YAMAUCHI K., NAKAMURA M., TAKAHASHI H., TAKANO K., 1976. Cultivation of larvae of Japanese eel. *Nature*, 263, 412.