LE CONTROLE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES POISSONS

I. Les populations "monosexes"

B. CHEVASSUS*, D. CHOURROUT*, B. JALABERT**

On désigne globalement sous le terme « contrôle de la reproduction » l'ensemble des techniques permettant de retarder ou d'inhiber définitivement la reproduction d'une population. Une telle intervention apparaît souhaitable dans un certain nombre de systèmes d'exploitations aquicoles pour lesquelles la maturation et la reproduction des animaux réduisent la rentabilité économique ou posent des problèmes écologiques. Les méthodes et les voies d'approche apparaissent extrêmement nombreuses, mais peuvent se regrouper autour de trois axes majeurs :

- La création de populations « monosexes » (ne contenant que les mâles ou des femelles) dans lesquelles la maturation sexuelle des animaux a lieu mais ne peut être suivie de fécondation du fait de l'absence du partenaire sexuel ;
- La reproduction différée qui vise à retarder par divers traitements la maturation sexuelle des animaux ;
- La stérilisation qui cherche à inhiber définitivement cette maturation.

Institut National de la Recherche Agronomique

* *Laboratoire de Physiologie des Poissons, 78350 JOUY-EN-JOSAS*

** *Laboratoire d'Ecologie des Poissons, St-Pée-sur-Nivelle, 64310 ASCAIN*

Nous examinerons dans ce premier article le problème des populations monosexes.

L'utilisation de telles populations a initialement été prônée pour contrôler des peuplements extensifs en zone tropicale, dont la reproduction rapide et la surdensité qui en résultait compromettaient la rentabilité économique des élevages (cas des *tilapias*, MIRES, 1977) ou représentaient un risque mal évalué de dissémination d'une espèce introduite (cas de la carpe herbivore *Cténopharyngodon idella* aux U.S.A., STANLEY, 1976).

Dans le cas des élevages intensifs, de telles populations permettent de tirer parti soit d'une plus forte croissance, soit d'une maturation plus tardive de l'un des sexes. C'est notamment le cas des élevages marins de Salmonidés, qui cherchent à produire des individus de grande taille et se heurtent en période hivernale aux problèmes de mortalité, de retard de croissance et de dévalorisation des animaux matures, problèmes qui interviennent plus précocement et plus intensément chez les mâles.

Quatre types de techniques apparaissent envisageables.

I - LES TRAITEMENTS HORMONAUX

Chez les poissons, la différenciation sexuelle intervient tardivement, généralement au cours des premiers jours ou des premières semaines d'alimentation. On peut de ce fait incorporer dans l'alimentation des alevins certaines hormones « masculinisantes » ou « féminisantes » qui vont agir sur cette différenciation et l'orienter dans le sens mâle ou femelle. Les hormones utilisées appartiennent au groupe des hormones stéroïdes et peuvent être soit des hormones naturelles soit des hormones de synthèse, actives à des doses plus faibles. Il convient cependant pour chaque espèce de définir la dose et la période optimale d'administration, les effets de surdosage pouvant éventuellement conduire à des effets « paradoxaux » (masculinisation par les hormones féminisantes).

L'application de ces traitements a été réalisée sur quelques espèces d'intérêt économique, telles le *Tilapia* (JALABERT et al., 1974) la Carpe commune (NAGY, communication personnelle) et la Truite arc-en-ciel (JALABERT et al., 1975), et conduit à une forte majorité de l'un des sexes. Ils n'ont cependant qu'une efficacité partielle (tableau 1). On observe en effet dans la population traitée une faible proportion d'individus non inversés et une proportion qui peut être impor-

Tableau 1 - Proportion des sexes à 2 ans chez les individus ayant reçu une administration d'hormones stéroïdes dans l'aliment entre 0 et 6 mois

Type	Hormone féminisante (Estrone)	Hormone masculinisante (Méthyltestostérone)	Témoins
Mâle	9,9 %	58,3 %	52 %
Femelle	54,0 %	18,3 %	48 %
Hermaphrodite	30,5 %	11,7 %	—
Stérile	5,6 %	11,7 %	—

tante d'individus « hermaphrodites » dont la gonade présente conjointement des zones testiculaires et ovariennes (Fig. 1).

En outre, l'administration d'hormones stéroïdes peut induire une certaine mortalité au cours de l'élevage et rend difficilement rentable la production à grande échelle de ces animaux inversés.

Enfin, « l'image de marque » de ces animaux issus d'un traitement hormonal apparaîtra sans doute mauvaise pour le consommateur éventuel, même si aucun résidu du traitement n'est décelable chez l'adulte, du fait de sa précocité et de sa faible durée.

L'utilisation directe de cette technique n'apparaît donc pas envisageable.

Par contre, l'utilisation d'animaux sexuellement inversés comme reproducteurs apparaît, comme nous le verrons plus loin, une voie prometteuse sur un plan pratique et permet d'aborder le problème du déterminisme génétique du sexe chez les poissons, problème dont la compréhension conditionne de nombreuses études sur le contrôle du sexe. Rappelons en effet que, chez les mammifères, le mâle détermine le sexe de la descendance en élaborant en proportion égale deux types de spermatozoïdes, notés X et Y. Il est dit « hétérogamétique » (Fig. 2).

Fig. 1 : Inversion sexuelle induite chez la Truite arc-en-ciel

Chez les individus traités par les hormones stéroïdes, on peut observer des gonades hermaphrodites (2, 3, 4, 5) représentant des intermédiaires entre la gonade mâle normale (1) et la gonade femelle normale (6).

(Photo D. MARIE, INRA)

Fig. 2 : Déterminisme génétique du sexe

Chez les Mammifères, le mâle élabore deux catégories de spermatozoïdes, le type de spermatozoïde déterminant le sexe de l'embryon. Il est hétérogamétique. Chez les Oiseaux, la situation est inverse. Chez les Poissons, le déterminisme génétique du sexe reste dans la plupart des cas à élucider

Tous les ovules étant de même type X, les descendants seront soit XX, donc femelles, soit XY donc mâles. L'examen des chromosomes au microscope permet de retrouver cette différence. On peut en effet regrouper par paires tous les chromosomes d'après leur morphologie chez la femelle, alors que deux chromosomes, les chromosomes sexuels, échappent à ce traitement chez le mâle et apparaissent nettement différenciés (Fig. 3). Si l'on note X et Y ces chromosomes, on remarque alors que la femelle possède deux exemplaires du chromosome X. Elle est « homogamétique ».

La situation est inverse chez les oiseaux, où c'est la femelle notée ZW qui sera hétérogamétique. Chez les poissons, aucun chromosome sexuel n'est observable chez la plupart des espèces, et notamment chez les espèces classées de pisciculture. Comment l'inversion sexuelle peut-elle nous aider à comprendre le phénomène ? Examinons pour cela la descendance d'un mâle issu d'une inversion sexuelle « masculinisante ». Ce mâle est en fait « génétiquement » femelle. Si l'on a affaire à un déterminisme sexuel de type mammifère, il est donc XX et n'élaborera que des spermatozoïdes X. Croisé à une femelle normale, sa descendance sera donc entièrement femelle. L'observation de telles descendance pour certains mâles de la population (les autres sont des mâles génétiques XY qui n'ont pas été affectés par le traitement) permettra donc de conclure à l'existence d'un déterminisme sexuel de type femelle homogamétique (Fig. 4). On peut également aboutir à des conclusions analogues en réalisant l'autofécondation de quelques individus hermaphrodites obtenus au cours du traitement masculinisant. Ceux-ci sont en fait des femelles génétiques dont l'inversion n'a été que partielle. Si la femelle est homogamétique, leurs spermatozoïdes sont donc également tous X et les individus issus de l'autofécondation doivent donc être tous femelles. Des résultats symétriques (descendances entièrement mâles dans la descendance de certaines femelles ou des hermaphrodites issus d'un traitement « féminisant ») permettent par contre de conclure à un déterminisme génétique de type mâle homogamétique.

De telles analyses ont été déjà réalisées chez certains poissons (YAMAMOTO, 1969 ; JALABERT *et al.*, 1974) et ont conduit dans certains cas à mettre en évidence l'un ou l'autre des modes simples de déterminisme génétique du sexe évoqués précédemment. Elles sont actuellement en cours chez la Truite arc-en-ciel et permettront de confirmer éventuellement l'observation cytologique d'une hétérogamétie mâle chez cette espèce. Deux études récentes utilisant l'inversion sexuelle (OKADA *et al.*, 1979 ; JOHNSTONE *et al.*, 1979) concluent effectivement à l'hétérogamétie mâle chez la Truite arc-en-ciel.

Il est cependant possible d'ores et déjà de conclure à la très grande diversité des poissons en ce qui concerne le déterminisme génétique du sexe, des espèces voisines, et même des populations voisines de la même espèce pouvant dans certains cas révéler, les unes, le mâle, et les autres, la femelle, comme sexe homogamétique.

Fig. 4 : Analyse du déterminisme génétique du sexe par l'inversion sexuelle induite. L'apparition d'une population monosexe femelle dans la descendance de certains mâles, prélevés dans une population ayant subi un traitement précoce par les hormones stéroïdes, permet de conclure à l'homogamétie femelle (type mammifère)

Fig. 3 : Caryotype d'un mammifère, le Taureau (*Bos taurus*).

Les chromosomes sexuels X et Y sont désignés par une flèche. La femelle présente deux exemplaires du chromosome X (Courtoisie de P. POPESCU, INRA).

II - LA GYNOGENESE

On désigne ainsi une technique qui consiste à induire un développement embryonnaire en stimulant l'ovule par un spermatozoïde dont le matériel génétique ne sera pas incorporé par l'embryon. Celui-ci se développera donc uniquement à partir du stock génétique maternel.

Un tel mode de développement existe naturellement chez certaines espèces de poissons, dont les ovules sont stimulés par les spermatozoïdes d'une autre espèce. C'est le cas notamment d'un poisson tropical *Poecilia formosa* et d'une variété de carassin fréquente en Europe centrale, *Carassius gibelio*, dont les ovules sont stimulés par des spermatozoïdes de carpe commune. Ces deux espèces ne comportent d'ailleurs que des femelles, ce qui révèle un déterminisme génétique de type « femelle homogamétique ».

Expérimentalement, on sait induire la gynogenèse chez un certain nombre d'espèces (la carpe, l'esturgeon, la plie, la truite arc-en-ciel, (Fig. 5). Il convient pour cela d'inactiver le matériel génétique du spermatozoïde par un traitement adéquat (généralement un rayonnement ultraviolet, X ou γ) tous en conservant au sperme une certaine motilité lui permettant de « féconder » les ovules (Fig. 6). Il est généralement nécessaire de faire subir à l'ovule activé un traitement complémentaire peu après la fécondation, généralement un choc thermique (chaud ou froid) pour lui permettre de doubler son stock génétique (il sera dit « diploïde ») et de compenser ainsi l'absence d'apport mâle. En l'absence d'un tel traitement, la quasi totalité des embryons (plus de 99 %), qui n'ont que la moitié d'un stock génétique normal, avorte avant ou peu après l'éclosion (ils sont dits « haploïdes »).

Fig. 5 : Gynogénèse induite chez les Poissons

Un spermatozoïde inactivé peut dans certains cas stimuler le développement de l'ovule. Un choc thermique adéquat rétablit ensuite un stock génétique diploïde à partir des seuls chromosomes de l'ovule

Dans le cas des espèces de type femelle homogamétique, tous les individus obtenus seront donc femelles et l'on obtiendra une lignée « monosexue femelle ».

Une telle technique a été pratiquée par STANLEY (1976) aux Etats-Unis pour obtenir des populations monosexes de carpes herbivores (*Ctenopharyngodon idella*) et se développe actuellement en Hongrie (NAGY et al., 1978) chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*). Chez la Truite arc-en-ciel, nous avons obtenu récemment de tels alevins gynogénétiques qui devraient tous se révéler femelles si l'on suit l'hypothèse d'une hétérogamétie femelle. Cette technique, bien que pouvant fournir des populations totalement monosexes, n'apparaît cependant pas utilisable à grande échelle, du fait, d'une part, de sa relative complexité et, d'autre part, d'une éventuelle fragilité des individus, liée à leur consanguinité élevée. En effet, en doublant le stock génétique uniquement à partir du stock

Fig. 6 : Inactivation des spermatozoïdes par les rayons γ chez la truite arc-en-ciel

Si l'on augmente la dose de rayons appliqués au sperme, on observe :

- Une décroissance rapide du taux de fécondation (phase 1) suivie d'une zone de silence (phase 2). Ces deux phases correspondent à l'accumulation de mutations qui rendent inviables une proportion de plus en plus forte d'embryons.

- Une réaugmentation du taux de fécondation (phase 3) suivi d'une nouvelle diminution (phase 4). Ces développements correspondront à des spermatozoïdes dont le noyau est inactivé et qui stimulent un développement à partir du seul matériel génétique de l'ovule. Pour des doses plus fortes, les spermatozoïdes sont totalement détruits et ne peuvent plus stimuler l'ovule. La dose D sera la dose choisie pour inactiver le sperme.

maternel, on atteint d'emblée un niveau de consanguinité supérieur à celui obtenu en 3 générations de croisements frère x sœur successifs. Or KINCAID (1976) note chez la Truite arc-en-ciel (tableau 2) dès la deuxième génération de ces croisements une diminution notable des performances de croissance et de survie. Des résultats analogues existent notamment chez la Carpe (MOAV, 1973).

Une solution combinant les deux techniques précédemment décrites apparaît cependant envisageable.

Tableau 2 - Effets de consanguinité dans 3 lignées de Truite arc-en-ciel après 1 et 2 générations de croisements frère x sœur (d'après KINCAID, 1976) (G = nombre de générations de croisement frère x sœur)

Caractère	Lignée I		Lignée II		Lignée III		
	Témoin	G = 1	Témoin	G = 2	Témoin	G = 2	
% survie { Emergence		92,2	89,3	89,0	79,0	84,2	81,4
	147 jours	80,5	68,7	60,7	39,7	87,2	77,1
Poids { 147 jours		4,5	4,2	4,8	4,2	3,1	2,9
	moyen (g) { 364 jours	197,1	151,3	184,4	122,6	122,4	86,6

III - LE SEXAGE GENETIQUE

Nous avons vu précédemment que, si l'espèce est de type « femelle homogamétique », la descendance de certains mâles issus d'un traitement hormonal « masculinisant » donnait 100 % de femelles. Le problème est de séparer, parmi les mâles, les mâles génétiques XY et les femelles inversées XX qui seules nous intéressent. On peut bien sûr tester individuellement ces mâles à leur première spermiation, en étudiant la proportion des sexes dans leur descendance, puis les utiliser à leur deuxième spermiation mais cette technique est lente et coûteuse, le sexage ne pouvant survenir qu'après plusieurs mois d'élevage de cette descendance.

L'utilisation de lignées gynogénétiques fournit une réponse à ce problème. Tous les individus de ces lignées étant XX, tous les mâles obtenus par traitement masculinisant d'une de ces lignées seront des femelles génétiques. Il suffira donc de produire un faible nombre (une centaine) de ces mâles pour féconder un nombre élevé de femelles normales et obtenir des œufs normaux, mais tous XX, donc femelles. On aura ainsi réalisé un sexage génétique initial fiable et simple qui résout les problèmes précédemment évoqués (les individus « commerciaux » ne sont pas consanguins et n'ont subi aucun traitement hormonal) et dont la pratique à grande échelle apparaît possible, l'éleveur recevant soit des mâles « génétiquement femelles » qu'il croisera sur son propre cheptel de femelles, soit des œufs garantis « 100 % femelles ».

Une telle technique est d'ores et déjà opérationnelle sur la carpe commune en Hongrie et semble *a priori* réalisable chez toutes les espèces de type « femelle homogamétique ». Chez les espèces « mâle homogamétique » un schéma voisin, mais légèrement plus complexe, est également envisageable. Enfin, l'obtention de populations « 100 % mâles » est également possible en combinant différemment ces techniques.

Fig. 7 : Principe du sexage génétique chez les espèces « femelle homogamétique »
Le système repose sur la création et l'entretien d'une petite population de « néomâles » génétiquement femelles, dont la descendance est donc entièrement femelle.

IV - L'HYBRIDATION

La stérilité des hybrides, classique chez les mammifères, n'apparaît pas une règle générale chez les poissons. Un certain nombre d'hybridations fournissent une descendance viable et fertile, mais parfois caractérisée par une proportion des sexes anormale. Le cas le plus classique est celui des hybrides entre les espèces du genre *Tilapia* qui peuvent fournir dans certains cas jusqu'à 100 % d'individus mâles (tableau 3).

De telles possibilités sont activement étudiées, notamment en Israël, l'absence de reproduction dans les étangs d'élevage permettant d'obtenir des individus de grande taille et de valeur économique élevée, alors qu'une gestion classique conduit à convertir la productivité naturelle de l'étang en une production surabondante de petits individus de faible valeur (MIREs, 1977).

Contrairement aux techniques de sexage génétique, une telle pratique apparaît cependant limitée à certaines hybridations particulières. Nous verrons ultérieurement d'autres applications plus prometteuses de l'hybridation.

Tableau 3 - Proportions de mâles observés chez les hybrides interspécifiques dans le genre *Tilapia* (d'après JALABERT et al., 1974)

$\frac{\text{O}+}{\text{O}}$	T. macrochir	T. hornorum	T. mossambica	T. nilotica
T. macrochir	50 %			75 %
T. hornorum		50 %	75 %	
T. mossambica		100 %	50 %	
T. nilotica	100 %	100 %		50 %

CONCLUSIONS

Si les techniques actuellement proposées pour modifier le sexe (traitement hormonal, hybridation) apparaissent limitées ou difficilement envisageables à grande échelle, des méthodes plus complexes (sexage génétique) devraient à moyen terme fournir de manière fiable des lignées monosexes chez les espèces pour lesquelles ces lignées sont souhaitables.

Nous examinerons dans un second article les méthodes permettant de retarder ou même d'inhiber totalement la maturation sexuelle des individus.

RESUME

L'utilisation de populations monosexes peut permettre d'accroître la rentabilité économique, lorsque la reproduction est trop rapide (aquaculture extensive dans les pays tropicaux) ou dans le cas d'espèces où l'un des sexes est plus avantageux (meilleure vitesse de croissance ou maturation plus tardive). Nous avons analysé dans ce papier quatre méthodes permettant la production de populations monosexes.

Si l'inversion sexuelle par traitement hormonal ou la gynogenèse induite (dans le cas d'une homogamétie femelle) ne semblent pas directement exploitables, on peut attendre du sexage génétique qui combine ces deux méthodes, des résultats prometteurs. L'hybridation interspécifique peut également conduire à une descendance monosexue dans des cas particuliers.

SUMMARY

Using monosex populations may increase the economical profitability, when the reproductive dissemination is too rapid (extensive fish culture in tropical countries), or in the case of species in which one sex is more advantageous (better growth rate or later maturation time). In this paper, we analyzed four methods expecting to produce monosex populations.

If hormonal sex reversal or induced gynogenesis (in case of female homogamety) seem to be not directly usable, promising results could be attempted with genetical sex determination which combines these two methods. Interspecific hybridization may lead as well to monosexual progeny in some particular cases.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- JALABERT B., MOREAU J., PLANQUETTE P., BILLARD R., 1974. Déterminisme du sexe chez *Tilapia nilotica* et *T. macrochir* : action de la méthyltestostérone dans l'alimentation des alevins sur la différenciation sexuelle ; obtention de mâles « inversés » fonctionnels et proportion des sexes dans la descendance. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 14, 729-739.
- JALABERT R., BILLARD R., CHEVASSUS B., 1975. Preliminary on sex control in trout ; production of sterile fishes and simultaneous self-fertilizable hermaphrodites. Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys., 15, 19-28.
- JOHNSTONE R., SIMPSON T.H., YOUNGSON A.F., WHITEHEAD C., 1979. Sex reversal in salmonid culture. II - The progeny of sex reversed rainbow trout. Aquaculture, 18, 13-19.
- KINCAID H., 1976. In breeding in rainbow trout (*Salmo gairdeni*). J. Fish. Res. Bd. Can., 33, 2420-2426.
- MIRES D., 1977. Theoretical and practical aspects of the production of all male *Tilapia* hybrids. Bamidgeh, 29, 94-101.
- MOAV R., 1973. Carp breeding in Israel. In Agricultural genetics, Selected topics. Ed. J. MOAV, New-York, Wiley.

- NAGY A., RAIKI K., HORVATH L., CSANYI V., 1978. Investigation on carp *Cyprinus carpio* L. gynogenesis. J. Fish. Biol., 13, 213-224.
- OKADA H., MATUMOTO H., YAMASAKI F., 1979. Functional masculinization of genetic females in rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 45, 413-419.
- STANLEY J.G., 1976. A review of methods for obtaining monosex fish and progress report on the production of monosex white amur. J. Aquatic Plant Manag., 14, 68-70.
- THORGAARD G.H., 1977. Heteromorphic sex chromosomes in male rainbow trout. Science, 196, 900-902.
- YAMAMOTO T., 1969. Sex differentiation, in Fish Physiology.