HAL open science

Techniques d'identification du sexe et d'estimation de la maturite sexuellechez les poissons vivants

Pierre-Yves Le Bail, Alexis Fostier

To cite this version:

Pierre-Yves Le Bail, Alexis Fostier. Techniques d'identification du sexe et d'estimation de la maturite sexuellechez les poissons vivants. L'aquaculture du Bar et des Sparidés : Actes du colloque sur l'aquaculture du Bar (loup) et des Sparidés tenu à Sète (France) les 15, 16 et 17 mars 1983, INRA Publi., 542 p., 1984, Hydrobiologie et Aquaculture, 2-85340-600-8. hal-02858434

HAL Id: hal-02858434

https://hal.inrae.fr/hal-02858434

Submitted on 8 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Distributed under a Creative Commons Attribution - ShareAlike 4.0 International License

G. Barnabé et R. Billard Ed., *L'Aquaculture du Bar et des Sparidés,* INRA Publ., Paris, 1984, 45-52.

Techniques d'identification du sexe et d'estimation de la maturité sexuelle chez les poissons vivants

P.-Y. LE BAIL et A. FOSTIER

INRA, Laboratoire de Physiologie des Poissons, Campus de Beaulieu, F 35042 Rennes Cedex

Résumé

La simple observation morphologique (caractères sexuels secondaires) n'est pas toujours suffisante pour reconnaître le sexe des poissons et estimer leur état de maturité sexuelle, informations utiles à la bonne gestion des élevages. Par contre, une analyse biométrique fine peut parfois mettre en évidence un dimorphisme sexuel. La mesure des niveaux circulants des hormones sexuelles non seulement permettra d'identifier le sexe (11-cétotestostérone, par exemple) mais également d'estimer l'état de maturité des géniteurs (œstradiol-17β chez la femelle, par exemple). Enfin, au cours de la vitellogenèse, des méthodes de mise en œuvre rapide et simple sont utilisées pour détecter la présence de la vitellogénine, protéine circulante propre à la femelle. Ces différentes techniques sont rapidement exposées.

La reconnaissance précoce des sexes chez le poisson doit aider à la bonne gestion des élevages. Pour le cheptel de géniteurs, cette information permet d'évaluer la production d'œufs à venir et donne la possibilité de fixer à volonté le nombre d'animaux de chaque sexe et ainsi, par exemple, de réduire la charge due à l'élevage des mâles si l'on utilise les techniques de dilution ou, dans l'avenir, de congélation du sperme (Billard, 1984, ce volume). D'autre part, des élevages monosexes peuvent bénéficier, lors du grossissement, de l'existence de meilleurs taux de croissance (Guerrero III, 1982 ; Hunt *et al.*, 1982) ou de phénomènes de résistance aux maladies (Pickering et Christie, 1980) particuliers à un sexe. Or, l'identification des sexes phénotypiques sur des poissons vivants n'est pas toujours aisée chez des espèces à dimorphisme sexuel discret, en particulier lorsqu'il s'agit de juvéniles ou d'adultes en période de repos sexuel (Barnabé, 1976 a). La méthode actuellement la plus utilisée consiste à attendre la première période de ponte et à identifier les gamètes émis (Barnabé, 1976 b). Lorsque l'ovulation spontanée ne se fait pas, cette méthode permet de ne reconnaître avec certitude que les mâles fluants. Par ailleurs, elle ne donne pas de diagnostic définitif pour les hermaphrodites comme la dau-

rade (Zohar *et al.*, 1984, ce volume), pour lesquels il peut être important de suivre les taux d'inversion dans l'élevage.

Outre l'identification du sexe, l'estimation de l'état de maturité est nécessaire pour évaluer le nombre des futurs géniteurs disponibles pour la saison de reproduction à venir. A la fin du cycle sexuel, elle permet également de déterminer le moment où doit se faire l'induction de ponte. Dans ce dernier cas, les biopsies ovariennes, à l'aide d'un cathéter, donnent la possibilité d'une observation directe des ovocytes (Barnabé, 1976 b; Gordin et Zohar, 1978).

Critères utilisables pour l'identification du sexe et l'estimation de la maturité sexuelle

L'identification du sexe est, en général, d'autant plus difficile que l'on se situe, dans le temps, loin de la période de première reproduction (fig. 1). Les critères d'identification reposent, en premier lieu, sur le déterminisme génétique du sexe, puis sur sa première expression : la différenciation de la gonade. Ensuite, lorsque la gonade différenciée devient peu à peu fonctionnelle, différentes hormones s'avèrent accessibles à l'analyse. Enfin, lorsque le cycle sexuel de l'adulte est en place, de nouvelles caractéristiques sont exploitables, jusqu'à l'apparition des caractères sexuels secondaires marqués, puis l'émission de gamètes reconnaissables sans difficulté. A côté de ces processus directement liés à la fonction de reproduction peuvent être utilisées, dans certains cas, des particularités liées à d'autres fonctions. Nous nous proposons de passer brièvement en revue ces différents critères. Parmi ceux-là, certains sont quantifiables et corrélés au développement des gamètes, permettant une estimation de l'état de maturité sexuelle.

1. *Caryotype*

Lorsqu'ils sont clairement différenciés (existence d'un hétérochromosome Y ou W), les caryotypes des animaux gonochoriques offrent un moyen primordial de reconnaître les sexes. Il s'agit cependant de cas peu fréquents (Gold *et al.*, 1979) et les techniques restent longues à mettre en œuvre.

2. *Antigène H-Y*

L'un des premiers facteurs impliqués dans la différenciation phénotypique des gonades, chez les vertébrés, est l'antigène d'histocompatibilité spécifique du mâle chez les mammifères : l'antigène H-Y (Haseltine et Ohno, 1981). En utilisant des tests sérologiques mis au point chez les mammifères, la recherche d'un antigène H-Y a été faite chez les poissons. Les résultats sont encore trop confus pour envisager sa détection comme moyen d'identifier le sexe hétérogamétique (Zaborski, 1982).

3. *Stéroïdes sexuels*

La possibilité, au moment de la différenciation chez les poissons, d'inverser le sexe à l'aide d'hormones sexuelles exogènes a conduit Yamamoto (1969) à pro-

poser une théorie du contrôle stéroïdien de la différenciation. Si les arguments analytiques manquent encore pour valider complètement cette hypothèse, il est certain que les potentialités stéroïdogènes des gonades apparaissent très tôt au cours du cycle (Oota et Yamamoto, 1966; Van den Hurk *et al.*, 1982). La révélation, à ce stade très jeune, d'activités spécifiques à un sexe peut permettre de l'identifier.

Ces activités vont s'accentuer chez le juvénile, bien que les niveaux circulants d'hormones stéroïdes puissent rester indétectables. L'injection d'une hormone gonadotrope ou simplement d'un extrait hypophysaire brut amplifie la sécrétion de la gonade alors identifiable (Magri *et al.*, 1982; Le Bail *et al.*, 1983). Lorsque les animaux entrent ensuite dans leur premier cycle reproducteur, les taux d'hormones

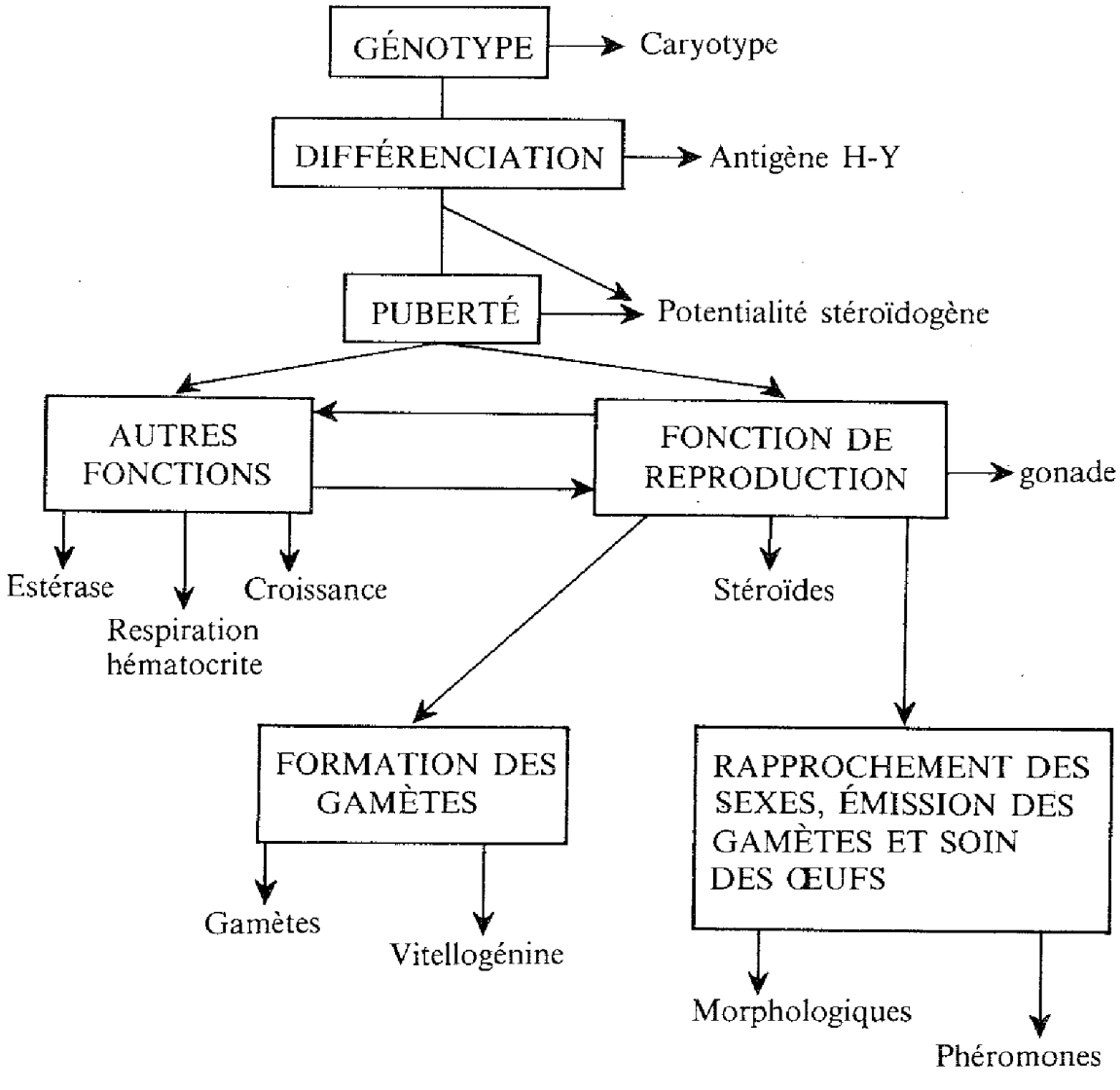

Figure 1. — Schéma de la chronologie d'apparition des différences sexuelles utilisables pour l'identification du sexe.

circulantes sont assez élevés pour être mesurés sans stimulation préalable (Billard *et al.*, 1978 ; Le Bail *et al.*, 1983). A ce stade, les niveaux de certaines hormones, comme les œstrogènes chez la femelle ou les androgènes chez le mâle, sont corrélés au rapport gonadosomatique (Breton *et al.*, 1983) et peuvent donc être utilisés comme estimateurs de l'état de maturité sexuelle (Idler *et al.*, 1981).

4. *Vitellogénine*

C'est avec la vitellogenèse qu'apparaît dans le sang des femelles une protéine synthétisée dans le foie pour être incorporée dans les réserves vitellines de l'ovocyte : la vitellogénine (Wiegand, 1982). Sa détection identifie la femelle (Le Bail et Breton, 1981) et sa quantification permet d'estimer l'état de maturité (Idler *et al.*, 1981).

5. *Caractères sexuels secondaires*

Chez certaines espèces, et sous l'influence des stéroïdes sexuels (Chester Jones *et al.*, 1972), des caractères sexuels très nets vont se développer. Ces particularités morphologiques sont, en général, d'autant plus visibles que la période de ponte est proche. Une papille génitale turgescente est souvent caractéristique de la femelle prête à pondre (Caporiccio, 1976).

6. *Autres critères*

Enfin, selon les espèces, d'autres caractères ne dépendant pas directement des processus de reproduction peuvent être liés au sexe. C'est, par exemple, le cas de l'hématocrite chez *Micropterus salmonoides* (Steucke et Atherton, 1965) ou d'une protéine plasmatique spécifique du mâle chez certains Tilapia (Avtalion *et al.*, 1976).

Cas particulier de trois critères utilisables chez de nombreuses espèces

Parmi les différentes caractéristiques évoquées, certaines sont plus facilement accessibles à l'analyse et plus largement utilisables pour de nombreuses espèces.

1. *L'étude morphologique*

Lorsqu'elle est associée à une analyse biométrique, elle peut révéler des différences discrètes entre les sexes (Le Bail, 1981). Chez le bar, cette méthode reste cependant insuffisante (Barnabé, 1976 a).

2. *L'analyse des stéroïdes sexuels*

Elle s'est montrée efficace lorsqu'elle a porté sur un androgène spécifique du mâle : la 11-cétotestostérone (Sangalang *et al.*, 1978). Elle est actuellement une des

rares techniques permettant l'identification du sexe chez les juvéniles (Le Bail *et al.*, 1983).

Chez le bar, une étude réalisée en 1977 (Fostier ; contrat CNEXO n° 77/1619) nous a montré que les taux d'androgènes totaux les plus élevés se trouvaient chez les mâles, en étant positivement corrélés aux rapports gonadosomatiques (fig. 2 ; coefficient de corrélation = 0,89). Les taux les plus élevés d'œstradiol-17β ont été mesurés chez les femelles en vitellogenèse. Par contre, les immatures des deux sexes ne présentent que des niveaux faibles pour les deux hormones. Si l'œstradiol permet de reconnaître les femelles en vitellogenèse, il serait sans doute préférable de mesurer les taux de 11-cétotestostérone, à la place de l'ensemble des androgènes (anticorps peu spécifique) afin d'identifier les mâles. La 11-cétotestostérone est effectivement synthétisée par le testicule de bar (Colombo *et al.*, 1978). Cependant, chez la daurade, testicule et ovaire sont également capables de produire cet androgène (Eckstein *et al.*, 1978).

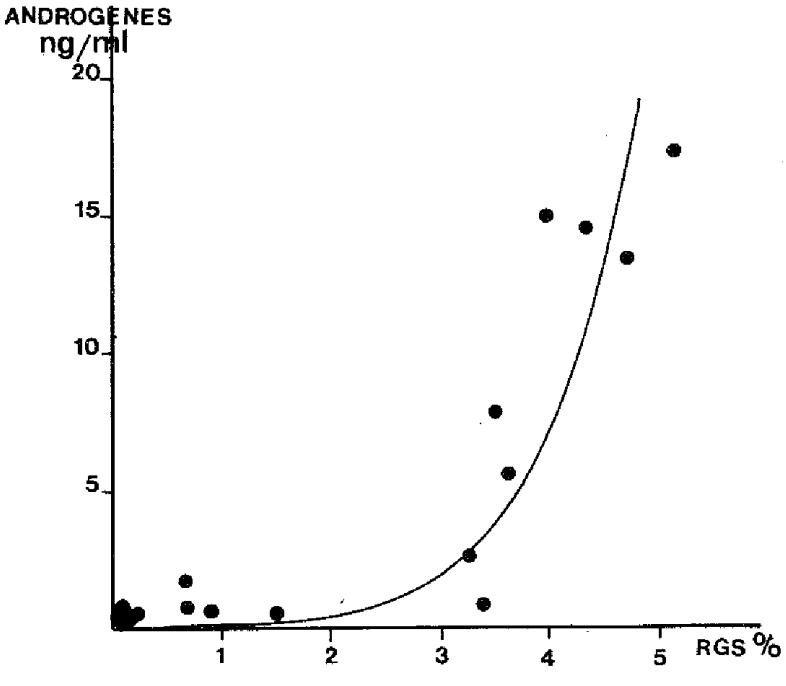

Figure 2. — Relations entre les androgènes circulants et les rapports gonadosomatiques chez le mâle du bar, *Dicentrarchus labrax.*

3. *La détection de la vitellogénine*

Basée sur une technique d'immunoagglutination, il s'agit sans doute de la méthode la plus performante pour la reconnaissance des sexes (Le Bail et Breton, 1981 ; Le Bail *et al.*, 1981). La possibilité d'obtenir des antiséra efficaces, qu'ils soient dirigés contre la vitellogénine purifiée à partir de plasma ou contre la lipovitelline isolée à partir d'ovules (Hara et Hirai, 1978), laisse envisager une extension, sans difficultés majeures, à de nombreuses espèces, d'une méthode mise au point chez les salmonidés.

Perspectives

Il existe aujourd'hui plusieurs méthodes d'identification du sexe dont le choix est fonction de l'âge des animaux analysés et des disponibilités techniques (Maisse, 1983). Le travail réalisé dans les laboratoires de recherche a permis de préciser les critères utilisables et de mettre en place des techniques d'analyse. Dans certains cas, ces techniques ont été considérablement simplifiées pour en faire des outils de terrain. C'est dans cette direction qu'il faut poursuivre les investigations.

Summary : *Techniques for identifying sex and for estimating the stage of maturity of live fish.*

Although the good management of cultures requires early knowledge of the sex of future brood fish and the possibility of estimating their stage of sexual maturation, a simple observation of morphology (secondary sex characteristics) is not always enough to obtain this information.

More or less complicated techniques are used to resolve these problems. Biopsy can only be done at rather advanced stages of gametogenesis. Fine biometric analysis may sometimes show sexual dimorphism. The measurement of circulating levels of sex hormones (e.g. 11-ketotestosterone) not only permits sex identification but also the estimation of brood fish maturity (e.g. estradiol-17β in the female). A circulating protein specific to one sex has been identified in some species ; during vitellogenesis, some rapid, simple methods can be used to detect vitellogenin, the circulating protein found only in females. The present paper discusses briefly these various techniques.

Resumen : *Técnicas para identificar el sexo y el estado de madurez en peces vivos.*

Para que la cria tenga éxito, se necesita conocer precozmente tanto el estado de madurez sexual como el sexo de los futuros reproductores y la simple observación de la morfología (caracteres sexuales secundarios), no siempre es suficiente para darnos tal información.

Existen técnicas más o menos complejas que resuelven estas cuestiones. Las biopsias solo se pueden realizar en estados avanzados de gametogenesis. Un análisis biométrico fino pone a veces en evidencia la existencia de dimorfismo sexual. La medida de los niveles hormonales circulantes, no solamente permitiria identificar el sexo (11-quetotesterona por ejemplo) sino tambien estimar el estado de madurez de los reproductores (17β-estradiol en la hembra por ejemplo). En ciertas especies se puede determinar una proteina circulante que es especifica del sexo. Existen métodos rápidos y simples que permiten detectar vitelogenina ; proteina circulante que se presenta solamente en la hembra. Se discuten de manera rapida las mencionadas técnicas.

Riassunto : *Tecniche per l'identificazione del sesso e la stima dello stato di maturità in pesci vivi.*

Per un'ottima gestione degli allevamenti è necessario conoscere precocemente il sesso e lo stato di maturazione sessuale dei futuri genitori, ma la sola osservazione della morfologia degli animali (caratteri sessuali secondari) non è sempre sufficiente per fornire tali informazioni.

Esistono delle tecniche più o meno complesse per risolvere questo problema.

Le biopsie non possono essere realizzate se non negli stadi abbastanza avanzati della gametogenesi. Un'analisi biometrica accurata può qualche volta mettere in evidenza un dimorfismo sessuale. La determinazione dei livelli plasmatici e degli ormoni sessuali circolanti non solo permetterebbe d'identificare il sesso (11-chetosterone presente) ma permetterebbe anche di stimare lo stato di maturità dei genitori (presenza di 17β-estradiolo nelle femmine). In alcune specie può

essere messa in evidenza una proteina circolante che ne determina il sesso.

Infine, nel corso della vitellogenesi, alcuni metodi semplici e rapidi permettono di determinare il contenuto di vitellogenina, che è una proteina circolante e presente soltanto negli individui di sesso femminile. Vengono discusse le differenti tecniche di indagine.

Références bibliographiques

AVTALION R. R., PRUGININY Y., ROTHBARD S., 1976. Determination of allogeneic and xenogeneic markers in the genus of Tilapia: I. Identification of sex and hybrids in Tilapia by electrophoretic analysis of serum proteins. *Bamidgeh,* **27**, 8-13.

BARNABÉ G., 1976 a. *Contribution à la connaissance de la biologie du loup* Dicentrarchus labrax *L. (poisson Serranidae).* Thèse de Doctorat d'État, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 426 p.

BARNABÉ G., 1976 b. Rapport technique sur la ponte induite et l'élevage des larves du loup *Dicentrarchus labrax* L. et de la daurade *Sparus aurata* L. Études et Revues F.A.O. n° 55, 63-116.

BILLARD R., 1984. La conservation des gamètes et l'insémination artificielle du bar et de la dorade. 95-116, *in* G. Barnabé et R. Billard, *L'Aquaculture du Bar et des Sparidés,* INRA Publ., Paris.

BILLARD R., BRETON B., FOSTIER A., JALABERT B., WEIL C., 1978. Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: Salmonid and Cyprinid models, 37-48, in *Comparative Endocrinology,* Gaillard P. J. and Boer H. H. Eds., Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam.

BRETON B., FOSTIER A., ZOHAR Y., LE BAIL P.-Y., BILLARD R., 1983. Gonadotropine glycoprotéique maturante et œstradiol-17β pendant le cycle reproducteur chez la truite fario *Salmo trutta* femelle. *Gen. Comp. Endocrinol.,* **49**, 220-231.

CAPORICCIO B., 1976. *Étude ultrastructurale et cytochimique de l'ovogenèse du loup* Dicentrarchus labrax *L.* Thèse de 3e cycle, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, 87 p.

CHESTER JONES I., BELLAMY D., CHAN D. K. O., FOLLET B. K., HENDERSON I. W., PHILLIPS J. G., SNART R. J., 1972. Biological actions of steroid hormones in non mammalian vertebrates, 415-499, in *Steroids in non mammalian vertebrates,* Idler D. R. Ed., Academic Press N. Y., London.

COLOMBO L., COLOMBO-BELVEDERE P., ARCARESE G., 1978. Gonadal steroidogenesis and gametogenesis in teleost fishes. A study on the sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Bull. Zool.,* **45**, 89-101.

ECKSTEIN B., ABRAHAM M., ZOHAR Y., 1978. Production of steroid hormones by male and female gonads of *Sparus aurata* (Teleostei, sparidae). *Comp. Biochem. Physiol.,* **60 B**, 93-97.

GOLD J. R., KAREL W. J., STRAND M. R., 1979. Chromosome formula of worth American fishes. Texas Agric. Exp., Station public M.P. 1411.

GORDIN H., ZOHAR Y., 1978. Induced spawning of *Sparus aurata* by means of hormonal treatments. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.,* **18**, 985-990.

GUERRERO III R. D., 1982. Control of Tilapia reproduction, 309-316, in *The Biology and culture of Tilapias,* Pullin R. S. V. and Lowe Mc Connell R. H. Ed., ICLARM-MANILA.

HARA A., HIRAI H., 1978. Comparative studies on immunochemical properties of female specific serum protein and egg yolk proteins in rainbow trout *Salmo gairdneri. Comp. Biochem. Physiol.,* **59 B**, 339-343.

HASELTINE F. P., OHNO S., 1981. Mechanisms of gonadal differentiation. *Sciences,* **211**, 1272-1278.

HUNT S. M. V., SIMPSON T. H., WRIGHT R. S., 1982. Seasonal changes in the levels of 11-oxotestosterone and testosterone in the serum of male salmon *Salmo salar* L., and their relationship to growth and maturation cycle. *J. Fish Biol.,* **20**, 105-119.

IDLER D. R., HWANG S.J., CRIM L. W., REDDIN D., 1981. Determination of sexual maturation stages of Atlantic salmon *Salmo salar* captured at sea. *Can. J. Fish aquat. Sci.,* **38**, 405-413.

LE BAIL P.-Y., 1981. *Identification du sexe en fonction de l'état de maturité chez les poissons.* Thèse de Docteur-Ingénieur, Université de Rennes, 71 p.

LE BAIL P.-Y., BRETON B., 1981. Rapid determination of the sex of puberal salmonid fish by a technique of immunoagglutination. *Aquaculture,* **22**, 367-375.

LE BAIL P.-Y., MAISSE G., BRETON B., 1981. Détection des femelles de Salmonidés en vitellogenèse. I. Description de la méthode et mise en œuvre pratique. *Bull. fr. Piscic.,* **283**, 79-88.

LE BAIL P.-Y., FOSTIER A., MARCUZZI O., 1983. Limites et améliorations du sexage des Salmonidés par dosage de la 11-cétotestostérone circulante. *Can. J. Zool.,* **61**, 457-460.

MAGRI M. H., BILLARD R., REINAUD P., FOSTIER A., 1982. Induction of gametogenesis in the juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri. Gen. Comp. Endocrinol.,* **46**, p. 394, Abst. 141.

MAISSE G., 1983. Méthodes d'identification du sexe en fonction de l'état de maturité chez les Salmonidés gardés vivants: application à l'étude de la dynamique des populations sauvages. IVe Congrès des Ichthyologistes Européens, Hambourg, 1982.

OOTA I., YAMAMOTO K., 1966. Interstitial cells in the immature testes of the rainbow trout. *Annot. Zool. Jpn.,* **39**, 142-148.

PICKERING A. D., CHRISTIE P., 1980. Sexual differences in the incidence and severity of ectoparasitic infestation of the brown trout, *Salmo trutta* L. *J. Fish Biol.,* **16**, 669-683.

SANGALANG G. B., FREEMAN H. C., FLEMMING R. B., 1978. A simple technique for determining the sex of fish by radioimmunoassay using 11-ketotestosterone antiserum. *Gen. Comp. Endocrinol.,* **36**, 187-193.

STEUCKE E. W., ATHERTON C. R., 1965. Use of microhematocrit values to sex largemouth bass. *Prog. Fish Cult.,* **27**, 87-90.

VAN DEN HURK R., LAMBERT J. G. D., PEUTE J., 1982. Steroidogenesis in the gonads of rainbow trout fry *Salmo gairdneri* before and after the onset of gonadal sex differentiation. *Reprod. Nutr. Dev.,* **22**, 413-426.

WIEGAND M. D., 1982. Vitellogenesis in fisches, 136-14, in *Reproductive physiology of fish,* Richter C. J. J., and Goos H. J. Th. (Comp.), PUDOC Wageningen.

YAMAMOTO T., 1969. Sex differentiation, 117-158, in *Fish Physiology,* vol. III. Hoard W. S., Randall D. J. Ed., Academic Press, N.Y. London.

ZABORSKI P., 1982. Expression of H-Y antigen in non mammalian vertebrates and its relation to sex differentiation. 64-68, in *Reproductive physiology of fish,* Richter C. J. J. and Goos H. J. Th. (Comp.), PUDOC Wageningen.

ZOHAR Y., BILLARD R., WEIL Cl., 1984. La reproduction de la daurade et du bar: le cycle sexuel et l'induction de la ponte. 3-24, *in* G. Barnabé et R. Billard, *L'Aquaculture du Bar et des Sparidés,* INRA Publ., Paris.