

## COMMUNICATION ORALE

# La détermination du sexe chez les barbeaux (*Osteichthyes, Cyprinidae, Barbus*)<sup>1</sup>

par

M. CASTELLI<sup>2</sup> et J. C. PHILIPPART<sup>3</sup>

## SUMMARY : Sex determination in the genus *Barbus* (*Osteichthyes, Cyprinidae*).

The origin and the phylogeny of the genus *Barbus* are still debated. Diploid and tetraploid species of *barbus* are found in Africa and Asia whereas tetraploid species only are present in Europe. Sex determination would be interesting to study in these different species from an evolutionary viewpoint. So at first sex determination has been studied in the common barbel (*Barbus barbus*), an European tetraploid species. The sex determining mechanism XX-XY is the general rule in cyprinids, with female homogamety. To test the hypothesis of female homogamety in common barbel, sex ratio of gynogenetic offspring was analysed. Almost 50 % males were observed in all gynogenetic lines produced whereas 100 % females were expected in case of female homogamety. When gynogenetic males were crossed with control females their progenies showed sex ratios close to 1:1. When gynogenetic females were crossed with control males their progenies were 100 % females. These results proved female heterogamety (ZW) and male homogamety (ZZ) in common barbel.

## RÉSUMÉ

L'origine et la phylogénie du genre *Barbus* est encore débattue à l'heure actuelle. Des espèces diploïdes et tétraploïdes sont présentes en Afrique et en Asie alors que seules des espèces tétraploïdes vivent en Europe. Le mécanisme de détermination du sexe de ces différentes espèces est intéressant à étudier sous un angle évolutif, des espèces diploïdes aux espèces tétraploïdes. Une première espèce de barbeau européen, *Barbus barbus*, a été étudiée dans ce but. Le mécanisme de détermination du sexe XX-XY est la règle chez les cyprinidés étudiés jusqu'à présent. Pour tester l'hypothèse de l'homogamétie femelle (XX) chez *B. barbus*, le sex ratio de plusieurs descendance gynogénétiques a été analysé. Environ 50 % de mâles sont observés dans toutes les descendance gynogénétiques produites, alors que 100 % de femelles étaient attendues dans le cas d'une homogamétie femelle. Les descendance de mâles gynogénétiques croisés avec des femelles témoins montrent un sex ratio non significativement différent de 1:1 alors que 100 % de femelles sont obtenues lorsque des femelles gynogénétiques sont croisées avec des mâles témoins. Ces résultats prouvent que, chez *B. barbus*, la femelle est hétérogamétique (ZW) et le mâle homogamétique (ZZ).

<sup>1</sup> Manuscrit reçu le 28 juin 1993 ; accepté le 8 juillet 1993.

<sup>2</sup> Université de Liège. Service d'Ethologie. Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Aquaculture. Station de Recherches Aquacoles du CERER Tihange, 10, chemin de la Justice B-4500 TIHANGE, Belgique.

<sup>3</sup> Chercheur Qualifié au FNRS.

## Introduction

L'origine et la phylogénie du genre *Barbus* est encore débattue à l'heure actuelle (DOADRIO, 1990, AGNESE *et al.*, 1990). Des espèces diploïdes et tétraploïdes sont présentes en Afrique et en Asie alors que seules des espèces tétraploïdes vivent en Europe. Le genre *Barbus* aurait colonisé l'Europe à partir de l'Afrique (NOVACEK et MARSHALL, 1976) ou de l'Asie (BANARESCU, 1973) après l'événement de tétraploïdie à l'origine des espèces d'Europe. Le mécanisme de détermination du sexe de ces différentes espèces est intéressant à étudier sous un angle évolutif, des espèces diploïdes aux espèces tétraploïdes. En effet, la polyploïdie ne serait possible que si le mécanisme de détermination du sexe n'est pas encore fermement établi (OHNO et ATKIN, 1966). Dans ce cas, le mécanisme de la détermination du sexe pourrait avoir évolué différemment chez les espèces diploïdes d'une part et chez les espèces tétraploïdes d'autre part. Le barbeau fluviatile (*B. barbus*), espèce tétraploïde d'Europe, est le premier du genre *Barbus* à être étudié à ce point de vue.

L'homogamétie femelle (XX) et l'hétérogamétie mâle (XY) est la règle générale chez les *Cyprinidae* étudiés jusqu'à présent (pour une synthèse sur ce sujet, voir CASTELLI, sous presse). Mais des études effectuées chez le carassin doré, *Carassius auratus* (OSHIRO, 1987) et la carpe commune, *Cyprinus carpio* (KOMEN et RICHTER, 1990) montrent l'existence d'un système complexe de gènes parallèle à celui impliqué dans la détermination du sexe XX-XY. L'objectif de notre étude est de tester l'homogamétie femelle chez le barbeau commun en utilisant la gynogénèse et différents tests de descendance.

## Matériel et méthodes

Les ovocytes, extraits par pression abdominale, sont fécondés artificiellement avec de la laitance de carpe commune préalablement irradiée aux rayons UV (253,7 nm, à 7,02 W/cm<sup>2</sup> pendant 5 min). Un choc thermique est administré 3 min après l'incubation des oeufs à 21 °C par immersion à 37 °C pendant 2 min pour induire la rétention du second globule polaire. Cette méthode permet la production de 100 % de descendants gynogénétiques. Après le traitement, les oeufs sont incubés à 21 °C. Les différentes descendance produites sont élevées à 21 °C ± 1 °C. Les descendance triploïdes et diploïdes témoins sont obtenues suivant le même procédé à l'exception de l'irradiation du sperme pour les triploïdes et de l'irradiation et du choc thermique pour les diploïdes témoins. La méthode du « squash » à l'acéto-carmin (GUERRERO et SHELTON, 1974) est utilisée pour sexer les différentes descendance à la taille de 6-7 cm.

## Résultats

Le sex ratio observé dans huit des dix descendance diploïdes témoins n'est pas significativement différent de 1:1. Deux descendance montrent un fort excédent de mâles (± 75 %). Ces deux sex ratios atypiques ne sont pas significativement différents de 3:1.

Le sex ratio de quatre des cinq descendance gynogénétiques produites n'est pas significativement différent de 1:1. Toutefois, les descendance gynogénétiques montrent un déficit significatif en mâles (44,3 %) par rapport aux descendance diploïdes témoins correspondantes (58,2 %) ( $P = 0,0052$ ). Quant au pourcentage de mâles chez les triploïdes (54,9 %), il n'est pas significativement différent de celui observé chez les descendant diploïdes témoins ( $P = 0,4295$ ) et diploïdes gynogénétiques ( $P = 0,0666$ ) correspondants.

Le sex ratio observé dans neuf descendance issues du croisement entre couples de mâles diploïdes gynogénétiques et de femelles diploïdes témoins n'est pas significativement différent de 1:1 et du sex ratio des descendance diploïdes témoins correspondantes, issues du croisement de ces femelles témoins avec des mâles diploïdes témoins.

Les descendance (n = 3) produites par le croisement entre femelles gynogénétiques et mâles diploïdes témoins sont composées de 100 % de femelles à l'exception d'une descendance dans laquelle quelques mâles sont dénombrés (0,7 %).

## Discussion

La gynogénèse induite chez le barbeau et les tests de descendance subséquents prouvent l'hétérogamétie femelle (ZW) et l'homogamétie mâle (ZZ) chez cette espèce. Mais, l'observation de sex ratios diploïdes témoins 3:1 en faveur des mâles, la production de 0,7 % de mâles dans la descendance d'une femelle gynogénétique et l'observation d'hermaphrodites spontanés dans une population obtenue à partir de barbeaux sauvages originaires de la Brouffe, affluent du Viroin en Belgique, suggèrent la présence d'un déterminant sexuel mineur (M, m), épistatique au déterminant sexuel majeur (Z, W). Dans ce cas, le croisement entre une femelle hétérozygote ZWm et un mâle homozygote récessif ZZmm produirait un sex ratio 3:1 (**tableau I**). Le sex ratio des diploïdes gynogénétiques est significativement différent du sex ratio des diploïdes témoins, avec une proportion plus importante de femelles. Ce résultat pourrait signifier qu'un « crossing over » a lieu entre le déterminant sexuel (Z, W) et son centromère. Par conséquent, les génotypes gynogénétique ZW et triploïde ZZW seraient produits en plus des génotypes gynogénétiques (ZZ, WW) et triploïdes (ZZZ, ZWW) attendus (**tableau I**). D'autre part, l'analyse des données groupées montre une différence significative entre diploïdes gynogénétiques et diploïdes témoins alors qu'il n'y en a pas entre diploïdes témoins et triploïdes et entre diploïdes gynogénétiques et triploïdes. Toutefois, la différence de pourcentage de mâles entre ces derniers est assez importante pour émettre l'hypothèse d'un « crossing over » entre le déterminant sexuel mineur (M, m) et son centromère. Pour que la théorie s'applique exactement aux données expérimentales, nous devons, cependant, postuler l'inégalité entre les paires gonosomales (WW, ZW) et autosomale (mm),  $WW > mm > ZW$  (**tableau I**).

**Tableau I.** Sex ratio atypique 3:1 dans une descendance diploïde témoin explicable par un modèle impliquant un déterminant sexuel mineur mâle (M, m). Les génotypes et sex ratio théoriques sont donnés pour des descendance diploïde témoin, diploïde gynogénétique et triploïde.

**Table I.** *Atypical sex ratio 3 :1 in diploid control progeny explained by a model involving a minor male sex determining gene (M, m). The table gives the expected genotypes and sex ratio in diploid control, gynogenetic and triploid progenies.*

	MALE ZZm	X	FEMELLE ZWm
<b>Descendance diploïde témoin 3:1</b>	ZZMm		ZWMm
	ZZmm		
	<b>ZWmm</b>		
<b>Descendance diploïde gynogénétique 1:1,25</b>	ZZMM		WWMM
	ZZmm		<b>WWmm</b>
	ZZMm		WWMm
	<b>ZWmm</b>		ZWMM
			ZWMm
<b>Descendance triploïde 1,25:1</b>	ZZZMMM		ZWWMMM
	ZZZmmm		ZWWMmm
	ZZZMmm		ZZWMMM
	<b>ZWWmmm</b>		ZZWmMm
	<b>ZZWmmm</b>		

Les cyprinidés étudiés jusqu'à présent étaient caractérisés par une homogamétie femelle. Cette étude chez *Barbus barbus* prouve que la coexistence d'une hétérogamétie femelle et d'une homogamétie femelle au sein de la famille des *Cyprinidae* est possible comme chez les *Anostomidae*, les *Cyprinodontidae*, les *Gasterosteidae* et les

*Cichlidae*. De plus, des déterminants sexuels mineurs pourraient être impliqués dans la détermination du sexe chez le barbeau comme chez le carassin doré et la carpe commune. Mais le modèle proposé doit être confirmé par de plus amples investigations (CASTELLI, sous presse). Le mécanisme de détermination du sexe ZW-ZZ singularisant le barbeau au sein de la famille des *Cyprinidae*, la coexistence d'espèces diploïdes et tétraploïdes dans le genre *Barbus* et l'origine polyphylétique actuellement discutée des barbeaux rendent l'étude de l'évolution du mécanisme de la détermination du sexe chez *Barbus* intéressante à plus d'un titre. L'existence d'une hétérogamétie femelle chez les autres espèces de *Barbus* reste à établir en répétant les expériences réalisées chez *B. barbus*. Une autre voie susceptible d'apporter rapidement des informations est l'analyse du sex ratio chez les hybrides interspécifiques (PHILIPPART et BERREBI, 1990) comme dans le cas des tilapias (WOHLFARTH et WEDEKIND, 1991) chez lesquels cette approche a révélé un mécanisme de détermination du sexe différent chez des espèces proches comme *Oreochromis niloticus* (XX-XY) et *O. aureus* (ZW-ZZ).

## REMERCIEMENTS

Cette étude a été menée avec l'appui financier de l'IRISIA (bourse de recherche octroyée à M. CASTELLI, 1987-1990), du Fonds National de la Recherche Scientifique (Contrat FRFC n° 24547-89), du Fonds Spécial Recherche Université de Liège (1989) et de la S.A. Electrabel finançant les activités Aquaculture du « Centre d'Etudes pour la Récupération des Energies Résiduelles » (CERER-Pisciculture, Tihange, Université de Liège).

## BIBLIOGRAPHIE

- AGNESE J. F., BERREBI P., LEVEQUE C. et GUÉGAN J. F. (1990). — Two lineages, diploid and tetraploid, demonstrated in African species of *Barbus* (*Osteichthyes*, *Cyprinidae*) : on the coding of differential gene expression. *Aquat. Living Resour.*, **3** : 305-311.
- BANARESCU P. (1973). — Origin and affinities of the freshwater fish fauna of Europe. *Ichthyologia*, **5** : 1-8.
- CASTELLI M. (sous presse). — Study on sex determination in the common barbel (*Barbus barbus*) (*Pisces*, *Cyprinidae*) using gynogenesis. In : *Genetics and Evolution in Aquatic Organisms* (A.R. BEAUMONT, ed). Chapman & Hall, Londres, Royaume-Uni : 510-519.
- CATAUDELLA S., SOLA L., ACCAME MURATORI R. & CAPANNA E. (1977). — The chromosomes of 11 species of *cyprinidae* and one cobitidae from Italy, with some remarks on the problem of polyploidy in the cypriniformes. *Genetica*, **47** : 161-171.
- DOADRIO I. (1990). — Phylogenetic relationships and classification of west palaeartic species of the genus *Barbus* (*Osteichthyes*, *Cyprinidae*). *Aquat. Living Resour.*, **3** : 265-282.
- GUERRERO III R. D. et SHELTON W. L. (1974). — An aceto-carminé squash method for sexing juvenile fishes. *Prog. Fish -Cult.*, **36** : 56.
- KOMEN J. et RICHTER C. J. J. (1990). — Sex control in common carp (*Cyprinus carpio* L.). In : *Clones of common carp, Cyprinus carpio. New perspectives in fish research*. Ph. D THESIS, Agricultural University Wageningen, pp. 141-159.
- NOVACEK M. J. et MARSHALL L. G. (1976). — Early biogeographic history of Ostariophysan fishes. *Copeia*, **1976** (1) : 1-12.
- OHNO S. et ATKIN N. B. (1966). — Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. *Chromosoma*, **18** : 455-466.
- OSHIRO T. (1987). — Sex ratios of diploid gynogenetic progeny derived from five different females of goldfish. *Bull. Japon. Soc. Sci. Fish.*, **53** : 1899.
- PHILIPPART J. C. et BERREBI P. (1990). — Expérimental Hybridation of *Barbus barbus* and *Barbus meridionalis* : physiological, morphological and genetic aspects. *Aquat. Living Resour.*, **3** (4) : 325-332.
- WOHLFARTH G. W. et WEDEKING H. (1991). — The heredity of sex determination in tilapias. *Aquaculture*, **92** : 1543-1546.