

## BILAN DE RECHERCHE - SYNTHÈSE

# Le contrôle du sexe chez les tilapias : bilan et perspectives de 10 années de recherche à la station aquacole de Tihange<sup>1</sup>

par

Charles MÉLARD, Damien DESPREZ et Jean-Claude PHILIPPART<sup>2</sup>

**ABSTRACT : Sex control in tilapia : overview and perspectives of 10 years experiences at the aquaculture research station of Tihange.**

Due to their rapid growth, natural breeding in ponds and resistance, the tilapias belonging to the *Oreochromis sp.* offer high potentialities for extensive and intensive culture. Sexual growth dimorphism in favour of males oriented most applied research activities towards the production of monosex male populations. Since the early 80's, the Laboratory of Fish Demography and Aquaculture applied or adapted for this purpose some conventional techniques (manual sorting and hormonal sex reversal). Adding 17  $\alpha$ -methyltestosterone to the fry's feed during 20-40 days gives 89-100 % male offspring in tank (20-60 mg.kg<sup>-1</sup> feed) and 83-97 % male offspring in breeding ponds (60-150 mg.kg<sup>-1</sup> feed). It was experimentally demonstrated that the natural hormone 11  $\beta$ -hydroxy androstenedione gives similar results — at equivalent doses — on sex reversal as with the artificial hormone. However the high cost of the natural hormone prevents its use in large scale sex reversal programmes. We thus developed new techniques based on hybridisation : i.e. crossing male *O. aureus* with female *O. niloticus* gives 92.5 % male offspring but the overall fecundity is lower than with female *O. aureus* (- 34 %). Since *O. aureus* exhibit a male homozigocycy (males with ZZ genotype), an elegant alternative is provided by the use of feed added ethynylestradiol to produce a theoretical 100 % female phenotype offspring grouping true females (ZW genotype) and transsexual fish (pseudofemale with ZZ genotype). Crossing a pseudofemale with a ZZ male gives a theoretical 100 % ZZ genotype male offspring that have never faced artificial steroids. However it appears that sex determination in *O. aureus* relies on a polygenic process and the male ratio obtained from this technique ranges between 86 and 91 %. The development of these new techniques that minimise the use of hormones — and subsequent risks for consumers — could be further enhanced by the mastering of environmental influences on phenotypic sex determination (e.g. thermal effects), in order to produce « clean » (hormone free) 100 % male, fast growing tilapias.

<sup>1</sup> Manuscrit reçu le 12 juillet 1994 ; accepté le 6 septembre 1994.

<sup>2</sup> Contribution du Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Aquaculture, Service d'Ethologie (Prof. RUWET) de l'Université de Liège, 10 Chemin de la Justice, 4500 TIHANGE, Belgique.

## RÉSUMÉ

En raison de leur croissance rapide, de leur reproduction naturelle aisée et de leur résistance, les tilapias du genre *Oreochromis* présentent de grandes potentialités pour la pisciculture. Le dimorphisme sexuel de la croissance en faveur des mâles a orienté les recherches vers l'obtention de populations monosexes mâles. Depuis plus de 10 ans, le Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Aquaculture a appliqué et adapté des techniques connues (sexage manuel, inversion hormonale du sexe) de production de populations monosexes mâles mais a aussi développé de nouveaux procédés (hybridation, utilisation de géniteurs biomanipulés) basés sur le déterminisme génétique du sexe. L'inversion hormonale du sexe, au moyen de la 17  $\alpha$ -méthyltestostérone incorporée dans l'aliment des alevins, permet, après un traitement de 20 à 40 jours, d'obtenir entre 89 et 100 % de mâles lorsqu'elle est pratiquée en bassin (doses de 20 à 60 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment) et de 83 à 97 % de mâles quand elle est réalisée directement en étang de reproduction (doses de 60 à 150 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment). Des essais ont montré que la 11 $\beta$  hydroxy androsténédione (hormone naturelle spécifique du sexe mâle) présente les mêmes potentialités d'inversion du sexe que la 17  $\alpha$ -méthyltestostérone à une dose équivalente. Cependant son coût élevé empêche actuellement toute utilisation à grande échelle. D'autres procédés de production de populations monosexes mâles de tilapias basés sur le déterminisme génétique du sexe comme le croisement interspécifique *O. aureus* mâle x *O. niloticus* femelle qui permet de produire 92,5 % de mâles mais avec un taux de reproduction réduit de 34 %, ont été développés. Chez une espèce à homogamétie mâle ZZ comme *O. aureus*, l'inversion hormonale du sexe au moyen d'éthinylœstradiol d'une descendance normale permet d'obtenir des individus transsexuels (pseudofemelles à phénotype femelle et à génotype mâle ZZ). Le croisement d'une pseudofemelle avec un mâle produit théoriquement 100 % de mâles à génotype ZZ sans inversion hormonale du sexe. En raison du déterminisme polygénique du sexe, le pourcentage de mâles obtenus grâce à ce procédé varie cependant entre 86 et 91 %. Le développement de ces nouvelles techniques de production de populations de tilapias monosexes mâles basées sur le déterminisme du sexe permet de limiter l'utilisation de l'inversion hormonale du sexe. L'effet de la température sur le déterminisme phénotypique du sexe pourrait aussi être exploité pour produire des populations monosexes mâles chez les tilapias.

## 1. Introduction

Les tilapias présentent de grandes potentialités pour la pisciculture, en partie liées à l'extrême facilité de leur élevage : une reproduction naturelle aisée en captivité, une croissance rapide, une grande résistance au manque d'oxygène, aux agents chimiques, aux maladies et aux manipulations fréquentes (MÉLARD et PHILIPPART, 1981 a et b). L'existence d'un large éventail d'espèces adaptées à des environnements variés, y compris l'eau saumâtre et l'eau de mer (PHILIPPART et RUWET, 1982), a conduit à leur introduction dans de nombreux pays. Ce groupe est présent non seulement en Afrique (29 pays) mais aussi en Asie (14 pays), dans les Caraïbes (6 pays), en Amérique latine (9 pays), dans les pays Méditerranéens (6 pays) et également aux USA, en URSS, en Belgique et dans les îles Fiji et Guam (PULLIN, 1993), alors que la répartition originelle des espèces de tilapia se limitait à l'Afrique (sauf Madagascar) et à Israël. La

production mondiale annuelle varie, selon les auteurs, entre 400 000 tonnes (SWEETMAN, 1993, chiffres pour l'année 1990) et 500 000 tonnes (LAZARD, 1990), ce qui place les tilapias parmi les espèces les plus exploitées en aquaculture d'eau douce, après les carpes (5 000 000 de tonnes) et les salmonidés (600 000 tonnes) (SWEETMAN, 1993). PULLIN (1993) prévoit un doublement de la production mondiale de tilapias dans les dix prochaines années.

Dans les régions tempérées, l'élevage des tilapias est lié à la valorisation des eaux chaudes résiduelles de l'industrie. En Belgique, les eaux de refroidissement des centrales électronucléaires de Tihange, installée sur la Meuse, constituent une source d'eau chaude importante (4 000 m<sup>3</sup>.heure<sup>-1</sup>). Les travaux menés à partir de 1977 à la station de recherche de l'Université de Liège ont permis de valoriser ces effluents thermiques (PHILIPPART *et al.*, 1979) grâce à la mise au point de l'élevage intensif des tilapias (MÉLARD et PHILIPPART, 1981 a et b). Ces études ont conduit à des développements commerciaux majeurs, sous la forme d'une pisciculture industrielle (MÉLARD *et al.*, 1989 a et b ; MÉLARD et DUCARME, 1993) qui, de 1984 à ce jour, a produit près de 2 000 tonnes de tilapias.

Les tilapias du genre *Oreochromis*, caractérisés par le comportement d'incubation buccale maternelle des jeunes (TREWAVAS, 1983), représentent 95 % de la production mondiale de tilapia (PULLIN, 1993). La grande efficacité de la reproduction des espèces de ce groupe éco-éthologique ainsi que leur maturité précoce (RUWET *et al.*, 1976 ; PHILIPPART et RUWET, 1982 ; BAROILLER et JALABERT, 1989) constituent des avantages certains en pisciculture mais conduisent également, en milieu confiné comme l'étang, à une rapide surpopulation qui entraîne une diminution de la croissance par manque de nourriture et d'oxygène. Les étangs sont alors peuplés de poissons de petite taille, peu utilisables pour la commercialisation. Un contrôle de la reproduction s'est donc révélé nécessaire. Plusieurs solutions furent envisagées comme, par exemple, l'élevage mixte avec une espèce piscivore afin de diminuer, par prédation, la densité des tilapias de petite taille (GUERRERO, 1982 ; HUNER *et al.*, 1983 ; BEDAWI, 1985). Cette technique, outre une réduction de la production globale de tilapias, implique d'entretenir un stock de prédateurs. L'existence chez les tilapias d'un dimorphisme sexuel de la croissance jouant en faveur des mâles (HICKLING, 1968 ; HANSON *et al.*, 1983 ; MÉLARD, 1986) orienta rapidement les recherches vers l'obtention de populations monosexes mâles, afin de supprimer toute reproduction incontrôlée et d'améliorer les performances globales du système de production (augmentation de la croissance, réduction de l'agressivité par diminution de la territorialité). Les essais réalisés à la Station de Recherche Aquacole de Tihange ont confirmé les performances de croissance supérieures des mâles *O. niloticus* et *O. aureus* par rapport aux femelles des 2 mêmes espèces (fig. 1).

Depuis plus de 10 ans, le Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Aquaculture a appliqué et adapté des techniques connues (sexage manuel, inversion hormonale du sexe) de production de populations monosexes mâles mais a aussi développé de nouveaux procédés (hybridation, utilisation de géniteurs biomanipulés) basés sur le déterminisme génétique du sexe. L'objectif de ce document est de présenter sous forme synthétique les résultats obtenus au cours de ces 10 années de recherche.

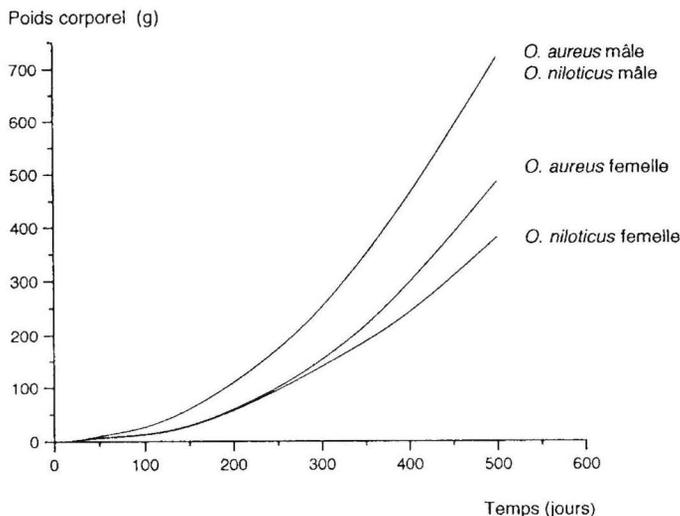


Fig. 1. Courbes de croissance pondérale moyenne d'*O. niloticus* et d'*O. aureus* mâles et femelles en élevage intensif à une température de 27 °C.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Origine des souches

La souche d'*O. aureus* a été acquise en 1979 à la station de Dor en Israël. Cette souche a été acclimatée depuis 1979 à station aquacole de Tihange. La souche d'*O. niloticus* est originaire de l'Institut d'Aquaculture de Sterling (1986).

### 2.2. Infrastructures d'élevage

Les bassins de 4 m<sup>2</sup>/1,6m<sup>3</sup> et les étangs de reproduction (200 m<sup>2</sup>), utilisés pour le grossissement et la production d'alevins, sont alimentés en eau par le système de refroidissement des centrales nucléaires de Tihange. Une installation de régulation automatique permet de maintenir toute l'année les températures entre 20 et 28 °C. Les petits bassins de 1 m<sup>2</sup>/0,3 m<sup>3</sup> destinés aux expériences d'inversion du sexe reçoivent l'eau provenant d'un circuit fermé pourvu d'un filtre biologique (température constante de 25 à 27 °C).

### 2.3. Alimentation des alevins

La nourriture (composition : 57 % de protéines et 9 % de lipides) est distribuée sur une période de 12 heures au moyen de nourrisseurs à tapis. La ration alimentaire est établie grâce à la relation suivante : ration (g.100 poissons<sup>-1</sup>) = 0.18. temps (j) <sup>1.16</sup>.

## 2.4. Détermination du sexe des alevins

Le sexe des alevins (âge : 2 mois, poids : 0,5 à 2,0 g) est établi sur un échantillon de 100 poissons par examen microscopique des gonades colorées à l'acéto-carmin.

# 3. Résultats et discussion

## 3.1. Le sexage manuel

Cette méthode de tri individuel est basée sur le dimorphisme sexuel de la papille génitale qui permet de différencier les mâles des femelles après 2 à 3 mois de croissance (poids corporel : 20 à 40 g). Ce procédé nécessite de pêcher et de trier tous les poissons, ce qui augmente les coûts de production. De plus l'élimination des 50 % d'individus femelles constitue une perte de production. Enfin, l'efficacité de cette technique est limitée puisqu'elle ne permet d'obtenir que 90 à 95 % de mâles dans les lots sexés (CHERVINSKI et ROTHBARD, 1982 ; MÉLARD *et al.*, 1989 a).

## 3.2. L'inversion hormonale du sexe

L'inversion hormonale du sexe est à ce jour la méthode de production de populations 100 % mâles la plus couramment utilisée (GUERRERO, 1982 ; HUNTER et DONALDSON, 1983 ; GUERRERO and GUERRERO, 1988) mais aussi la plus performante et la plus économiquement rentable. Elle est basée sur la possibilité d'inverser le sexe d'alevins encore indifférenciés (YAMAMOTO, 1959) par apport de stéroïdes caractéristiques du sexe mâle (testostérone, androsténédione) dans l'alimentation. Le traitement hormonal est appliqué pendant une courte période (20 à 40 jours) sur des alevins au stade pélagique. A la Station de Tihange, l'inversion hormonale du sexe au moyen de la 17  $\alpha$ -méthyltestostérone (stéroïde masculinisant incorporée dans l'aliment) a été expérimentée dans deux types d'installations : en bassin et en étang.

### a) Inversion du sexe en bassin

Les alevins pélagiques sont collectés au fur et à mesure de leur libération par les femelles dans les bassins de reproduction et sont placés dans des petits bassins (1m<sup>2</sup>) où ils reçoivent un traitement à la 17  $\alpha$ -méthyltestostérone (20 à 60 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment) pendant une période de 25 à 30 jours. Le pourcentage de mâles obtenus grâce à cette technique varie, selon la dose d'hormone utilisée, entre 89 et 100 % (**tableau I**).

### b) Inversion du sexe en étang

Au contraire de ce qui se passe avec la technique précédente, les alevins subissent l'inversion sexuelle directement dans les étangs de reproduction. Le traitement à la 17  $\alpha$ -méthyltestostérone est appliqué, pendant une période de 30 à 40 jours, dès l'apparition des premiers alevins qui survient 10 à 15 jours après la mise en charge des géniteurs. La disponibilité d'une grande quantité de nourriture naturelle (phyto et zooplancton) en étang, associée à une perte d'aliment hormoné, implique d'augmenter les doses de 17  $\alpha$ -méthyltestostérone (jusqu'à

100-150 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment) par rapport au traitement en bassin. Le succès de l'inversion du sexe en étang est plus variable qu'en bassin. Les proportions de mâles observées fluctuent entre 83 et 97 % (**tableau I**).

**Tableau I.** Résultats de l'inversion hormonale du sexe d'*O. aureus* dans différents systèmes d'élevage au moyen de 17  $\alpha$ -méthyltestostérone ou de la 11  $\beta$ -hydroxy androsténédione.

Système d'élevage	B A S S I N								É T A N G				
	Stéroïde	témoin	17 $\alpha$ -méthyltestostérone			11 $\beta$ hydroxy androsténédione			témoin	17 $\alpha$ -méthyltestostérone			
Durée traitement (j)		0	26	26	30	26	26	26	26	0	31	31	31
Doses (mg.kg <sup>-1</sup> d'aliment)		–	20	50	60	15	20	30	50	–	60	100	150
Pourcentage de mâles		53	89**	97**	100**	50	69**	90**	100**	56	97**	93**	83**
Pourcentage d'intersexués		0	6	0	0	0	5	3	0	2	2	6	0
Taux de survie (%)		98,0	97,2	98,4	96,0	90,5	88,6	99,3	86,4	–	–	–	–
Température (°C)		27,1	27,2	27,1	27,0	27,0	27,0	27,0	27,0	28,8	28,4	29,1	29,2

(\*\*) test du  $\chi^2$ ,  $p < 0,01$  : significativement différent par rapport à un sexe-ratio théorique de 1 : 1.

Lors d'études réalisées sur *O. aureus* soumis à un traitement d'inversion sexuelle au moyen de méthyltestostérone marquée radioactivement ( $C_{14}$ ), GOUDIE *et al.* (1986) ont montré que 3 semaines après l'arrêt du traitement, la radioactivité totale dans l'animal entier, et donc la concentration en hormone, avait diminué de 99 %. Comme les tilapias n'atteignent en général une taille commercialisable qu'après une période de croissance de 12 à 14 mois au minimum, le problème engendré par l'utilisation d'hormones de synthèse chez les poissons destinés à la consommation est essentiellement de nature psychologique. Toutefois, il ne faut pas négliger l'éventuel impact des produits de dégradation des stéroïdes (dérivés méthyl dans le cas de la 17  $\alpha$ -méthyltestostérone) sur l'environnement.

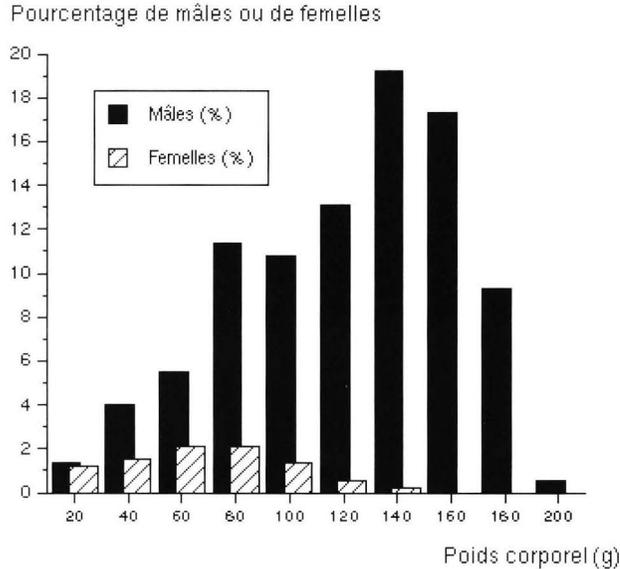
Des études récentes ont montré l'effet de la 11 $\beta$ -hydroxy androsténédione (11 $\beta$ -OH-A4) sur la différenciation sexuelle de plusieurs espèces de tilapia (BAROILLER et TOGUYENI, 1993 ; BAROILLER *et al.*, 1994, soumis pour publication). La 11 $\beta$ -OH-A4 est une hormone naturelle spécifique du sexe mâle chez l'espèce *O. niloticus* (BAROILLER, 1988). Chez *O. aureus* élevé en bassins, une dose minimale d'hormone naturelle de 50 mg.kg<sup>-1</sup> d'aliment permet d'obtenir une population monosexue mâle après 26 jours de traitement (**tableau I**). Le tableau I montre aussi que la 11 $\beta$ -OH-A4 présente les mêmes potentialités d'inversion du sexe que la 17  $\alpha$ -méthyltestostérone à une dose équivalente et pour une même durée de traitement. L'utilisation d'hormones naturelles comme la 11 $\beta$ -OH-A4 constitue donc une alternative à l'emploi d'hormones de synthèse pour la production de population monosexes mâles. Toutefois, en raison de son coût actuel élevé ( $\pm$  13 000 fb/g), il est difficile d'envisager son utilisation à grande échelle. C'est pourquoi, nous avons cherché à développer des procédés de production de populations monosexes mâles de tilapias basés sur le déterminisme génétique du sexe.

### 3.3. L'hybridation interspécifique

Le croisement interspécifique d'un mâle d'une espèce homozygote ZZ comme *O. hornorum* (CHEN, 1969) ou *O. aureus* avec une femelle d'une espèce homozygote XX comme *O. niloticus* (JALABERT *et al.*, 1974) ou *O. mossambicus* (CHEN, 1969) permet, en théorie, d'obtenir une population monosexue mâle de génotype ZX. A ce jour, plusieurs croisements interspécifiques ont été testés (GUERRERO, 1982).

A la Station de Tihange, nous avons réalisé le croisement interspécifique *O. aureus* mâle x *O. niloticus* femelle (**fig. 2**) mais sans obtenir une population monosexue mâle (92,5 % de mâles ; MÉLARD et PHILIPPART, 1981 b). Ces résultats confirment les observations de PRUGININ *et al.* (1975) qui obtiennent de 93 à 98 % de mâles lors du croisement *O. aureus* mâle x *O. niloticus* femelle. De plus, la production d'alevins issue de croisements interspécifiques s'est révélée 34 % inférieure à celle résultant des croisements intraspécifiques. Enfin, les mâles hybrides obtenus par croisement interspécifique grandissent moins vite que les mâles obtenus par inversion hormonale du sexe (HANSON *et al.*, 1983).

Des cas d'incompatibilité interspécifique, en relation avec l'origine des souches mais aussi avec des barrières comportementales (exemple : *O. aureus* mâle x *O. niloticus* femelle originaire de Côte d'Ivoire), sont signalés (MIREs, 1982 ; N'GOKAKA, 1983). Ces phénomènes d'incompatibilité pourraient expliquer, d'une part, les plus faibles productions enregistrées lors de

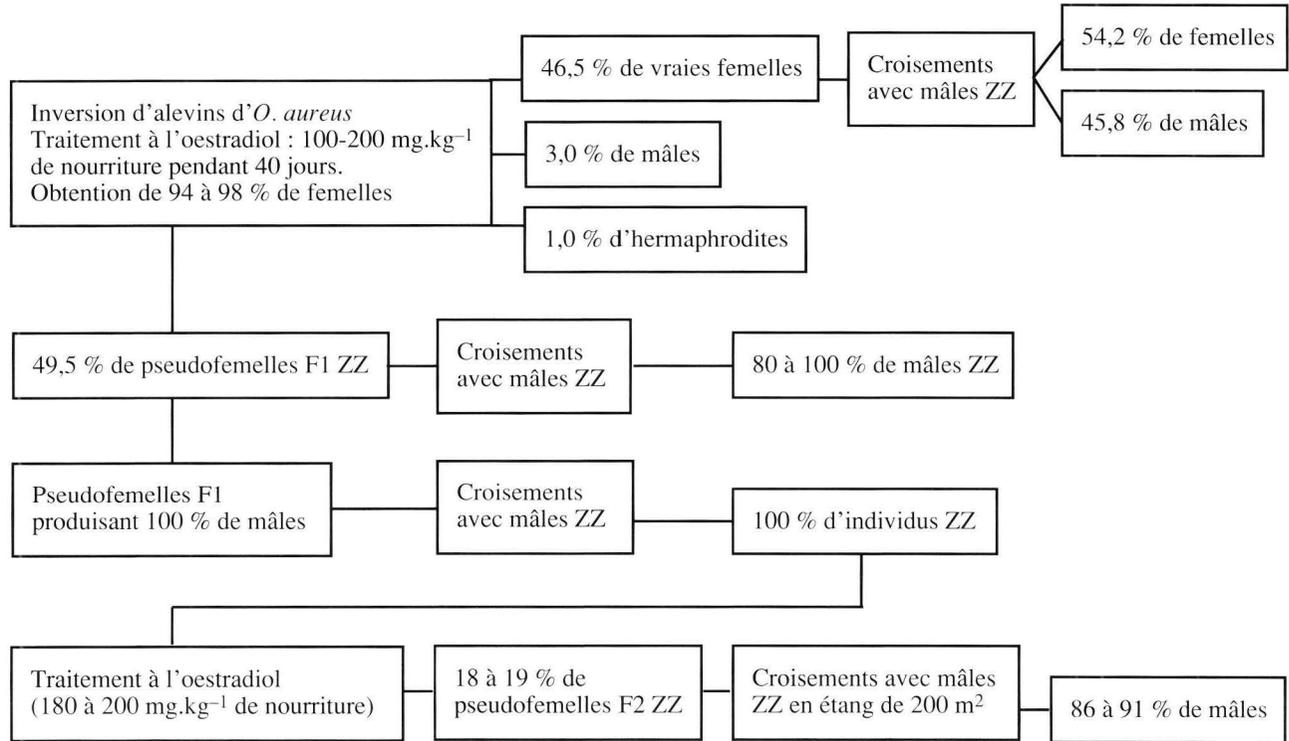


**Fig. 2.** Distribution des poids corporels et sexe-ratio d'une population d'hybrides tilapias issu d'un croisement entre un mâle *O. aureus* et une femelle *O. niloticus*. Age : 7 mois.

croisements interspécifiques par rapport à celles de croisements intraspécifiques et, d'autre part, les taux de reproduction moins élevés (MIREs, 1982). L'autre point faible de ce procédé réside dans la nécessité de conserver des souches pures de géniteurs ce qui, en pratique, n'est pas aisé, surtout pour des espèces s'hybridant facilement. Une contamination des souches pures explique en partie la difficulté de maintenir des productions présentant un pourcentage élevé de mâles hybrides en première génération (PRUGININ *et al.*, 1975). Le déterminisme polygénique du sexe des tilapias (AVATLION et HAMMERMAN, 1978 ; HAMMERMAN et AVTALION, 1979) serait un facteur supplémentaire de variabilité du sexe-ratio des populations hybrides.

### 3.4. Production de populations à haut pourcentage de mâles à partir de pseudofemelles chez *O. aureus*

Chez une espèce à homogamétie mâle ZZ comme *O. aureus*, l'inversion hormonale du sexe, au moyen d'éthinyloestradiol (hormone féminisante ; 150 mg kg<sup>-1</sup> d'aliment pendant 40 jours), d'une descendance normale permet d'obtenir des individus transsexuels c'est à dire des pseudofemelles à phénotype femelle et à génotype mâle ZZ. Le croisement d'une pseudofemelle (génotype ZZ) avec un vrai mâle (génotype ZZ) produit théoriquement 100 % de mâles à génotype ZZ sans inversion hormonale du sexe (JENSEN et SHELTON, 1979). La première étape de cette technique consiste à repérer les pseudofemelles au sein de la population sexuellement inversée par croisement de ces pseudofemelles avec un vrai mâle (**fig. 3**). Le croisement d'une vraie femelle (génotype WZ)



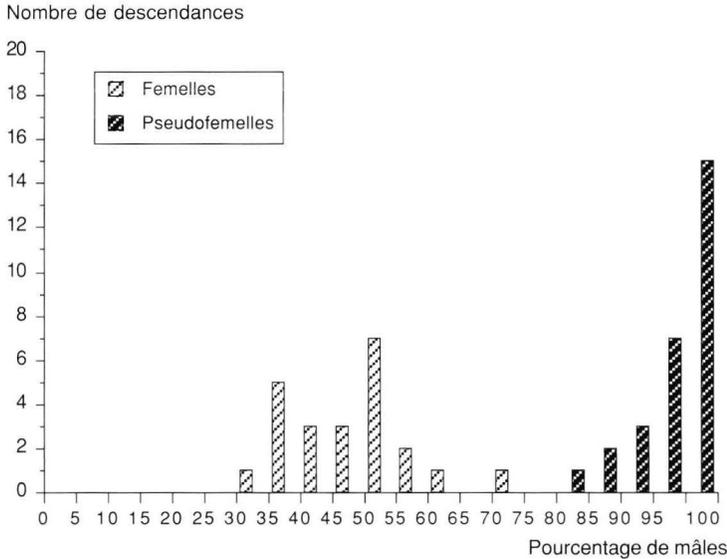
**Fig. 3.** Synthèse des résultats obtenus lors de la mise au point du processus de production de pseudofemelles *O. aureus*.

avec un vrai mâle (génotype ZZ) donne en théorie 50 % de mâles (génotype ZZ) et 50 % de femelles (génotype WZ) alors qu'une pseudofemelle (génotype ZZ) croisée avec un vrai mâle (génotype ZZ) donne, toujours en théorie, 100 % de mâles (génotype ZZ). Afin de constituer rapidement un stock de pseudofemelles, les alevins formant la descendance 100 % mâle des géniteurs pseudofemelles F1 détectés comme indiqué précédemment, sont inversés au moyen d'éthynylœstradiol (**fig. 3**). Cette deuxième opération d'inversion sexuelle à l'éthynylœstradiol ne s'effectue que sur les descendances de pseudofemelles F2 qui donnent systématiquement 100 % de mâles dans leurs descendances. Lors d'une telle manipulation, chaque ponte est toujours divisée en un lot témoin, qui permet une ultime vérification de la proportion de mâles, et en un lot traité permettant de produire des pseudofemelles de deuxième génération (F2). Seuls les alevins inversés issus des pontes présentant 100 % de mâles dans le lot témoin sont conservés (MÉLARD, 1994, soumis pour publication). Grâce à ce procédé, un stock d'environ 700 pseudofemelles a été constitué à la Station de Tihange (MÉLARD, 1991 ; MÉLARD, 1994, soumis pour publication) et a été utilisé d'abord pour entreprendre une étude comparée de la biologie de la reproduction des femelles et des pseudofemelles, ensuite pour effectuer, en étang de 200 m<sup>2</sup>, des essais pilotes de production massive de populations à haut pourcentage de mâles au moyen de pseudofemelles (DESPREZ *et al.*, 1994, soumis pour publication). Lors de ces essais réalisés en étang de reproduction, le pourcentage de mâles obtenus a varié de 86 à 91 % avec une moyenne de 89,3 %. Ces chiffres sont à comparer aux pourcentages de mâles obtenus en étang par inversion hormonale du sexe qui varient entre 83 et 97 % (moyenne de 91 %, **tableau I**).

Nous aurions pu nous attendre à un pourcentage plus élevé de mâles, il faut toutefois tenir compte du fait que le processus de production de populations monosexes mâles au moyen de pseudofemelles est basé sur l'hypothèse d'un déterminisme monofactoriel du sexe qui implique un couple de chromosomes sexuels (ZZ chez le mâle et ZW chez la femelle). MAIR *et al.* (1991) ont proposé un modèle polygénique plus complexe du déterminisme du sexe. Le sexe résulterait de l'interaction du couple de chromosomes sexuels (Z, W) et d'un couple d'autosome (F, f). Selon cette théorie, l'association du couple de chromosomes sexuels ZZ, caractéristique du mâle, au double récessif ff produirait une femelle ZZff. Afin d'augmenter la proportion de mâles lors d'une production massive de populations monosexes mâles, il s'avère donc nécessaire, sur la base de cette théorie, de sélectionner des individus mâles et pseudofemelles ZZFF afin d'éliminer l'allèle autosomique f, source de production de femelle ZZff. Les résultats de LAHAV (1993), qui obtient 98 % de mâles en étang avec un stock de 185 pseudofemelles F2, pourraient s'expliquer par l'utilisation de géniteurs sélectionnés de génotype ZZFF.

Des sexe-ratios compris entre 60 et 75 % de mâles dans les descendances des femelles et entre 85 et 99 % de mâles dans celles des pseudofemelles (**fig. 4**) restent cependant inexplicables par le modèle polygénique proposé par MAIR *et al.* (1991). Ces anomalies pourraient avoir une origine environnementale. Des paramètres tels que la température, la photopériode, la qualité de l'eau, le stress agiraient, via des processus endocrinologiques, sur le déterminisme phénotypique du sexe, indépendamment du sexe génétique fixé à la fécondation. L'effet de la température sur le déterminisme du sexe est un phénomène bien connu chez plusieurs espèces de tortue (BULL et VOGT, 1979 ; RIMBLOY-BALY *et al.*, 1986-1987), chez l'alligator (FERGUSON et JOANEN, 1982) et chez deux espèces de poissons *Menidia menidia* (CONOVER et FLEISHER, 1986) et *Menidia peninsulae* (MIDDAUGH et HEMMER, 1987). Les travaux récents de BAROILLER *et al.*

(1993) ont mis en évidence une thermosensibilité du déterminisme du sexe chez *O. niloticus*. Des lots d'alevins de cette espèce maintenus pendant 21 jours à une température comprise entre 34 et 36 °C présentent un déplacement significatif du sexe-ratio en faveur des mâles (déviation de 14 à 91 % par rapport à un sex ratio normal).



**Fig. 4.** Distribution des pourcentages de mâles dans les descendance de femelles et de pseudofemelles F2 chez *O. aureus* (Nombre d'individus par échantillon sexé > 50).

Le développement de nouvelles techniques de production de populations de tilapias monosexes mâles au moyen de géniteurs biomanipulés, a pour objectif de limiter l'utilisation de l'inversion hormonale du sexe. Ce procédé reste cependant un outil indispensable pour la production des géniteurs pseudofemelles chez *O. aureus* ou de « super-mâles » (génotype YY) chez *O. niloticus*. (SCOTT *et al.*, 1989 ; WOLFARTH et WEDEKIND, 1990). L'imperfection des résultats due à la complexité du déterminisme du sexe ne remet aucunement en cause ces procédés de production de populations monosexes mâles mais implique un travail de sélection rigoureux des géniteurs. Les différentes étapes de la sélection de pseudofemelles (pseudofemelles F1, mâles et femelles ZZFF) conduisent à travailler sur un nombre restreint d'individus, ce qui présente le risque d'introduire une faible diversité génétique au sein des populations de géniteurs issues de ce petit stock de pseudofemelles. La consanguinité et la perte de variabilité génétique pourraient se traduire, après plusieurs générations successives, par une diminution de la fécondité spécifique, de la fréquence de ponte, de la survie ou de la croissance des alevins. Des études sont actuellement en cours à la station de Tihange pour tenter d'évaluer certains aspects de cette consanguinité sur deux générations successives de pseudofemelles. Il sera probablement nécessaire de répéter fréquemment les opérations de production de nouvelles souches de pseudofemelles (voir **fig. 3**) afin de maintenir et d'augmenter la diversité génétique du stock de géniteurs.

## 4. Conclusion

Il existe aujourd'hui un éventail de techniques qui permettent de produire des populations monosexes mâles de tilapia. Le procédé à la fois le plus efficace au point de vue des performances et de la rentabilité économique et le plus fréquemment utilisé, est l'inversion du sexe des alevins au moyen d'hormones de synthèse. Bien que cette technique ne présente pas de réels inconvénients pour la santé humaine, la tendance générale va dans le sens d'une restriction de l'utilisation des hormones de synthèse. C'est pourquoi, le développement des techniques alternatives basées sur l'utilisation d'hormones naturelles ou de géniteurs biomanipulés (pseudofemelles ou supermâles) est devenu impératif. L'effet de la température sur le déterminisme du sexe pourrait aussi être exploité pour produire des populations monosexes mâles. Dans le cadre de transfert de technologie vers les entreprises commerciales, la mise en oeuvre de ces nouvelles techniques devra faire l'objet d'un suivi scientifique rigoureux, notamment lors des phases de sélection des géniteurs et de multiplication des stocks.

Un des objectifs du Laboratoire de Démographie de Poissons et d'Aquaculture en matière de tilapiaculture est de développer prochainement ces différentes techniques alternatives en mettant l'accent sur trois points : la sélection des géniteurs (déterminisme polygénique du sexe), l'influence de la température sur le déterminisme du sexe et l'extension de ces procédés à d'autres espèces (production de supermâles *O. niloticus*).

## REMERCIEMENTS

Ces recherches ont été réalisées grâce au soutien financier d'ELECTRABEL et de la S.A. Piscimeuse.

## BIBLIOGRAPHIE

- AVTALION R.R. and HAMMERMAN I.S. (1978). — Sex determination in *Sarotherodon (Tilapia)*. I. introduction to a theory of autosomal influence. *Bamidgeh*, **30** : 110-115.
- BAROILLER J.F. (1988). — Etude corrélée de l'apparition des critères morphologiques de la différenciation de la gonade et de ses potentialités stéroïdogènes chez *Oreochromis niloticus*. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie, 70 pages.
- BAROILLER J.F. et JALABERT B. (1989). — Contribution of research in reproductive physiology to the culture of tilapias. *Aquat. Living Resour.*, **2** : 105-116.
- BAROILLER J.F. et TOGUYENI A. (1993). — Comparaison des effets d'un stéroïde naturel, 11 $\beta$ -hydroxy-androsténédione (11 $\beta$ -OH-A4) et d'un androgène de synthèse, 17 $\alpha$ -methyltestostérone (17 $\alpha$ -MT) sur le sex ratio chez *Oreochromis niloticus*. In : R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kotias and D. Pauly, (eds) : *Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 11-16 novembre 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. *ICLARM Conf. Proc.*, **41**. Sous presse.
- BAROILLER J.F., FOSTIER A., CAUTY C. et JALABERT B. (1993). — Effets des fortes températures d'élevage sur le sexe-ratio de descendance issues de néomâles d'*Oreochromis niloticus*. In : R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kotias and D. Pauly, (eds) : *Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. 11-16 novembre 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. *ICLARM Conf. Proc.*, **41**. Sous presse.
- BEDAWI R.M. (1985). — Recruitment control and production of market-size *Oreochromis niloticus* with the predator *Lates niloticus* L. in the Sudan. *J. Fish Biol.*, **26** : 459-464. BULL J.J. et VOGT R.C. (1979). — Temperature dependent sex determination in turtles. *Science*, **206** : 1186-1188.

- CHEN F.Y. (1969). — Preliminary studies on the sex-determining mechanism of *Tilapia mossambica* Peters and *T. hornorum* Trewavas. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **17** : 719-724.
- CHERVINSKY J. et ROTHBARD S. (1982). — An aids in manually sexing tilapia. *Aquaculture*, **26** : 389.
- CONOVER D.O. et FLEISHER M.H. (1986). — Temperature sensitive period of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia menidia*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **43** : 514-520.
- FERGUSON M.W.J. et JOANEN T. (1982). — Temperature of eggs incubation determines sex in *Alligator mississippiensis*. *Nature*, **296** : 850-853.
- GOUDIE C.A., SHELTON W.L. et PARKER N.C. (1986 a). — Tissue distribution and elimination of radiolabelled methyltestosterone fed to sexually undifferentiated blue tilapia. *Aquaculture*, **58** : 215-226.
- GUERRERO III R.D. (1982). — Control of tilapia reproduction. 309-316 in : A.S.V. Pullin and R.H. Lowe McConnell (Editors) : *the Biology and Culture of Tilapias. ICLARM Conference Proceedings*, 7, 432 pages, Manila, Philippines.
- GUERRERO R.D. and GUERRERO L.A. (1988). — Feasibility of commercial production of sex reversed Nile tilapia fingerlings in the Philippines. 183-186 in : R.S.V. Pullin, T. Buckhaswan and J.L. Maclean (Editors) : *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM*, Manila, Philippines.
- HAMMERMAN I.S. and AVTALION R.R. (1979). — Sex determination in *Sarotherodon (Tilapia)*. *Theor. Appl. Genet.*, **55** : 117-187.
- HANSON T.R., SMITHERMAN R.O., SHELTON W.L. and DUNHAM R.A. (1983). — Growth comparisons of monosex tilapia produced by separation of sexes, hybridation, and sex reversal. 570-579 in : L. Fishelton et Z. Yaron (éditeurs) : *Proceedings of the International Symposium on the Tilapia in Aquaculture*, Tel Aviv University.
- HICKLING C.F. (1968). — Fish hybridization. *FAO Fish Rep.*, **44** : 1-11.
- HULATA G., WOHLFARTH G. et ROTHBARD S. (1983). — Progeny testing selection of tilapia broodstocks producing all male hybrid progenies — preliminary results. *Aquaculture*, **33** : 263-268.
- HUNER J.V., MILTNER M., BEAN R.A. et AVAULT Jr J.W. (1983). — Survival and reproduction of blue tilapia (*Oreochromis aureus* ; *Cichlidae*) in ponds stocked with bowfin (*Amia calva* ; *Amiidae*) to serve as predators (Pisces). *Inst. Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nat. Auton. Mexico*, **10** (1) : 11-16.
- HUNTER G.A. et DONALDSON E.M. (1983). — Hormonal sex control and its application to fish culture. 223-303 in : Hoar, W.S., Randall, D.J. et Donaldson, E.M. (éditeurs), *Fish physiology, academic press, New York*, **9** (B).
- JALABERT B., MOREAU J., PLANQUETTE P. et BILLARD R. (1974). — Déterminisme du sexe chez *Tilapia macrochir* et *Tilapia nilotica* : action de la méthyltestostérone dans l'alimentation des alevins sur la différenciation sexuelle ; proportion des sexes dans la descendance des mâles « inversés ». *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, **14** (4-B) : 729-739.
- JENSEN G.L. et SHELTON W.L. (1979). — Effects of estrogens on *Tilapia aurea* : implications for production of monosex genetic male tilapia. *Aquaculture*, **16** : 233-242.
- LAHAV E. (1993). — Use of sex-reversed females to produce all-male tilapia (*Oreochromis aureus*) fry. *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgheh*, **45** (3) : 131-136.
- LAZARD J. (1990). — Transfert de poissons et développement de la production piscicole. Exemple de 3 pays d'Afrique subsaharienne. *Rev. Hydrobiol. Trop.*, **23** (3) : 251-265.
- MAIR G.C., SCOTT A.G., PENMAN D.J., SKIBINSKI D.O.F. and BEARDMORE J.A. (1991). — Sex determination in the genus *Oreochromis*. 2. Sex reversal, hybridisation, gynogenesis and triploidy in *O. aureus* Steindachner. *Theor. Appl. Genet.*, **82** : 153-160.
- MÉLARD C. (1986). — Recherches sur la biologie d'*Oreochromis niloticus* L. (*Pisces Cichlidae*) en élevage expérimental : reproduction, croissance, bioénergétique. *Cah. Ethol. Appl.*, **6** (3) : 224 pages.
- MÉLARD C. (1991). — Obtention de mâles sexuellement inversés par un traitement à l'éthinylœstradiol chez *Oreochromis aureus*. Production de descendance à haut pourcentage de mâles. *The Third Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Abidjan, Côte d'Ivoire, 11-16 november 1991. *ICLARM*, abstract book, p. 118.

- MÉLARD C. et DUCARME C. (1993). — The tilapia rearing technology in Europe. Workshop on aquaculture of freshwater species (except salmonids), P. Kestemont and R. Billard (Eds). *European Aquaculture Society, Special Publication N° 20*, Ghent, Belgium, 1993.
- MÉLARD C. et PHILIPPART J.C. (1981 a). — Pisciculture intensive du tilapia *Sarotherodon niloticus* dans les effluents thermiques d'une centrale nucléaire en Belgique. 637-658 in : *Proceedings World Symposium on Aquaculture in Heated and Recirculations systems*, Stavanber 28-30 may.
- MÉLARD C. et PHILIPPART J.C. (1981 b). — La production de tilapia de consommation dans les rejets industriels d'eau chaude en Belgique. *Cah. Ethol. Appl.*, **1** (2) : 122 pages.
- MÉLARD C., DUCARME C. et LASSERRE J. (1989 a). — *Technologie de l'élevage intensif du tilapia : reproduction, croissance, nutrition, production, pathologie, aspects économiques*. Laboratoire de Démographie des Poissons et d'Aquaculture, Université de Liège (Editeur), 38 pages.
- MÉLARD C., DUCARME C., PHILIPPART J.C. and LASSERRE J. (1989 b). — The commercial intensive culture of tilapia in Belgium. 225-232 in : N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackeford and E. Wilkins (Editors) : *Aquaculture : a Biotechnology in Progress*. European Aquaculture Society, Bredene, Belgium.
- MIDDAUGH D.P. et HEMMER M.J. (1987). — Influence of environmental temperature on sex-ratios in the tidewater silverside, *Menidia peninsulae* (Pisces : Atherinidae). *Copeia*, **4** : 958-964.
- MIRES D. (1982). — A study of the problems of the mass production of hybrid tilapia fry. 317-329 in : A.S.V. Pullin and R.H. Lowe McConnell (Editors), *the Biology and Culture of Tilapias. ICLARM Conference Proceedings*, **7**, 432 pages, Manila, Philippines.
- N'GOKAKA C. (1983). — Ethologie et hybridation des tilapias. *Cah. Ethol. Appl.*, **3** (3) : 195 pages.
- PHILIPPART J.C. and RUWET J.C. (1982). — Ecology and distribution of tilapias. 15-59 in : A.S.V. Pullin and R.H. Lowe McConnell (Editors), *the Biology and Culture of Tilapias. ICLARM Conference Proceedings*, **7**, 432 pages, Manila, Philippines.
- PHILIPPART J.C., MÉLARD Ch. et RUWET J.C. (1979). — La pisciculture dans les effluents thermiques industriels — Bilan et perspectives d'une année de recherches à la centrale nucléaire de Tihange sur la Meuse. In : L. Calémbert (éditeur) : *Problématique et gestion des Eaux Intérieures : actes du colloque de Liège*, 16-19 mai 1978, Editions Derouaux, Liège, 967 pages.
- PRUGININ Y., ROTHBARD S., WOHLFARTH G., HALEVY A., MOAV R. et HULATA G. (1975). — All-male broods of *Tilapia nilotica* x *Tilapia aurea* hybrids. *Aquaculture*, **6** : 11-21.
- PULLIN R.S.V. (1993). — World tilapia culture and its future prospects. In : R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kotias and D. Pauly, (eds) : *Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, 11-16 novembre 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. *ICLARM Conf. Proc.*, **41**. Sous presse.
- RIMBLOT-BALY F., LESCURE J., FRETEY J. et PIEAU C. (1986-1987). — Sensibilité à la température de la différenciation sexuelle chez la tortue Luth, *Dermochelys coriacea* (VANDELLI, 1761) ; application des données de l'incubation artificielle à l'étude de la sexeratio dans la nature. *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie, Paris*, **13<sup>e</sup> série**, **8** : 277-290.
- RUWET J.C., VOSS J., HANON L. et MICHA J.C. (1976). — Biologie et élevage du tilapia, p. 332-364. In : *Symposium on Aquaculture in Africa, CIFA Tech. Pap.*, **4** (1) : 791 pages.
- SCOTT A.G., PENMAN D.J., BEARDMORE J.A. and SKIBINSKI D.O.F. (1989). — The YY supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential in aquaculture. *Aquaculture*, **78** : 237-251.
- SWEETMAN J.W. (1993). — Perspectives and critical success factors in the present farming of fish. In : *World Aquaculture '93*, Torremolinos, Spain, May 26-28.
- TREWAVAS E. (1983). — Tilapia fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* et *Danakilia*. British Museum (Natural History). Londres, 583 pages.
- WOLFARTH G.W. and WEDEKIND H. (1991). — The heredity of sex determination in tilapias. *Aquaculture*, **92** : 143-156.
- YAMAMOTO T. (1959). — The effect of estrone dosage level upon the pourcentage of sex reversal in genetic male of the Medaka *Oryzia latipes*. *J. Exp. Zool.*, **141** : 133-154.