

**bŷ Dimorphisme sexuel de croissance et contrôle du sexe
Thymallus thymallus**

Auteur : Gbebo, Espérance Scholastique

Promoteur(s) : Rougeot, Carole

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master de spécialisation en gestion des ressources aquatiques et aquaculture

Année académique : 2018-2019

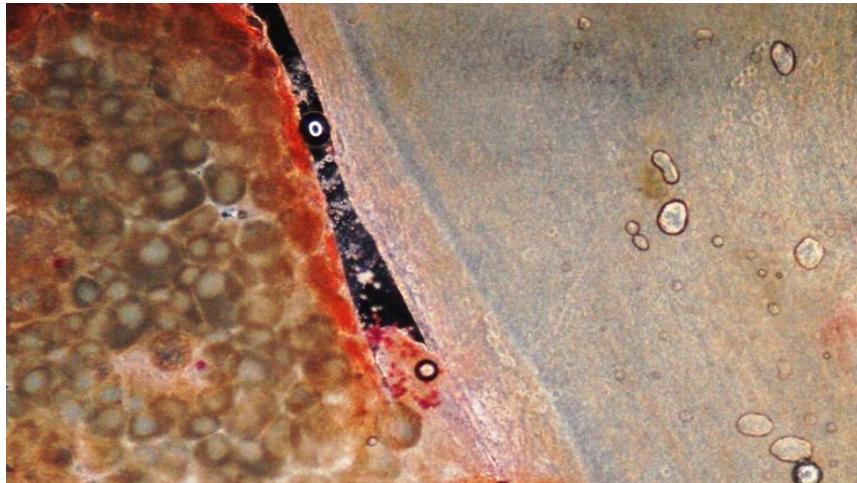
URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/7271>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Dimorphisme sexuel de croissance et contrôle du sexe chez l'ombre commun *Thymallus thymallus*



Dans le cadre de l'obtention du grade de Master de Spécialisation en Gestion des Ressources
Aquatiques et aquaculture

Réalisé par :

Donan Scholastique GBEBO

Promotrice

Carole Rougeot

Encadrant

Christian PRIGNON

Copyright

Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de l'**Université de Liège**.

L'autorité académique est représentée par la promotrice membre du personnel enseignant de l'ULiège.

Le présent document n'engage que son auteure.

Auteure du présent document : GBEBO Donan Scholastique E.

scholastiquedonan@gmail.com

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
REMERCIEMENTS	iii
LISTE DES TABLEAUX	iv
LISTE DES FIGURES	v
RESUME.....	vi
I- INTRODUCTION	1
1. Contexte socio-économique et justification du sujet en aquaculture	1
2. Présentation biologique et cycle de vie de l'espèce	3
3. Dimorphisme sexuel chez les poissons	4
4. Déterminisme du sexe et différenciation sexuelle.....	8
5. Inversion hormonale.....	9
6. Les objectifs de l'étude	14
II. Matériels et Méthodes	16
1. Matériels	16
2. Méthodes expérimentales	16
3. Détermination du Sex-Ratio (SR)	19
4. Calcul du coefficient de variation	19
5. Analyses statistiques	19
III. Résultats et discussion.....	20
1. Structure gonadique.....	20
1.2. Résultats du traitement féminisant à l'EE2.....	23
1.3. Résultats du traitement masculinisant à la 17 MT	24
2. Dimorphisme sexuel de croissance	26
2.1. Ombres de 90 jours	26
2.2. Ombres de 15 mois	27
2. Discussion générale.....	28
IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	32
Références bibliographiques	33
ANNEXES	Erreur ! Signet non défini.

A mon cher fils...

REMERCIEMENTS

A l'issue de ce travail, nous tenons à porter nos remerciements à l'endroit de toutes les personnes qui de prêt ou de loin, d'une manière ou d'une autre y ont contribué.

A cet effet, nous adressons toute notre gratitude :

A l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES), pour l'opportunité qui nous a été accordée d'intégrer la formation en Master de Spécialisation en Gestion des Ressources Aquatiques et Aquaculture.

Aux enseignants de l'Université de Liège et de Namur qui sont intervenus dans la formation.

Au professeur Charles Mélard responsable et promoteur de la formation pour la simplicité et tout le suivi dont nous avons été gratifiés.

Au Dr Carole ROUGEOT, promotrice de ce travail. Pour toutes les capacités scientifiques et humaines déployées dans la conduite de cette étude. Aussi, sommes-nous gré de votre rigueur scientifique, votre grande patience et le sens de l'écoute avec laquelle vous avez encadré ce travail. Plus qu'une promotrice, pour nous vous resterez un modèle.

A Mr Christian PRIGNON, notre encadrant pour son accompagnement, sa simplicité, pour toutes les marques de sympathie, toute la gentillesse et pour le savoir agréablement transmis.

A Mr Vincent Gennotte pour tout le soutien scientifique, son accessibilité et sa gentillesse.

A Renaud Nivelle, pour tout le soutien moral, la considération, la gentillesse, les marques d'amitié, les blagues de bonne ambiance dont il nous a entouré. Nous en garderons de beaux souvenirs.

A toutes les personnes rencontrées au laboratoire du CEFRA pour leur soutien et leur contribution.

A notre famille et à nos amis pour tout le soutien.

A toute la promotion 2018- 2019 de ce Master pour les moments passés ensemble.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Protocoles d'inversions hormonales appliquées chez quelques espèces d'élevage.....	11
Tableau 2: Protocole d'inversion hormonal et de nourrissage	17
Tableau 3 : doses hormonales utilisées pour la préparation de 50g d'aliment hormoné	17
Tableau 4 : Sexe-ratio obtenus après le traitement féminisant à l'éthynylestradiol en fonction de la dose et de la durée	24
Tableau 5 : Sexe-ratio obtenus après le traitement masculinisant à la méthyltestostérone en fonction de la dose et de la durée	26
Tableau 6 : Poids corporel moyen (g) (valeur \pm écart type) des ombres de 90jours et hétérogénéité de croissance.	27
Tableau 7 : Poids corporel moyen (g) (valeur \pm écart type) des ombres de 15 mois et hétérogénéité de croissance.	27

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : l'ombre commun <i>Thymallus thymallus</i> (www.hlasek.com)	4
Figure 2 : Reproduction d'un ombre commun réalisé par A.-M. Massin (Poncin 1996)	7
Figure 3 : Processus théorique d'obtention de famille 100% femelles par masculinisation hormonale chez les poissons à chromosomes sexuels XX/XY.....	13
Figure 4 : Processus théorique d'obtention de mâles YY par féminisation hormonale chez les poissons à chromosomes sexuels XX/XY.....	14
Figure 5 : circuit expérimental d'aquarium de 50 litres alimentés en eau de puit à 15°C en circuit ouvert.	16
Figure 6 : gonade femelle (à gauche) et mâle (à droite) observées au microscope après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine	18
Figure 7 : gonade mâle d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine.	20
Figure 8 : gonade femelle d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine.	21
Figure 9 : gonade intersexuée d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine.	21
Figure 10 : gonade femelle supposée stérile (FS) d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine.	22
Figure 11 : gonade mâle supposée stérile (MS) d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine.	22

RESUME

Notre travail de recherche a pour but de mettre au point un protocole du contrôle de sexe par inversion hormonale sur des larves de l'ombre commun *Thymallus thymallus* dans des conditions expérimentales suivi d'une évaluation du dimorphisme sexuel de croissance. Chez cette espèce, très peu de données existent sur le contrôle du sexe, de même que sur la confirmation de l'hypothèse sur le dimorphisme sexuel de croissance en faveur du mâle à l'âge adulte.

Dans cette étude, nous avons traité des larves d'ombres avec deux hormones, l'une masculinisante, la 17 α-méthyltestostérone (17 MT), et l'autre féminisante le 17 α-éthynylestradiol, appliquées à trois doses différentes, 1, 5 et 10mg/kg et sur deux durées, 30 et 60 jours. L'expérimentation s'est clôturée après 90 jours par le sexage des ombrets. Parallèlement, le dimorphisme sexuel de croissance a été évalué par les mesures de poids individuels lors du sexage sur les individus de 90 jours, ainsi que sur des juvéniles de 15 mois.

Suite aux différents traitements hormonaux, nous observons 5 types de tissus gonadiques : mâles (M), femelle (F), intersexué (I), femelle supposée stérile (FS) et mâle supposé stérile (MS). Les sexes-ratios dans les lots traités à l'EE2 varient de 7% à 38,9% de femelles, 23,9% à 48,8% de mâles et 10% à 49,2% de stériles. On constate une augmentation du nombre stériles avec la dose et la durée (10% à 49,2% ; 18,1% à 49,2%). L'EE2 n'induit pas une féminisation de l'ombre mais une éventuelle stérilité.

Dans le traitement à la 17 MT, les sexes-ratios dans les lots traités varient de 3,1% à 38,5% de femelles, 49,5% à 67,7% de mâle, 0% à 21,4% d'intersexués et 0% à 15,1% de stériles. On constate une augmentation du nombre de stériles avec la dose et la durée (0% à 15,1%).

La 17 MT n'induit pas de masculinisation de l'ombre commun *T. thymallus*.

Le dimorphisme sexuel de croissance à l'âge de (15mois), en faveur du mâle est effectif et apparaît à un poids de 91g.

Nos résultats confirment donc l'existence d'un dimorphisme sexuel de croissance en faveur des mâles et ce au moins à partir d'un poids moyen de 91g. Les traitements d'inversion hormonale masculinisants et féminisants, appliqués dans nos conditions expérimentales ne se sont pas montrés efficaces pour un contrôle du sexe chez *T. Thymallus*.

Mot clés : T. Thymallus, inversion hormonale ; contrôle du sexe ; 17 α-méthyltestostérone ; 17 α-éthynylestradiol ; dimorphisme sexuel

I- INTRODUCTION

1. Contexte socio-économique et justification du sujet en aquaculture

Dans son évolution face aux divers enjeux politiques, environnementaux et sociaux économiques, l'aquaculture demeure un moteur de lutte indispensable contre l'insécurité alimentaire. Malgré les différentes pressions que connaît ce secteur, les productions enregistrées continuent d'impacter sur les besoins alimentaires qui s'accentuent au fil du temps. L'aquaculture à elle seule, contribue à 53% à la production halieutique mondiale qui s'élève de 171 millions de tonnes, incluant les parts destinées aux transformations en farine et huile de poisson pour l'alimentation en élevage piscicole. 151 millions de tonnes soit 88 % de ce record mondial est directement destiné à la consommation humaine laissant voir une fois de plus l'importance des ressources piscicoles dans les habitudes alimentaires. La préconisation d'une gestion durable et soutenue des ressources aquatiques reste donc un levier important pour le futur du monde par rapport à la faim. Cependant cette mission reste taguée à une image d'adaptabilité et varie selon les réalités de chaque continent et de chaque pays. En Europe, la production mondiale de poissons destinés à la consommation en 2016 s'estime à seulement 3,7% de la production mondiale, FAO, 2018). Néanmoins le développement de l'élevage de certaines espèces telles que la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) y est toujours très élevé (Lazard, 2007). C'est aussi le cas de la Belgique où l'aquaculture se pratique en eau douce, purement régionale. Elle se concentrerait essentiellement sur la production de la truite, des cyprins et quelques espèces exotiques des eaux chaudes. D'un point de vue économique, la production aquacole belge n'arrivait à satisfaire que 20 % environ du marché intérieur, et impact faiblement sur l'économie national (Belpaire et Gerard, 1993). Cependant cette situation n'a pas empêché la Belgique d'avoir une certaine ouverture sur le développement de l'élevage d'autres espèces patrimoniales, migratrices pour la plupart et dont les habitats furent menacés par divers obstacles encourus (Ovidio et al., 2004 ; Philippart et Ovidio, 2007). L'intérêt accordé à ces espèces s'inscrit surtout dans un contexte de conservation et de pérennisation des ressources naturelles de la biodiversité. Parmi elles, la truite commune, les grands cyprinidés rhéophiles tel que le barbeau (*Barbus barbus*), le hotu (*Chondrostoma nasus*), le chevaine (*Squalius cephalus*), la vandoise (*Leuciscus leuciscus*), le brochet (*Esox lucius*), l'anguille (*Anguilla anguilla*) et l'ombre commun *Thymallus thymallus* qui fera l'objet de notre étude.

L'ombre commun *Thymallus thymallus* est un Salmonidae dont le cycle de vie se réalise entièrement dans les eaux douces des régions tempérées. Il présente certaines particularités en ce qui concerne sa forme, son aspect physique qui attire rapidement l'attention et lui confère des critères d'identification bien précis, sa chair agréable à la consommation (Vivier, 1958). De par son appréciation de certains pêcheurs à la ligne ou à la mouche, c'est un poisson de grand intérêt du point de vue des ressources naturelles (Philippart, 2007 ; Genotte et al., 2015). Au cours des années 70, l'espèce en Europe était classée parmi les plus vulnérables, susceptibles d'être protégées et figure sur la liste de l'Appendix III de la convention de Berne en 1979 (Ovidio et al., 2004). Les menaces ayant fortement pesé sur les populations d'ombre *Thymallus thymallus* en Europe sont des obstacles physiques (températures inadéquates, disponibilité des substrats de reproduction et leurs granulométries, pente de la rivière, surpêche etc.), les obstacles chimiques (pH, oxygène, turbidité, dureté etc.) et les obstacles mécaniques (différentes actions humaines telles que construction de barrages de navigation, de barrages hydroélectriques, d'écluses, de rejets d'effluents dans les milieux aquatiques, de différents types de pollution ; Huet, 1949 ; Philippart et Vrancken, 1983 ; Philippart, 1989 ; Mallet et al., 2000). Tous ces enjeux justifient le recours à l'élevage de cette espèce emblématique et autochtone en vue de sa conservation et de sa pérennisation. D'après Persat (2013) la recherche de la conservation d'une espèce donnée va de pair non seulement avec la connaissance de ses caractéristiques écologiques mais aussi de ses caractéristiques génétiques d'où découle le potentiel d'adaptabilité à un environnement donné. La prise en compte de ces différents facteurs constitue une base assez importante pour la recherche de l'optimisation des performances de croissance, critère commun à tous types d'élevage pour une meilleure rentabilité au plan économique (Fontaine et Le Bail, 2004). A cela pourrait s'ajouter différents avantages scientifiques, socio-culturels, de même que les réponses aux enjeux environnementaux par rapport au changement climatique. Ainsi notre étude en s'inscrivant dans la même optique de recherche de développement pour la diversification de l'aquaculture en Wallonie, va s'évertuer à évaluer le dimorphisme sexuel de croissance de même que les effets des inversions hormonales chez l'ombre commun *Thymallus thymallus* en vue d'une contribution à l'amélioration de l'espèce, son élevage et sa conservation dans le temps. L'étude s'inscrit dans le cadre du programme FEAMP de diversification de l'aquaculture, des performances de croissance, de mise au point de techniques de contrôle du sexe et de dimorphisme sexuel de croissance.

2. Présentation biologique et cycle de vie de l'espèce

L'ombre commun est un Salmonidé appartenant à la sous famille des thymallinés (Vallée, 2008). Cette dernière compte cinq espèces dont les espèces *Thymallus thymallus* et *Thymallus articus* sont les plus représentatifs du genre *Thymallus* (D'Hustere, 1975). L'espèce *T. thymallus* est le seul qui peuple les cours d'eau de la Wallonie (Nzau Matondo et al., 2015). L'ombre adulte est de forme effilée, avec un corps fuselé, finement aplati, recouvert d'écailles bien remarquables (Northcote, 1995 ; Matho, 2014). A l'image de tous les Salmonidés, l'ombre commun dispose d'une nageoire adipeuse, petite, non striée, et beaucoup plus située en arrière (D'Hustere 1975 ; Matho, 2014) de même qu'une nageoire dorsale, haute et évasée. L'une de ses particularités est sa petite bouche contenant des dents et dont la mâchoire supérieure dépasse légèrement celle inférieure, facteur caractéristique du genre *Thymallus*. Ses yeux sont effilés lui fournissant une vision verticale dirigée vers le haut. (Vivier, 1958 ; Demol 2011 ; Matho, 2014). D'après Cihar (1998) et Wheeler (1969) la grande nageoire dorsale de l'ombre laisse voir quatre à cinq rangées de taches rouges et noires. Au stade de vie juvénile l'ombre commun *T. Thymallus* a une couleur argentée ou vert clair, disposant sur ses flancs des taches bleuâtres. A l'âge adulte il est de couleur blanchâtre sur le corps mais grisâtre sur le dos puis verdâtre sur les côtés (Northcote, 1995). Il vit pendant 5 à 6 ans, une durée de vie moyennement courte pour une croissance rapide. A 1 an, il atteint une taille corporelle de 14 cm et pourrait en atteindre les 28 cm à 3 ans (Philippart et Vankren, 1983).

Poisson pélagique et rhéophile des eaux douces, l'ombre commun est généralement rencontré dans les eaux froides des rivières au courant rapide soit de (0,3 à 1 m/s) avec une pente inférieure à celle de la zone à truite (Huet, 1949 ; Ingram et al., 1999 ; Meynard, 2007 ; Vallée, 2008), garnies dans le fond de gravier, de galets ou de cailloux de diamètre fin et non encrassés (Vivier, 1958 ; Huet, 1959 ; Sempeski et al., 1995 ; Matho, 2014). Il se reproduit une fois par an, généralement entre 2-3 ans lorsque sa taille corporelle dépasse 24 cm. A l'image de la plupart des Salmonidés, l'ombre commun, pond directement ses œufs dans le substrat au fond des rivières (Poncin, 1996), à une profondeur allant de 10 à 40 cm (Sempeski et Gaudin 1995 ; Parkinson et al., 1999). Les œufs sont déposés plus en profondeur lorsqu'il se produit des affronts territoriaux entre mâles (Philippart, 1989). En Wallonie, la reproduction a lieu en Mars - Avril à une température de 4 à 5°C à 8 à 9°C. La réalisation de son cycle de vie implique des migrations (D'Hulstère et Philippart 1982, Parkinson et al., 1999, Ovidio et al., 2004).



Figure 1 : l'ombre commun *Thymallus thymallus* (www.hlasek.com)

2.1 Répartition en Europe et en Wallonie

En Europe, l'ombre se localise de l'atlantique vers l'Oural en passant par l'Angleterre, le nord de la Scandinavie jusqu'aux bassins versant sud des Alpes. En Wallonie, il se trouve essentiellement dans les bassins de la Meuse et du Rhin, pourrait peupler quelques cours d'eau qui en découlent dont la Semois, l'Eau Blanche, l'Ourthe, la Wimbe, l'Ourthe occidentale, la Vesdre, le Bocq, la Lesse, l'Aisne, la Molignée, la Lienne, la Salm, l'Ourthe orientale, le Viroin, l'Our, le ruisseau de Botne, le ruisseau de Martin Moulin etc. (Nzau Matondo et al., 2015).

3. Dimorphisme sexuel chez les poissons

3.1 Définition

D'une manière générale, le dimorphisme sexuel se traduit par un ensemble de facteurs qui marquent des différences morphologiques observées surtout au niveau des caractères phénotypiques, fortement prononcées ou non, qui de manière distincte, différencient les individus mâles des femelles au sein d'une même espèce. Ces caractères peuvent être la forme du corps, des nageoires, le patron de coloration, les données morphométriques et biométriques (Aquaportal, 2017 ; Cour systématique, 2018). Chez les poissons, les divergences induites par le dimorphisme sexuel sont d'origine morphologiques ou chromatiques. Celles-ci s'expriment par des modifications permanentes ou périodiques rattachées aux saisons reproductive de l'espèce, à sa maturité sexuelle ou aux diverses modifications endocrines qui accompagnent l'expression des caractères phénotypiques de l'individu. Les caractères morphologiques peuvent être la différence de taille, de croissance, la forme des mâchoires et des nageoires, etc. (Bruslé et Quignard, 2012).

3.2. Manifestation du dimorphisme sexuel de croissance au sein de quelques espèces

D'après Conover (1984) le dimorphisme sexuel de croissance pourrait avoir une origine liée au comportement reproductif comme chez *Menidia Menidia* où le mâle cesse de s'alimenter pendant la reproduction pour se maintenir présent sur les frayères, ce qui engendre son amaigrissement, contrairement à la femelle qui peut se nourrir entre les différentes périodes de ponte. Ce phénomène peut aussi s'exprimer par les différences du coût énergétique déployés lors de la gamétogénèse, plus important chez la femelle par la mobilisation de grandes réserves vitellogéniques (lipides et protéines) que chez les mâles (Simpson, 1992 ; Adams et Huntingford, 1997). Dans ce cas, la croissance du mâle pourrait s'avérer plus importante que celle de la femelle. Chez les téléostéens, on dénombre plusieurs familles et espèces au sein desquelles se manifeste un dimorphisme sexuel de croissance en faveur du mâle ou de la femelle. C'est le cas des Salmonidés, des Percidés, des poissons plats et de quelques cyprinidés, où les femelles grandissent plus vite que les mâles contrairement au cichlidés (tilapias) et quelques Ictaluridés (catfish), où la croissance est en faveur des mâles (Mélard, 2018-2019). D'après Rougeot (2004), la perche, *Perca fluviatilis* manifeste un dimorphisme sexuel de croissance en faveur des femelles (20% du poids corporel en plus). Chez des populations naturelles de bar, le dimorphisme sexuel de croissance s'exprime précocement, avec les femelles qui grandissent plus vite que les mâles dès leur première année de vie (Kelley, 1988). Chez le *Oreochromis niloticus* et *Oreochromis aureus*, on observe une différence de croissance en faveur des mâles (Mélard et al., 1989).

3.3. Dimorphisme sexuel chez les Salmonidés

Au sein des Salmonidés, le dimorphisme sexuel de croissance n'est remarquable qu'au stade adulte (Régnier et al., 2015). Aussi a-t-il été observé chez certaines populations domestiquées de *Salmo trutta* et faiblement chez quelques individus du Saumon Coho (Spidle et al., 1998 ; Bonnet et al., 1999). Il se manifeste en faveur de la femelle qui croît plus vite que le mâle en atteignant plus rapidement la maturité sexuelle. Chez la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) par exemple, les différences entre mâles et femelles se rapporte à l'âge de maturité sexuelle : la femelle l'atteint au bout de 2 ou 3 ans et le mâle à un an (Jalabert et Fostier, 2010).

Chez le saumon Atlantique le dimorphisme sexuel s'observe à l'âge adulte et peut être observé au niveau de la longueur de la mâchoire supérieure, le bécard (Maisse et al., 1998). Chez les truites fario (*Salmo trutta*) ces différences de croissance liées au sexe peuvent aussi

s'exprimer par certaines différences morphologiques telles que la taille de l'abdomen, plus grande chez les femelles, la taille de la tête, plus importante chez le mâle de même que la mâchoire supérieure et la longueur post-anale (Reyes-Gavilán et al., 1997).

D'un point de vue chromosomes sexuels, tous les salmonidés sont des individus gonochoriques (à sexe séparés) avec un système mâle hétérogamétique (XY). Chez les Salmonidés, on rapporte l'existence d'un gène sdY (Y sexuellement dimorphique), situé sur le chromosome Y comme étant le déterminant du sexe. La séquence sdY du chromosome Y présent sur un locus conservé serait donc hautement conservée au sein de différentes espèces (Yano et al., 2013). Selon les mêmes auteurs le gène sdY a aussi été observé avant la différenciation sexuelle au sein d'une population de Corégoninés, présent au niveau des deux genres mâles et femelles ce qui témoigne d'une évolution plus poussée de l'action du sdY chez ces espèces.

L'ombre commun *T. thymallus* est un salmonidé qui manifesterait aussi un dimorphisme sexuel en faveur du mâle. Les divergences de caractères entre mâles et femelles au sein de cette espèce s'exprimeraient surtout au niveau des caractères morphométriques (Persat, 1977). On note ainsi une différence de taille et de forme au niveau de la nageoire dorsale du mâle, plus large et plus grande que celle de la femelle (Witkowski et al., 1984) au point de pouvoir recouvrir cette dernière lors de la reproduction en milieu naturelle (Vivier, 1958 ; Poncin, 1996). La forme des nageoires dorsales sert d'ailleurs d'identification du sexe chez l'ombre commun *Thymallus thymallus*. Il s'agira d'un mâle lorsque l'on remarquerait que la partie postérieure de la nageoire dorsale est la plus développée et la plus importante. Une autre méthode plus précise consiste à mesurer la longueur de l'antépénultième rayon de la dorsale et la rapporter à la longueur totale du poisson. Alors le poisson serait une femelle lorsque le point obtenu serait en dessous de la droite faisant office de longueur, puis un mâle lorsque celui-ci serait au-dessus (Persat, 1977). On note aussi la vive coloration bleu violacé du corps et orangée des nageoires qui caractérise le mâle en plein acte reproductif. Plusieurs auteurs rapportent la croissance du mâle *T. thymallus* comme étant supérieur à celle de la femelle (Vivier, 1958 ; Matho, 2014 ; Northcote, 1995). A cela s'ajoute l'âge de la maturité sexuelle, que le mâle atteint au bout de 2 ou 3 ans et la femelle à 3 ou 4 ans en milieu naturel. D'après Northcote (1995), plusieurs observations dans différentes zones à ombre, montrent que la maturité sexuelle chez l'ombre peut aller jusqu'à 11 ans, selon la région d'étude, mais toujours en faveur du mâle qui l'atteint avant la femelle. Cette avance sexuelle que l'ombre commun mâle a sur la femelle se compte le plus souvent d'une année et serait considéré comme un effet du dimorphisme sexuel de croissance. Le comportement agressif entre mâles

pourrait aussi être un facteur inducteur d'une croissance supérieur du mâle (Parker, 1992), et l'ombre commun est une espèce dont le mâle est très agressif. En milieu naturel surtout lors des périodes de fraie les mâles s'affrontent entre eux pour s'accaparer des femelles (Poncin, 1996). D'après Salonen et Peuhkuri (2006), face à la survenue d'un risque ou d'un danger l'ombre commun se montre très agressif mais il l'est moins au niveau des individus d'élevage qu'au niveau des individus sauvages. Au sein du genre *Thymallus* le dimorphisme sexuel, pourrait tenir ses racines des observations suivantes : en effet à la suite de la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*) et des corégones, il a été vérifié qu'au sein des ombres qu'il s'agit bien du même déterminant sdY qui induit la détermination du sexe (Maitre et al., 2017). Une étude ayant porté sur l'expression des gènes et du développement des gonades montre que dès l'éclosion, ce déterminant sexuel accentue son expression ayant débuté depuis l'embryogénèse. Au bout de 11 semaines pouvait s'observer sur la moitié de la population d'ombrets étudiés la présence d'un testicule immature qui plus tard se transformera en un testicule à ovaire (Hermaphrodisme) ou en ovaire. L'autre moitié de la population serait resté indifférenciée jusqu'à six mois avant de montrer un quelconque signe de différentiation sexuelle. Ces individus sexés plus tard se sont révélés tous être des mâles ayant conservé toute leur énergie pour croître. Leur croissance était supérieure à celle des femelles (Maitre et al., 2017). Le dimorphisme sexuel de croissance pourrait donc être fortement relié à un retard intervenu dans la différenciation sexuelle ce qui aurait non seulement induit un renforcement de l'expression de la masculinité mais aussi une croissance plus élevée.

En production et dans le cadre du développement des nouvelles espèces, il est intéressant d'utiliser le dimorphisme sexuel de croissance pour améliorer la productivité en élevant en familles monosexes le sexe qui présente les plus hautes performances de croissance.

Ceci pourrait être un moyen pour mieux connaître l'espèce afin de participer à sa pérennisation.

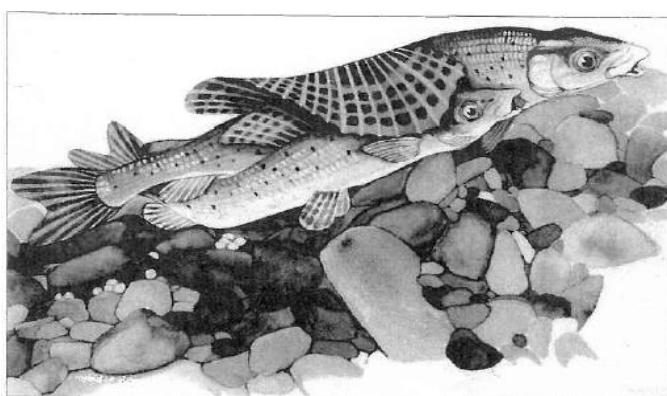


Figure 2 : Reproduction d'un ombre commun réalisé par A.-M. Massin (Poncin 1996)

4. Déterminisme du sexe et différenciation sexuelle

Le déterminisme du sexe est un phénomène biologique que désigne l'ensemble des mécanismes devant diriger le développement d'une gonade non différenciée en ovule ou en testicule (Barbeaux et al., 1995 ; Haye, 1998). Quant à la différenciation sexuelle, elle consiste au développement des testicules ou des ovaires à partir des gonades non différenciées. Les mécanismes qui concourent à la détermination du sexe peuvent être sous l'action directe des gènes ou être contrôlés par les facteurs environnementaux (Haye, 1998). Chez les mammifères et les oiseaux la détermination du sexe est purement génétique, régi par l'action des chromosomes XX/XY ou ZW/ZZ, attribuant respectivement pour chaque système l'hétérogamétie aux mâles et aux femelles. Ce système de sex-ratio 1/1 n'est pas statique au sein de tous les vertébrés (Bruslé et Quignard, 2012) ; les poissons surtout en font la différence, étant donné qu'ils constituent le groupe de vertébrés au sein duquel s'identifie la plus grande plasticité des modes de reproduction.

4.1. Mécanisme du déterminisme du sexe et différenciation sexuelle chez les poissons

Chez les poissons, les différents mécanismes qui concourent à la détermination du sexe sont très labiles, pouvant être génétiques, environnementaux ou les deux à la fois (Devlin & Nagahama, 2002). Du point de vue génétique, on note l'action d'une multitude de gène, les gènes du déterminisme sexuel qui sont majoritaire, mais aussi d'autres gènes non gouvernés par les chromosomes sexuels (Guigen, 2019). Pour les mâles, on note principalement 5 gènes qui sont les vrais acteurs des mécanismes qui identifie le futur phénotype mâle. Découverte il y a une dizaine d'années, et contrairement à l'ancienne théorie qui stipule pour la détermination du sexe mâle l'action de la 11- cétotestostérone, les gènes tels que dmh, amhy gsdf^y, sdY, Sox3^y ont été en somme, identifiés comme ceux qui s'expriment le plus pendant la période de la différenciation sexuelle chez les mâles. (Guigen, 2019, cour Base bio 2018).

Chez la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*), et chez la majorité des Salmonidés, le gène sdY est celui identifié comme le déterminant majeur du sexe mâle. Quant à la détermination du phénotype femelle, selon les différentes expériences moléculaires réalisées à ce propos, elle serait exclusivement sous l'action du gène de l'aromatase (cyp19a1a) de même que du gène qui contrôle l'expression de ce dernier Foxl2 (Shen et Wang 2014). D'après Mank et Avise (2009) les gènes Dmrt1, Dmy et Foxl2 gouvernent l'action des chromosomes sexuels lors de la détermination du sexe chez les poissons. Cet ordre d'action des gènes est malléable par différentes pressions (environnementale avec l'effet de la température, quelques facteurs chimiques de l'eau etc.) ou par l'action des stéroïdes sexuels synthétique qui en générale

influent sur l'expression des gènes déterminant le sexe (Shen et Wang 2014). Ces derniers sont à la base des autres systèmes du déterminisme du sexe chez les poissons, et ils s'accentuent surtout autour de la modification du déroulement des mécanismes génétiques par les facteurs exogènes précités. L'obtention de population monosexée, recherchées pour les hautes performances de croissance et pour la qualité supérieure de la chair dépend donc essentiellement de comment se sont déroulés les mécanismes du déterminisme du sexe et de la différenciation sexuelle chez les poissons (Guigen, 2019).

Les Salmonidés, espèces gonochoriques à déterminisme chromosomiques du système (XX/XY) (Donaldson et Hunter 1982 ; Ospina Alvarez et Piferrer 2008 ; Davidson W.S. et al., 2009) constituent un groupe de téléostéens au sein desquelles les mécanismes conduisant à l'expression du sexe phénotypique ne sont pas aussi fréquemment contrôlés par l'environnement sauf dans certains cas de consanguinité que rapporte la littérature (Ospina Alvarez N. et Piferrer F. 2008). Chez l'ombre par contre on note l'existence d'une corrélation qui pourrait exister entre le sexe ratio et la température de l'eau lors de l'éclosion des œufs en milieu naturel (Wedekind et al., 2011).

5. Inversion hormonale

L'inversion hormonale est l'une des techniques du contrôle de sexe chez les poissons par l'utilisation des hormones de synthèse ou naturelles. Elle aboutit à l'obtention d'individus inversés, à phénotype sexuel opposé au génotype sexuel. Le contrôle du sexe est un moyen d'obtention de population monosexée. Chez les Salmonidés, il revêt un intérêt primordial, à la fois économique et scientifique, respectivement des points de vu de l'amélioration de la croissance, et de la recherche scientifique. L'élevage de population de Salmonidés monosexes en aquaculture donne l'avantage d'obtenir une population rien que mâle ou femelle et ceci même avant l'apparition de toutes différenciations sexuelles et de pouvoir y mener des recherches (Baroiller et al., 1999).

En aquaculture, l'avantage de la production de population monosexée femelle au sein des Salmonidés se définit surtout par l'élimination des mauvaises performances zootechniques, l'amélioration de la croissance et la diminution de la détérioration de la chair qui apparaît avec la maturation précoce des mâles (DAAD, 2013). La recherche de population monosexée peut aussi d'après Chevassus et al., (1979) permettre de réduire la non rentabilité de l'élevage en produisant des populations rien que mâles ou femelles dans l'optique de réduire la diminution de la croissance liée à l'âge de maturité sexuelle.

Les premières expériences sur la différenciation sexuelle ayant consisté à l'utilisation de stéroïdes chez les espèces gonochoriques ont été réalisé par Yamato, (1969), et ont abouti à la modification du sexe-ratio de la population étudiée. Au total 47 espèces dont une quinzaine de famille sont sensibles à l'inversion hormonale du sexe. Au sein des espèces gonochoriques on dénombre 9 familles dont 34 espèces pouvant être inversées par les hormones de synthèse. L'efficacité de ce traitement se fait plus actif au sein des cichlidés, les Cyprinodontidés, Anabantidae, Poeciliidae, les Cyprinidés et les Salmonidés (Pandian et Sheela, 1995).

La 17α -méthyltestostérone et le 17α -ethynilœstradiol sont les hormones de synthèse qui induisent l'inversion hormonale du sexe. Leur application à l'espèce avant toutes différenciation sexuelle, tenant compte de la nature du stéroïde et de l'espèce à inversé est plus adéquate (Guerrero, 1982 ; Pandian et Varadaraj, 1987). Toutefois la dose d'application et la durée du traitement de l'hormones sont des facteurs indispensables à considérer (Chevassus et al., 1979). L'incorporation alimentaire ou l'immersion sont les méthodes les plus efficace pour l'administration de stéroïdes (Pandian et Sheela, 1999). La période la mieux indiquée pour induire l'inversion hormonale n'est pas toujours limitée à un stade spécifique de la vie. Chez les Salmonidés, elle peut être induite au stade larvaire où les gonades sont encore non différencierées. Les effets qui en résultent peuvent être partiels ou complets (Hunter et Donaldson, 1983). C'est le cas de la masculinisation d'une population de truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss*. Une dose de 3mg/kg de MT a abouti à un sex ratio de 86.7% en faveur des mâles (Atar et Dogankaya, 2009).

L'inversion hormonale a aussi été essayé chez plusieurs autres espèces, a abouti à l'obtention d'individus inversés et rapportés par diverses études dont nous pouvons citer les travaux de Rougeot et al., (2002) où le traitement à la 17α -méthyltestostérone appliqué à une population de perche Eurasienne, poisson d'eau froide rencontré dans les cours d'eau de la Wallonie ont abouti à l'inversion totale de la population étudiée conduisant à l'obtention d'individus mâles phénotypiques à 100%.

Tableau 1 : Protocoles d'inversions hormonales appliquées chez quelques espèces d'élevage

Espèces	Hormones	Doses (mg/kg)	Durée (jours)	% d'inversion
Truites Arc-en- ciel (<i>O. mykiss</i>)	17 MT	3	60	86.67 % +/- 6.67
Truites Arc-en- ciel (<i>O. mykiss</i>)	EE2	20	90	100%
Perche (<i>P. fluviatilis</i>)	17 MT	40, 60 et 80	30 et 80	100%
Saumon Atlantique (<i>Salmo salar</i>)	17 MT	3	91	100%
Truites Arc-en- ciel <i>O. mykiss</i>	17 MT	1	42	100%
<i>5O. tshawytscha</i>	17 MT	3- 9	21-63	90

D'après Feist et al., (1996) ; Rougeot et al., 2002 ; Atar et Dogankaya, 2009 ; cour base bio 2019).

5.1 Mécanisme d'inversion hormonale

La détermination du sexe chez les mammifères hétérogamétiques XX ou XY est unidirectionnelle et suivie d'une différenciation sexuelle qui exprime effectivement le statut génotypique de l'individu. Chez les poissons le développement des ovaires et testicules se fait sous l'action des stéroïdes naturelles : le **17 β -œstradiol** qui induit la féminisation par le biais de l'action de l'aromatase, la **11 cétotestostérone** celui de la masculinisation avec la **17 α -20 β -dihydroxy-4 Pregnen-3-one** ou DHP qui assure la maturation finale des gamètes mâles et femelles. La différenciation sexuelle chez les poissons est donc fortement dépendante des hormones. D'après Devlin & Nagahama (2002), ce mécanisme même s'il se trouve totalement sous le contrôle génétique reste fortement flexible. Ainsi en renforçant la production de la testostérone et en augmentant l'inhibition du gène de l'aromatase, l'androgène synthétique, la méthyltestostérone permet d'inverser les individus femelles aboutissant à l'obtention de mâle phénotypique (Baroiller et D'Cotta, 2001). Quant à la féminisation des mâles génétiques, l'éthynodiol modifie le sexe génotypique en renforçant l'expression du gène de l'aromatase (P450aromatase). Il en résulte une augmentation de la production de cette enzyme

qui aromatise la testostérone en faveur de celle du 17 β -œstradiol, l'hormone féminisante (Baroiller et D'Cotta, 2001).

5.1.1. La Masculinisation

L'inversion sexuelle par la 17 α -méthyltestostérone (MT) permet la mise en place des caractéristiques mâles dans les gonades des alevins sans en modifier leur code génétique. Chez les salmonidés les premiers essais auraient porté sur la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss* où les individus traités auraient été complètement inversés en mâles sous l'action de la 17 α -méthyltestostérone (Jalabert et al., 1975). Avec la masculinisation les poissons mâles (XY) demeurent des mâles tandis que les femelles (chromosomes XX) deviennent des mâles phénotypiques ou néomâles. Ces individus lorsqu'ils se reproduisent à leur tour avec des femelles de génotype (XX) donnent une descendance à 100 % femelle (XX) car leur laitance est dépourvue du chromosome Y mâle (Johnstone, 1978 ; Morin, 2012). L'avantage de la masculinisation au sein des espèces gonochoriques XX/XY offre la possibilité de générer une descendance 100% femelle XX (Yamamoto, 1958). A propos des méthodes d'inversion hormonale, Guigen, (2019) rapporte que le traitement à la méthyltestostérone devrait se faire avant la différenciation sexuelle et être administré par incorporation à l'aliment afin que l'hormone ai un effet plus performant. Il a été observé chez la truite arc-en-ciel que la différenciation naturelle en testicule se produit plus rapidement que lorsqu'elle est induite par les hormones (Baron et al., 2007).

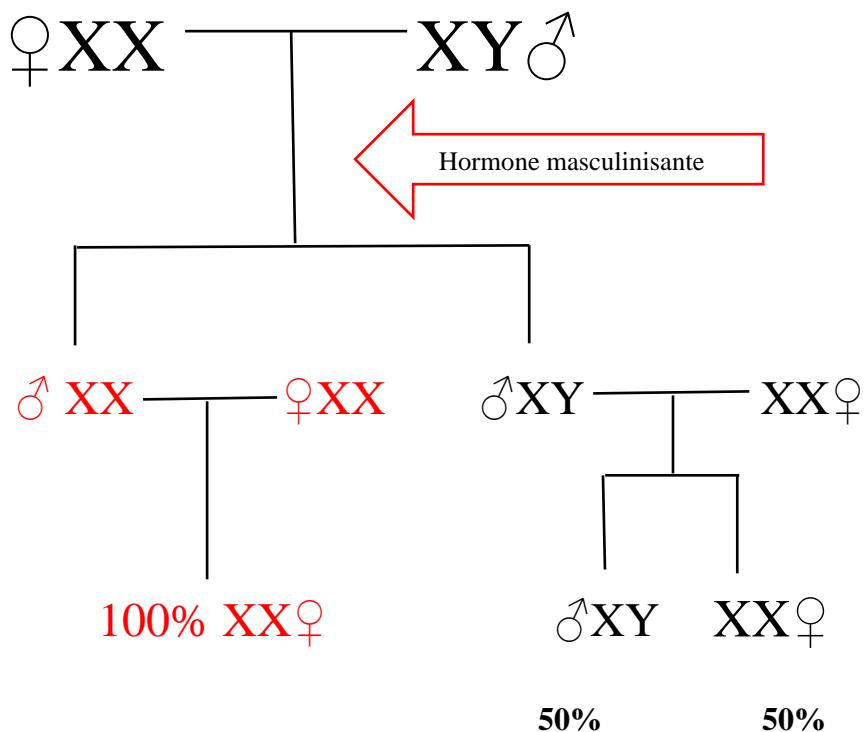


Figure 3 : Processus théorique d'obtention de famille 100% femelles par masculinisation hormonale chez les poissons à chromosomes sexuels XX/XY.

5.1.1. La féminisation

Elle peut directement se faire chez les Salmonidés par un traitement à la 17 β -œstradiol (Donaldson, 1992). Néanmoins la littérature rapporte qu'un microgramme par litre (1 μ g/l) de cette hormone administrée à des larves de truite arc-en-ciel se trouvant en pleine phase d'ouverture des yeux aurait ralenti l'action des gènes inducteurs de la croissance et causé de fortes mortalités et déformations (Marlatt et al., 2014). Par contre l'incorporation de la 17 α -éthynylestradiol dans l'aliment, soit en une proportion de 20mg/kg pendant deux mois de nourrissage larvaire aurait permis l'obtention des néo femelles (Vizziano et al., 2008). L'un des avantages avec la féminisation est l'obtention de population monosexe mâle, les super mâles YY grandement utiles en aquaculture (Baroiller et D'Cotta, 2001).

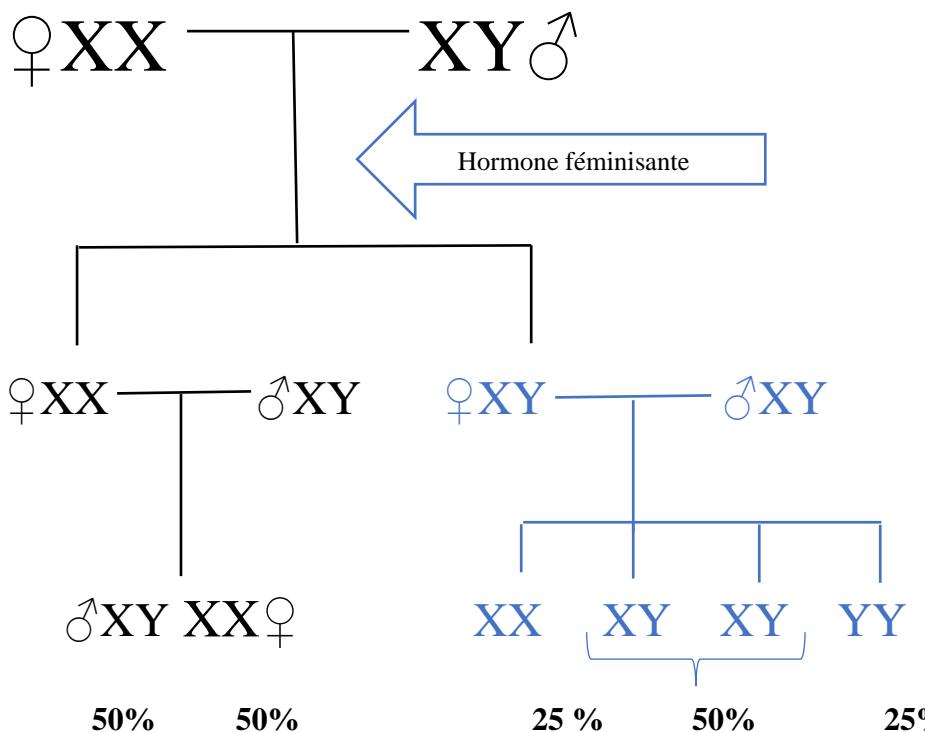


Figure 4 : Processus théorique d'obtention de mâles YY par féminisation hormonale chez les poissons à chromosomes sexuels XX/XY.

6. Les objectifs de l'étude

Ils se définissent par la mise au point du protocole de l'inversion hormonale sur des larves de l'ombre commun dans des conditions expérimentales suivie d'une évaluation du dimorphisme sexuel de croissance. Spécifiquement, il s'agira de :

- Conduire l'élevage des larves d'ombre commun *T. thymallus* avec un nourrissage d'aliment hormonal, incorporé de méthyltestostérone et d'éthynylestradiol respectivement sur 30 et 60 jours suivant différentes doses d'hormones (1mg/kg ; 5mg/kg et 10mg/kg)
- Réaliser le sexage des juvéniles en vue d'évaluer le sexe ratio obtenu après inversion hormonale.
- Relever et analyser les mesures du poids des individus par rapport au sex ratio en vue d'évaluer le dimorphisme sexuel de croissance et d'identifier le poids auquel il apparaît.
- Réaliser des coupes histologiques et les fixations des gonades prélevées au formol.

En somme, en s'inscrivant dans le cadre du projet de recherche FEAMP sur la diversification de l'aquaculture, des performances de croissance, de mis au point de techniques de contrôle du sexe et du dimorphisme sexuel de croissance, la présente étude permettra donc de vérifier s'il existe vraiment le dimorphisme sexuel de croissance chez l'ombre commun *T. thymallus* afin de mettre au point ces protocoles de contrôle du sexe pour la production de famille monosexé mâles ou femelles.

II. Matériels et Méthodes

1. Matériels

1.1 Le matériel Biologique

Les larves proviennent de la Pisciculture le Chabotais. La ponte est obtenue par reproduction artificielle non induite à partir des géniteurs domestiqués, élevés dans de petits étangs. Les œufs embryonnés ont été réceptionnés au CEFRA à la mi-avril et incubé à 15°C jusqu'à leur éclosion au bout de 4 jours après leur arrivée. Les larves ont été nourries avec les Nauplie d'atemi jusqu'au 9^{ème} jours post éclosion. Elles ont été mises en charge au 10eme jour PE le 30/04/2019 par comptage manuel de 200 larves d'un poids corporel moyen de 24 mg évalué sur le poids individuel de 50 individus. Au total, 12 aquariums de 50 litres sont mis en charge chacun avec 200 larves pour l'expérimentation (figure 3).

2. Méthodes expérimentales

L'expérimentation s'est déroulée en système en circuit ouvert afin d'éviter que les hormones ne s'accumulent dans le circuit. Deux traitements hormonaux, l'un masculinisant à la 17 α-méthyltestostérone (17 MT) et l'autre féminisant au 17 α- éthynylestradiol (EE2), sont testés à 3 concentrations, 1, 5 et 10 mg/kg aliment distribuée pendant 30 ou 60 jours



Figure 5 : circuit expérimental d'aquarium de 50 litres alimentés en eau de puit à 15°C en circuit ouvert.

2.1 élevage larvaire et traitement hormonaux

Il a démarré le 1^{er}/05/2019 avec le nourrissage à l'aliment hormoné respectivement pendant 30 et 60 jours pour chacun des deux traitements. Deux différents aliments sont utilisés à différentes granulométries au long de l'expérimentation. Après le nourrissage hormonal, les juvéniles sont nourris avec le Nutra Hp de granulométrie égale à 300 µ jusqu'à la fin du mois de juillet.

Tableau 2 : Protocole d'inversion hormonal et de nourrissage

Moment d'application	10eme jour Post - éclosion					
Hormones	17 α-méthyl testostérone 17β-œstradiol					
Doses (mg/kg)	1	5	10	1	5	10
Durées (jours)	30	60	30	60	30	60
Après le traitement	Nourrissage simple au HP 300					

2.2 Préparation des aliments hormonaux à la 17α-méthyltestostérone et au 17 α-éthynylestradiol

Les solutions mères sont préparées à une concentration de 10mg d'hormone par 100ml d'éthanol.

Pour préparer 50 g d'aliment hormoné, 20 ml d'éthanol au total est utilisé. Les quantités de solution mère et d'éthanol ajouté à l'aliment sont reprises dans le **tableau 4**. Le mélange est bien remué de sorte à bien incorporer l'hormone à l'aliment. Il est ensuite placé sous la hotte pendant 24h pour laisser l'éthanol s'évaporer avant d'être distribué aux ombrés.

Tableau 3 : doses hormonales utilisées pour la préparation de 50g d'aliment hormoné

	1 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg
MT	0,5ml (SM) +19,5 ml (Eth)	2,5ml (SM) +17,5 ml (Eth)	5ml (SM) +15 ml (Eth)
ETH	0,5ml (SM) +19,5 ml (Eth)	0,5ml (SM) +17,5ml (Eth)	5ml (SM) +15 ml (Eth)

SM : solution mère (10mg d'hormone /100ml d'éthanol)

2.3. Distribution de la ration

Après la mise en charge le nourrissage larvaire a démarré le 1^{er}/05/19 avec une quantité de 1,5mg d'aliment hormoné, la ration distribuée est adaptée chaque jour à un taux de 5% en fonction de la quantité d'aliment consommé le jour précédent. Les ombrets sont nourris à satiété, soit par de petites quantités manuellement distribuées 6 à 8 fois par jour

2.4. Diverses Manipulations expérimentales

2.4.1. Sexage et estimation du sex ratio de la population des juvéniles

Le 18 et 19 juillet 2019, (J 90) le sexage est réalisé par squash gonadique sur 100 juvéniles capturés, et individuellement pesés. Après les avoir euthanasiés à la benzocaïne concentré à 5ml/l, nous avons procédés à la dissection, puis au prélèvement des gonades. Les fragments tissulaires de ces dernières sont placés entre lame et lamelle, colorés à l'acéto-camin écrasés, puis visualisés au microscope. Le sex- ratio de la population est estimé en fonctions des diverses observations selon que l'on ait observée des structures circulaires avec un noyau au centre (les ovocytes primaires) ou de grandes structure lisses (tissus testiculaires).



Figure 6 : gonade femelle (à gauche) et mâle (à droite) observées au microscope après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine

2.4.2. Contrôle du poids et vérification du dimorphisme sexuel

En vue de vérifier l'existence effective du dimorphisme sexuel de croissance à l'âge adulte chez l'ombre commun *T. thymallus*, en faveur de quel genre sexuel se manifeste-t-il et de déterminer le poids auquel il apparaîtrait, nous avons à partir de 50 juvéniles de 15 mois, provenant de la même pisciculture que les ombrets de 90jours et élevés dans les mêmes conditions d'élevage relevé leur poids individuel puis procédé à leur sexage. Les mesures du poids nous permettront d'analyser la variabilité de ce facteur de croissance par rapport au sexe. Le poids moyen qui serait sera le poids d'apparition du dimorphisme sexuel et le genre

sexuel ayant le poids moyen le plus élevé serait lequel est favorisé par le dimorphisme sexuel de croissance.

3. Détermination du Sex-Ratio (SR)

Le pourcentage du sexe ratio (SR) est calculée pour chaque structure observée par la formule :

$$SR (\%) = \frac{Nb\ de\ (X)}{Nb\ de\ poissons\ séxés} * 100$$

Avec X : nombre de telle ou telle structure sexuelle observée (Mâle, femelle, intersexué, etc.)

4. Calcul du coefficient de variation

Le coefficient de variation est calculé par la formule :

$$CV (\%) = \frac{Ecartype}{Moyenne} * 100$$

5. Analyses statistiques

Les données brutes recueillies sont enregistrées dans le logiciel Excel

Les effets des différentes doses hormonales et des durées d'application seront analysés en fonction des données recueillies sur le sexage des ombrets ayant subi l'inversion hormonale et ceux de l'auge (témoin) n'ayant pas reçu. Ces données seront évaluées par des test de Chi² réalisés dans R et R commander.

Les mesures des poids des ombrets de 90 jours et celles des ombres adultes de 15 mois seront analysées par le test t de student en vue d'évaluer si en fonction du sexe mâle ou femelle, il se manifeste une supériorité. Ils nous permettront d'évaluer le dimorphisme sexuel et d'identifier le poids auquel il apparaît.

III. Résultats et discussion

1. Structure gonadique

Le squash gonadique réalisé au bout de 90 jours d'élevage, a permis l'observation de cinq types de structures morphologiques sexuelles (figure 7 à 11).

- Le tissu gonadique mâle (M) (figure :7) sur lequel on peut observer une grande structure lisse
- Le tissu gonadique femelle (F) (figure 8) où les ovocytes y sont clairement distincts, arrondis laissant voir au centre le noyau.
- Le tissu intersexué (I), où nous avons pu clairement observer une nette cohabitation des deux structures mâle et femelle (figure 9).
- Un tissu gonadique dont la morphologie avait un aspect de mâle ou de femelle non clairement distinct, (photo 10 et 11), mais souvent avec la présence d'ovocytes non clairement structurés, qui tendent à être entourés d'une autre structure lisse faisant penser à celle du tissu mâle (photo 10), laissant penser à un individu « stérile ». Nous les nommerons femelles supposées stériles (FS)
- Finalement, un tissu gonadique mâle semblant être parsemé de petites structures ovocytaires non nettement identifiées (photo 11), pas aussi bien défini que les « vrais » intersexués (figure 9) que nous nommerons mâles supposés stériles (MS).

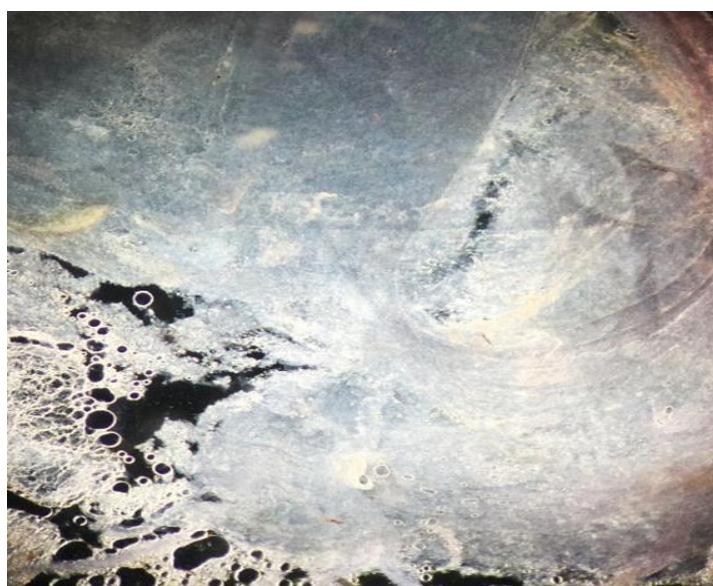


Figure 7 : gonade mâle d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmin.

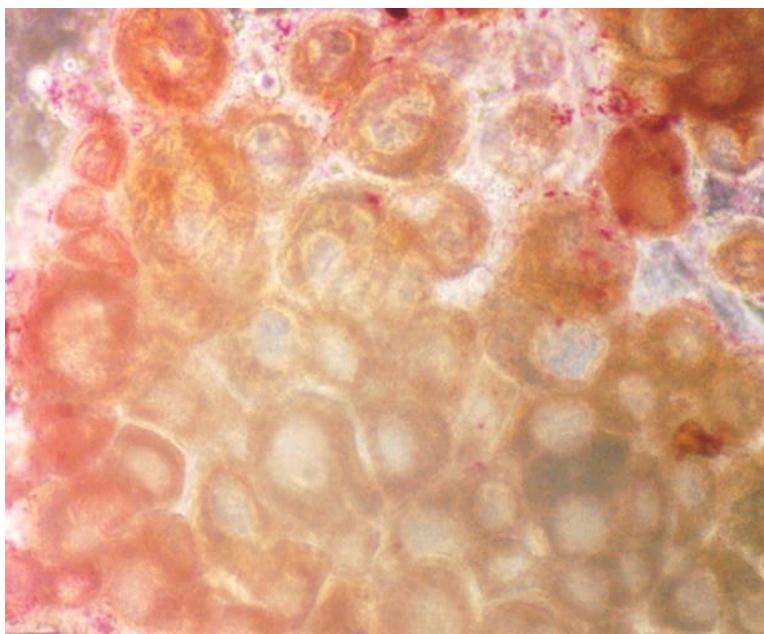


Figure 8 : gonade femelle d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine.

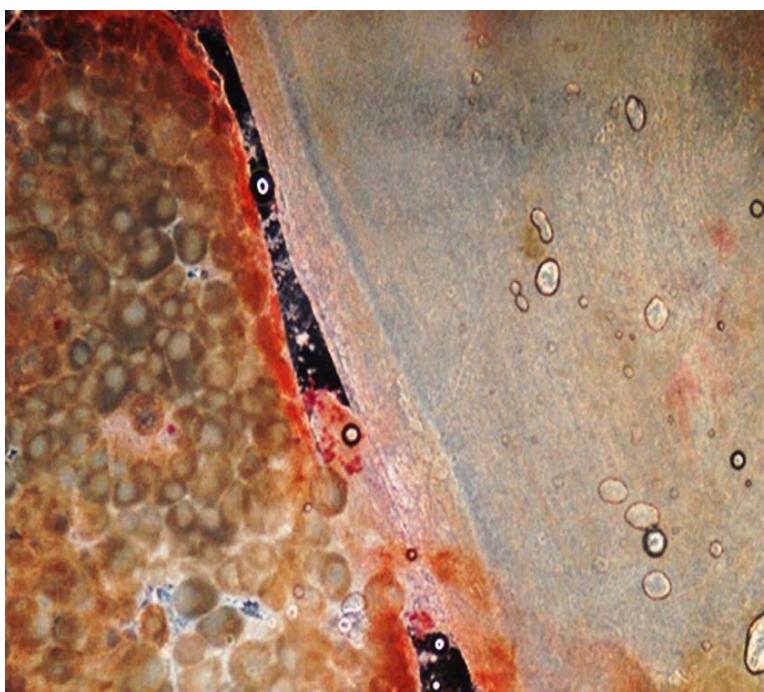


Figure 9 : gonade intersexuée d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmine.

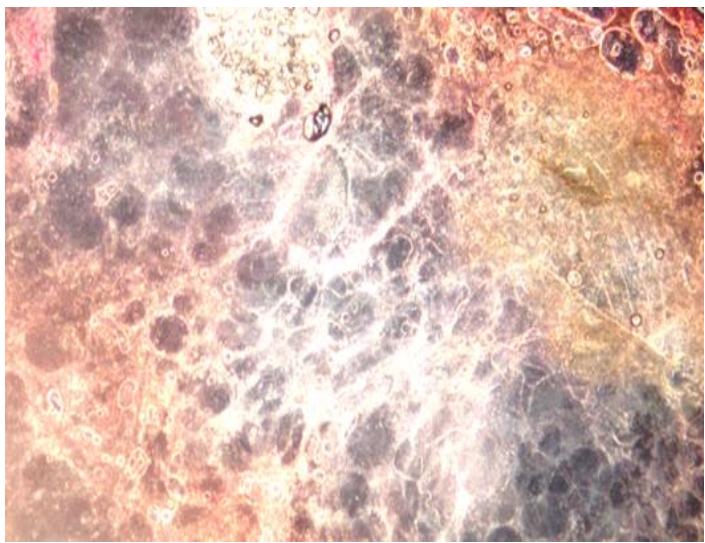


Figure 10 : gonade femelle supposée stérile (FS) d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmin.

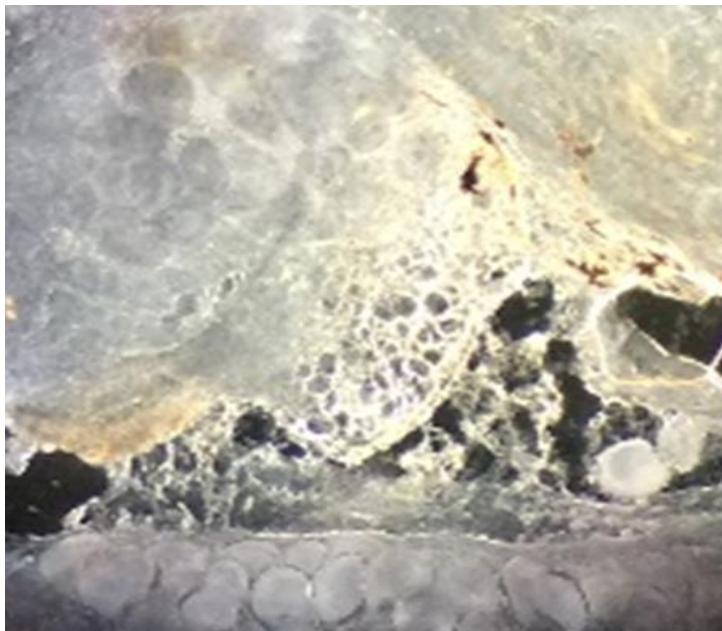


Figure 11 : gonade mâle supposée stérile (MS) d'ombre de 90 jours observée au microscope (40x) après squash gonadique et coloration à l'acéto-carmin.

1.2. Résultats du traitement féminisant à l'EE2

Afin de faciliter le traitement des résultats et au vu de la faible présence des MS, nous avons fait le choix de considérer les FS et MS dans un même groupe d'individus stériles (FS+MS).

Les taux de survie des lots traités varient de 31,5% à 65,0% et sont plus faibles que dans le lot contrôle (95%). La comparaison des taux de survie et de mortalité en fonction de la durée du traitement pour chaque dose montre qu'il existe une différence significative entre les taux de survie et de mortalité enregistrés pour les deux durées du lot (1mg/kg). La durée a eu un effet sur la survie dans le lot traité à 1mg/kg d'EE2 (**tableau 4**).

Pour chaque dose, on observe une diminution du taux de survie avec l'augmentation de la durée du traitement. De la même manière, on constate une diminution du taux de survie moyen avec l'augmentation de la dose d'EE2 (56,5% à 1mg/kg à 36% à 10mg/kg). Dans le lot contrôle, le sexe-ratio est de 61% de mâle pour 25% de femelle (**tableau 4**).

Globalement, le traitement à l'EE2 donne entre 7,0% et 37,3% de femelles pour 23,9% et 48,8 % de mâles (**tableau 4**). Le traitement à l'EE2 induit aussi un pourcentage important d'individus intersexués (entre 12,5 et 49,2%) et d'individus stériles (entre 2 et 38,9% (tableau 7). Pour chaque dose testée, on constate une augmentation du % d'intersexués (13 à 49%), avec la durée du traitement, parallèlement à une diminution du % de femelles (7 à 37,3% **tableau 4**). Dans aucun lot, nous n'obtenons d'inversion sexuelle significative en faveur des femelles.

Tableau 4 : Sexe-ratio obtenus après le traitement féminisant à l'éthynodiol en fonction de la dose et de la durée

Doses (mg/kg alim)	Durée (jours)	n. sexés	% M	% F	% FS+MS	% I	Survie (%)	X ² sexe ratio	X ² survie -mortalité
Control	-	100	61	25	4	10	90,0	0	
1	30j	99	45,5	32,3	2,0	20,2	65,0	7,27**	11,76a
	60j	72	48,8	15,1	7,0	29,1	48,0	13,14***	
5	30j	80	40,3	7,0	38,9	18,1	42,5	35,49***	0,66b
	60	86	23,9	37,3	1,5	38,8	38,5	29,14***	
10	30j	67	42,5	17,5	23,8	12,5	40,5	16,72***	3,52b
	60j	63	39,7	8,0	3,2	49,2	31,5	33,13***	

n. sexés : nombre de poissons sexés ; % M : pourcentage mâle ; % F : pourcentage femelle ; %FS+MS : pourcentage Femelle et mâle supposés stériles ; % I : pourcentage Intersexué ; X² : chi carré ; ** = P < 0,01 ; *** = P < 0,001

1.3. Résultats du traitement masculinisant à la 17 MT

Le lot (1mg/kg/30j) qui a un taux de survie de 7%, a malheureusement connu un accident technique au cours de l'expérimentation. 116 ombrets y ont succombé simultanément. Nous n'allons pas pouvoir le considérer pour analyser les taux de survie afin d'éviter que nos observations soient biaisées (**tableau 5**).

Pour les autres lots traités, les taux de survie varient de (36 à 80%) et sont plus faibles que dans le lot contrôle (90%). La comparaison des taux de survie et de mortalité en fonction de la durée du traitement pour chaque dose montre qu'il existe une différence significative entre les taux de survie et de mortalité enregistrés pour les durées des lots (1mg/kg) et (10mg/kg). Pour le lot traité à 1mg/kg de 17 MT, la différence significative observée ne saurait être considérée à cause de l'accident technique que ce lot a connu lors de l'expérimentation. La durée a eu un effet sur la survie dans le lot traité à (10mg/kg) (**tableau 5**).

Pour chaque dose, on observe une augmentation du taux de survie avec l'augmentation de la durée du traitement. De la même manière, on constate une augmentation du taux de survie moyen (66,2%) avec l'augmentation de la dose (**tableau 5**).

Dans le lot contrôle, le sexe-ratio est de 61% de mâle pour 25% de femelle (**tableau 5**). Globalement, le traitement à la 17 MT donne entre (49,5% et 67,7%) de mâle pour (3,1% et 38,5%) de femelle (**tableau 5**). Le traitement à la 17 MT induit en général de faible pourcentage d'individus intersexués, entre (7 et 22 %), et d'individus stériles entre (10 et 16%). Il n'y a pas de MS (mâles supposés stériles). On constate une diminution du pourcentage des mâles avec l'augmentation de la dose et de la durée à l'exception du traitement (5m/kg/) (30j à 60j) où on remarque une augmentation avec la durée (57,1 à 67,7). Mais pour la dose la plus élevée appliquée (10mg/kg), il diminue avec l'augmentation de la durée du traitement. Les pourcentages de femelles dans tous les lots traités sont inférieurs à 25% à l'exception du lot (1mg/kg/30j) (**tableau 5**).

Dans aucun lot, nous n'obtenons d'inversion sexuelle significative en faveur des mâles.

Tableau 5 : Sexe-ratio obtenus après le traitement masculinisant à la méthyltestostérone en fonction de la dose et de la durée

Doses (mg/kg alim)	Durée (jours)	n. sexés	% M	% F	FS	% I	Survie	X ² sexe ratio	X ² survie - mortalité
Control	-	100	61	25	4	10	90,0	0	
1	30j	13	61,5	38,5	0	0	7	13,96***	216,82a
	60j	98	58,0	17,0	10	15	80	5,17	
5	30j	66	57,1	21,4	0	21,4	70	8,44*	1,25b
	60	100	67,7	3,1	13,5	15,6	75	23,11***	
10	30j	96	60,6	16,6	15,2	7,6	36	7,39	46,41a
	60j	97	49,5	24,7	12,4	13,4	70	5,91	

n. sexés : nombre de poissons sexés ; % M : pourcentage mâle ; % F : pourcentage femelle ; %FS : pourcentage femelles supposées stériles ; % I : pourcentage Intersexué ; X² : chi carré ; ** = P < 0,01 ; *** = P < 0,001

2. Dimorphisme sexuel de croissance

2.1. Ombres de 90 jours

Le test t de student réalisé nous permet ici d'évaluer le dimorphisme sexuel de croissance par rapport au poids selon le sexe (mâle et femelle). La distribution des variables (mesures du poids) étant homogène et normale, les poids moyens des ombrets de 90 jours est de 1,95 g et 2,25 g respectivement pour les mâles et les femelles, et ne sont pas significativement différents ($t = 1.621$ et $P = 0.124 > 0,05$). A ce propos, aucune différence significative n'est observée entre la moyenne des mesures du poids des mâles et des femelles ; On pourrait conclure qu'à 90jours, dans nos conditions expérimentales, il n'y a pas encore de dimorphisme sexuel (**tableau 6**).

Tableau 6 : Poids corporel moyen (g) (valeur \pm écart type) des ombres de 90jours et hétérogénéité de croissance.

	Poids Moyens (g)	Poids minimum (g)	Poids Maximum (g)	CV (%)
Mâles	1,95 \pm 0,46	1	2,56	23,53
Femelles	2,25 \pm 0,59	1,4	3,05	26,23

2.2. Ombres de 15 mois

Le test t de student réalisé nous permet ici d'évaluer le dimorphisme sexuel de croissance par rapport au poids selon le sexe (mâle et femelle). La distribution des variables (mesures du poids) étant homogène et normale, les poids moyens des ombres de 15 mois, est de 91,02g et 77,2g respectivement pour les mâles et les femelles et sont significativement différents ($t = |-3,23|$; $P = 0.00275$ ** < 0.05).

Tableau 7 : Poids corporel moyen (g) (valeur \pm écart type) des ombres de 15 mois et hétérogénéité de croissance.

	Poids Moyens (g)	Poids minimum (g)	Poids Maximum (g)	CV (%)
Mâles	91,02 \pm 17,3	126,1	55,15	19,00
Femelles	77,2 \pm 11,6	55,2	96,0	15

2. Discussion générale

Le succès des inversions hormonales masculinisantes ou féminisantes dépend essentiellement de trois facteurs : le moment d’application, la dose et la durée. En fonction de ces paramètres, on observe soit des individus totalement inversés, mais aussi des stériles ou des intersexués. Chez l’ombre commun *T. thymallus*, très peu de données existent sur la détermination et les inversions sexuelles. Contribuer à l’obtention de plus de données en ce qui concerne la détermination et le contrôle du sexe nous ont amené aux essais des inversions hormonales suivants.

D’après Maître et *al.*, (2017), Les ombres en développement passent tous par un stade mâle, avant d’observer les premières différenciations histologiques femelles vers 107 jpf, pour atteindre une différenciation histologique totale vers 237-245 jpf. Dans tous nos lots (témoin et en inversion sexuelle), nous observons clairement à partir de 90 jpf des femelles totalement différencierées. Ces résultats différents peuvent être dus à la température d’élevage différente, puisque nous élevons nos ombres à 15°C, alors qu’ils sont élevés à 10-11°C dans l’expérience de Maître et *al.*, (2017). Sur base de leurs travaux le fait que nous ayons des individus intersexués dans le lot témoin n’est pas anormal et ces individus seraient des femelles en cours de différenciation sexuelle.

- **Féminisation**

Le traitement à l’EE2, aboutit à un sexe -ratio variable, quelle que soit la dose ou la durée d’application du traitement d’inversion hormonale : des mâles, des femelles, des intersexués et des individus que nous supposons stériles. D’après Chevassus et *al.*, (1979), Feist et *al.*, (1996), les inversions hormonales engendrent des intersexués ou des individus stériles en fonction des paramètres d’applications du traitement.

Dans notre étude, nous n’avons pas obtenu de féminisation significative, même à la plus forte dose de 10mg/kg d’EE2 appliquée sur 60 jours. En nous questionnant sur l’insuffisance des doses et durées appliquées dans notre expérimentation, considérons la féminisation chez la truite arc-en-ciel, *O. mykiss*, espèce d’eau froide et salmonidés comme l’ombre commun. Elle exige des doses légèrement supérieures à celles des autres salmonidés tels que les truites fario et coho (5mg/kg) soit une dose de 20mg d’éthynylestradiol par kg d’aliment, appliquée sur 12 semaines afin d’envisager l’aboutissement à une féminisation quasi-totale (Feist et *al.*, 1996 ;

Atar et Dogankaya., 2009). D'après Vizziano-Cantonnet et *al.*, (2008), l'administration à la truite de 20mg/kg d'EE2 au stade larvaire augmente considérablement l'activité de tous les gènes qui interviennent dans la différenciation ovarienne de la gonade et estompe l'activité de ceux qui interviennent dans la synthèse des androgènes. La gamme de dose d'hormone testée est de 1 à 10 mg/kg d'aliment. Il est possible que l'ombre sorte de la gamme classique des doses utilisées pour la féminisation et qu'il faille tester des doses plus élevées. Chez d'autres espèces, le tilapia, les doses d'EE2 utilisées pour l'inversion hormonale sont beaucoup élevées (jusque 500mg/kg pour inverser des mâles YY en femelles YY).

Aussi pouvons-nous considérer le moment d'application de l'EE2 ; le 10eme jours post éclosion n'est peut-être pas le bon moment à partir duquel il faut appliquer l'EE2. Induire l'inversion hormonale à un moment propice est l'un des facteurs indispensables pour la réussite d'une inversion hormonale (Wang et Schen, 2019). Par rapport à l'ombre, Maitres et *al.*, (2017) rapportent que les gènes du déterminisme et de la différenciation sexuelle, commencent par s'exprimer déjà à la vie embryonnaire de l'œuf et accentuent leurs expressions à l'éclosion. Ceci étant, la féminisation de l'ombre pourrait peut-être aboutir à un moment d'application qui se rapproche beaucoup plus de l'éclosion. Effectivement chez certaines espèces comme le tilapia par exemple, les traitements d'inversion hormonale commencent à 10 jours post-fécondation, voir des traitements durant le développement embryonnaire.

Une autre explication que nous pouvons donner est liée à l'éventualité que le 17 α -éthynylestradiol ne soit efficace sur l'ombre commun *T. thymallus*. L'hormone au lieu d'inverser, a induit une sorte de dysfonctionnement, induisant de la stérilité. Nous envisageons cela en considérant ce que rapportent Selmoni *et al.*, (2019) à propos de l'effet à faible dose (1ng /l) du 17 α -éthynylestradiol sur l'expression des gènes de la différenciation sexuelle. D'après ces auteurs, l'exposition des œufs embryonnés d'ombre commun *T. thymallus* à 1ng/l jusqu'à la résorption du sac vitellin aurait engendré d'énorme dysfonctionnement au niveau de l'expression des gènes intervenant dans la différenciation sexuelle. Li et Wang, (2017) rapportent que les traitements d'inversion sexuelle à base d'œstrogène causent de plus en plus de dommage et que les femelles YY obtenues par des traitements à fortes doses de EE2 sont finalement stériles. De la même manière, chez le clarias, les traitements à l'EE2 induisent 100% de mortalité, montrant les effets fortement nocifs de cette hormone.

Dans les lots traités à l'EE2, nous observons des taux élevés d'individus intersexués. Deux cas de figure : soit ils vont rester intersexués et présenter des ovotestis (comme chez la perche), ce sont donc des mâles qui sont en train d'être inversés en femelles, donc des femelles XY et donc attendre l'âge adulte voir s'ils sont fonctionnels et les utiliser en reproduction. Soit ce sont des individus qui sont en cours de différenciation sexuelle (voir article de maître) et qu'ils deviendront totalement femelle. Une augmentation de la dose hormonale de même que la durée pourraient peut-être conduire à leur inversion totale. En suivant Chevassus et *al.*, (1979), les intersexués sont vraiment des individus en voie d'être inversés.

L'utilisation du 17b-œstradiol, l'hormone naturelle serait peut-être une solution pour aboutir à la féminisation de l'ombre commun. Elle est aussi bien fréquemment utilisée en aquaculture (Feist et *al.*, 1996). Selon Pandian et Shella, (1995), 7 espèces de salmonidés peuvent être inversés avec une dose qui varie entre 2 à 50 mg/kg d'aliment mais pourrait engendrer de forte mortalité. Quant à l'ombre commun, on pourrait dire que l'espèce ne répond simplement pas à une inversion hormonale. Une autre technique qu'on pourrait envisager est l'inversion sexuelle par induction de haute température pour aboutir à la féminisation de l'ombre comme cela se fait chez le tilapia (cour base biologique, 2019).

- **Masculinisation**

Dans ce traitement, le pourcentage élevé de mâle pourrait signifier un certain aboutissement de la masculinisation. La dose appliquée à l'ombre dans notre expérimentation a déjà été utilisée pour la truite arc en ciel *O. mykiss*, soit 0,5 mg/kg à 3mg/kg de 17α-méthyltestostérone pendant 60 à 90 jours qui aboutit à un taux d'inversion de 89% à 98% (Cousin-Gerber et *al.*, 1989). Une augmentation de la dose hormonale de même que la durée pourrait pourraient peut-être conduire à leur inversion totale. En suivant (Rougeot et *al.*, 2002), (El-Greisy et El-Gamal 2012), la perche Eurasienne *Perca fluviatilis* et le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus* sont masculinisés à des doses et durées nettement supérieures, respectivement de 20mg/kg sur 40, 30 et 80jours et 60mg/kg à 75jours. Ces inversions on aboutit à 100% de masculinisation chez la perche et 95% à 97% chez le tilapia

Si l'on se réfère à Maitre et *al* (2017), par rapport à la différenciation chez l'ombre qui passe par un stade où tous se différencient en mâle, nous ne saurions dire si l'hormone masculinantes à eu d'effet sur l'ombre ou pas. Seul une poursuite des travaux par vérification de l'obtention de population purement femelle à la génération F1 après

croisement, ou par la réalisation de marquage biomoléculaire en vue d'identifier le sexe génotypique pour le comparer au sex phénotypique pourrait effectivement confirmer notre hypothèse sur la réussite de la masculinisation.

Une autre technique de masculinisation serait peut-être l'utilisation d'autres hormones masculinisantes telles que l'hydroxyandrostenedione ou le 17α -ethynyltestosterone. Cependant d'après Atar et Dogankaya., (2009) le taux d'inversion en mâle généré avec ces deux hormones expérimentées sur la truite arc en ciel *O. mykiss* appliquée à 30mg/kg pendant 40 jours est faible par rapport à ce que donne l'inversion de *O. mykiss* avec la 17 MT

L'autre méthode par laquelle on pourrait procéder est l'androgénèse où l'on obtiendrait une descendance purement mâle en irradiant le matériel chromosomique femelle. Mais cette technique est assez contraignante mais reste tout de même faisable.

- **Dimorphisme sexuel de croissance**

L'hypothèse qu'il existe un dimorphisme sexuel de croissance chez l'ombre commun à l'âge adulte en faveur du mâle est confirmée par notre étude, puisqu'à l'âge de 15 mois, les mâles présentent un poids corporel significativement plus élevé que les femelles. Par contre, nous n'observons de dimorphisme sexuel 90 jpf. Dans l'étude de Maître et al., (2017), ils observent un dimorphisme sexuel à partir de 240 jpf (8 mois). Dès lors, l'apparition de ce dimorphisme sexuel doit survenir entre 90 et 240 jpf. Des études complémentaires de prélèvement et d'analyse entre ces périodes pourraient être faits pour déterminer la période plus précisément. La manifestation du dimorphisme de croissance chez les salmonidés à l'âge adulte est chose fréquente (Régnier et al., 2015). Il se manifeste le plus souvent en faveur des femelles qui croissent plus vite que les mâles. C'est le cas de *O. mykiss*, de *Salmo trutta* (Asknes et al., 1986 ; Jalabert et Fostier, 2010 ; Reyes-Gavilán et al., 1997) Chez ces espèces, en production, on travaille en familles monosexes femelles afin d'améliorer les performances de production. En effet si les truites arc-en-ciel mâles atteignent de manière précoce l'âge de la maturité sexuelle, ce qui à leur niveau crée une diminution de la croissance, c'est le contraire qui se produit chez l'ombre. Les individus qui se différencient tardivement, se différencient tous en mâles et sont plus grands que les femelles (maître et al., 2017). D'après Spidle et al., (1998) ; Maisse et al., (1998) ; Bonnet et al., 1999), on observe le même phénomène chez les Saumon Coho Fario et Atlantique.

IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'étude sur le dimorphisme sexuel de croissance et le contrôle du sexe chez l'ombre commun *Thymallus thymallus* est réalisée d'une part avec les essais d'inversion hormonale suivis de la détermination du sexe par sexage et d'autre part sur les ombrets de 15 mois lesquels ont servi à évaluer l'évolution de la croissance entre mâle et femelle.

Peu de données étant disponibles sur l'ombre commun, l'étude tient son importance en aquaculture, au plan scientifique et en pisciculture, du fait qu'elle contribue à fournir plus de données sur l'ombre commun *Thymallus thymallus* et constitue l'une des pionnières en matière de contrôle du sexe par inversion hormonale chez cette espèce.

A partir des résultats sur le contrôle du sexe et l'évaluation du dimorphisme sexuel de croissance nous retenons que :

- L'ombre commun *Thymallus thymallus* ne répond pas à la féminisation induite par incorporation alimentaire de l'EE2, appliquée respectivement à 1, 5 et 10mg/kg pendant 30 ou 60 jours.
- L'ombre commun *Thymallus thymallus* pourrait répondre à la masculinisation induite par incorporation alimentaire du 17 MT, appliquée à partir de 5 à 10mg/kg pendant 60 jours et plus.
- L'existence d'un dimorphisme sexuel de croissance en faveur du mâle à l'âge adulte, à partir de 15 mois est effective chez l'ombre commun et pourrait apparaître à un poids de 91g chez le mâle.

L'ombre est une espèce dont les mécanismes du déterminisme du sexe et de la différentiation sexuelle s'annoncent complexes vues les données qui y sont disponibles. Par rapport à cela, nous suggérons des recherches supplémentaires pour :

- Réessayer la féminisation avec d'autres doses hormonales et des moments d'application différents.
- Produire des mâles YY pour la production de famille monosexée
- Essayer d'autres techniques de masculinisation, l'utilisation de hautes températures par exemple.

Références bibliographiques

- Adams C.E., Huntingford F.A. 1997.** Growth, maturation and reproductive investment in Arctic charr. Fish Biol. 51, 750-759.
- Aquafilia 2015.** Production aquacole en région wallonne. Revue n° 70 Septembre/Octobre 2015.
- Annamari S., Peuhkuri N. 2005.** The effect of captive breeding on aggressive behaviour of European grayling, *Thymallus thymallus*, in different contexts. Integrative Ecology Unit, Department of Biological and Environmental Sciences, University of Helsinki Y Finnish Game and Fisheries Research Institute, Fisheries Research, Kotka Unit.
- Asknes,A., Gjerde B., Roald S.O.1986.** Biological, chemical and organoletic changes during maturation of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. Aquaculture 53(1),7-20
- Atar H.H., Dogankaya L. 2009.** Effects of different hormones on sex reversal of Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) Walbaum and production of all-Female populations. Biotechnology & Biotechnological Equipment. November 2009.
- Ayaka Y., Barbara N., Jouanno E., Quillet E., Fostier A., Guyomard R., Guiguen Y. 2013.** The sexually dimorphic on the Y-chromosome gene (SdY) is a conserved male-specific Y-chromosome sequence in many Salmonids. Evolutionary Applications 6, n° 3 486-96.
- Barbaux S.E., Vilain K., McElreavey. Et M. Fellous 1995.** Le point sur le déterminisme du sexe chez les mammifères. Médecine/sciences 11, n° 4 529.
- Bardonnet A. et P. Gaudin. 1990.** Influence de la lumière au cours de l'ontogenèse sur l'expression du rythme d'émergence de l'alevin d'ombre commun, *Thymallus thymallus*, (L. 1758). Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture, n° 317 : 35-49.
- Baroiller J.F. et H D'Cotta. 2000.** Environment and sex determination in farmed fish. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 130 : 399-409.
- Baroiller J.-F., Guiguen Y., Fostier. A 1999.** Endocrine and Environmental Aspects of SexDifferentiation in Fish. Cellular and Molecular Life Sciences 55, n° 7 : 910.
- Baron D., Montfort J., Houlgatte R., Fostier A., Guiguen Y. 2007.** Androgen-induced masculinisation in rainbow trout result in a marked dysregulation of early gonadal gene expression profiles. BMC Genomic 8(1) : 1.

Belpaire C. et Gérard P. 1993. Rapport sur la situation de l'aquaculture en Belgique. EIFAC Rome, Mai 1994.

Benfey T.J. 2009. Report- 090108 Triploidy induction RBT final draft.

Bonnet S., Haffray P., Blanc, J.M., Vallée, F., Vauchez, C., Fauré A., Fauconneau, B. 1999. Genetic variation in growth parameters until commercial size in diploid and triploid freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and seawater brown trout (*Salmo trutta*). Aquaculture 173 : 359-375.

Bishop, F. 1971. Observations on the spawning habits and fecundity of the Arctic grayling. Prog. Fish-Cult. 27 :12-19.

Bruslé J., Quignard J.-P. 2012. Eco-éthologie de la reproduction des poissons. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 287 p.

Carmie H., Jonard. L. 1988. Elevage larvaire et production de juvéniles estivaux d'ombre commun (*Thymallus thymallus* L.) avec un nourrissage exclusif à l'aliment sec. Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture, n° 311 : 103-12.

Carmie H., Morelet B., Maisse G., Jonard L., Cuinat R. 1985. Observations sur la reproduction artificielle de l'ombre commun (*Thymallus thymallus*). Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture, n° 296 : 2-16.

Chevassus B. Chourrout D. Jalabert B. 1979. Le contrôle de la reproduction chez les poissons. Les populations « monosexes ». Bulletin Français de la Pisciculture 274 : 18-31.

Chourrout D. 1982. La gynogenèse chez les vertébrés. Reproduction, Nutrition et Développement 22, n° 5 : 713-34.

Conover D.O. 1984. Adaptive significance of temperature-dependent sex determination in a fish. Am. Nat. 123(3) : 297-313.

Cotton S., Wedekind C. 2007. Control of introduced species using Trojan Sex chromosomes. Trends Ecol. Evol. 22 : 441–443.

Cousin-Gerber, M., Burger, G., Boisseau, C., Chevassus, B., 1989. Effect of methyltestosterone on sex differentiation and gonad morphogenesis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Aquat. Living Resour. 2, 225–230

Cuinat R. 1971. Écologie et repeuplement des cours d'eau à truites (Deuxième partie). Bulletin Français de Pisciculture, n° 243 : 69-90.

Demol T. 2011. Guide d'identification des poissons de Wallonie. Service Public de Wallonie, Direction générale opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources naturelles et de l'Environnement, Département de l'Etude du Milieu naturel et agricole, Série "Faune-Flore-Habitats", n° 6, Gembloux, 126 pp.

Devlin R.H., Nagahama Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: An overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture 208:191-364.

D'Hulstère O. 1975. Contribution à l'étude de la reproduction et de l'alevinage de l'ombre commun *Thymallus thymallus* (L.). Mém. Lic. Sci. Zool., Université de Liège, 101 pp.

D'Hulstère O., Philippart J.C. 1982. Observations sur le comportement d'éclosion et de post-éclosion chez l'ombre commun *Thymallus thymallus* (L.). Cahiers d'Ethologie Appliquée 2(1) : 63-80.

El-Greisy Z.A., El-Gamal A.E. 2012. Monosex production of tilapia, *Oreochromis niloticus* using different doses of 17a-methyltestosterone with respect to the degree of sex stability after one year of treatment. National Institute of Oceanography and Fisheries, Kaetbey, Alexandria, Egypt. Received 13 June 2012; accepted 6 August 2012. Available online 9 November 2012

FAO. 2018. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2018. Atteindre les objectifs de développement durable. Rome. Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Feist G., Schreck C.B., Gharrett A.J. 1996. Controlling the Sex of Salmonids. Oregon Sea Grant and WRAC publication (ORESU-H-96-001). ISBN 1-881826-10-4

Fontaine P., LE Bail P.-Y. 2004. Domestication et croissance chez les poissons. INRA Prod. Anim., 2004, 17 (3) : 217-225.

Gennotte V. 2014. Biologie de la reproduction et analyse du déterminisme et de la différenciation du sexe à des stades précoce chez le tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus*. Thèse doctorale Université de Liège, Liège, Belgique.

Gennotte V., Prignon C., Mélard C., Dierckx A., Benitez J., Ovidio M., Michaux J. Flamand M. 2015. Etude de la diversité génétique et de l'état des stocks des populations de barbeaux et de hotus en Wallonie. Amélioration des techniques d'élevage en vue de repeuplements raisonnés et de transferts de connaissances vers les pisciculteurs. Convention SPW DGO3 – FEP 32-1109-005

Guerrero, R.D. and Shelton, W.L. 1974. An aceto-cannine squash method for sexing juveniles fishes. Prog. Fish. Cult., 36: 56.

Guigen Y., Bertho S., Herpine A., Fostier A. 2019. CHAPTER 11. Sex determination and sex control in Salmonides. In. Sex control in Aquaculture. Vol 1. Eds : Wang M-P, Piferrer, Fan Clean S.L. Willey Blackwell.

Guillaume J., Kaushik S., Bergeot P. et Métailler R. 1999. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. Institut national de la recherche Agronomique (INRA, France).

Gutierrez J.B., Teem J. L. 2006. A model describing the effect of sex-reversed YY fish in an established wild population. The use of a Trojan Y chromosome to cause extinction of an introduced exotic species. J. Theor. Biol. 241 : 333–341.

Haugen T.O., T.A. Rygg. 1996. Intra- and Interspecific life history differences in sympatric Grayling and Brown Trout in a Norwegian Reservoir. Journal of Fish Biology 48, n° 5 : 964-78.

Hayes T.B. 1998. Sex détermination and primary sex differentiation in amphibians: Genetic and developmental mécanises. J Exp Zool 281:373-399.

Huet M. 1949. Aperçu de la relation entre la pente et les populations piscicoles des eaux courantes. Schweiz. Z. Hydrol. 11 : 332–351.

Hunter G.A., Donaldson, E.M. 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. AGRIS, 9, part B : 223-303.

Ingram A., Ibbotson A., et Gallagher M. 1999. The ecology and management of the European Grayling *Thymallus thymallus* (Linnaeus). Interim Report. Institute of Freshwater Ecology. United Kingdom.

Jalabert B., Billard R., Chevassus B. 1975. Preliminary experiment on sex control in trout : production of sterile fishes and simultaneous self fertilizable hermaphrodites. Anale de Biologie Animale, Biochimie Biophysique.

- Johnstone R. 1978.** Sex reversal in salmonid culture, Aquaculture 13 (2) : 115-134.
- Johnsson R., Simpson T.H., Youngson A.F. 1978.** Sex reversal in Salmonid culture. Aquaculture 13(2) :115-134.
- Kelley D.F. 1988b.** The importance of estuaries for sea-bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). J. Fish Biol. 33(Suppl.A) : 25-33.
- Kraiem M. et Pattee E., 1980.** La tolérance à la température et au déficit en oxygène chez le Barbeau (*Barbus barbus* L.) et d'autres espèces provenant des zones piscicoles voisines. Arch. Hydrobiol., 88 : 250-261.
- Lazard J. 2007.** Aquaculture et espèces introduites : exemple de la domestication ex situ des tilapias. Cahiers Agricultures vol. 16, n° 2, mars-avril 2007.
- Laffineur B., Delvingt W., Lamotte A., 2002.** Essai d'amélioration de la pisciculture de l'ombre commun *Thymallus thymallus* (L.). Les Cahiers forestiers de Gembloux 8 : 14 pp.
- Li M., Wang D. 2017.** Gene editing nucléase and its application in Tilapia. Science Bulletin 62 (3), 165-173.
- Maisse G., H. Carmie., et L. Jonard. 1987.** Influence de la température sur l'ovulation de l'ombre commun (*Thymallus thymallus*). Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture, n° 305 : 54-60.
- Mallet J.P., Lamouroux N., Sagnes P. et Persat H. 2000.** Habitat preferences of European grayling and brown trout in a medium size stream, the Ain river, France. J. Fish Biol. 56 : 1312–1326.
- Meyer L. 2001.** Spawning migration of grayling *Thymallus thymallus* (L.,1758) in a Northern German Lowland river. Arch. Hydrobiol. 152 : 99–117.
- Maitre D., Oliver M.S., Anshu U., Marques da Cunha, Wilkins L.G.E., Roux J., Mobley K.B., Diane Maitre1, Oliver M. Selmoni1,4, Anshu U.1., Marques da Cunha1 l., Wilkins G.E.L., Roux J., Mobley K.B., Castro1 I., Knörr S., Robinson-Rechavi M., Wedekind C. 2017.** Sex differentiation in grayling (Salmonidae) goes through an all-male stage and is delayed in genetic males who instead grow faster. Scientific Reports 7, n° 1 15024.
- Mank J.E., Avise J.C. 2009.** Evolutionary diversity and turn-over of sex determination in teleost fishes. Sex Dev 3 :60-67.

Matho C. 2014. Le grand livre de la Truite et des salmonidés. Edition CPE.

Mélard C., Ducarme, C. et Lasserre L.. 1989. Technologie de l'élevage intensif du Tilapia : reproduction- croissance- nutrition- production- pathologie- aspects économiques. Editeurs (Laboratoire de Démographie des poissons et de Pisciculture, CERER-Pisciculture). Tihange, Belgique. pp. 38.

Meynard N., 2007. Etat des lieux des populations d'ombre commun (*Thymallus thymallus*) en Meurthe-et-Moselle. Rapport Master 2. Université de Metz. 78 p.

Morin R. 2012. Production de salmonidés monosexes femelles et stériles.,Document d'information-DADD-13, ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation, 2012, 7 p.

Northcote T., 1995. Comparative biology and management of arctic and european grayling (*Thymallus thymallus*). Reviews in Fish Biology and Fisheries 5, 141-194.

Nzau Matondo B., Philippart J.C., Rimbaud G., Ovidio M. 2015. Ombre commun Thymallus Thymallus (Linnaeus, 1758). Fiche des poissons, Région wallonne, 11pp.

Ospina-Álvarez N. Piferrer F. 2008. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. PLoS One 3(7):e2837.

Ovidio M., Parkinson D., Sonny D., et Philippart J.C. 2004. Spawning movements of European grayling *Thymallus thymallus* in the River Aisne (Belgium). Folia Zoologica, 53(1) : 87-98.

Pandian T.J. and Sheela S. G., 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. Aquaculture138: 1-22.

Pandian, T.J. and Varadaraj, K. 1987. Techniques to regulate sex ratio and breeding in Tilapia. Current Sciences 56: 337-343

Parker G.A. 1992. The evolution of sexual size dimorphism in fish. J. Fish Biol. 14 : 1-20.

Parkinson D., Petit F., Perpinien G. et Philippart J.-C. 1999. Habitats de reproduction des poissons et processus géomorphologiques dans les rivières à fond caillouteux : essai de synthèse et applications à quelques rivières du bassin de la Meuse. Bull. Soc. Géog. Liège 36: 31–52.

Persat H. 1977. Écologie de l'ombre commun. Bull. Fr. Piscic. 266 : 11-20.

Persat H., 2013. Les poissons d'eau douce de France, l'Ombre commun. (Biotopee éd.). Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris).

Piferrer F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. Aquaculture 197 : 229–281.

Philippart J.C., Vranken M. 1983. - Animaux menacés en Wallonie. Protégeons nos poissons. Ed. Duculot. Région Wallonne, 206 p.

Philippart J.-C. 1989. Ecologie des populations de poisson et caractéristiques physiques et chimiques des rivières dans le bassin de la Meuse belge. Bulletin de la société géographique de liège.

Philippart J. C. 2007. L'érosion de la biodiversité : les poissons. Dossier scientifique. Rapport analytique 2006-2007 sur l'état de l'environnement wallon. Convention Région Wallone-Ulg (unité de Biologie du comportement)

Philippart J. C. et Ovidio M. 2007. Définition de bases biologiques et éco-hydrauliques pour la libre circulation des poissons dans les cours d'eau non navigables de Wallonie. Volume 3 Identification des priorités d'action d'après les critères biologiques et piscicoles. Convention d'études avec l'université de liège (VISA N°05/43388). Rapport final de synthèse pour la période 2005-2007.

Poncin P. 1996. La reproduction des poissons de nos rivières. Cahier d'éthologie 1993,13 : 317 342.

Régnier T., Labonne J., Chat J., Yano A., Guiguen Y., Bolliet V. 2015. No early gender effets on energetic status and life story in a salmonid. Royal Society Open Science, The Royal Society, 2(12) : 8p.

Reizer C., Schmidt G., Reizer I., Waltzing D. 1989. A propos d'une introduction réussie : l'ombre [thymallus thymallus (11758)] en haute semois. Ann. De Gembloux, 95, 39 - 53

Rougeot C. 2004. Etude des mécanismes génétiques, physiologiques et environnementaux impliqués dans le déterminisme du sexe chez la perche eurasienne *Perca fluviatilis*. Thèse doctorale. Université de liège /faculté des sciences/ département des sciences de la vie.

Rougeot C., Bruno J., Kestemont P., Mélard. C. 2002. Sex control and sex determinism study in Eurasian Perch, *Perca fluviatilis*, by use of hormonally sex-reversed male breeders. Aquaculture 211 (1-4) : 81-89.

Saillant E. 2000. Effets des conditions d'élevage sur la différenciation du sexe chez le bar *Dicentrarchus labrax*, caractérisation du dimorphisme sexuel de croissance. Thèse Doctorale Sciences Chimiques et Biologiques pour la Santé. Motion doctorale : Endocrinologie Cellulaire et Moléculaire

Simpson A.L. 1992. Differences in body size and lipid reserves between rnaturing and nonrnaturing Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. Can. J. Zool. 70 : 1737-1742.

Selmoni M.O., Maitre D., Roux J., Wilkins G. E., da Cunhal M., Vermeirssen L. M., Knörr M.R.R., Wedekind C. 2019. Sex-specific changes in gene expression in response to estrogen pollution around the onset of sex differentiation in grayling (Salmonidae). BMC Genomics (2019).

Sempeski P., Gaudin P., 1995. Etablissement de courbes de préférences d'habitat pour les frayères et les jeunes stades d'ombres communs (*Thymallus thymallus*). Bull. Fr. pêche piscic. 337/338/339, 277-282.

Shen Z. et Wang H.P. 2014. Molecular player involved in temperature-dépendent sex determination and sex differentiation in Teleost fish. Genetic Selection Evolution 46,426.

Spidle, A.P., Quirm, T.P., Bentzen, P., 1998. Sex-biased manne survival and growth Population of *coho salmon*. J. Fish Biol. 52 : 907-915.

Toguyeni A. 1996. La croissance différentielle liée au sexe chez le tilapia (Pisces : Cichlidae) *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) : Contribution des facteurs génétiques, nutritionnels, comportementaux, et recherche d'un relais endocrinien. Thèse de doctorat de l'Ecole Nationale Agronomique de Rennes, Université de Rennes 1.

Toguyeni A., Baroiller J.F., Fostier A., Lebailly P.Y., Kuhn E.R., Mol K.A., Fauconneau B. (1996a). Conséquences of food restriction on shortterm growth variation and on plasma circulating hormones in *Oreochromis niloticus* in relation to sex. Gen., Comp. Endocrinol. In press.

Toguyeni A., Fauconneau B., Boujard T., Fostier A., Kuhn E.R., Mol K.A., Baroiller J.F., 1997. Feeding behaviour and food utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus* : Effect of sex ratio and relationship with the endocrine status. *Physiol. Behav.* 62(2) : 273-279.

Vallee B., 2008. Etude préliminaire de la population de l'ombre commun, *Thymallus thymallus*, sur Le bassin du Haut-Allier. Rapport Master 1. Université de St Etienne. 43 p.

Vivier P. ,1958. L'ombre commun (*Thymallus thymallus* L.). Sa reproduction et son élevage. *Bulletin Français de Pisciculture*, n° 191 : 45-58.

Wang H.P., Shen. Z.-G. 2019. Sex control in Aquaculture : Concept to practice. The Ohio State South centers, piketon,Ohio USA. Collège of fisheries Huazhang AgricultrualUniversity, Wuhan, China.

Witkowski, A., Kowalewski M. 1988. Migration and structure of spawning population of the European grayling, *Thymallus thymallus* (L.) in the Dunajec basin. *Arch. Hydrobiol.* 112 (2), 279-297.

Yamamoto T. 1958. Artificial induction of functional sex-reversal in genotypic females of the medaka (*Oryzias latipes*). *J Exp Zool* 137 : 227-263.

Yamamoto T. 1969. Sex différentiation. In : *Fish Physiology*, vol. 3, pp. 117–175, Hoar W. S. and Randall D. J. (eds), Academic Press, New York.

Wedekind C., Evanno G., Ekely Jr.T., Pompini M., Darbellay O., Guthruf J. 2012. Persistent unequal sex ratio in population of Grayling (Salmonidae) and possible role of temperature increase. *Conserv. Biol* 27(1) : 229-234.

<https://www.aquaportal.com/definition-2334-dimorphisme-sexuel.html> consulté le 13/07/19 à 16h.