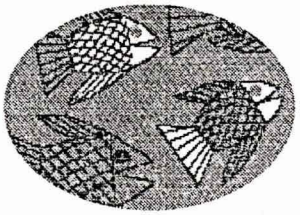
Ministère des Enseignements secondaire,
supérieur et de la Recherche scientifique
du Burkina Faso

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

Aboubacar TOGUYENI



CIRAD, département d'élevage et de médecine vétérinaire

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

---

Aboubacar TOGUYENI

CIRAD
Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement
Département d'élevage et de médecine vétérinaire (CIRAD-EMVT)
Unité de recherche Aquaculture (ABEL)
GAMET
BP 5095
34033 - Montpellier cedex 1, France

Ministère des Enseignements secondaire, supérieur et de la Recherche scientifique du Burkina Faso

INRA
Institut national de la recherche agronomique
Direction scientifique des productions animales
Département d'Hydrobiologie et de Faune sauvage
Laboratoire de Physiologie des poissons
Campus de Beaulieu
Avenue du Général Leclerc
35042- Rennes Cedex, France

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

Aboubacar TOGUYENI

CIRAD, département d'élevage et de médecine vétérinaire

Ce travail a fait l'objet d'une thèse présentée par l'auteur le 1er juillet 1996 devant le jury ci-dessous désigné à l'ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE AGRONOMIQUE DE RENNES pour obtenir le titre de Docteur de l'ENSAR, Option : **Biologie et Agronomie.** L'auteur a obtenu la mention "très honorable avec les félicitations du jury".
Ce travail a été réalisé sous la direction de Jean-François Baroiller, Responsable pour l'EMVT, de Benoît Fauconneau, d'Alexis Fostier et Pierre-Yves Le Bail du Laboratoire de Physiologie des Poissons de Rennes.

Membres du jury

MM.	J.Y. LE GALL	Président
	P. JEGO	Rapporteur
	E.R. KÜHN	Rapporteur
Mme	E.A. BURZAWA-GERARD	Examinateur
MM.	J.F. BAROILLER	Examinateur
	B. FAUCONNEAU	Examinateur

Tous droits de traduction, de reproduction par tous procédés,
de diffusion et de cession réservés pour tous pays

© CIRAD-EMVT 1996
© Aboubacar Toguyeni 1996

PRÉFACE

Ce travail de thèse s'intègre dans un vaste programme démarré depuis 1985 sur le contrôle de la reproduction chez le tilapia, mené en étroite collaboration par le CIRAD et l'INRA.

Compte tenu des caractéristiques biologiques des tilapias, de l'importance économique de ce groupe d'espèces pour l'aquaculture (3ème rang mondial avec environ 600 000 tonnes produites par an) et de l'enjeu qu'elles représentent pour le développement (ces espèces, d'origine africaine, sont largement répandues dans toute la ceinture tropicale et produites massivement dans certains pays de l'Asie du Sud-Est), trois grandes problématiques liées à la reproduction ont été considérées comme prioritaires par le CIRAD et l'INRA :

- le contrôle du sexe (thèse de J.F. Baroiller, 1988 et programme d'association CIRAD/EMVT-INRA actuel) ;
- les interactions entre cycle sexuel et comportement parental (thèse de P. Tacon, 1995) ;
- le dimorphisme de croissance lié au sexe (le présent travail).

Le caractère exemplaire de la collaboration menée entre le CIRAD/EMVT et l'INRA à l'occasion de ce dernier travail mérite d'être souligné. Initié par le CIRAD/EMVT (J.F. Baroiller), ce travail a conduit à la mise en place au Laboratoire de Physiologie des Poissons de l'INRA à Rennes, d'un "noyau dur" constitué de physiologistes de la reproduction (A. Fostier, INRA et J.F Baroiller, CIRAD/EMVT) et de physiologistes de la croissance (B. Fauconneau et P.Y. Le Bail, INRA) à l'occasion du DEA d'A. Toguyeni.

Autour de ce noyau ont été développées des collaborations avec des laboratoires français (T. Boujard et S. Kaushik du laboratoire de Nutrition des Poissons de l'INRA à St Pée sur Nivelle ; J. Lazard et M. Derivaz du laboratoire du GAMET-CIRAD/EMVT à Montpellier), belge (E.R. Kühn et K. Mol du laboratoire d'Endocrinologie Comparée de l'Université Catholique de Louvain), gallois (Prof.J.A. Heardmore), ivoirien (J. Nunez-Rodriguez de l'ORSTOM/Centre de Recherches Océanographiques d'Abidjan), philippins (R.D. Guerrero du PCAMRD à Los Banos, G.C. Mair et J. Abucay du Fresh Aquaculture Center/Central Luzon State University à Munoz).
Cette collaboration s'est appuyée sur des financements du CIRAD (ATP - action thématique programmée - et une partie importante du fonctionnement) et de l'INRA (une part de l'allocation de thèse).

Ce mémoire constitue donc à la fois un document de référence sur le dimorphisme de croissance lié au sexe (une caractéristique importante pour beaucoup d'espèces d'élevage) mais aussi un excellent reflet de cette collaboration entre le CIRAD et l'INRA en matière de recherches aquacoles.

B. Jalabert
Chef du Département d'Hydrobiogie
et Faune Sauvage
INRA

J. Lazard
Chef de l'Unité de Recherche
Aquaculture
CIRAD/EMVT

REMERCIEMENTS

Ce travail est le résultat d'une collaboration entre l'INRA, Département d'Hydrobiologie et de Faune sauvage et le CIRAD-EMVT, Unité de Recherche Aquaculture. Je tiens donc à remercier Mrs Bernard Jalabert et Jérôme Lazard pour avoir permis la réalisation de ce travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Physiologie des Poissons de l'INRA à Rennes et à la Station Piscicole de l'IDESSA à Bouaké.

Je voudrais remercier ici les directeurs successifs du laboratoire de Physiologie, Mrs Bernard Breton et Gérard Maisse, pour m'avoir accueilli et permis la réalisation de cette thèse.

Je voudrais également remercier le Professeur Jean-Yves Le Gall d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de cette thèse.

J'adresse aussi mes sincères remerciements aux Professeurs Patrick Jego et Edüard Kühn pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse.

Je remercie vivement Mme Elisabeth Burzawa-Gérard d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse

Toute ma gratitude va à Mr Jean-François Baroiller qui m'a permis d'entreprendre ces travaux de recherche et qui est à l'origine de cette thèse. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance pour tous les moyens humains et matériels qu'il a mis à ma disposition pour la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier très sincèrement Mr Benoît Fauconneau pour avoir accepté de diriger cette thèse. Ce travail que vous avez conduit avec compétence et précision est le couronnement de notre effort commun. Sincère gratitude.

Je voudrais également remercier très sincèrement Mrs Alexis Fostier et Pierre-Yves Le Bail, co-encadreurs de cette thèse, qui ont activement participé à toutes les étapes de cette thèse et pour leurs conseils. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma reconnaissance.

Ce travail est le fruit d'une collaboration fructueuse entre plusieurs instituts de recherche. Je tiens donc à remercier tous ceux qui ont participé activement à la réalisation de ce travail en particulier:
- Jésus-Rodriguez Nunez (ORSTOM) : Centre de Recherche Océanographique (CRO) d'Abidjan
- Pr Eduard Kühn et Koen Mol : laboratoire d'Endocrinologie Comparée de Leuven
- Tereso Abella et Graham Mair : Freshwater Aquaculture Center/Central Luzon State University (FAC/CLSU) et University College of Swansea (UCS)
- Sadasivam Kaushik et Thierry Boujard : Unité de Nutrition des Poissons (INRA) de St Pée-sur-Nivelle

Je tiens également à remercier très sincèrement tous ceux qui, de très près ou de loin, ont participé activement à la réalisation de ce travail, en particulier Chantal Mugnier, Gilles Paboeuf, Stéphane Bonnet, Florence Lefèvre, Frédéric Borel, Chantal Cauty, Martine Glady, Patrick Safranc (CIRAD), Brigitte Bournier, Martial Derivaz. Qu'ils trouvent ici toute l'expression de ma reconnaissance.

Que tout le personnel du laboratoire de Physiologie des Poissons trouve ici toute l'expression ma sincère gratitude pour leur accueil chaleureux.

Je dédie ce travail à « Feu » mon Père, à ma famille et à mon épouse Emma Djamila dont l'amour et la compréhension durant ces longues années de séparation ne m'ont jamais fait défaut.

Aboubacar TOGUYENI

Tables des abréviations

11β-OHΔ4	11β-hydroxyandrosténedione
11-KT	11-cétotestostérone
ANOVA	analyse de variance
ARN	acide ribonucléique
ATD	1,4,6-androstatriène-3, 17-dione
BSA	bovine serum albumin = albumine sérique bovine
CEP	coefficient d'efficacité protéique
CRE	coefficient de rétention énergétique
CRL	coefficient de rétention lipidique
CUP	coefficient d'utilisation protéique
CV	consommation volontaire
E2-17β	oestradiol-17β
F0	0% de femelle = cohorte 100% mâle
F100	100% femelle
F50	50% femelle = cohorte mixte (50% femelle et 50% mâle)
F75	75% femelle
FAC/CLSU-UCS	Freshwater Aquaculture Center/ Central Luzon State University-University College of Swansea
GDX	gonadectomie
GH	growth hormone = hormone de croissance
GHH	charge hypophysaire en GH
GHP	taux plasmatique de GH
GIFT	Genetic Improvment of Farmed Tilapia
HC	heavy chain = chaîne lourde
HPLC	high pressure liquid chromatography = chromatographie liquide à haute pression
IC	indice de consommation
IGF-I	insulin-like growth factor I = somatomédine C
IRD	inner ring deiodinase
K	coefficient de condition
LC(1, 2, 3)f	light chain (1,2,3) fast = chaîne légère (1,2,3) de type rapide
LC1s	light chain 1 slow = chaîne légère de type lent
NRS	normal rabbit serum = sérum normal de lapin
ORD	outer ring deiodinase
RGS	rapport gonado-somatique
RHS	rapport hépato-somatique
RIA	radioimmunoassay = dosage radio-immunologique
SEM	erreur standard à la moyenne
SMAL	sérum de mouton anti-lapin
T	testostérone
T3	triiodo-L-thyronine
T4	tétraiodo-L-thyronine
TAC	truite arc-en-ciel
TAMOXIFENE	trans-1-(ρ-β-dimethylaminoethoxyphenyl-1-2-diphenylbut-1-ene
TCS	taux de croissance spécifique
TESPA	3-aminopropyltriethoxy-silane

Tableau récapitulatif des différentes expériences en fonction des lieux de réalisation.

Numéro expérience	Intitulé expérience	Lieu de réalisation	Chapitre
I	Prospection phase précoce	Bouaké (Côte d'Ivoire)	III
II	Période d 'apparition	Bouaké	III
III	Comportement alimentaire	St Pée-sur-Nivelle (France)	V
IV	Effet des interactions sociales	Munoz (Philippines)	VI
V	Effet du génotype	Munoz	VII
VI	Endocrinologie de la croissance	Rennes (France)	VIII
VII	Implants stéroïdes	Rennes	VIII
VIII	Implant ATD	Rennes	VIII
IX	Implant ATD + tamoxifène	Rennes	VIII

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES 2

1. BIOLOGIE ET AQUACULTURE DU TILAPIA 2
2. CONTROLE DE LA REPRODUCTION CHEZ LE TILAPIA 3
3. CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE 6
   3.1. Origine génétique de la croissance différentielle liée au sexe 6
   3.2. Rôle du comportement reproducteur et des interactions sociales dans la croissance différentielle liée au sexe 7
   3.3. Rôle des dépenses énergétiques 8
   3.4. Facteurs endocriniens susceptibles d'être impliqués dans la croissance différentielle liée au sexe 9

OBJECTIFS DE CE TRAVAIL 14

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES 15

1. ANIMAUX 15
2. CONDITIONS D'ELEVAGE 15
3. LES TECHNIQUES DE MARQUAGE 16
4. LES TECHNIQUES CHIRURGICALES 18
5. PRELEVEMENTS 19
6. TECHNIQUES IN VITRO 20
7. COMPOSITION CHIMIQUE CORPORELLE 21
8. ANALYSES BIOCHIMIQUES 23
9. HISTOLOGIE CLASSIQUE ET HISTOIMMUNOLOGIE 26
10. DOSAGES PAR RADIO-IMMUNOLOGIE 27
11. ESSAIS DE DOSAGES RADIORECEPTEURS DE LA GH 30
12. DOSAGE IMMUNOENZYMATIQUE (ELISA) DE LA VITELLOGENINE 31
13. DOSAGES ENZYMATIQUES: LES DESIODINASES 32
14. ANALYSE DU Sr PAR SPECTROPHOTOMETRIE DE FLAMME 34
15. TECHNIQUES D'ANALYSE D'IMAGES: ANALYSE DE LA CONFORMATION EXTERNE 35
16. CALCULS 35
17. ANALYSES STATISTIQUES DES RESULTATS 36

CHAPITRE III : MISE EN PLACE DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE EN RELATION AVEC L'EVOLUTION DU STATUT ENDOCRINIEN 37

1. INTRODUCTION 37
2- PROTOCOLE EXPERIMENTAL 38
   2.1. Expérimentation I 38
   2.2. Expérimentation II 39
3. RESULTATS 41
   3.1. Difficultés méthodologiques 41

3.2. Expérimentation I 42
3.3. Expérimentation II 45
4. DISCUSSION **47**
4.1. Contraintes et limites méthodologiques 47
4.2. Performances globales 48
4.3. Période d'apparition de la différence de croissance liée au sexe 52
4.4. Déterminisme endocrinien de la différence de croissance liée au sexe 53
5. CONCLUSION **55**

CHAPITRE IV : CARACTERISATION DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE 57

1. INTRODUCTION **57**
2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL **58**
3. RESULTATS **60**
4. DISCUSSION **62**
4.1. Analyses de la conformation globale et structure musculaire 62
4.2. Estimation de la croissance instantanée 64
5. CONCLUSION **66**

CHAPITRE V : COMPORTEMENT ALIMENTAIRE ET EFFICACITE ALIMENTAIRE EN RELATION AVEC LE SEXE 67

1. INTRODUCTION **67**
2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL **68**
3. RESULTATS **70**
4. DISCUSSION **72**
4.1. Comportement alimentaire 72
4.2. Alimentation à volonté et performances de croissance 73
4.3. Performances de croissance et capacités d'utilisation des nutriments 74
4.3. Relations croissance et statut endocrinien 74
5. CONCLUSION **77**

CHAPITRE VI : ANALYSE DE L'INFLUENCE DES INTERACTIONS SOCIALES SUR LA CROISSANCE 78

1. INTRODUCTION **79**
2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL **80**
3. RESULTATS **81**
4. DISCUSSION **82**
4.1. Contraintes méthodologiques et limites des interprétations 82
4.2. Influence des interactions sociales sur le comportement alimentaire 83
4.3. Influence des interactions sociales liées au sex-ratio sur la croissance 84
4.4. Influence des interactions sociales sur la croissance differentielle liée au sexe 85
5. CONCLUSION **87**

CHAPITRE VII : ANALYSE DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE EN RELATION AVEC LES FACTEURS GENETIQUES **88**

1. INTRODUCTION **88**
2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL **89**
3. RESULTATS **90**
4. DISCUSSION **91**
4.1. Contraintes et limites des analyses 91
4.2. Les performances de croissance des différents groupes 92
4.3. Croissance des mâles et des femelles en relation avec le génotype 94
5. CONCLUSION **95**

CHAPITRE VIII : RECHERCHE DE RELAIS ENDOCRINIENS DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE **96**

1. INTRODUCTION **96**
2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL **97**
2.1. Expérience VI 97
2.2. Expérience VII 98
2.3. Expérience VIII 99
2.4. Expérience IX 100
3. RESULTATS **101**
3.1. Expérience VI 101
3.2. Expérience VII 102
3.3. Expérience VIII 105
3.4. Expérience IX 106
5. DISCUSSION **106**
5.1. Relais endocriniens potentiels de la croissance différentielle liée au sexe 106
4.2. Relations entre les hormones thyroïdiennes et les stéroïdes sexuels : impacts sur la croissance différentielle entre les mâles et les femelles 110
4.3. Rôles potentiels de l'oestradiol-17β dans la croissance différentielle liée au sexe 114
5. CONCLUSION **115**

DISCUSSION GENERALE **116**

1. BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DU TILAPIA **117**
2. MISE EN PLACE DE METHODOLOGIES POUR L'ETUDE DE LA DIFFERENCE DE CROISSANCE **118**
3. APPARITION DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE **120**
4. FACTEURS IMPLIQUES DANS LE DETERMINIME DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE **122**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE **127**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES **130**

INTRODUCTION GENERALE

Les tilapias et en particulier les espèces du genre *Oreochromis* constituent les principales espèces tropicales utilisées en aquaculture dans les pays d'Afrique et d'Asie. Ces poissons possèdent en effet l'essentiel des caractéristiques d'un bon poisson d'élevage : reproduction facile en captivité et pontes étalées sur toute l'année, bonnes potentialités de croissance, peu de problème pathologique. Paradoxalement, l'expansion de leur élevage est freinée par leur maturité sexuelle très précoce qui, associée à la grande efficacité de leur reproduction (ponte mensuelle, soins parentaux aux oeufs et aux alevins), conduit en milieu fermé à une surpopulation, et, en situation de compétition alimentaire, au nanisme (Eyeson, 1983). L'élevage de populations monosexes est l'une des solutions actuellement accessibles pour empêcher toute reproduction dans les structures de grossissement.

Chez les tilapias, un différentiel de croissance lié au sexe apparaît très rapidement en élevage, les mâles ayant de meilleures performances de croissance que les femelles. Ceci a incité, pour une bonne rentabilité des exploitations aquacoles, à préférer l'élevage de cohortes monosexes mâles produites soit par sexage manuel, soit par hybridation, ou enfin par inversion hormonale du sexe.

La différence de croissance entre les mâles et les femelles n'a pas été caractérisée, notamment du point de vue physiologique. La période d'apparition de cette différence de croissance liée au sexe n'est pas précisément identifiée, en particulier par rapport à des étapes essentielles du développement telle que l'ontogenèse gonadique et la maturation sexuelle. Les mécanismes qui sous-tendent cette différence de croissance ne sont pas connus. Seules quelques hypothèses ont été émises : effets anabolisants des androgènes chez les mâles, coûts énergétiques importants pour la production des ovules et l'incubation buccale des oeufs et des alevins chez les femelles.

L'objectif de ce travail est de caractériser la différence de croissance liée au sexe chez un tilapia, *Oreochromis niloticus*, du point de vue d'une part de sa période d'apparition et de son amplitude, et d'autre part des facteurs et des mécanismes physiologiques susceptibles d'être impliqués dans son déterminisme. Ce travail fera l'objet d'un rappel bibliographique des principales caractéristiques biologiques de l'espèce et des différentes hypothèses émises jusqu'ici pour expliquer la différence de croissance entre sexes.

CHAPITRE I
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Biologie et aquaculture du tilapia

Les tilapias constituent la sous-famille des Tilapiinae, appartenant à la famille des Cichlidae et à l'ordre des Perciformes. Cette famille des Cichlidae est composée de plus de 1200 espèces, originaires des eaux douces et saumâtres d'Afrique et introduites principalement en Asie, en Amérique Centrale et Latine (figure 1). La sous-famille des Tilapiinae compte plus de 70 espèces appartenant à 10 genres (Trewavas, 1982; 1983) dont principalement les genres (planche I) *Oreochromis, Sarotherodon* (incubateurs buccaux avec soins parentaux soit exclusivement femelle ou mâle, soit mâle et femelle) et les *Tilapia* (pondeurs sur substrat)(cf. tableau I).

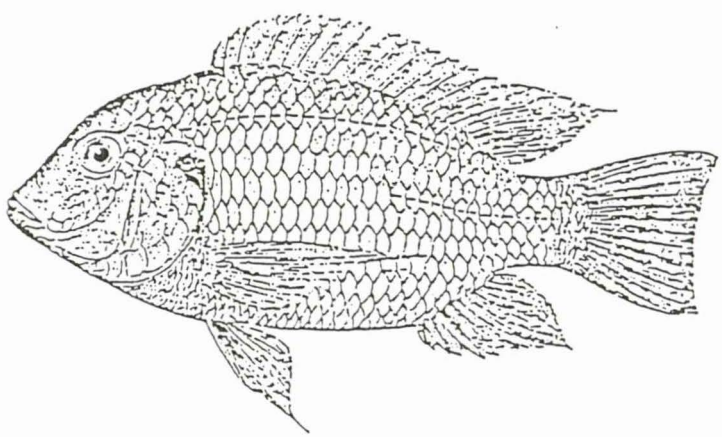
La production des tilapias occupe aujourd'hui le 3ème rang mondial après la carpe et le milkfish (Lazard *et al.*, 1991). Bien qu'originaires d'Afrique, la principale zone d'élevage des tilapias est l'Asie (Tableau II). La production mondiale est estimée à environ 500 000 tonnes par an et son taux de progression est parmi les plus élevés (Lazard, 1990). L'importance de cette production est liée à certaines caractéristiques de la biologie des tilapias :

* grande biodiversité : existence d'un grand nombre d'espèces
* grande facilité de reproduction, même en milieu fermé, sans équipement complexe ni induction hormonale de ponte
* facilité d'adaptation à divers milieux (y compris le milieu saumâtre et marin; tableau III) et à l'alimentation artificielle, bien que son régime naturel soit celui d'un microphage.
* grande résistance aux faibles taux d'oxygène (Magid et Babiker, 1975; Mélard et Philippart, 1981; Tableau III), aux manipulations fréquentes, et possibilité d'élevage dans divers systèmes sans infrastructures très onéreuses (étangs en terre, cages flottantes ou de type hapa, enclos).
* grande résistance aux maladies : très peu de problèmes pathologiques
* bonne qualité alimentaire et organoleptique, et aptitude à la conservation par séchage, salage et fumage.

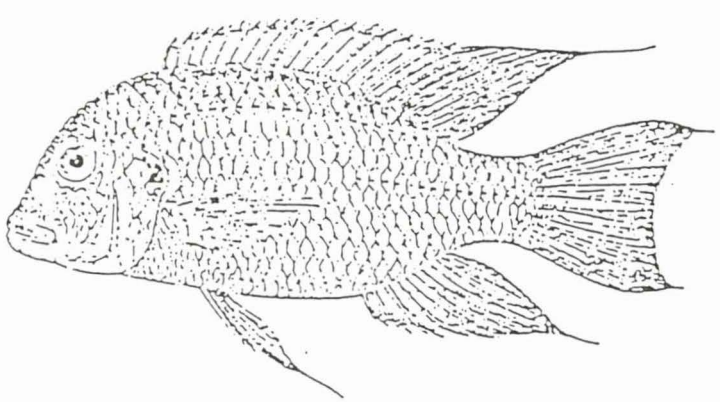
Cependant, la grande facilité de reproduction des tilapias conduit très rapidement, en milieu fermé, à des problèmes de surpopulation, et en situation de compétition alimentaire au nanisme (faible croissance individuelle; Hickling, 1960; Mc Bay, 1961; Arrignon, 1969; Loya et Fishelson, 1969; Hyder, 1970; Eyesson, 1983; Lazard, 1984). Le contrôle de cette reproduction est donc apparu comme une nécessité.

Figure 1 : Aire de répartition originelle des deux principales espèces de tilapia utilisées en aquaculture (*Oreochromis niloticus* bande horizontale et *Oreochromis aureus* bande verticale) et principales zones d'introduction des tilapias dans le monde (●).

Oreochromis niloticus (Linné 1757)



Sarotherodon melanotheron (Rüppel 1852)



Tilapia guineensis (Bleeker 1862)

Planche I : Présentation des trois genres de tilapias selon la classification de Trewavas (1983).

Tableau I: Caractéristiques de la reproductiondes tilapias et principales espèces

Genre	**Mode de reproduction**	**Espèces**
Tilapia	pondeurs sur substrat (garde du nid) et ventilation des oeufs	*T. zillii* *T. rendalli*
Oreochromis	incubateurs buccaux avec soin maternels	*O. niloticus* *O. mossambicus* *O. aureus*
Sarotherodon	incubateurs buccaux avec soin paternel ou bi-parental	*S. galilaeus* *S. melanotheron*

Tableau II : Production aquacole mondiale de Tilapia, en tonnes (FAO, 1991)

	1984	**1985**	**1986**	**1988**	**1989**
Afrique Subsaharienne	4554	6408	6714	7806	14 449
Asie	158 470	186941	221155	232114	
Caraïbes	14427	15771	16037	15719	
Amérique Latine	1940	2262	3101	3861	
Maghreb et Moyen Orient	33497	34701	33490	62349	
Autres	32	194	265	376	
Totaux	212920	246277	280762	322225	

Tableau III : Comparaison de la tolérance de 3 espèces d'élevage par rapport aux paramètres physico-chimiques classiques du milieu

	Truite commune	**Carpe**	***Oreochromis niloticus***
O_2 dissous minimum (mg/l)	5 - 5,5	0,7	0,1
pH	5 - 9,5	5 - 9	6,4 - 11
température (°C)	1 - 20	1 - 32	8 - 42
salinité	5 - 35 ppm	5 ppm	15 - 35 ppm

2. Contrôle de la reproduction chez le tilapia

L'efficacité de la reproduction des tilapias repose essentiellement sur quatre caractéristiques physiologiques ou éthologiques:

1) une maturité sexuelle très précoce dès 20 g (8 cm) pour *Oreochromis niloticus* (Baroiller, comm. Pers.) et 3,8 cm chez *Sarotherodon melanotheron* (Eyeson, 1983)

2) une reproduction non saisonnière avec des pontes étalées sur toute l'année (Lowe-Mc-Connell, 1959; Mc Bay, 1961; Bruton et Bolt, 1975; Ruwet *et al.*, 1976; Philippart et Ruwet, 1982).

3) une ponte effectuée par dépôts successifs de petits paquets d'ovules dans un nid creusé par le mâle, chaque groupe d'ovules étant immédiatement fécondé par celui-ci.

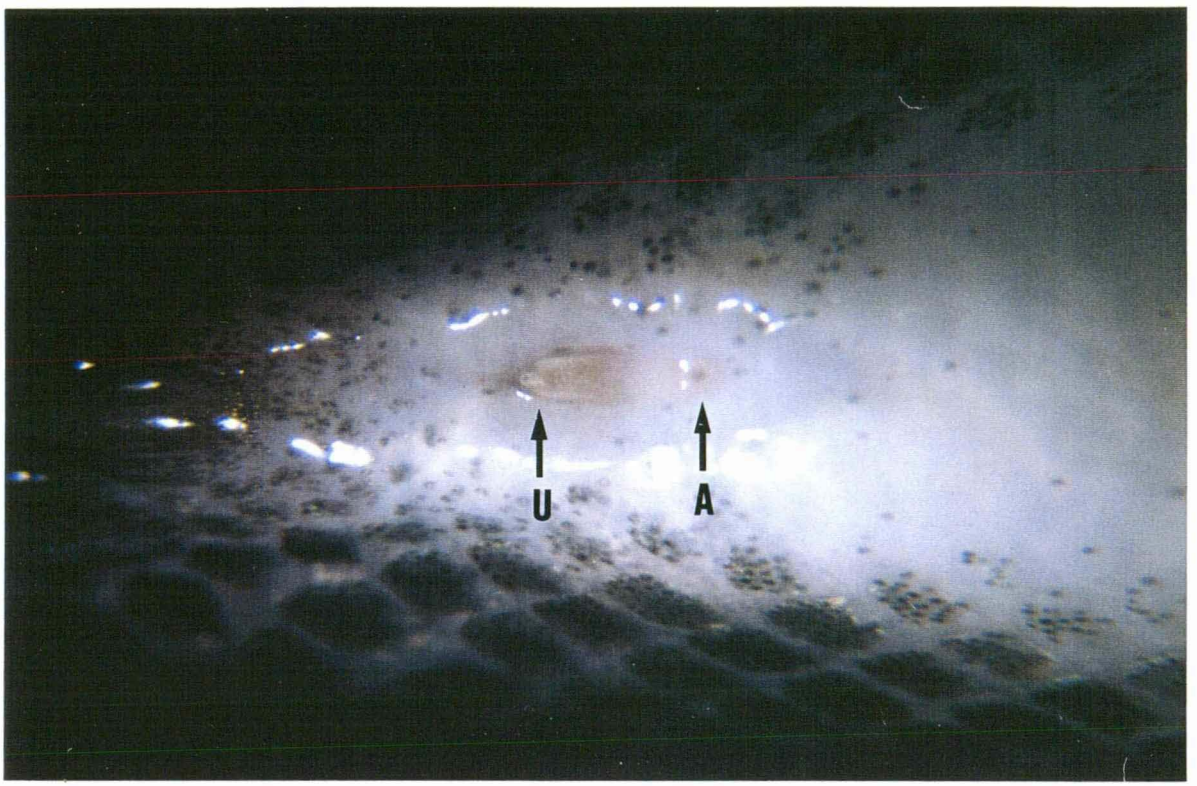
4) des soins parentaux apportés aux oeufs par une ventilation (genre *Tilapia*) ou par incubation buccale (genres *Oreochromis* et *Sarotherodon*) dès la fécondation, généralement dans une zone protégée et riche en végétation (Rothbard, 1979; Mc Bay, 1961; Fishelson, 1966; Arrignon, 1969; Ruwet *et al.*, 1983), une défense du nid et un maintien des soins parentaux aux alevins après l'éclosion (Ruwet, 1962; Ruwet *et al.*, 1976; Perrone et Zaret, 1979; Owusu-Frimpong, 1987).

Si l'efficacité de cette reproduction a permis le développement de leur aquaculture, le contrôle et la maîtrise de celle-ci sont apparus comme une condition *sine qua non* pour atteindre une rentabilité acceptable pour les entreprises aquacoles. Différentes solutions sont actuellement utilisées:

1) L'élevage mixte tilapia-prédateurs. Il s'agit d'élever des tilapias en association avec des prédateurs (*Hemichromis fasciatus, Lates niloticus, Clarias gariepinus*) qui consomment les alevins produits (Lazard et Oswald, 1995). Ce système nécessite un élevage par classe d'âge et donc un nombre plus important d'infrastructures. En outre, le *Lates* peut devenir, également très vite, un véritable prédateur pour les animaux de taille marchande et quant au *Clarias,* il entre en concurrence avec les tilapias pour l'aliment et occasionne des dégâts en étang de terre en creusant le fond et les digues. L'*Hemichromis* devient inefficace dès que les alevins atteignent le stade fingerling.

2) le sexage précoce basé sur le dimorphisme sexuel de la papille urogénitale (Huet, 1972, Balarin, 1979; planche II). Cette méthode n'est cependant réalisable que sur des individus de 30 à 50g chez *Oreochromis niloticus* (Lazard, 1980; Mélard, 1986), ce qui impose l'élevage de l'ensemble de la cohorte jusqu'à cette taille. L'élevage des femelles (soit environ 50% du groupe), jusqu'à ce stade de sexage, a non seulement immobilisé initialement

a



b

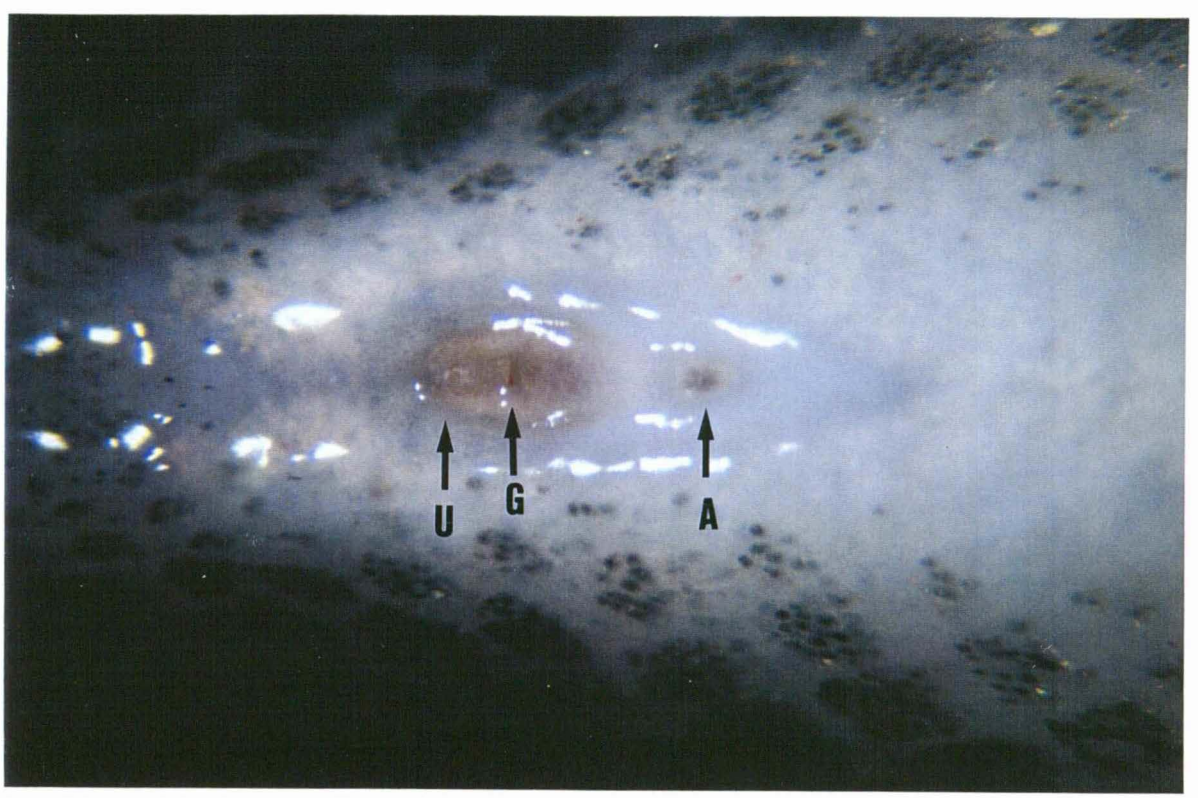


Planche II : Dimorphisme sexuel de la papille uro-génitale entre un mâle de 24 g (a) et une femelle de 20 g (b) chez *Oreochromis niloticus*. La papille femelle est caractérisée par la présence d'une fente tranversale (orifice génital) entre l'anus et l'orifice urinaire.
Chez le mâle : A = anus ; U = orifice uro-génital. Grossissement = 75 x.
Chez la femelle : A anus ; U = orifice urinaire ; G = orifice génital. Grossissement = 33 x.
(Photo Toguyéni et Baroiller)

une partie des infrastructures d'élevage, mais aussi contribué à la moitié du coût d'alimentation. Cette technique de sexage requiert de la main d'oeuvre qualifiée et du temps, avec des risques d'erreurs estimés à environ 2,7 à 10% (Lazard, 1980; Chervinski et Rothbard, 1982). De plus, à cette taille, les femelles les plus avancées dans leur développement gonadique sont déjà matures (première reproduction éventuellement déjà réalisée). La présence de quelques femelles gardées accidentellement peut en quelques mois entraîner une surpopulation dans les bassins d'élevage.

3) L'hybridation entre certaines espèces de tilapia, peut conduire à la production de cohortes monosexes mâles. Théoriquement, le déterminisme du sexe chez le tilapia est de type monofactoriel. Les espèces de tilapia sont divisées en deux groupes, celles à homogamétie mâle ZZ (type oiseau; *Oreochromis aureus*, *Oreochromis hornorum*, *Oreochromis machrochir*) et celles à homogamétie femelle XX (type mammifère; *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus*)(Chen, 1969; Jalabert *et al.*, 1971). Le premier croisement réalisé entre deux espèces différentes de tilapia, *Oreochromis mossambicus* femelle et *Oreochromis hornorum* mâle, a fourni 100% de mâles (Hickling, 1960). Cependant, l'aspect de cet hybride est peu apprécié des consommateurs (coloration très foncée) et sa croissance est faible. Beaucoup d'autres hybridations ont été réalisées depuis lors. Malheureusement, ces croisements ne fournissent pas systématiquement 100% d'individus mâles (80-90% entre *Oreochromis niloticus* femelle et *Oreochromis aureus* mâle; Mires, 1977); de plus, les taux de croissance observés sont en général intermédiaires entre ceux des deux parents, et de faibles taux de reproduction, probablement liés à des incompatibilités partielles entre les espèces parentales, sont constatés. A cela s'ajoute le délicat entretien en station de lignées « pures » de géniteurs indispensables à l'obtention des hybrides. Cette technique n'est donc pratiquement plus utilisée à l'échelle commerciale pour la production de cohortes monosexes mâles. Toutefois, elle continue d'être utilisée en Israël pour bénéficier de la meilleure résistance aux basses températures d'*Oreochromis aureus*, mais les hybrides sont en général masculinisés par des traitement hormonaux.

4) La production de cohortes monosexes mâles par des traitements hormonaux. Les traitements, couvrant toute la période de différenciation sexuelle, avec des stéroïdes sexuels incorporés dans l'aliment, ou par balnéation des alevins peu de temps après l'éclosion (5 à 6 jours), permet la production de cohortes monosexes mâles (Guerrero, 1982; Hunter et Donaldson, 1983; Pandian et Varadaraj, 1987). Cette technique implique le traitement systématique de chaque nouvelle cohorte d'alevins. En outre, l'efficacité du traitement est très

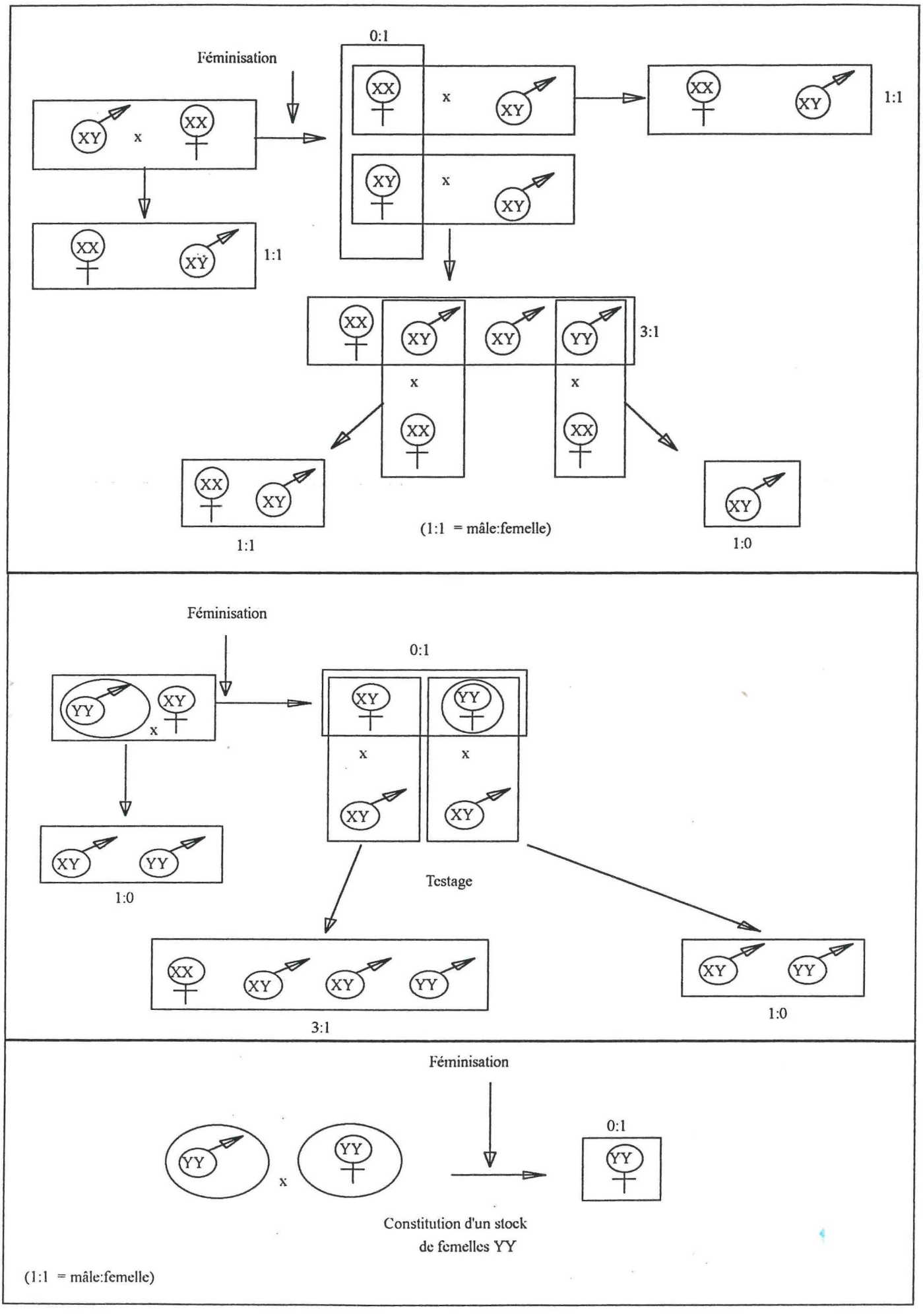


Figure 2 : Production de mâles et de femelles YY chez les espèces de tilapia à homogamétie femelle (Baroiller, 1988)

dépendante du stade de développement des alevins, ce qui peut constituer un handicap majeur vue l'absence de synchronisation des pontes chez le Tilapia. Bien qu'utilisée avec succès dans certains pays (Israël, Philippines, Taiwan), elle reste interdite dans d'autres (France, Angleterre) en particulier pour des raisons de méconnaissance du devenir des produits de dégradation des stéroïdes artificiels, et de leur effet sur l'environnement. Plus récemment, des techniques basées sur l'utilisation de stéroïdes naturels ont été mises au point (Baroiller et Toguyéni, 1995; Baroiller *et al.*, 1996).

5) La production de cohortes monosexes mâles par croisement d'individus homozygotes. Elle est basée sur la production de géniteurs mâles et femelles homogamétiques dans leur génotype sexuel. Chez *Oreochromis aureus*, des néo-femelles (mâles génétiques de phénotype femelle) ZZ sont obtenues par une féminisation fonctionnelle d'alevins à l'aide d'un traitement hormonal couvrant toute la période de différenciation sexuelle. Un testage des descendances (analyse du sex-ratio des descendances individuelles) permet d'identifier les femelles ZZ (descendances monosexes mâles) des femelles classiques ZW (Shelton *et al.*, 1978; Mélard, 1995; Lahav, 1993). Chez *Oreochromis niloticus*, une telle approche est plus complexe du fait de l'hétérogamétie mâle XY. Des néofemelles XY sont d'abord obtenues par féminisation et testage. Leurs descendances présentent un sex-ratio de type 3/1 (mâle/femelle) et parmi les descendances mâles figurent des mâles classiques XY et des mâles YY (figure 2; Baroiller, 1988; Scott *et al.*, 1989). Les mâles YY croisés avec des femelles classiques de génotype XX ou des femelles YY produisent théoriquement 100% d'individus mâles XY ou YY. Cette technique jusqu'alors expérimentale, est en cours de testage en milieu aquacole (Philippines); toutefois son application dans les pisciculture pourrait rencontrer les mêmes difficultés que l'hybridation, un lent retour vers un sex-ratio classique (Desprez *et al.*, 1995). De plus, le déterminisme génétique du sexe est complexe chez le tilapia et ne peut être simplement expliqué par la théorie monofactorielle. En effet, des pourcentages variables de femelles inattendues sont souvent observés dans les descendances de géniteurs YY (Scott *et al.*, 1989). Ces déviations par rapport aux pourcentages théoriques sont partiellement expliquées par l'existence d'un déterminisme environnemental du sexe, mis récemment en évidence chez *Oreochromis niloticus* et chez le tilapia rouge (Baroiller *et al.*, 1995a, b; 1996).

Une autre solution permettant de contrôler la reproduction est la production d'individus stériles. Cette technique, réalisée jusqu'ici par deux approches, l'une stéroïdienne par l'utilisation de doses massives d'androgènes, et l'autre génétique par la polyploïdisation (individus 3n), n'a pas encore donné de résultats satisfaisants. L'auto-immunisation contre les

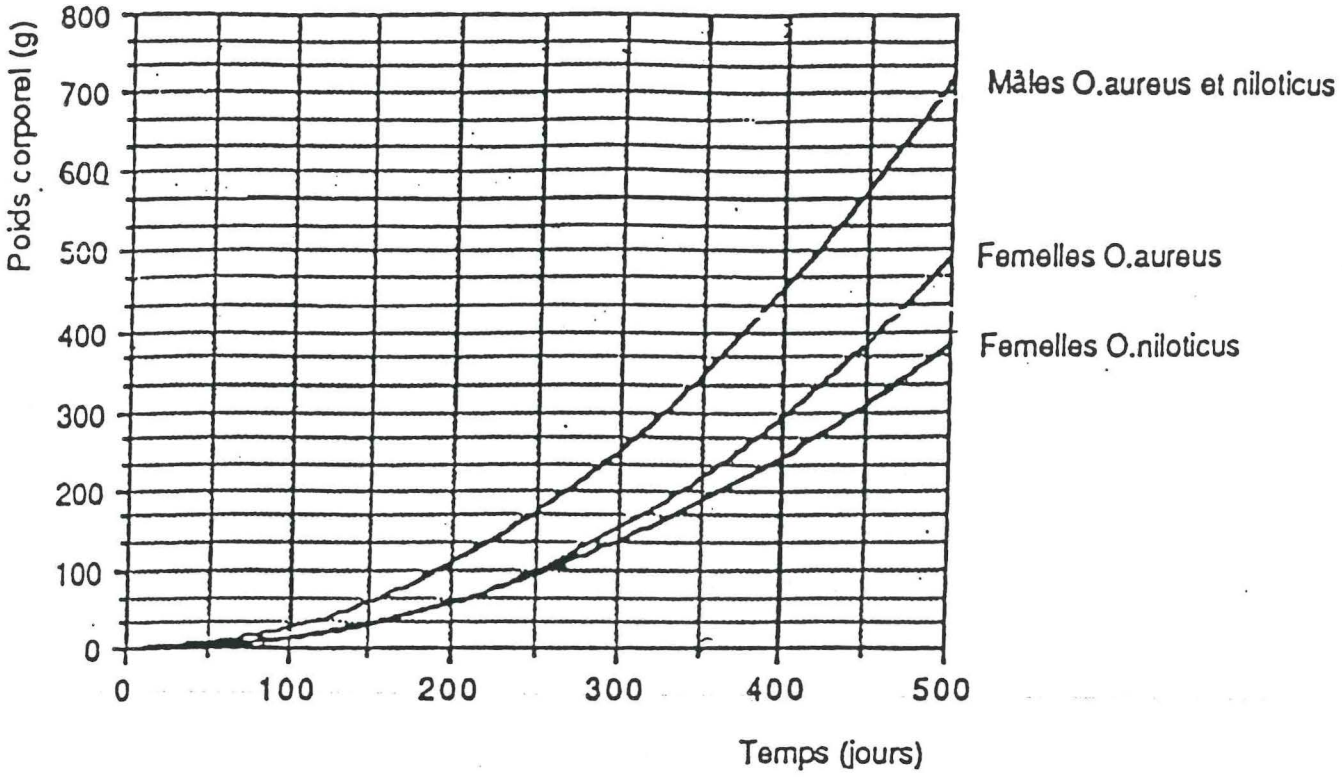


Figure 3 : Différentiel de croissance entre mâles et femelles chez *Oreochromis niloticus* et *O. aureus*. (Mélard *et al.*, 1989).

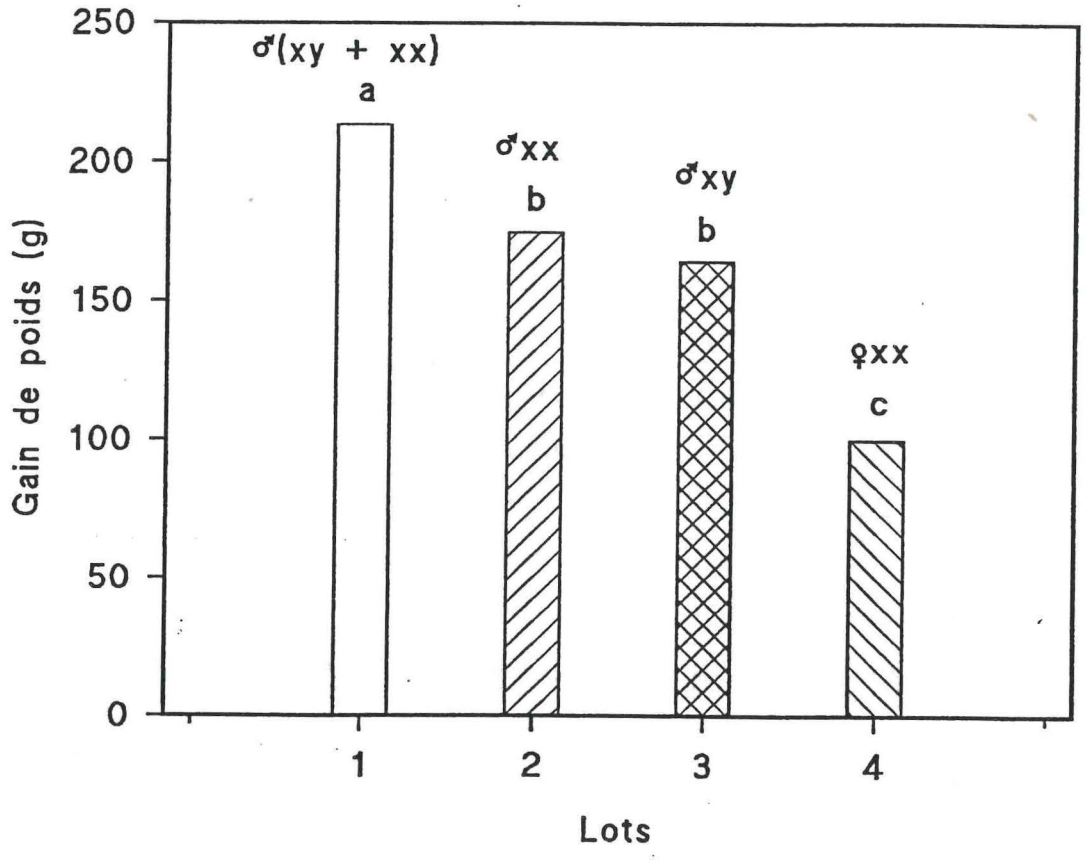


Figure 4 : Comparaison du gain de poids (g) et du taux de conversion alimentaire de groupes monosexes en étangs. (Hanson *et al.*, 1983). Lots 1 et 2 : traitement aux androgènes; lots 3 et 4 : non traités

1 : *O. niloticus* (génotype mâle et femelle, phénotype mâle)
2 : *O. niloticus* (génotype femelle, phénotype mâle)
3 : *O. niloticus* (génotype mâle, phénotype mâle)
4 : *O. niloticus* (génotype femelle, phénotype femelle)

cellules germinales pourrait être également envisagée. Il apparaît également opportun d'étudier plus spécifiquement le déterminisme de la différence de croissance entre les mâles et les femelles, avec l'espoir de pouvoir intervenir sur les facteurs impliqués dans ce déterminisme.

3. Croissance différentielle liée au sexe

Les performances de croissance des mâles sont supérieures à celles des femelles dans les différentes espèces de tilapia (Pruginin, 1967; Shell, 1967; Hickling, 1968; Lazard, 1980; Bondari, 1982; Hanson *et al.*, 1983; Legendre, 1986; Bolivar *et al.*, 1993; Palada-de-Vera et Eknath, 1993). A titre d'exemple, chez *Oreochromis niloticus* et *Oreochromis aureus*, après 175 jours d'élevage, la longueur et le poids des mâles sont respectivement environ 1,25 et 1,67 fois supérieurs à ceux des femelles (figure 3; Mélard *et al.*, 1989).

Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer cette croissance différentielle entre mâles et femelles. Une première hypothèse suggère une origine génétique liée aux chromosomes sexuels, une deuxième l'attribue au comportement reproducteur des femelles, une autre à un coût énergétique de reproduction plus important chez les femelles et une dernière à une différence de statut hormonal, conduisant notamment à un effet anabolisant des androgènes chez les mâles. Ces différentes hypothèses attribuent donc le différentiel de croissance à des régulations soit positive chez le mâle, soit négative chez la femelle.

3.1. Origine génétique de la croissance différentielle liée au sexe

Les meilleures performances de croissance des mâles par rapport aux femelles peuvent présenter une base génétique. Hanson *et al.* (1983) montrent en effet que la croissance des femelles XX, inversées en mâles par la 17α-méthyltestostérone (figure 4, lot 2), est inférieure à celle des animaux issus d'un croisement classique (mâle XY et femelle XX) traités dans les mêmes conditions (figure 4, lot 1). Le différentiel de croissance observé résulterait donc d'une croissance supérieure des mâles sous l'effet d'un facteur lié au chromosome sexuel Y et/ou aux autosomes qui interviennent dans le déterminisme du sexe. Toutefois, le protocole expérimental ne précise pas si les différentes cohortes sont issues d'une même femelle, car les différences observées pourraient être liées à des effets maternels.

Cependant la croissance de ces néomâles (mâles XX) est similaire à celle des mâles classiques non traités (mâles XY, figure 4, lot 3) et supérieure à celle des femelles classiques non traitées (femelles XX, figure 4, lot 4). Les effets observés dans cette expérience résultent peut être alors des interactions de l'effet du génotype et de celui des androgènes.

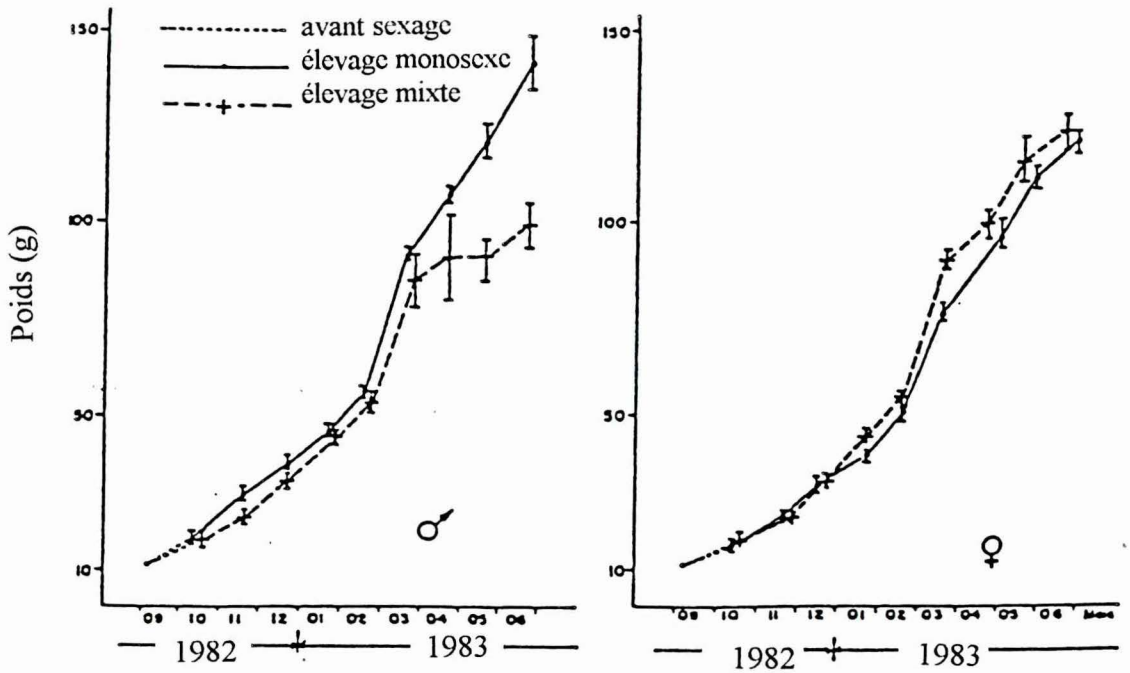


Figure 5 : Croissance pondérale des mâles et des femelles de *Sarotherodon melanotheron* en élevage mixte et en élevage monosexe. Les barres verticales représentent les écarts entre réplicats (Legendre, 1986).

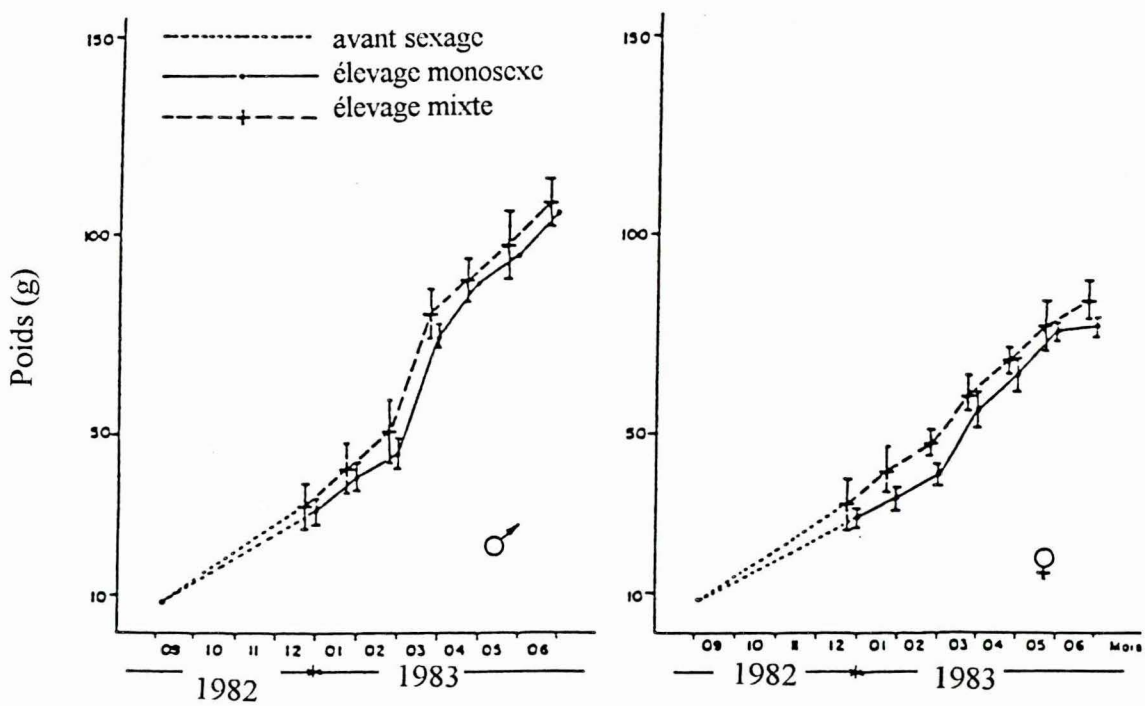


Figure 6 : Croissance pondérale des mâles et des femelles de *Tilapia guineensis* en élevage mixte et en élevage monosexe. Les barres verticales représentent les écarts entre réplicats (Legendre, 1986).

L'amplitude de la différence de croissance entre les mâles et les femelles varie selon l'origine parentale, il existe donc certainement une composante génétique au sens large dans le différentiel de croissance (Baroiller, 1995, Mair *et al.*, 1995)

3.2. Rôle du comportement reproducteur et des interactions sociales dans la croissance différentielle liée au sexe

Une part de la différence de croissance entre mâles et femelles résulte du comportement d'incubation buccale des oeufs par les femelles et de la garde parentale des alevins (Mélard *et al.*, 1989). Pendant la période d'incubation buccale, les femelles arrêtent presque totalement toute activité alimentaire (Macintosh et Little, 1995). Des travaux ont montré l'existence d'une forte corrélation entre la perte de poids et la durée de l'incubation buccale (Little, 1989). Une femelle pouvant se reproduire successivement toutes les 4 à 6 semaines, avec une durée d'incubation pouvant aller jusqu'à 23 jours, n'aurait pratiquement que 4 à 5 jours en moyenne pour s'alimenter entre deux pontes. La phase de jeûne est suivie d'une phase d'alimentation intensive chez les femelles à la fin de l'incubation buccale, une femelle pouvant ingérer jusqu'à 40% de son poids corporel dans les 48 heures suivant la fin de l'incubation (Macintosh et Little, 1995). Toutefois, la différence de croissance entre les mâles et les femelles existe avant la reproduction et, même en l'absence de ponte et d'incubation buccale, la croissance des femelles est inférieure à celle des mâles (Hanson *et al.*, 1983; Legendre, 1986). Chez *Sarotherodon melanotheron*, la croissance des femelles, placées dans des conditions favorables à la reproduction, est comparable à celle des femelles en groupe monosexe; la croissance des mâles qui incubent les oeufs chez cette espèce est inférieure à celle des femelles et la croissance des mâles isolés est supérieure à celle des femelles (Legendre, 1986; figure 5). Chez *Tilapia guineensis*, pondeur sur substrat (absence d'incubation buccale des oeufs) la différence de croissance entre mâles et femelles est significative, et pratiquement identique en élevage mixte ou en élevage monosexe (figure 6). Le comportement d'incubation buccale, qui intervient tardivement ne peut donc, à lui seul, expliquer la différence de croissance entre mâles et femelles.

Il existe chez les tilapias de fortes interactions sociales qui pourraient affecter négativement la croissance. Dans le milieu naturel, les mâles adultes sont très agressifs et vivent pratiquement seuls sauf pendant les périodes de reproduction. Lorsque deux individus sont mis ensemble expérimentalement, le rang social s'établit clairement en 10 à 45 minutes (Fernandes et Volpato, 1993). Le dominé se tient près de la surface occupant un espace très

réduit. Chez les espèces dites agressives, le taux de croissance est directement lié au rang social de l'individu dans le groupe et la croissance des animaux dominés peut même être bloquée. Les animaux dominants limitent typiquement la croissance des dominés. Dans la plupart des cas, l'accès à l'aliment est directement contrôlé par l'animal dominant. Une diminution de l'appétit des animaux dominés a également été observée (Allee *et al.*, 1948; Yamagishi *et al.*, 1974; Koebele, 1985). L'hétérogénéité de croissance, observée chez les espèces où existent ces interactions sociales, serait liée d'une part à une compétition alimentaire accrue et d'autre part à un stress social, qui entraînerait une modification du métabolisme des dominés. Ainsi, chez le medaka (*Oryzias latipes*) et le guppy (*Lebistes reticulatus*) une corrélation positive a été observée entre la dominance sociale, la prise alimentaire et le taux de croissance (Magnuson, 1962; Nagoshi, 1967). Brown (1946) suggère que le stress subi par les dominés induit une augmentation des dépenses énergétiques et, en conséquence, diminue l'énergie disponible pour la croissance. Une augmentation de la respiration des dominés, comparée à celles des dominants, a été observée chez *Oreochromis niloticus* (Volpato *et al.*, 1989). Les interactions sociales ne peuvent cependant expliquer entièrement la croissance différentielle liée au sexe puisque même en élevage séparé, la croissance des mâles est meilleure que celle des femelles (figure 6).

3.3. Rôles des dépenses énergétiques

Lors de la reproduction, il existe une orientation préférentielle de l'utilisation de l'énergie métabolique des nutriments ou des réserves vers la gamétogenèse. La croissance différentielle pourrait donc résulter d'une orientation plus importante de l'énergie métabolique chez la femelle vers la fonction de reproduction, en particulier pour la production des ovules (Philippart et Mélard, 1987). Dans cette hypothèse, la différence de croissance résulterait d'une moins bonne croissance somatique des femelles. Aucune étude physiologique validant cette hypothèse n'a encore été réalisée chez *Oreochromis niloticus*. Chez d'autres espèces de téléostéens, des travaux ont montré une forte stimulation de la synthèse des protéines dans le foie chez le saumon atlantique (*Salmo salar*) et la truite arc-en-ciel dans la phase de vitellogenèse (Maître *et al.*, 1985; Olin et von der Decken, 1987; Olin *et al.*, 1989; Fauconneau *et al.*, 1990). L'activation du gène de la vitellogenine chez la femelle par l'oestradiol-17β est associée à une augmentation de la synthèse des protéines dans le foie (Olin et von der Decken, 1987; Waters et von der Decken, 1989). Les acides aminés nécessaires à cette synthèse intense de protéines hépatiques proviendraient, soit d'un prélèvement plus important des acides aminés

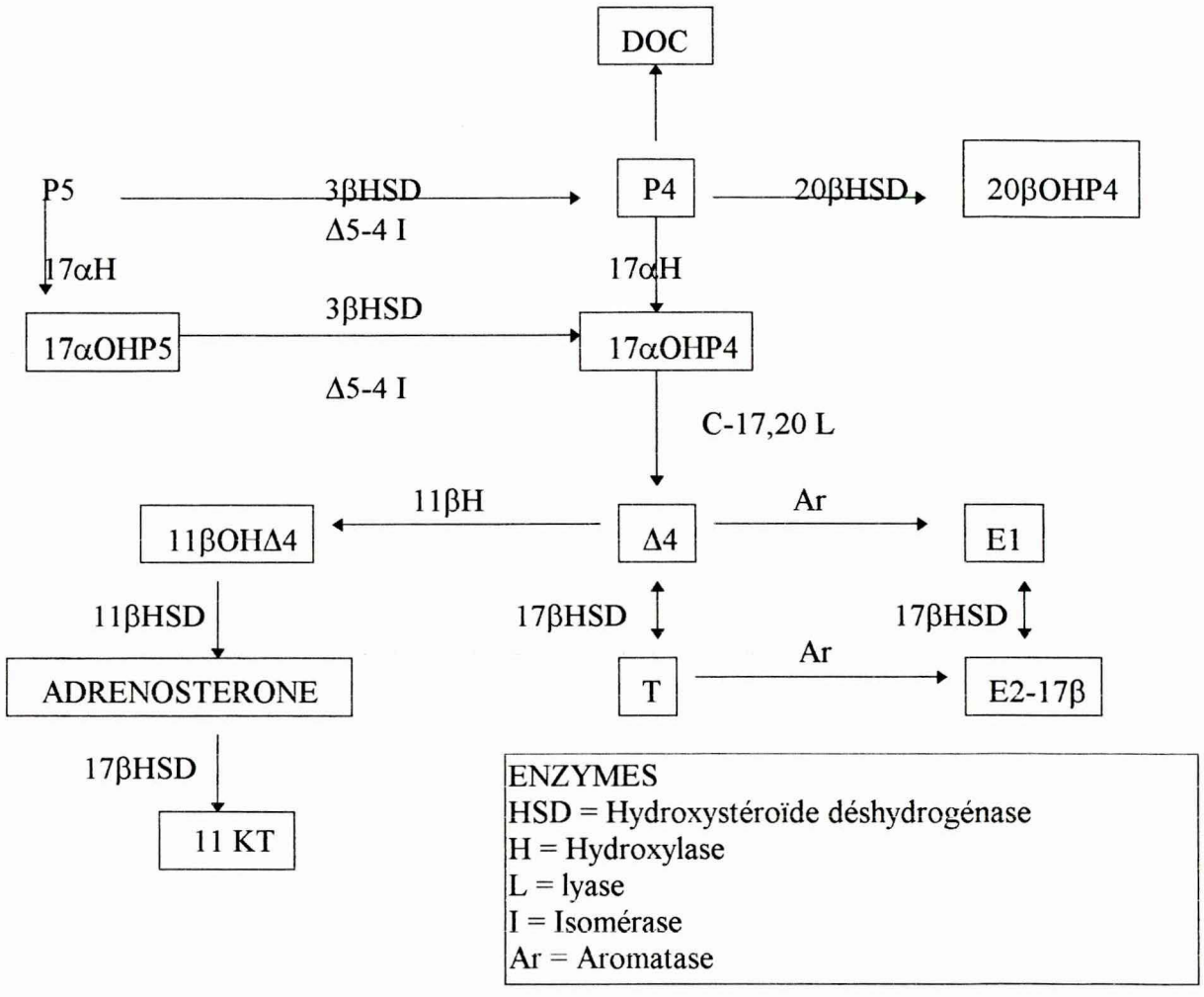


Figure 7 : Schéma du métabolisme stéroïdien chez *Oreochromis niloticus* pendant la phase de différenciation sexuelle (Baroiller, 1988)

alimentaires au détriment de leur utilisation pour la croissance, soit de la dégradation des protéines des viscères et surtout des tissus musculaires (Ng et Idler, 1983; Olin et von der Decken, 1987; Bradley et Grizzle, 1989). Lors de la vitellogenèse, la teneur en protéines du muscle diminue dans les espèces s'alimentant peu ou pas. Sous l'influence de l'oestradiol-17β, une diminution de 9% des protéines totales du muscle et de 17% des protéines myofibrillaires a été observée chez le saumon atlantique (Nazar *et al.*, 1991).

La baisse des performances de croissance chez les femelles devrait donc apparaître au moment de la maturation sexuelle ou de la reproduction, or la différence de croissance liée au sexe semble pouvoir être observée bien avant la maturation sexuelle.

3.4. Facteurs endocriniens susceptibles d'être impliqués dans la croissance différentielle liée au sexe

La principale hypothèse, concernant l'endocrinologie de la croissance différentielle entre mâles et femelles chez le tilapia, implique l'effet anabolisant des androgènes, leurs effets pouvant être soit directs, soit indirects *via* d'autres hormones. En effet, chez les téléostéens, plusieurs hormones sont impliquées dans le contrôle de la croissance somatique: l'hormone de croissance (GH), la somatolactine, l'insuline, les hormones thyroïdiennes, et les stéroïdes sexuels. Dans le contexte de la croissance différentielle liée au sexe, trois principaux groupes peuvent être impliqués pour les effets stimulateurs sur la croissance (Donaldson *et al.*, 1979; Jalabert *et al.*, 1982; Weatherley et Gill, 1987; Le Bail, 1988): les stéroïdes sexuels, la GH et les hormones thyroïdiennes.

a) les stéroïdes sexuels

Chez les mammifères, les hormones stéroïdiennes sont divisées en 4 grands groupes sur la base de leur fonctions physiologiques: les androgènes, les oestrogènes, les progestagènes et les corticostéroïdes. Des représentants de l'ensemble des 4 groupes ont été identifiés chez les poissons (Fostier *et al.*, 1983) et plus particulièrement pendant la période de différenciation sexuelle chez le tilapia (Baroiller, 1988; Baroiller *et al.*, 1988, figure 7). Les stéroïdes sexuels sont principalement impliqués dans la régulation de la différenciation du sexe, de la gamétogenèse, de la reproduction, y compris dans ses aspects comportementaux.

De nombreux travaux ont montré une action directe des hormones stéroïdiennes dans la croissance et plus particulièrement la croissance musculaire. Parmi les hormones stéroïdiennes, les androgènes et les oestrogènes sont les plus couramment utilisés pour leurs effets

Tableau IV : Exemples d'effets anabolisants des stéroïdes sexuels administrés par balnéation ou *via* l'alimentation chez les téléostéens à différents stades de développement

Espèces	Traitements		Hormones	Doses (µg/g)	Durée (jours)	Effets	Références
	Stade	Nature					
Oreochromis niloticus	oeuf (3 jours PF)	balnéation	Androst.	5 mg/l	90	+61% poids + 21% longueur	Katz *et al.*, 1976
Oreochromis aureus	alevins	aliment	17α-MT DHT	15 30 15	21	+37% poids +43% poids +57% poids	Guerrero, 1975
Oreochromis mossambicus	alevins	aliment	17α-MT	30	21	+180% poids	Guerrero, 1976
Oncorhynchus kisutch	alevins	aliment	17α-MT **E2-17β**	2,5 2,5	98 98	+26% poids *+15% poids*	Yu *et al.*, 1979
Oncorhynchus mykiss	alevins alevins	aliment aliment	DES DES	1,2 50	30	-18% poids inhibition	Matty et Cheema, 1978
Perca flavescens	fingerlings	aliment	**E2-17β**	20	76	+ 60% poids + 18% longueur	Malison *et al.*, 1985

DES = diéthylsthilbestrol
17α-MT = 17α-méthyltestostérone
E2-17β = oestradiol-17β
Androst. = androsténedione
DHT = 1-dihydrotestostérone acétate

anabolisants. Les stéroïdes peuvent également avoir une action indirecte sur la croissance, d'une part au niveau hypophysaire et hypothalamique sur la synthèse de facteurs endocriniens impliqués dans la croissance, et d'autre part au niveau des tissus périphériques.

* Les androgènes possèdent des propriétés anabolisantes sur les tissus sexuels spécifiques et sous certaines conditions sur l'organisme entier. Une forte stimulation de la croissance est observée chez le tilapia et plus généralement chez plusieurs autres espèces de téléostéens par administration d'androgènes exogènes, soit par l'alimentation (tableau IV), soit par balnéation (Guerrero, 1975; Katz *et al.*, 1976; Owusu-Frimpong et Nijjhar, 1981; Hanson *et al.*, 1983; Ufodike et Madu, 1986; Melard *et al.*, 1989).

* Les oestrogènes (oestrone, oestriol et oestradiol) proviennent de l'androstènedione et de la testostérone par aromatisation du noyau A. Les effets des oestrogènes et de leurs dérivés sur la croissance ont été testés chez les poissons mais les résultats sont contradictoires (Tableau IV). Dans certaines conditions, une stimulation de la croissance est obtenue chez les juvéniles de plie, d'anguille, de saumon et chez les adultes de perche (Yu *et al.*, 1979; Malison *et al.*, 1985). Cependant, chez la plupart des téléostéens, comme c'est le cas chez la truite arc-en-ciel, ce sont des effets inhibiteurs qui ont été observés avec les oestrogènes.

Les mécanismes par lesquels les stéroïdes sexuels influenceraient la croissance chez les poissons demeurent encore mal connus. Ils pourraient agir directement sur l'expression d'un certain nombre de gènes (éléments de réponse aux stéroïdes dans les promoteurs) et notamment des gènes musculaires, ce qui entraînerait une stimulation de la croissance. Ils pourraient agir également de façon indirecte sur l'activité de la thyroïde, de l'interrénale et du pancréas comme le suggèrent certains travaux (Sage et Bromage, 1970; Higgs *et al.*, 1977). Ils pourraient également activer la libération d'autres hormones ou agir en synergie avec ces hormones. Dans ces conditions, quel rôle les hormones stéroïdiennes peuvent-elles jouer dans l'apparition et/ou le maintien de la différence de croissance liée au sexe chez le tilapia.

b) l'hormone hypophysaire de croissance (growth hormone ou GH)

C'est une hormone protéique sécrétée par les cellules somatotropes du lobe antérieur (*pars distalis*) de l'hypophyse. Le contrôle de la sécrétion de GH chez les téléostéens demeure encore mal connu. Chez les mammifères et les oiseaux, la sécrétion de la GH semble être sous le contrôle de 2 facteurs hypothalamiques: le "growth hormone releasing factor" ou GRF et le "growth hormone inhibiting factor" SRIF (McCann *et al.*, 1974; Hall et Chadwick, 1976).

L'état actuel des connaissances chez certaines espèces de poissons suggère un contrôle possible par l'hypothalamus (positif par le GRF et surtout négatif par le SRIF).

La GH est impliquée dans la régulation de la croissance et du métabolisme (Donaldson *et al.*, 1979; Matty et Lone, 1985). L'ablation de l'hypophyse entraîne un arrêt ou une diminution importante de la croissance chez plusieurs espèces de téléostéens (Pickford, 1953a et b; Donaldson et McBride, 1967). En conditions naturelles, chez la perche, *Perca fluviatilis*, pendant l'hiver où la croissance est nulle, les concentrations hypophysaires en GH sont très faibles. Durant le printemps, ces niveaux augmentent pour atteindre leur maximum en juin, puis diminuent en août. Ce cycle de synthèse de l'hormone de croissance coïncide très précisément avec le cycle de croissance observée chez cette espèce, mais le taux circulant de la GH n'est pas directement lié à la vitesse de croissance des poissons, et cela semble être le cas également chez le tilapia (Aupérin, 1994). Les taux circulants de GH augmentent, par contre, de façon considérable sous l'effet du jeûne ou de la sous-alimentation, ce qui suggère un rôle de cette hormone dans le contrôle de l'utilisation des réserves. Chez le tilapia, la GH augmente en situation de stress (Aupérin, 1994), ce qui va dans le même sens . Les effets de l'hormone de croissance et son mode d'action ont surtout été étudiés par des expériences de supplémentations (Donaldson *et al.*, 1979), depuis que les travaux de Pickford et Thompson (1948) ont montré que la bovine-GH était active chez un téléostéen (*Fundulus heteroclitus*). Chez le tilapia, *Oreochromis mossambicus*, l'administration de GH purifiée de tilapia à des alevins (Clarke *et al.*, 1977) entraîne une stimulation de la croissance. Cet effet porte davantage sur la croissance pondérale que sur la croissance en longueur qui implique l'action conjointe des hormones thyroïdiennes. L'efficacité des traitements à la GH dépend par ailleurs de facteurs externes telle que la température d'élevage (Pickford, 1957; Adelman, 1977; Le Bail *et al.*, 1991b). La GH agit sur la croissance par une augmentation de la prise alimentaire (Higgs *et al.*, 1977; Markert *et al.*, 1977) mais aussi par une amélioration du taux de conversion alimentaire, grâce notamment à une utilisation plus importante des lipides alimentaires ou des lipides de réserve (Markert *et al.*, 1977; Clarke, 1976), et un accroissement de la synthèse protéique (Markert *et al.*, 1977; Higgs *et al.*, 1975). Les effets métaboliques de la GH seraient soit directs, soit indirects *via* une stimulation de la synthèse et de la sécrétion de l'insuline (Markert *et al.*, 1977).

L'action de la GH sur la croissance est en fait indirecte, elle agit par l'intermédiaire de récepteurs membranaires de type cytokine, en induisant au niveau du foie la synthèse d'insulin-like growth factors (IGF), qui agissent directement au niveau cellulaire (Daughaday *et al.*,

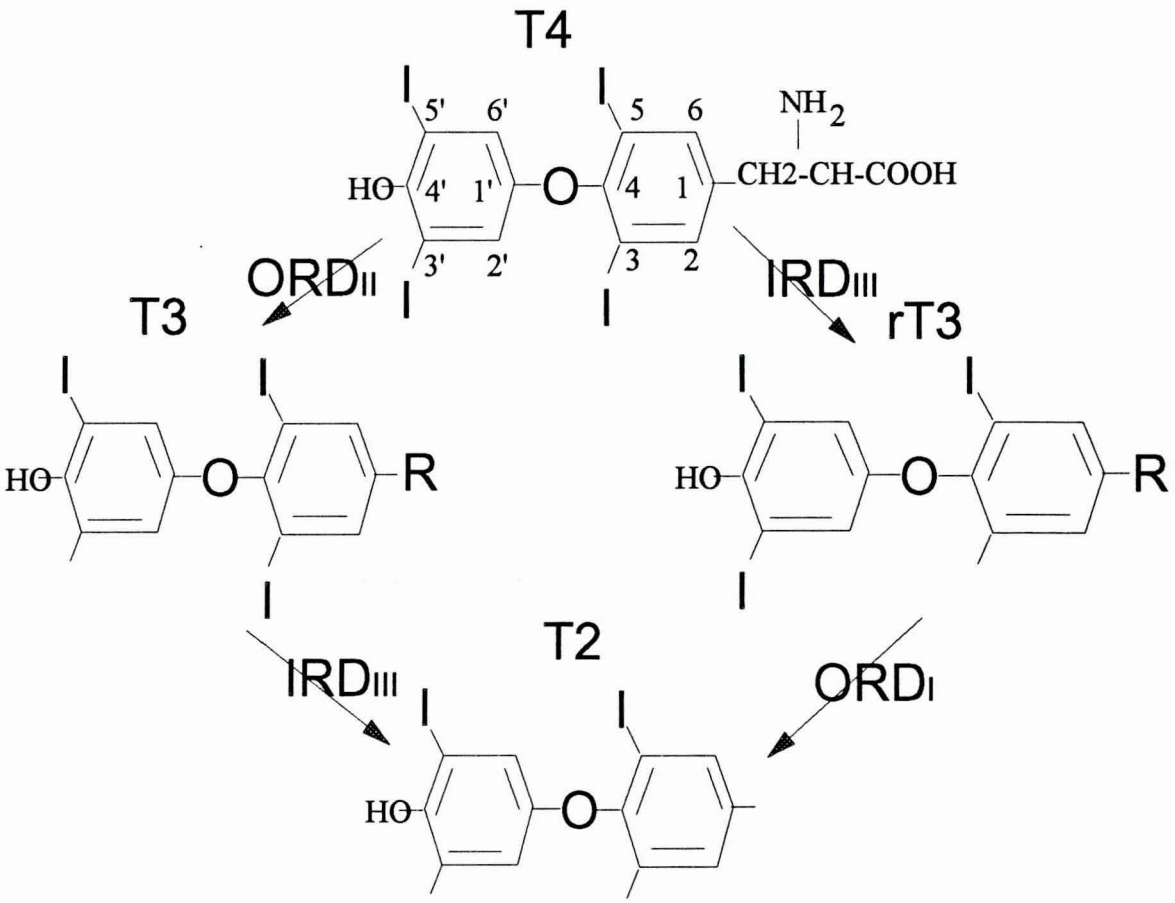


Figure 8 : Structures de la tétraiodo-L-thyronine (T4), la triiodo-L-thyronine (T3), la reverse-T3 (rT3) et la diiodo-L-thyrosine (T2). Schéma de la désiodination de la T4 par la désiodinase agissant au niveau du noyau externe (ORD = Outer Ring Deiodinase, type I et II) et celle agissant sur le noyau interne (IRD = Inner Ring Deiodinase, type III)

1975). L'existence d'une corrélation significative entre le nombre de sites de liaison hépatiques et les effets de la GH a été mise en évidence chez les mammifères (Postel-Vinay, 1989). Chez les poissons, des travaux récents ont montré l'existence de récepteurs spécifiques à la GH dans une variété de tissus, notamment dans le foie (Fryer, 1979; Yao *et al.*, 1991; Ng *et al.*, 1991). Les premiers travaux sur les IGFs chez les poissons semblent montrer que les taux d'IGFs circulants sont corrélés avec la vitesse de croissance. Un rétrocontrôle négatif des IGFs au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire semble également fonctionnel chez le poisson.

Plusieurs types d'interactions entre les fonctions de croissance et de reproduction ont été identifiés chez les poissons (Le Gac *et al.*, 1993). La gonadolibérine (GnRH), en particulier, peut stimuler la sécrétion hypophysaire de GH (Marchant *et al.*, 1989). La GH potentialiserait l'induction de la synthèse de la vitellogénine par l'oestradiol-17β (Peyron *et al.*, 1996).

c) les hormones thyroïdiennes

Les follicules de la glande thyroïde de la plupart des téléostéens, contrairement aux mammifères, ne sont pas encapsulés mais disséminés autour de l'aorte ventrale et les arcs branchiaux. Chez d'autres espèces, les follicules ont migré vers des sites extra-pharyngiens comme par exemple dans la zone rénale (Barr, 1965; Barrington, 1975). La régulation de la fonction thyroïdienne est sous le contrôle d'une hormone hypophysaire, la thyréotropine (thyroid stimulating hormone ou TSH). Comme chez les mammifères, la glande thyroïdienne des poissons sécrète essentiellement la tetra-L-iodothyronine (T4) et très peu de triiodo-L-thyronine (T3). Cette sécrétion de la T4 est sous le contrôle de la TSH, avec un rétrocontrôle négatif sur les cellules à TSH dans l'hypophyse. De plus, l'hypothalamus semble exercer un contrôle négatif (inhibiteur) sur la sécrétion de TSH (Peter, 1973). La T3, quant à elle, proviendrait principalement de la monodésiodination périphérique de la T4. Deux catégories d'enzymes sont définies en fonction du noyau interne (Inner Ring Deiodinase ou IRD) ou externe (Outer Ring Deiodinase ou ORD) sur lequel elles agissent. Ces deux catégories sont scindées en 3 types en fonction des substrats qu'elles utilisent préférentiellement (figure 8). Chez la truite, environ 70% de la T4 plasmatique est rapidement transformée en T3 (Higgs et Eales, 1977; Eales, 1977a; b). La T4 apparaît comme une pro-hormone et la T3 serait la forme biologiquement active des hormones thyroïdiennes.

Les hormones thyroïdiennes semblent intervenir très précocement au cours du développement. Des taux significatifs de T4 et de T3 sont présents dans la vésicule vitelline de nombreuses espèces (Leatherland, 1994). Des supplémentations précoces en hormones thyroïdiennes par une immersion des embryons dans une solution de T4 induit une augmentation de la vitesse de résorption de la vésicule vitelline et du taux de survie chez la carpe et le tilapia (Lam, 1980; Nacario, 1983; Lam et Sharma, 1985). Chez les adultes, la supplémentation en hormones thyroïdiennes entraîne une stimulation de la croissance globale (Donaldson *et al.*, 1979; Higgs *et al.*, 1982). Cependant, des injections de fortes doses de T4 peuvent se traduire par des malformations et une diminution du coefficient de condition. Les hormones thyroïdiennes seraient impliquées dans le contrôle de la croissance osseuse. La radiothyroïdectomie chez des juvéniles de truite arc-en-ciel (TAC) inhibe la croissance des écailles et un amincissement du derme d'une part et une modification de la tête avec un développement du cartilage au détriment des tissus calcifiés d'autre part (La Roche *et al.*, 1966). De même, un retard dans la croissance de la tête et une réduction de l'os de l'opercule sont observées chez les alevins de TAC après une radiothyroïdectomie (Norris, 1969). Les hormones thyroïdiennes interviennent également sur la croissance et la différenciation musculaire. Certains travaux ont montré que les hormones thyroïdiennes sont les principaux facteurs contrôlant la transition des isoformes des protéines musculaires telle que la myosine chez les mammifères et les oiseaux (Gambke *et al.*, 1983; Buttler-Browne *et al.*, 1984; Whalen *et al.*, 1985; Gardahaut *et al.*, 1992).

Les hormones thyroïdiennes peuvent agir sur la croissance à travers la stimulation de l'appétit (Gross *et al.*, 1963; Higgs *et al.*, 1977) et/ou de la conversion alimentaire (Bjorklund, 1965). Mais la voie métabolique par laquelle les hormones thyroïdiennes influenceraient directement ou indirectement la conversion alimentaire est mal connue. Les hormones thyroïdiennes semblent jouer un rôle important dans le métabolisme intermédiaire des animaux. Chez les mammifères, la T3 a une action particulièrement significative sur la régulation du métabolisme et la thermogenèse (Lissitsky, 1990). Chez les poissons, les hormones thyroïdiennes exerceraient des effets lipolytiques (Sheridan, 1986 ; Scott-Thomas *et al.*, 1992). Elles semblent également intervenir dans la régulation des métabolismes protéique et glucidique (Donaldson *et al.*, 1979; Higgs *et al.*, 1982). Compte tenu de leurs nombreuses actions sur la croissance, le rôle des hormones thyroïdiennes dans la mise en place de la croissance différentielle liée au sexe doit être envisagé.

OBJECTIFS DE CE TRAVAIL

Ce travail a pour objectifs de caractériser le différentiel de croissance entre mâles et femelles chez *Oreochromis niloticus* et de rechercher des mécanismes physiologiques qui expliqueraient cette différence. Il s'organise autour des axes de recherche suivants:

* une première approche descriptive vise à préciser la période d'apparition du différentiel de croissance et à le caractériser par des mesures morphométriques et des analyses biochimiques et histologiques. Un suivi endocrinien sur cette période permet d'analyser l'évolution des hormones (hormone de croissance, hormones thyroïdiennes et stéroïdiennes) susceptibles d'être impliquées dans l'apparition de ce phénomène.

* l'étude des principales composantes du comportement alimentaire des mâles et des femelles (prise alimentaire, comportement) en situation de restriction alimentaire ou non, vise à évaluer la contribution des différences de consommation volontaire dans la croissance différentielle.

* La comparaison de différentes structures sociales (pourcentages variables de chaque sexe dans un groupe) doit permettre d'évaluer la contribution des interactions sociales intra et intersexe dans la différence de croissance entre les mâles et les femelles.

* La comparaison des performances de croissance d'individus de sexe phénotypique et génotypique différents aide à estimer l'importance des facteurs génétiques.

* L'analyse des mécanismes d'action des hormones susceptibles d'être impliquées dans le processus de la croissance différentielle est abordée à travers des expériences de supplémentations (hormones stéroïdiennes) ou déplétion spécifique (oestrogènes), par l'étude du métabolisme de certaines hormones (hormones thyroïdiennes), ainsi que par la recherche de récepteurs (hormone de croissance).

CHAPITRE II
MATERIELS ET METHODES

1. Animaux

Les tilapias, *Oreochromis niloticus* (L. 1758), utilisés pour la majorité des expérimentations, proviennent de la station piscicole de l'IDESSA (Institut des Savanes, Bouaké, Côte d'Ivoire) dont la souche a été génétiquement identifiée, appelée "Souche Bouaké" (Rognon, 1993). Des géniteurs de cette souche ont été introduits en France, d'une part à Rennes où ils ont été maintenus dans les installations expérimentales du Laboratoire de Physiologie des Poissons de l'INRA, et d'autre part à Montpellier dans les structures du CIRAD-EMVT/GAMET (Groupe d'Aquaculture Méditerranéenne et Tropicale). La deuxième souche utilisée est la "Souche Egypte Manzala" introduite aux Philippines et maintenue dans les structures expérimentales du FAC/CLSU (Freshwater Aquaculture Center / Central Luzon State University).

Les reproductions sont réalisées en aquarium en maintenant un sex-ratio d'un mâle pour trois femelles. Les alevins sont prélevés de la bouche des femelles à 11 jours post-fécondation (PF). Dans certaines expériences, les oeufs ont été incubés artificiellement dans des bouteilles Mc Donald (Rana, 1986).

2. Conditions d'élevage

Différentes structures d'élevage sont utilisées :

a) Des aquariums de 400 litres pour la reproduction et l'alevinage (pour les expériences réalisées à Bouaké et à Rennes). Une couche de sable de quelques centimètres de hauteur est déposée sur le fond de ces aquariums pour la nidification. Ces aquariums fonctionnent en circuit fermé avec un système de filtration mécanique. Ces structures sont thermorégulées (27°C) et placées sous une photopériode de 12L:12N.

b) Des bacs en plastique d'environ 100 litres alimentés en eau recyclée avec un environnement thermique et photopériodique identique à celui des aquariums (expériences réalisées à Rennes et à St Pée-sur-Nivelle). Ces structures sont utilisées pour la croissance des poissons après l'alevinage.

c) Des bacs en béton de 2 x 2 x 0,5 m installés à l'air libre et soumis aux conditions naturelles de température et de photopériode. Ces bacs sont alimentés en eau non recyclée provenant d'une retenue d'eau située en amont de la station de Bouaké (Côte d'Ivoire). La température est relevée 2 fois par jour, le matin à 8h30 et l'après-midi à 15h30. Elle varie en moyenne entre 25 et 31°C. Les bacs sont recouverts par des filets afin d'éviter la prédation par les oiseaux.

Tableau V : Taux d'alimentation en pourcentage de la biomasse et en fonction de l'âge et/ou du poids des animaux.

10-31 jours PF	20% de la biomasse
31 jours PF-2g	16% de la biomasse
2-6g	12% de la biomasse
6-(40-45)g	8% de la biomasse

PF= post-fécondation

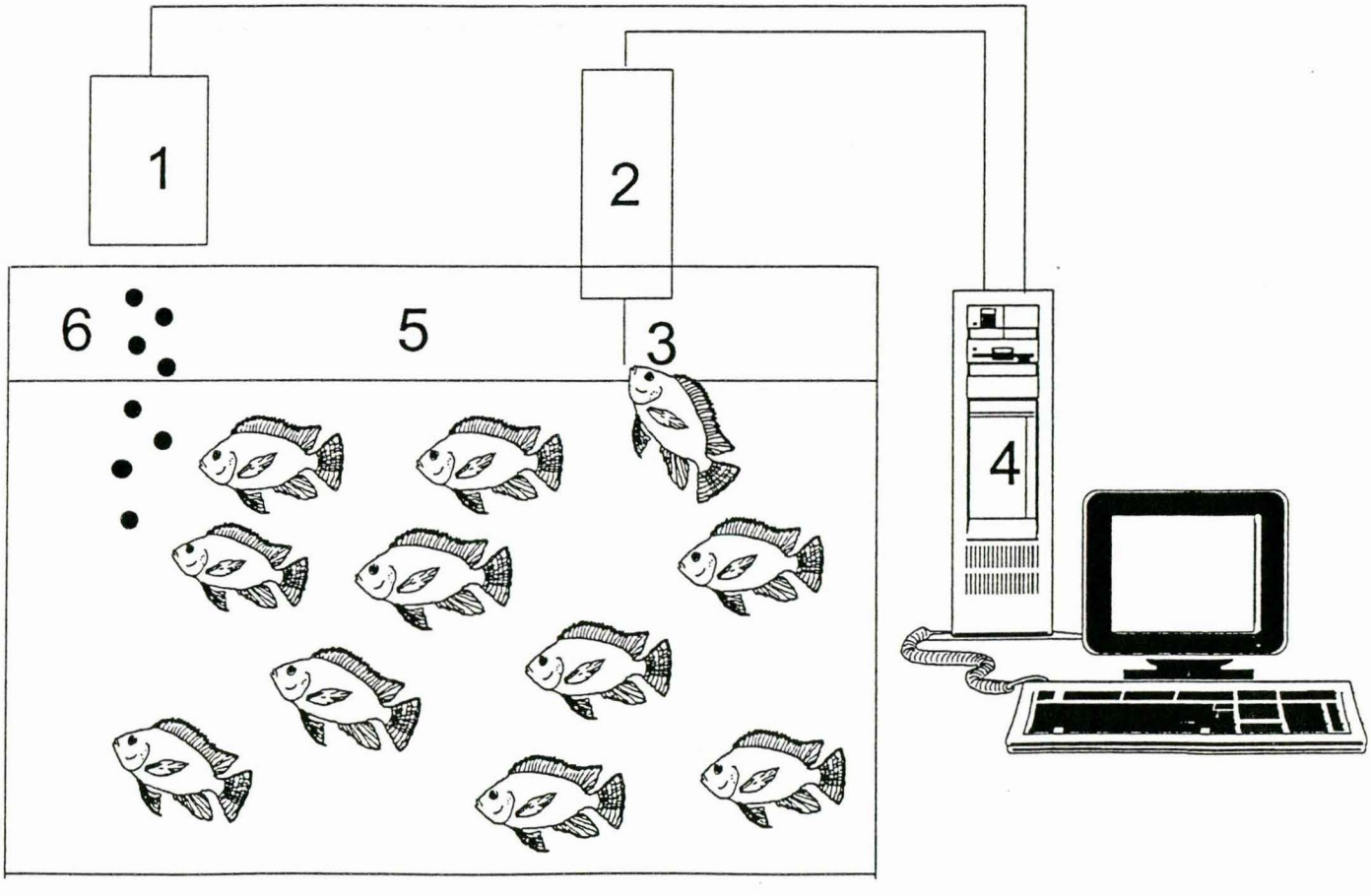


Figure 9 : Schéma du distributeur à la demande utilisé au cours de l'expérimentation. 1 = nourrisseur automatique, 2 = détecteur, 3 = tige du détecteur, 4 = micro-ordinateur, 5 = bassin d'élevage, 6 = granulés.

d) Des hapas (cages réalisées avec des filets) de 1 x 1 x 0,50 m installés dans un étang en terre et soumis également aux conditions naturelles de température et de photopériode (expériences réalisées aux Philippines). L'étang est alimenté par pompage dans une nappe souterraine. La température est également relevée 2 fois par jour, et varie en moyenne entre 26°C le matin et 29,5°C l'après-midi.

Aux cours des différentes expérimentations, les animaux ont été nourris à différents taux en fonction de leur poids corporel (tableau V) avec de l'aliment "Trouvit" ou "Aqualim", soit par des distributeurs automatiques à tapis, soit par des distributeurs en libre service (figure 9).

3. Techniques de marquage

Différentes techniques de marquage ont été mises au point en tenant compte du stade de développement des animaux:

3.1. Le strontium

C'est une technique de marquage biologique s'effectuant par substitution d'un élément biologique abondant par un autre plus rare. Le strontium (Sr), inoffensif dans sa forme naturelle et présent naturellement en très faible quantité dans l'organisme, est facilement incorporé dans les organes calcifiés (vertèbre, écaille, otolithe). Cette technique de marquage a été utilisée avec succès sur d'autres espèces (Ophel et Judd, 1967; Yamada *et al.*, 1979; Yamada et Mulligan, 1982; Guillou et De la Noüe, 1987).

Le marquage des animaux est réalisé dès la première alimentation sur des alevins de 11 jours post-fécondation par incorporation du chlorure de strontium ($SrCl_2$-$6H_2O$) dans l'aliment. Ils sont alimentés pendant 21 jours avec cet aliment. L'identification des animaux marqués est réalisée par analyse des écailles selon la méthode décrite par Moreau et Barbeau (1979; voir paragraphe 14) par spectrophotométrie d'absorption atomique (Varian Techtron, lampe Sr).

3.2. La fluorescéine

Les marqueurs vitaux sont des substances qui se fixent sélectivement sur les surfaces squelettiques en voie de minéralisation (vertèbre, dent, otolithe, écaille) de façon pérenne. Ils présentent en outre la propriété d'absorber les rayons UV pour émettre une fluorescence dans

le spectre visible. C'est cette propriété qui est utilisée pour le repérage du marqueur à l'échelle microscopique (Meunier, 1972; 1974).

Comme pour le Sr, le marquage a été réalisé sur des alevins de 11 jours post-fécondation. La fluorescéine (sodium de fluorescéine, $C_{20}H_{10}O_5Na_2$) a été incorporée dans l'aliment. L'identification des animaux marqués est réalisée par un prélèvement d'écailles, d'opercule et/ou d'otolithe, qui sont analysés soit:

* par observation directe sous lampe UV (longueurs d'ondes 240 - 280 nm)
* au microscope à fluorescence avec un filtre fluorescéine (excitation 460-500 nm, émission 510-560 nm).
* par histo-immunologie (paragraphe 9) avec un anticorps polyclonal contre la fluorescéine. L'anticorps primaire est révélé par un second anticorps couplé à la péroxydase qui est, elle, révélée par la technique du DAB (3,3'-Diamino-benzidin-tetrahydrochloride).

3.3. Les polymères

C'est un système de marquage utilisant des polymères biocompatibles. Ces polymères mélangés à des pigments fluorescents, sont injectés dans des zones translucides des poissons. Le marquage par les polymères présente l'avantage d'être visible à l'oeil nu pour des quantités suffisantes injectées.

Le marquage a été réalisé sur des alevins d'environ 5g (jusqu'à 0,9 g) de poids corporel. Le liquide contenant le polymère est injecté dans la partie translucide de l'opercule. L'injection de la solution est réalisée sous pression pendant 2 secondes à l'aide d'une seringue. Les polymères se solidifient au bout de quelques heures.

3.4. Les transpondeurs électroniques

C'est un système de marquage individuel couramment utilisé pour le marquage des animaux domestiques. Ce système comprend un lecteur et des transpondeurs électroniques implantables. Ces transpondeurs sont des cylindres de verre de 11 x 2 mm, aux extrémités arrondies, bien tolérés par les tissus organiques. Ils sont introduits sur des animaux anesthésiés dans la musculature dorsale, au dessus de l'opercule et à proximité de la nageoire dorsale, à l'aide d'une seringue spéciale munie d'un poussoir et d'une aiguille creuse à biseau long. Chaque transpondeur possède un code différent de 12 caractères numériques ou alphanumériques. L'identification des poissons est réalisée par un balayage du lecteur (Handy, modèle

HS5600L1) au dessus de la zone de marquage. Ce marquage est réalisé sur des juvéniles d'environ 10g.

4. Techniques chirurgicales

4.1. Gonadectomie

Après avoir anesthésié les animaux, une ouverture longitudinale de la cavité péritonéale, allant de la base des nageoires pelviennes à l'anus, est réalisée. Le mésentère est coupé et les gonades sont retirées délicatement en prenant soin de ne pas déchirer ou couper les viscères. La cavité est ensuite refermée simplement, sans suture, et les animaux (isolés par sexe) sont remis en aquarium. Pour éviter des risques de cannibalisme chez les témoins opérés (individus simplement ouverts sans prélèvement des gonades = sham), et particulièrement chez les mâles (à cause de leur comportement d'agressivité), les animaux sont maintenus soit individuellement dans des aquariums, soit à très faible densité jusqu'à la cicatrisation. L'incision est généralement cicatrisée au bout de 7 à 12 jours.

4.2. Pose d'implants

4.2.1. Beurre de cacao

Les hormones stéroïdes utilisées sont l'adrénostérone (Sigma) et l'oestradiol-17β (IBF). L'hormone est solubilisée dans l'éthanol absolu (Merck). Les implants sont préparés par adjonction d'une quantité connue de la solution éthanolique d'hormone dans du beurre de cacao (Coopérative pharmaceutique française) préalablement chauffé (40°C). Cette suspension est injectée à chaud (25°C) en intrapéritonéale à raison de 200µl par poisson à l'aide d'une seringue de 1 ml et d'une aiguille de 1,5 mm de diamètre. Le beurre de cacao contenant l'hormone se solidifie très rapidement à l'intérieur du poisson et se comporte donc comme un implant solide.

4.2.2. Silastic

Les composés utilisés sont le 1,4,6-androstatriene-3,17-dione (ATD, Steraloids Inc.) et le tamoxifène (trans-1-(ρ-β-dimethylaminoethoxyphenyl-1-2-diphenylbut-1-ene, Sigma). Le Silastic, sous forme liquide, est mélangé à un durcisseur selon un ratio de 9/1. L'hormone est ensuite directement additionnée à la solution. Après avoir été bien homogénéisée, la suspension

est coulée dans des moules de 16,5 x 2 x 2 mm. Les moules contenant les implants sont ensuite incubés à 37°C pendant une nuit pour permettre la polymérisation. La mise en place des implants est réalisée sur des animaux anesthésiés. Les implants sont insérés dans la cavité abdominale par une petite incision réalisée à l'aide d'un scalpel. Les animaux sont remis après implantation dans les aquariums, sans points de suture.

5. Prélèvements

5.1. Conditions de prélèvements

Les prélèvements et l'abattage des animaux sont effectués le matin après un jeûne ou non de 24 heures selon les expériences. Les poissons sont pesés individuellement ou par groupe (poids vif). Les protocoles de prélèvements sont définis de manière à limiter au maximum les effets de stress lors des pêches. Au cours des premières expérimentations, les animaux sont anesthésiés par une solution d'éthylèneglycol monophényléther à raison de 5 ml pour 10 litres d'eau. Suite aux travaux d'Aupérin (1994) montrant un stress lors des bains d'anesthésique, les prélèvements de sang ont été réalisés très rapidement après capture sur des animaux non anesthésiés dans les expérimentations suivantes.

5.2. Les tissus prélevés

* les prélèvements sanguins sont effectués dans la vascularisation caudale à l'aide d'une seringue de 1 ml préalablement rincée par l'héparine (solution exempte de Na et de K, Labo Express Service).

Les poissons sont ensuite tués par section de la colonne vertébrale.

* Le cerveau et l'hypophyse sont prélevés par ouverture de la boîte crânienne à l'aide d'un scalpel. Sur les individus de petite taille, le prélèvement est effectué sous loupe binoculaire.

* Le foie, situé très en avant de la cavité péritonéale à proximité du coeur, est prélevé après ouverture du poisson et séparé très délicatement de la vésicule biliaire.

* Les gonades sont localisées dorsalement dans la cavité péritonéale et sont reliées à celle-ci par deux fins mésentères. Elles sont prélevées à l'aide de pinces fines après section des mésentères.

* Le rein, situé dans la cavité abdominale sous la vessie natatoire, est prélevé à l'aide de pinces fines.

* Un échantillon de muscle blanc épaxial est prélevé sur les deux côtés, au dessus de la ligne latérale, après avoir arraché la peau et éliminé le muscle rouge superficiel à l'aide d'un scalpel.
* Les branchies, situées sous les opercules, sont prélevées immédiatement après la prise de sang en sectionnant les extrémités des arcs branchiaux.
* Les écailles sont prélevées à l'avant du corps, juste derrière l'opercule et autour de la ligne latérale.
* les otolithes, situés dans la boîte crânienne, sont prélevés après la dissection du cerveau et de l'hypophyse.

5.3. Traitements et stockage des échantillons

Le sang est centrifugé à 3000 g pendant 15 minutes, à 4°C, et les plasmas sont récupérés, distribués en *aliquote*s dans des tubes coniques (Eppendorf) et stockés à -20°C jusqu'aux dosages des hormones.

Les tissus prélevés sont immédiatement congelés dans l'azote liquide puis conservés à -20°C. Les tissus utilisés pour le dosage des activités enzymatiques (foie, cerveau, branchies, reins), sont conservés à -80°C.

6. Techniques in vitro : évaluation de la synthèse des protéines dans les écailles

6.1. Protocole d'incorporation de la glycine marquée au ^{14}C

L'incorporation de glycine marquée dans les écailles permet d'évaluer la capacité de synthèse des protéines.

Les écailles (2x3 écailles par poisson) sont prélevées dans la partie antérieure, au dessus de la ligne latérale sur des poissons nourris *ad libitum* ou restreints. Deux protocoles sont testés:

a) Incorporation totale de glycine

Les écailles sont incubées dans une solution saline contenant 0,5 µCi/ml de glycine marquée sans glycine froide. Après une incubation pendant 30 min, 1, 2, 3 et 6 heures, elles sont rincées dans une solution saline (NaCl 9 g/l) et une partie est congelée à -20°C. Les écailles (congélées et non congélées) sont séchées dans une étuve (55°C), puis pesées et solubilisées dans une solution de NaOH 1N.

b) Incorporation spécifique aux écailles

Les écailles sont mises à incuber dès le prélèvement pendant 30 minutes, 1, 2, 3 et 6 heures, à 30°C dans 0,2 ml d'une solution de sérum physiologique (NaCl 14 mM, KCl 2,68 mM, $CaCl_2$ 1,51 mM, $NaHCO_3$ 15 mM, Hepes 25 mM, pH 7,5 ajusté avec du HCl) contenant 1 µCi/ml de L-[U-^{14}C]-glycine, 0,05 M glycine froide et 0,5 mg/ml de glucose. Après incubation, 0,2 ml de TCA 10% (Acide trichloroacétique) est ajouté dans la solution contenant les écailles (TCA 5% en final). Au bout de 10 minutes, les écailles sont reprises et lavées 2 fois avec du PCA 5% (acide perchlorique), 2 fois avec de l'éthanol 95% et une fois avec de l'éther. Elles sont ensuite séchées et solubilisées dans 0,6 ml de NaOH 1N à 50°C pendant 1 heure.

6.2. Analyse des écailles

Le dosage des protéines est effectué sur 2 fois 50 µl de la solution d'écailles solubilisées dans la soude, selon la méthodes décrite par Lowry *et al.* (1951, décrite au paragraphe 8.4). La radioactivité incorporée dans les écailles est mesurée dans deux aliquotes (2x200 µl), auxquels sont ajoutés 4 ml de scintillateur (Instafluor, Packard) pour un comptage en scintillation liquide (compteur Bêta Packard).

7. Composition chimique corporelle

L'analyse de la composition chimique est réalisée sur des broyats lyophilisés d'animaux entiers.

7.1. Dosage des protéines par dosage de l'azote total (Nx6)

Le principe de cette méthode dite de Kjeldahl est l'oxydation, à chaud, de l'azote organique par de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré en présence de catalyseur. Le carbone et l'hydrogène se retrouvent sous forme de CO_2 et de H_2O. L'azote des échantillons est fixé par l'acide sous forme de $(NH_4)_2SO_4$. L'ammoniac (NH_3) est libéré par une solution de NaOH, puis entraîné par un courant de vapeur d'eau afin d'être recueilli dans une solution tampon d'acide borique. Il est ensuite titré par une solution de H_2SO_4 de normalité précisément connue:

$$2\ NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$$

La minéralisation est réalisée sur 200 à 300 mg d'échantillon auxquels on ajoute 5 ml de H_2SO_4 (1 N). Dès le début de la minéralisation (environ 10 minutes, le mélange devient noir), deux ½ pastilles de Kjeltass S 3,5 (3,3 g K_2SO_4 + 3,5 mg Se) sont ajoutées et le mélange est

chauffé à 220°C (température basse) pendant 1 heure, puis à 420°C (température haute) pendant 3 heures et 30 minutes. Les tubes sont ensuite refroidis à la température ambiante et 5 ml d'eau distillée sont ajoutés dans chaque tube. Les échantillons sont alors passés dans l'appareil Kjeltec Auto 1030. L'addition de H_2SO_4 est réalisée automatiquement et le volume ajouté est directement affiché (1 ml de H_2SO_4 0,5 N versé correspond à 7 mg d'azote). La quantité de protéine est estimée par la teneur en azote:

% N = Volume de H_2SO_4 x 7 x 10 000, cette valeur est donnée directement par l'appareil.

Quantité de protéines (N x 6,25) = Valeur lue / poids de l'échantillon (mg)

7.2. Dosage des lipides par l'appareil de Soxtherm

Les lipides sont extraits par l'éther de pétrole chauffé à 155°C dans un appareil de distillation Soxtherm. Les échantillons lyophilisés sont pesés (3 à 4 g) dans des cartouches et recouverts avec du coton de verre. Les cartouches sont placées dans des béchers préalablement pesés avec de la pierre ponce (pour éviter une trop forte ébullition). Après avoir ajouté 140 ml d'éther de pétrole, l'ensemble est placé sur une plaque chauffante. L'extraction s'effectue en 4 phases. Au cours de la première phase qui dure une ½ heure, les matières grasses sont solubilisées et le solvant, recondensé dans le système réfrigérant, coule goutte à goutte dans les cartouches. La deuxième phase consiste à évaporer une partie du solvant pour abaisser le niveau dans les cartouches à un ½ cm en dessous du bord. La troisième phase est identique à la première et dure 1 heure. Au cours de la quatrième phase, le solvant est évaporé complètement, les béchers sont d'abord mis à l'étuve jusqu'à évaporation totale du solvant, puis dans un dessicateur pendant 2 heures en présence de P_2O_5. Le bécher est à nouveau pesé pour la détermination du poids des lipides.

Poids lipides = poids final bécher - poids initial (bécher + pierre ponce)

% lipide = (poids des lipides/ poids échantillon) x 100.

7.3. Dosage de l'énergie en bombe calorimétrique

La détermination de l'énergie totale est réalisée par combustion d'une quantité déterminée d'échantillon lyophilisé (10g environ pressé sous forme de pastille) en enceinte close appelée bombe calorimétrique adiabatique (Gallenkamp). Les calories libérées par la combustion dans la bombe, entraînent une élévation de la température de l'eau de la bombe qui est préalablement stabilisée à 27°C.

Energie (kJ) = ((θf - θi) x 9,03) - 0,05) / poids échantillon (mg)

avec θf = température finale, θi = température initiale, 9,03 = constante de l'appareil et 0,05 une constante correspondant à la combustion du fil de nickel (conducteur) et du fil de coton (mèche)

8. Analyses biochimiques

8.1. Extraction des protéines et des ARN

L'extraction des protéines et des ARN totaux est réalisée en milieu acide sur un échantillon de muscle blanc (200 mg) à raison de 1 g pour 5 volumes acide d'acide perchlorique 2% (PCA). Après une centrifugation à 3200 trs/min pendant 20 minutes, le culot est repris dans 1,8 ml d'eau, puis incubé au bain-marie à 37°C pendant 30 minutes. Les tissus sont ensuite solubilisés par addition de NaOH 3M (200 µl) pendant une heure au bain-marie à 37°C. 200 µl sont prélevés pour le dosage des protéines totales.

8.2. Extraction des myofibrilles

L'extraction des myofibrilles est réalisée par la méthode décrite par Zabari (1984). L'échantillon de muscle (200mg) est homogénéisé au polytron pendant 45 secondes, à vitesse maximale (1000g), dans 12 volumes de tampon A (EDTA 4 mM, KCl 90 mM, Tris HCl 10 mM, mercaptoéthanol 5 mM, NaN3 1 mM, pH 7) en présence d'un inhibiteur de protéase (PMSF 1 mM). Après une heure d'extraction à 4°C, l'homogénat est centrifugé à 2000 g pendant 15 minutes à 4°C. Le culot est repris dans 5 volumes de tampon d'extraction B (EDTA 1 mM, KCl 50 mM, mercaptoéthanol 5 mM, NaN_3 1 mM, pH 6,4) en présence de PMSF 1 mM et homogénéisé au polytron pendant 45 secondes à vitesse maximale. L'extraction et la centrifugation sont réalisées dans les mêmes conditions que précédemment. Le culot est ensuite repris dans 5 volumes de tampon d'extraction C (KCl 50 mM, mercaptoéthanol 5 mM, NaN_3 1 mM, pH 6,4) suivi des mêmes opérations. Le culot recueilli est repris dans 5 volumes de tampon d'extraction C, en présence de PMSF 1 mM et homogénéisé au polytron pendant une minute. On obtient ainsi un extrait de myofibrilles qui sera utilisé lors de l'électrophorèse.

- solution A = 5% de $CuSO_4$ dans de l'eau

- solution B = 10% tartrate de NaK dans du NaOH 0,5M

- solution C = 10% de Na_2CO_3 dans du NaOH 0,5M

- solution D = 4 volumes de A + 4 volumes de B + 92 volumes de C

- réactif de Folin = diluer au 1/2 dans du NaOH 0,5M

NB : préparer la solution D et le réactif de Folin juste avant le dosage.

Figure 10: Préparation des solutions pour le dosage des protéines par le réactif de Folin

8.3. Analyse des ARN totaux

Pour le dosage des ARN totaux, la fraction solubilisée (1,8 ml) est précipitée à froid (sur des paillettes de glace) avec du PCA 20% (0,5 ml) pendant 10 minutes. Après une centrifugation à 3200 trs/min pendant 20 minutes, le surnageant est dilué suffisamment (x5) dans la solution servant de blanc (9 volumes de NaOH 0,3 M + 2,5 volumes de PCA 20%). La lecture des échantillons est réalisée simultanément avec celle des blancs, au spectrophotomètre à 260 nm, longueur d'onde correspondant au maximum d'absorption d'une solution pure d'ARN (260nm), puis à 232nm pour corriger les interférences avec les protéines résiduelles présentes dans la solution.

ARN (µg/ml) = 10,53 (3,4 x A260 - 1,44 x A232) avec A260 = absorption échantillon à 260 nm - absorption blanc et A232 = absorption échantillon à 232 nm - absorption blanc.

8.4. Analyse des protéines

La détermination des protéines totales est effectuée par la technique au Folin décrite par Lowry *et al.* (1951) et adaptée aux microplaques de type Elisa (96 puits, CEB Nunc). Il s'agit d'une technique de colorimétrie. Elle consiste à révéler la tyrosine et le tryptophane par le réactif de Folin (Phosphomolybdique phosphotungsténique).

A partir des 200 µl prélevés précédemment, une dilution au 1/5 (addition de 400 µl H2O + 400 µl NaOH 0,1 N) est réalisée et les échantillons sont distribués en duplicats dans les microplaques. Une courbe d'étalonnage est réalisée avec de la BSA (Albumine Sérique Bovine) à différentes concentrations (5, 10, 25, 75, 100, 250, 500, 750, 1000 µg/ml). Après avoir ajouté 25 µl du réactif alcalin au cuivre (figure 10) dans chaque puits, les microplaques sont agitées pendant 10 minutes. Le réactif de Folin, dilué au ½ dans du NaOH 0,5 M, est distribué dans chaque puits, et les plaques sont de nouveau agitées pendant 20 minutes. Après lecture de la densité optique à 690 nm, les concentrations en protéines (µg/ml) sont calculées à l'aide d'un logiciel d'analyse de microplaques Elisa, Kincalc (Biotek).

8.5. Analyse des myofibrilles

La séparation des protéines myofibrillaires est réalisée par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide en présence de SDS (Sodium Dodécyl Sulfate). Les gels de polyacrylamide sont obtenus par polymérisation des monomères d'acrylamide (CH_2=CH-CO-NH_2) et de co-monomères de méthylène bisacrylamide (CH_2=CH-CO-NH-CO-CH) pour la réticulation. La

Tableau VI : préparation des solutions et des gels pour l'électrophorèse

1) Tampon de migration

Tris	0,025 M
Glycine	0,192 M
SDS (Sodium Dodécyl Sulfate)	0,1%
Azide de Sodium	0,02%

pH 8,6

2) Préparation des gels

a) Solutions mères

	gel de concentration	gel de migration
Solution d'acrylamide		
Acrylamide	29,2%	37,84%
Bisacrylamide	0,8%	2,16%
Solution tampon		
Tris	6%	18,15%
SDS	0,4%	0,4%

b) Composition des gels

Solutions	gel de concentration	gel de migration
Tampon	1,25 ml	1,25 ml
Polyacrylamide	0,85 ml	1,875 ml
Glycérol		0,675 ml
H_2O	2,88 ml	1,175 ml
Filtration et dégazage		
Persulfate 10%	40 µl	60 µl
Temed (tetraméthyl éthylène diamine, ammonium persulfate)	10 µl	15 µl

2) Solution colorante

Méthanol	15 volumes
Acide acétique	1 volume
H_2O	5 volumes
Bleu de Coomasie	2%

3) Solution décolorante

Méthanol	20%
Acide acétique	10%
H_2O	70%

polymérisation s'effectue en présence de catalyseurs (Temed ou tetraméthyl éthylène diamine, ammonium persulfate). La densité, l'élasticité et la résistance du gel dépendent de la concentration en polyacrylamide. L'analyse des chaînes légères de la myosine s'effectue sur un gel de concentration (Stacking gel) à 5% et un gel de séparation à 15% de polyacrylamide. L'analyse de ces chaînes légères est effectuée en condition dénaturante, en présence de SDS (Laemmli, 1970). Le SDS est un détergent anionique qui donne au complexe SDS-protéines une charge globale toujours identique, ce qui permet une vitesse de migration dépendante uniquement du poids moléculaire.

Le gel de séparation (tableau VI) est coulé entre deux plaques de verre de 102 mm de longueur et 83 mm de hauteur avec une épaisseur de 1 mm. Un film d'eau distillée est ajouté pour assurer la linéarité à la surface du gel et éviter une déshydratation. Après la polymérisation, réalisée au bout de 45 minutes à 1 heure, l'eau est vidée et le gel de concentration (tableau VI) est coulé à la surface, jusqu'au bord des plaques où des peignes sont déposés pour former des puits de dépôt des échantillons. Les plaques sont ensuite déposées dans une cuve contenant du tampon de migration (Tris 0,025 M, Glycine 0,192 M, SDS 0,1%, Azide de sodium 0,02%, pH 8,6). Un volume identique (7,5 ou 10 µl) de chaque échantillon, contenant du bleu de bromophénol, est déposé dans un des puits, après dénaturation à 100°C (dans de l'eau bouillante) pendant 5 minutes. Un volume identique de marqueurs de poids moléculaire (kits SDS 7 et 200, Sigma) est déposé dans les puits de chaque extrémité du gel. La migration est réalisée à une différence de potentielle constante, 100 V pour le gel de concentration et 120 V pour le gel de séparation. Le bleu de bromophénol permet de suivre le front de migration: l'électrophorèse est arrêtée lorsque ce front atteint la base du gel (1h30). La coloration des gels est réalisée sous agitation légère pendant 1 nuit dans une solution colorante (5 volumes de méthanol, 1 volume d'acide acétique, 5 volumes d'eau distillée, 2% de bleu de Coomassie R250). Les gels sont ensuite décolorés dans une solution décolorante (70% d'eau distillée, 10% d'acide acétique, 20% de méthanol). Elle est poursuivie jusqu'à la décoloration totale du fond du gel. Les différentes protéines sont représentées par des bandes dont les dimensions et l'intensité de coloration dépendent de leur taille et de leur quantité.

L'analyse des gels est faite, après numérisation des images, par un logiciel développé par l'INRA (E1D, Trubuil) qui permet la quantification des différentes bandes.

9. Histologie classique et histoimmunologie

9.1. Les échantillons musculaires

L'échantillon de muscle frais (5 mm de large), prélevé juste à l'arrière de la nageoire dorsale, est fixé pendant 72 heures dans du liquide de Bouin Hollande (2,5g/100ml H_2O + 8g $C_6H_3N_3O_7$ + 10ml HCHO 40% + 1ml CH_3COOH). Il est ensuite rincé à l'eau courante pendant une nuit.

L'échantillon est ensuite déshydraté pendant 24 heures par un passage successif dans des bains d'alcool et de butanol (alcool 70°: 2x1 heure, alcool 95°: 3x3 heures, alcool 95°/butanol: 1x3 heures, butanol: 3x3 heures, bain de butanol d'attente).

Un paraffinage de l'échantillon est ensuite réalisé dans une étuve à 60°C par des bains successifs dans la paraffine pendant 48 heures (2x1 heure, 2x2 heures, 2x3 heures, puis 1x36 heures). L'échantillon est ensuite inclus dans un bloc de paraffine à température ambiante.

Des coupes de 10µm d'épaisseur, réalisées au microtome (Minot), sont étalées sur une lame de verre avec une extrémité dépolie portant les références de l'échantillon. Une goutte d'albumine d'oeuf (dilué dans de l'eau) est glissée sous les coupes pour faciliter l'étalement et l'adhérence. Les lames sont ensuite mises à sécher à l'étuve pendant 48 heures à 37°C.

Les lames sont ensuite déparaffinées dans du toluène (2x10 min), hydratées par des bains successifs d'alcool (alcool 100°: 1x3 min, alcool 95°: 2x3 min, alcool 70°: 1x3 min) et d'eau (5 min), et colorées à l'azorubine (2g azorubine + 1g acide molybdique + 2 ml acide acétique + 200ml H_2O) pendant 1h30 min.

Les lames sont ensuite déshydratées par un passage successif dans l'alcool (alcool 95°: 2x2 min, alcool 100°: 1x2 min) et le toluène (2x5min), puis recouvertes par des lamelles. Le montage des lamelles sur les lames est réalisée par une solution d'afcolène (72 g afcolène + 450 ml de toluène). L'ensemble est séché à l'étuve pendant 48 heures à 37°C.

Les lames sont observées au microscope (Leitz, grossissement x25 pour le muscle blanc et x40 pour le muscle rouge) et des champs représentatifs de chaque type de muscles sont photographiés (pellicule Ektachrome 160, lumière artificielle).

9.2. Analyse des écailles

9.2.1. Préparation des lames

Les lames sont traitées au Tespa (3-aminopropyltriethoxy-silane, Sigma) pour permettre une bonne adhésion des coupes. Ce traitement s'effectue par un passage successif des lames dans du HCl 10% (dilué dans de l'alcool 70). Elles sont ensuite rincées à l'eau distillée, passées dans une solution d'éthanol 95%, puis placées au four à 150°C pendant 5 minutes. Après un refroidissement à température ambiante, elles sont traitées au Tespa 2% (dilué dans l'acétone 100) pendant 10 secondes, puis lavées 3 fois à l'acétone 100 et à l'eau distillée. Les lames sont ensuite séchées à 42°C à l'étuve.

9.2.2. Détection de la fluorescéine

Les écailles, congelées, sont déposées sur les lames préalablement traitées au Tespa, puis fixées à l'aide de paraformaldéhyde 2% (dilué dans du PBS 0,1 M, pH 7,4) pendant 20 à 30 minutes. Les lames sont ensuite rincées dans du tampon PBS-T (pH 7,4) pendant 10 minutes et saturées avec du NPS (dilué au 1/10 dans du PBS) pendant 20 minutes. Une goutte de l'anticorps primaire, l'antifluorescéine couplé à la peroxydase (dilué au 1/100 dans du tampon PBS-T-NPS) est déposée sur chaque lame. Après 1 heure d'incubation à 37°C, les lames sont rincées avec du tampon PBS-T pendant 2 x 10 minutes puis 2 x 5 minutes. La peroxydase est ensuite révélée par le DAB (Fluka Chemical AG, CH-9470) pendant 20 minutes (4 à 5 mg de DAB dilués dans 10 ml de Tris-HCl 0,05 M + 100 µl H_2O_2 à 30%). Après une série de lavages dans du tampon PBS-T (3 x 5 minutes), les lames sont déshydratées par passage successif dans de l'alcool 95, l'alcool 100 et le toluène. Quelques gouttes d'afcolène sont ensuite déposées et la coupe est recouverte par une lamelle. L'ensemble est séché à l'étuve (37°C) et observé au microscope à fluorescence (excitation: 450-500 nm, émission: 510-560 nm).

10. Dosages par radio-immunologie

10.1. L'hormone de croissance

10.1.1. Principe

La technique utilisée est celle du déplacement, c'est-à-dire que l'anticorps (obtenu sur lapin) est préincubé avec l'hormone froide pendant 24 heures, avant l'ajout du traceur. Le dosage de la GH chez le tilapia (Ricordel *et al.*, 1995) a été adapté à partir de celui mis au

point chez les salmonidés (Le Bail *et al.*, 1991a). L'hormone utilisée est une hormone recombinante de tilapia (Eurogentec) et le radio-isotope utilisé est l'iode 125 (^{125}I). Une seconde réaction immunologique précipite le complexe (addition de Serum de Mouton Anti-Lapin = SMAL) en présence de serum de lapin non immunisé (NRS).

$$NRS + Ag + Ag^* + Ac + SMAL \Leftrightarrow Ag\text{-}\underline{Ac\text{-}SMAL}\downarrow + Ag^*\text{-}\underline{Ac\text{-}SMAL}\downarrow + \underline{NRS\text{-}SMAL}\downarrow$$

Ag = antigène froid

Ag* = antigène marqué à l'iode 125

AC = anticorps de lapin dirigé contre l'antigène (GH)

10.1.2. Protocole de dosage

Le dosage de la GH circulante est réalisé directement sur le plasma et celui du contenu hypophysaire sur des extraits d'hypophyse.

L'hypophyse congelée est broyée dans une solution de Tris-HCl (Tris 50 mM, $MgCl_2$ 10 mM, Azide 0,05%, ajusté à pH 7,5 puis addition de BSA 1%, Triton X100 0,1%). Après une centrifugation à 3200 trs/min pendant 1 heure, le surnageant est récupéré et congelé à -20°C. A partir de 25 µl, une dilution au ¼ dans du tampon Tris-HCl avec BSA est réalisée et les échantillons (100 µl) sont distribués en duplicats dans des tubes de 5 ml. Une courbe d'étalonnage (0,025; 0,05; 0,1; 0,2: 0,4; 0,8; 1,6; 3,2; 6,25; 12,5 ng/ml) est réalisée par dilution successive au ½ à partir d'une solution concentrée d'hormone froide (100 ng/20 µl) diluée au 1/10. L'anticorps (rti GH S82, 10^{-2}) dilué à 10^{-5} dans du NRS 1% (Normal Rabbit Serum) est distribué (100 µl) dans chaque tube sauf dans les blancs (NRS uniquement). Après une incubation de 24 heures à 20°C, l'hormone marquée à ^{125}I (10 000 cpm/100 µl) est distribuée dans chaque tube, et est suivie d'une incubation de 10 ou 24 heures à 20°C, en présence de 200µl d'une solution à 5% (plus 7,5% PEG, Tris 20 mM) pour le dosage de la charge hypophysaire ou 10% (plus 3,75% PEG, Tris 20 mM) pour la concentration plasmatique de SMAL (sérum de mouton anti-lapin). A la fin de l'incubation, 3 ml d'une solution de Tris 20 mM sont ajoutés dans chaque tube. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 3200 trs/min pendant 1 heure. Après avoir éliminé le surnageant par retournement des tubes et égouttage, la radioactivité des échantillons est comptée dans un compteur γ (Packard Cobra II, Auto-Gamma).

10.2. Les stéroïdes sexuels

10.2.1. Principe

La technique de dosage utilisée est également celle du déplacement. Elle a été réalisée selon la méthode décrite par Fostier *et al.* (1982) et Fostier et Jalabert (1986). Le radio-isotope utilisé est le tritium (^3H).

10.2.2. Protocole de dosage

10.2.2.1. Extraction des échantillons

Après décongélation, 150, 200 ou 300 µl de plasma sont prélevés dans chaque échantillon et transférés dans des tubes en verre de 5 ml. 2 ml d'un mélange acétate d'éthyl : cyclohexane (50 : 50) sont distribués dans chaque tube. Après avoir été bien agités au vortex (2 x 15 sec), les tubes sont mis au congélateur à -20°C. La phase organique, non congélée, est ensuite récupérée et évaporée à sec sous courant d'air. Après une deuxième extraction et un rinçage de la paroi des tubes à l'éthanol absolu (Merck), le résidu sec est dissout dans du tampon phosphate gélatiné (Na_2HPO_4 0,01 M, NaH_2PO_4 0,01 M, NaCl 9 g/l, pH 7,5, gélatine 1g/l) par léger chauffage et agitation au vortex. Les échantillons sont congelés pour conservation jusqu'au moment du dosage.

10.2.2.2. Dosage des hormones

Trois androgènes (la testostérone, la 11-cétotestostérone, la 11β-hydroxyandrosténedione) et un oestrogène (l'oestradiol-17β) ont été dosés. Le dosage des différentes hormones s'étale sur 2 jours. Une courbe d'étalonnage (5; 8; 12; 20; 35; 55; 90; 150; 250; 400; 650; 1100; 1800; 3000 pg / 100µl) est réalisée à partir d'une solution mère de 100 µg/ml. Les différents points de la gamme (en triplicats), plus 6 blancs et 3 nuls, et les échantillons (en duplicat) sont distribués (100 µl) dans des tubes en polypropylène de 3 ml. Après avoir distribué 100 µl d'anticorps (dilué dans une solution de γ-globulines, 0,5 mg/ml de γ-G) ou de γ-G, les tubes sont rapidement agités au vortex et incubés à 4°C pendant 2 heures. Le traceur, dilué dans du tampon gélatiné (10000 ou 15000 cpm/100 µl), est ensuite distribué (100 µl/ tube), et les échantillons, après avoir été agités au vortex, sont mis à incuber à 4°C pendant 3 heures. Après une nuit d'incubation à 4°C dans du PEG 25% précipitant les γ-G

(polyéthylène glycol, 2 ml par tube), les échantillons sont centrifugés à 3200 trs/min pendant 1 heure à 12°C. Le surnageant est éliminé par retournement des tubes et 2 ml de PEG sont ensuite ajoutés, pour rinçage, dans chaque tube. Après une deuxième centrifugation, dans les mêmes conditions pendant une ½ heure et élimination du surnageant, les échantillons ainsi que les standards totaux, sont repris dans 100µl d'éthanol absolu (Merck). Après avoir été agités au vortex et additionnés de 2,8 ml de scintillateur (Picofluor 40 ou Instafluor, Packard), les tubes sont bouchés et agités vigoureusement. Ils sont ensuite chauffés légèrement, agités à nouveau vigoureusement, et mis à compter dans un compteur β (Minaxi Tri-Carb, 4000 Series).

10.3. Les hormones thyroïdiennes

Le principe du dosage des hormones thyroïdiennes (T3 et T4) est similaire à celui des hormones stéroïdiennes. Le dosage a été réalisé selon la méthode décrite par Byamungu *et al.* (1990; 1991) chez le tilapia. Il est similaire pour les deux hormones (T3 et T4), avec cependant quelques spécificités. La prise d'essai est de 10 µl pour la T4 et de 20 µl pour la T3. La gamme d'étalonnage est également différente entre la T4 (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,25; 1,56; 0,78; 0,39 ng/ml) et la T3 (8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,063 ng/ml).

Les différents points de la gamme sont distribués en triplicats. La distribution des échantillons est réalisée simultanément avec l'anticorps, dilué dans du tampon barbital (Barbital 0,05 M, Azide 0,05 M, EDTA 0,05 M, pH 8,6; BSA 1%), à l'aide d'un dispenseur (Micro Lab M Hamilton). Le traceur, marqué à l'iode 125 (T4-^{125}I ou T3-^{125}I) et dilué dans du tampon barbital (10000 cpm/ 50 µl), est ensuite distribué. Les échantillons (après avoir été agités au vortex) sont mis à incuber une nuit à température ambiante. Après avoir ajouté 50µl de γ-G de bovin et 500 µl de PEG 20%, les tubes sont de nouveau incubés pendant ¼ d'heure à la température ambiante. Le surnageant est éliminé après une centrifugation à 3000 g pendant ¼ d'heure et le culot est mis à compter dans un compteur γ.

11. Essais de dosages radiorécepteurs de la GH

11.1. Principe

La technique radiométrique de dosage des récepteurs de la GH est adaptée de celle mise au point chez les salmonidés (Yao *et al.*, 1991). Le principe de cette technique est la compétition entre une hormone marquée (H*) et son homologue non marquée (Hf) pour l'occupation des sites.

$$Rc + H^* + Hf \Leftrightarrow Rc\text{-}H^* + Rc\text{-}Hf$$

11.2. Protocole de dosage

11.2.1. Préparation des extraits tissulaires

Après avoir pesé le foie, les tissus sont découpés en morceaux à l'aide d'un scalpel, rincés 2 à 3 fois dans du tampon A (Tris 20 mM, $MgCl_2$ 5 mM, azide 0,1%, pH 7,5) et broyés au polytron dans 5 volumes du même tampon. Le broyat est ensuite filtré sur de la gaze, homogénéisé au potter, et centrifugé à 4200 g pendant 40 minutes. Le culot est repris dans le même tampon, agité longuement au vortex et homogénéisé au potter. Une deuxième centrifugation suivie des mêmes opérations est réalisée. Après une troisième centrifugation, le culot est repris dans la moitié en volume du poids initial, homogénéisé au potter, et dosé directement ou conservé à -20°C.

11.2.2. Qualité de l'hormone et liabilité des récepteurs

A partir de la solution obtenue précédemment (2 mg/ml), des dilutions en cascade au ½, jusqu'au 1/32 sont réalisées sur chaque échantillon dans du tampon C (tampon A, inhibiteur de trypsine 0,25 mg/ml, acide ascorbique 0,5 mM, BSA 0,5%, pH 7,5). Les différentes solutions (tampon, membrane, hormone froide, hormone marquée) sont réparties dans un ordre spécifique pour chaque type de liaison: tampon - hormone marquée (20 000 cpm/100 µl)-membrane pour les liaisons totales (LT) et hormone froide (1000 ng/ 100 µl) - hormone marquée - membrane pour les liaisons non spécifiques (LNS). Les tubes sont ensuite mis à incuber à 12°C pendant 20 heures. Après avoir distribué 3 ml de tampon A dans chaque tube et centrifugé à 3200 trs/min pendant 10 minutes à 4°C, le surnageant est éliminé par retournement des tubes dès l'arrêt de la centrifugeuse, et la radioactivité des échantillons est comptée dans un compteur γ.

12. Dosage immunoenzymatique (ELISA) de la vitellogénine

12.1. Principe

Il est basé sur le même principe que les méthodes de radio-immunologie. C'est un dosage de type non compétitif. L'anticorps primaire (anti-vitellogénine) réagit dans un premier temps avec l'antigène à doser, la vitellogénine, qui est immobilisée sur une plaque de

1) Tampon phosphate

Na2HPO4 11,36 g dans 800 ml (B)
NaH2PO4 3,60 g dans 300 ml (A)
Ajuster (B) avec (A) jusqu'à pH 7,4

2) Tampon carbonate

Na2CO3 1,325 g dans 250 ml (A)
NaHCO3 1,050 g dans 250 ml (B)
Ajuster (B) avec (A) jusqu'à pH 9,6

3) Tampon citrate

Acide citrique C6H8O7-2H2O 7,352 g dans 250 ml (A)
Disodium phosphate Na2HPO4 7,100 g dans 250 ml (B)
Ajuster (A) avec (B) jusqu'à pH 5 (tombe juste en principe)

4) Tampon PBS-T-NPS

Tampon phosphate 0,1M dilué au 1/10 (100 ml + 900 ml H2O)
+ NaCl 9 g/ l
+ Tween 20 500 ml/ l
+ NPS 2% 2 ml/ 100 ml
pH 7,2

5) Tampon de révélation

20 ml/ plaque 19 ml tampon citrate
+ 10 mg OPD (Ortho-Phenylène-Diamine; N° P1526 SIGMA)
+ 5 à 15 ml de H2O2 à 30%

6) Tampon d'arrêt

H2SO4 2M à 4M

7) Plaques ELISA utilisées

NUNC type II (Poly Labo I31584-42404)

Figure 11 : Préparation des solutions tampons pour le dosage de la vitellogénine

polystyrène, puis avec un second anticorps (anti-immunoglobuline) marqué à l'aide d'une enzyme, la peroxydase-anti-peroxydase. L'enzyme est ensuite révélée par l'OPD (O-Phénylènediamine) en présence d'eau oxygénée (H_2O_2).

12.2. Mise au point du dosage chez le tilapia

Le protocole de dosage utilisé est adapté de celui mis au point chez la sole par Nunez-Rodriguez *et al.* (1989). Trois anticorps et trois antigènes (vitellogénine purifiée, plasma de mâle sauvage, plasma de femelle traitée à l'oestradiol-17β) ont été testés. Le dosage est réalisé dans des microplaques en polystyrène de 96 puits (CEB Nunc). Le coating (fixation) de l'antigène (200 µl) est réalisé dans du tampon carbonate 0,05 M à pH 9,6 (figure 11). Les blancs sont réalisés avec la même concentration de BSA, de plasma lyophilisé de mâle ou de l'haptène ayant servi au couplage de l'antigène pour l'immunisation. La gamme de référence (1 µg à 100 pg) est réalisée à partir d'une solution purifiée de vitellogénine. Les plaques, recouvertes de papier en aluminium, sont mises à incuber une nuit à 37°C, sous agitation constante. Les puits sont ensuite saturés avec 200 µl de tampon PBS-T-NPS à 2% et incubés pendant 30 minutes à 37°C. Ils sont ensuite rincés (3 X 2 minutes) au PBS-Tween à l'aide d'une pissette. L'anticorps primaire, dilué dans du tampon PBS (1/2000 à 1/40000), est distribué (200 µl) et incubé pendant 2 heures à 37°C. Après une série de 3 rinçages au PBS-Tween, l'anticorps secondaire (dilution 1/1000 à 1/10000) est ajouté et incubé 45 minutes à 37°C, suivi d'une incubation avec le complexe PAP (dilution 1/1000 à 1/50000) dans les mêmes conditions après une série de rinçages des puits. Après un nouveau rinçage, la réaction est révélée par l'OPD dilué dans du tampon citrate-phosphate à pH 5. La révélation est arrêtée au bout de 15 à 30 minutes par H_2SO_4 4M (50 µl par puits). La lecture de la densité optique des plaques est effectuée à 490 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Metertech modèle 960).

13. Dosages enzymatiques: les désiodinases

La glande thyroïde des poissons, comme chez les mammifères, secrète principalement la thyroxine. Les autres hormones (T3, rT3 et T2) sont essentiellement des produits des activités enzymatiques. Le dosage de ces différentes enzymes est réalisé selon la méthode décrite par Mol *et al.* (1993) sur des fractions microsomales de foie, de rein, de branchies et de cerveau.

TAMPON A

1) Hepes 10 mM 0,596 g/250 ml

2) DTT 1 mM 0,0386 g/250 ml

pH 7

3) $C_{12}H_{22}O_{11}$ = saccharose 0,25 M 21,394 g/250 ml

TAMPON B

1) $NaH_2PO_4.H_2O$ 1 M 34,498 g/250 ml

2) $Na_2HPO_4.2H_2O$ 1 M 44,497 g/250 ml

pH 7

3) $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$ = EDTA 20 mM 1,861 g/250 ml

solution stock à diluer au 1/10 au moment de l'emploi

4) DTT 1 mM 0,0386 g/250 ml

Figure 12 : Solutions tampons pour la préparation des fractions microsomales utilisées pour le dosage de l'activité des désiodinases

13.1. Préparation des fractions microsomales

13.1.1. Le foie

Le foie encore congelé est pesé (1 g) et broyé dans 5 ml de tampon A sans saccharose (figure 12) à l'ultraturax pendant 20 secondes. Le broyat est ensuite homogénéisé au potter et centrifugé à 10 000 g pendant 20 minutes à 4°C. Le surnageant est récupéré dans d'autres tubes (équilibration des tubes avec du tampon A sans saccharose) pour une ultracentrifugation à 135 000 g pendant 1 heure à 4°C. Après avoir éliminé le surnageant et rincé les parois du tube, le culot est repris dans 1ml de tampon B (figure 12) et homogénéisé à l'aide du potter. 20 µl sont alors prélevés pour le dosage des protéines et le reste est réparti en deux *aliquotes*. L'ensemble des tubes est immédiatement congelé à l'azote liquide et conservé à -80°C.

13.1.2. Le rein

Le protocole de préparation, pour l'ensemble des tissus, est pratiquement le même que pour le foie avec toutefois quelques spécificités. Le broyage des reins s'effectue dans du tampon A avec du saccharose 0,25 M, et la centrifugation est réalisée à 25 000 g pendant 20 minutes et l'ultracentrifugation à 100 000 g pendant une heure à 4°C.

13.1.3. Les branchies

Le broyage des tissus s'effectue dans du tampon A avec du saccharose 0,25 M, la centrifugation à 10 000 g pendant 20 minutes et l'ultracentrifugation à 100 000 g pendant une heure à 4°C.

13.1.4. Le cerveau

S'il y a suffisamment de tissus, la préparation des fractions microsomales est identique à celle des reins. Dans le cas contraire, l'activité de la désiodinase est mesurée à partir des homogénats. Les tissus sont alors broyés dans 3 volumes de tampon B et centrifugés à 10000 g pendant 20 minutes, à 4°C. Le surnageant est ensuite prélevé et congelé immédiatement dans l'azote liquide.

13.2. Protocole de dosage

Après avoir dosé les protéines, les échantillons sont dilués de façon à aboutir à 0,25 mg de protéines/ ml.

13.2.1. IRD III

Les échantillons sont distribués en duplicats (100 µl/tube) et 50 µl de DTT (30 mM) et 50 µl de traceur (T3-^{125}I, 200 000 cpm/50 µl de H_2O) sont ajoutés à chaque tube. Après avoir agité au vortex puis incubé les tubes pendant 1 heure à 37°C, la réaction est arrêtée par addition de 300 µl de méthanol. Les tubes sont à nouveau agités au vortex et centrifugés à 4000 g pendant 10 minutes à 4°C. 300 µl du surnageant sont récupérés dans d'autres tubes et 250 µl d'acétate d'ammonium sont ajoutés dans chacun d'eux. Après avoir bien agité au vortex, 150 µl de chaque échantillon sont prélevés et analysés en chromatographie liquide à haute pression (HPLC).

13.2.2. ORD I et ORD II

Le protocole est pratiquement le même pour les deux types d'ORD. Le substrat pour l'ORD I est la rT3-^{125}I (50 000 cpm/ 50 µl) et pour l'ORD II, la T4-^{125}I (50 000 cpm/ 50 µl). La concentration de DTT est de 15 mM et 30 mM respectivement pour le type I et le type II. La réaction est cette fois-ci arrêtée par addition de 100 µl de BSA (5%) pendant 5 minutes sur de la glace, suivie d'une précipitation par 500 µl de TCA 10% pendant 15 minutes. Après une centrifugation à 400 g pendant 10 minutes à 4°C, 500 µl du surnageant sont prélevés et la radioactivité est mesurée au compteur γ.

14. Analyse du Sr par spectrophotométrie de flamme

Les écailles, prélevées sur chaque côté du poisson juste derrière l'opercule et autour de la ligne latérale, sont d'abord congelées à -20°C, puis lyophilisées à -55°C pendant 90 minutes. Elles sont ensuite pesées avec une microbalance. Une partie des échantillons est minéralisée au four à 550°C pendant 4 heures dans des capsules en porcelaine émaillée. Trois concentrations différentes de HCl (0,1, 0,5 et 1 N) ont été utilisées pour la solubilisation des cendres. L'autre partie des échantillons a été directement solubilisée dans 0,5 ml de HCl 1N plus 10% de glycérol. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 1000 g pendant 20 minutes et le surnageant a été récupéré.

A chaque échantillon (250 µl), a été ajouté : soit 1 ml de lanthane et 1ml de chlorure de césium (CsCl) avec 7,75 ml d'H_2O; soit 200 µl de chacun des 2 produits avec 1,35 ml d'H_2O, afin de diminuer les interférences avec d'autres minéraux. Une gamme d'étalonnage (200, 100, 50 µg de Sr/l) est réalisée en présence de lanthane et de césium (figure 13). Les échantillons

Solution mère 14,453 mg Sr/ l

Préparer 10 ml de solution intermédiaire : 10 mg/l (6,92 solution mère + 3,08 ml H_2O)

Points de la gamme

200 µg/l

200 µl de la solution 10 mg/l

1 ml de lanthane

1 ml de CsCl

7,8 ml H_2O

100 µg/l

5 ml de la solution 200 µg/l

500 µl de lanthane

500 µl de CsCl

4 ml H_2O

50 µg/l

5 ml de la solution 100 µg/l

500 µl de lanthane

500 µl de CsCl

4 ml H_2O

Blanc

5 ml de lanthane

5 ml de CsCl

5 ml de HCl 1N

35 ml H_2O

Figure 13 : préparation de la gamme de référence pour le dosage du strontium en spectrophotométrie de flamme.

sont ensuite analysés au spectrophotomètre d'absorption de flamme (Varian Techtron) avec une lampe Sr.

15. Techniques d'analyse d'images: analyse de la conformation externe

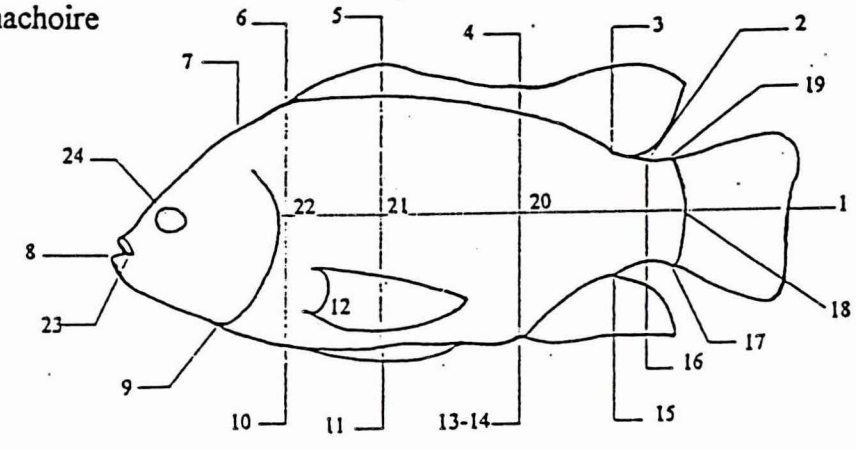
Des prises de vue, sont réalisées sur les poissons anesthésiés avec un appareil photo vidéo CCD Canon Ion RC-260. Les poissons sont disposés à plat sur un côté, les nageoires relevées pour bien distinguer leur base. Pour éviter les reflets, les poissons sont déposés sur un support blanc et mat, éclairé par une lampe halogène de 500 W. Un disque de diamètre connu (étalon), est associé à chaque prise de vue. Les photos sont ensuite converties en images numériques à partir de l'appareil photo (format PCX) grâce à une carte graphique et un micro-ordinateur compatible (IPC Dynasty 486). L'ordinateur, muni d'une carte graphique spécifique et du logiciel de traitement d'image Ion, transforment les images en format PCX. Un certain nombre de points spécifiques (figure 14), préalablement choisis sur l'image, grâce à une grille (superposée sur celle-ci) et au logiciel « Emmanuelle », sont saisis à l'aide d'une table à digitaliser (Océ Graphics G642). L'analyse des données de la conformation externe (tableau VII, figure 15) est réalisée par le logiciel "Emmanuelle", qui calcule des longueurs et des hauteurs à partir des coordonnées x et y d'une première série de 24 points remarquables, et des surfaces à partir d'une seconde série de 20 points de contours.

16. Calculs

* rapport gonadosomatique (RGS) = poids des gonades / poids final
* Rapport hépatosomatique (RHS) = poids du foie / poids final
* Taux de croissance spécifique (TCS) = ((LN (poids final) - LN (poids initial))/ temps d'élevage) x 100
* Consommation volontaire (CV) = aliment consommé / poids corporel final (poids sec / poids vif)
* Indice de consommation (IC) = aliment ingéré / gain de poids (poids sec / poids vif)
* Coefficient d'efficacité protéique (CEP) = gain de poids / protéine ingérée (poids vif / poids sec)
* Coefficient d'utilisation protéique (CUP, %) = gain protéique par poisson / protéines ingérées (poids sec / poids sec)
* Coefficient de rétention lipidique (CRL, %) = gain lipidique par poisson / lipides ingérés (poids / poids sec)

1. Intitulés des points à saisir sur le poisson

1 : extrémité de la queue
2 : largeur haut queue
3 : arrière nageoire dorsale
4 : arrière partie épineuse nageoire dorsale
5 : contour milieu haut
6 : début nageoire dorsale ou contour avant haut
7 : début haut tête
8 : bout du nez
9 : début bas tête
10 : contour avant bas
11: contour milieu bas
12 : nageoire pelvienne
13 : projection bas arrière partie épineuse nageoire dorsale
14 : projection bas arrière partie épineuse nageoire dorsale ou debut nageoire anale
15 : arrière nageoire anale
16 : contour bas queue
17 : début bas nageoire caudale
18 : début milieu nageoire caudale
19 : début haut nageoire caudale
20 : milieu arrière partie épineuse n. dorsale - debut nageoire anale
21 : milieu contour milieu
22 : milieu contour avant
23 : extrémité machoire
24 : oeil



2. Positionnement de la grille et emplacement des points à saisir

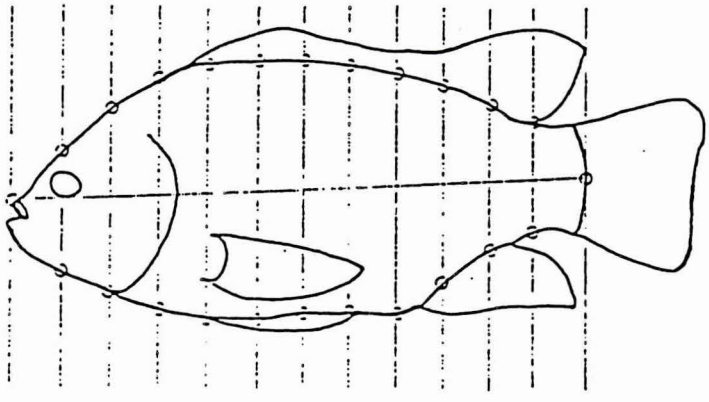
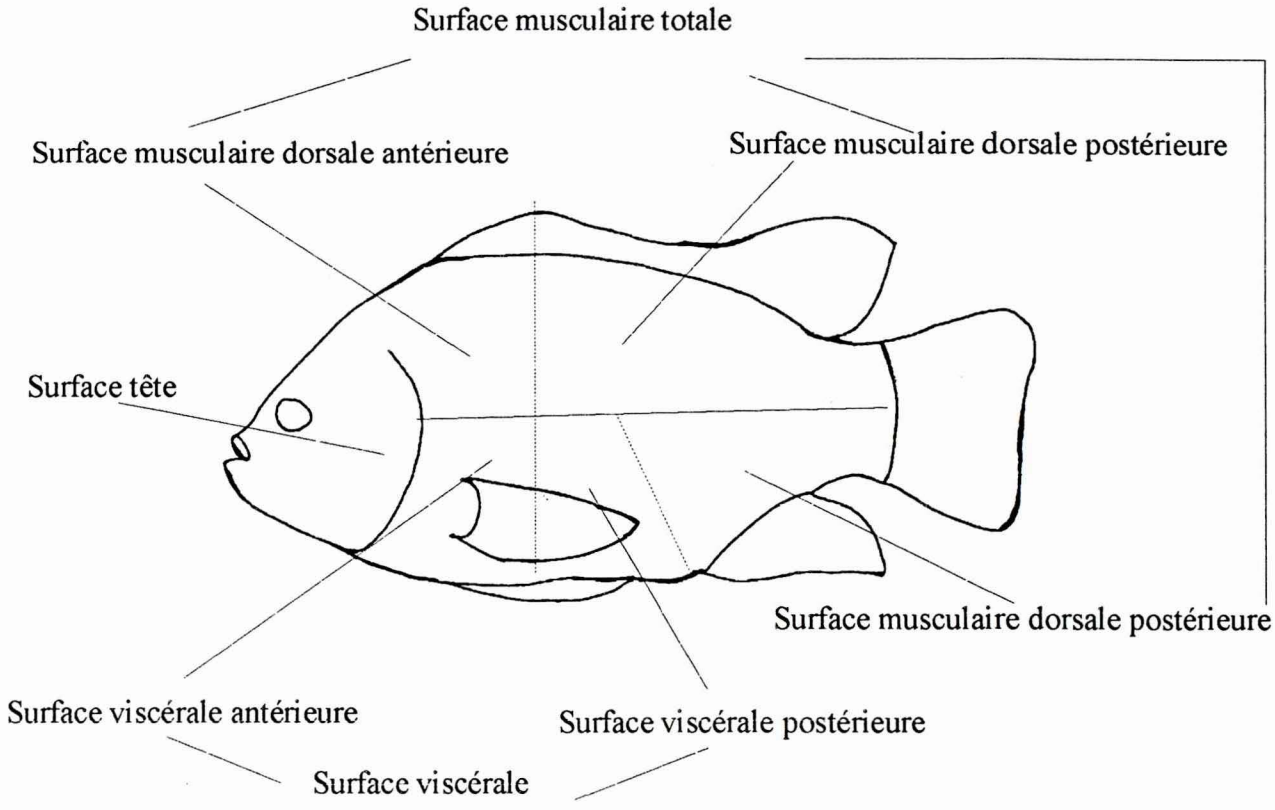
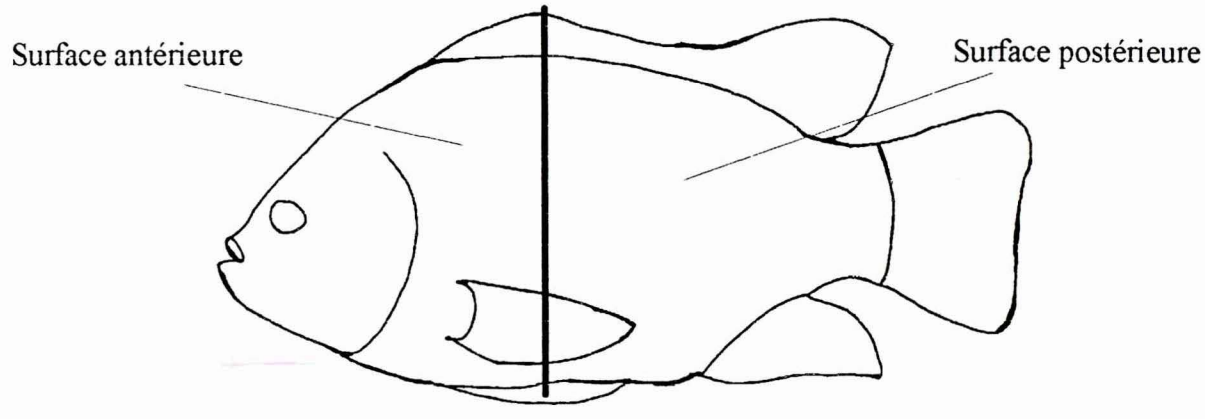


Figure 14 : Points saisis lors de la prise de mesure de la conformation sur les poissons

Tableau VII : Liste des paramètres de conformation calculés à l'aide du logiciel « Emmanuelle ». Les différentes longueurs, hauteurs et demi hauteurs sont exprimées en cm, et les surfaces en cm2 (Lefranc, 1992a, b)

Paramètres de conformation	Abréviations
Surface totale	a1
Surface carcasse	a2
Surface tête	a3
Surface viscérale	a4
Surface viscérale postérieure	a5
Surface viscérale antérieure	a6
Surface musculaire totale	a7
Surface musculaire dorsale antérieure	a8
Surface musculaire dorsale postérieure	a9
Surface musculaire ventrale postérieure	a10
Surface antérieure	a11
Surface postérieure	a12
Longueur tête	a13
Longueur machoire	a14
Longueur antérieure	a15
Longueur postérieure sans nageoire caudale	a16
Longueur totale	a17
Longueur standard	a18
Longueur sans tête et sans nageoire caudale	a19
Longueur antérieure sans tête	a20
Longueur postérieure	a21
Hauteur 1 (Hauteur pédoncule caudal)	a22
Hauteur 11 (diagonale zone caudale)	a23
Hauteur 12 (diagonale zone caudale)	a24
Hauteur 2 (hauteur fin nageoire dorsale)	a25
Hauteur 21 (diagonale zone fin nageoire dorsale1)	a26
Hauteur 22 (diagonale zone fin nageoire dorsale2)	a27
Hauteur 3 (hauteur milieu nageoire dorsale)	a28
Hauteur 31 (diagonale milieu nageoire dorsale 1)	a29
Hauteur 32 (diagonale milieu nageoire dorsale 2)	a30
Hauteur 4 (hauteur début nageoire dorsale)	a31
Hauteur 41 (diagonale début nageoire dorsale 1)	a32
Hauteur 42 (diagonale début nageoire dorsale 2)	a33
Hauteur 43 (diagonale début nageoire dorsale 3)	a34
Hauteur 5 (hauteur début nageoire dorsale)	a35
Hauteur 6 (hauteur tête)	a36
Demi hauteur 41 (demi hauteur musculaire)	a37
Demi hauteur 42 (demi hauteur viscérale)	a38
Demi hauteur 31 (demi hauteur musculaire)	a39
Demi hauteur 32 (demi hauteur viscérale)	a40





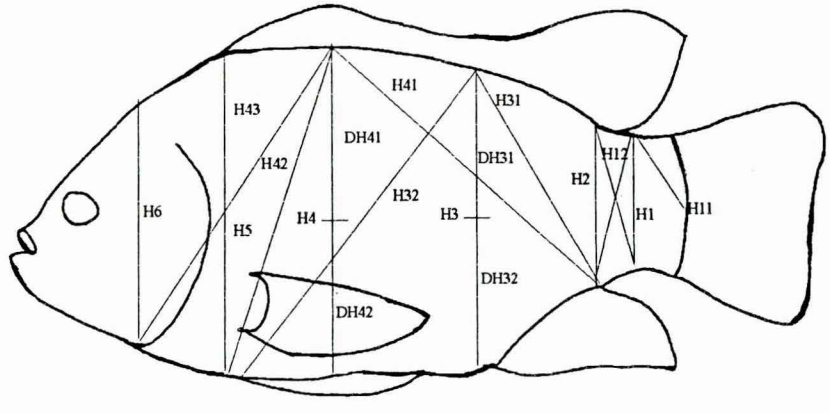


Figure 15 :Les différentes grandeurs morphologiques calculées par le logiciel "Emmanuelle" (Lefranc, 1992a, b).

* Coefficient de rétention énergétique (CRE, %) = gain d'énergie par poisson / énergie ingérée (poids sec / poids sec).

17. Analyses statistiques des résultats

Des analyses de variances de type ANOVA, à un ou deux facteurs avec ou sans covariables, ont été effectuées sur l'ensemble des données, lorsque les conditions d'applications étaient satisfaites, à l'aide du logiciel Statgraphics. Le test de Turkey ou le test "t" de Student a ensuite été utilisé pour comparer les différences, au seuil de 5% pour le test de Student. Des régressions linéaires ont été effectuées entre certains paramètres, de même que des analyses de corrélations.

CHAPITRE III
MISE EN PLACE DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE EN RELATION AVEC L'EVOLUTION DU STATUT ENDOCRINIEN

1. INTRODUCTION

La différence de croissance entre les mâles et les femelles chez les tilapias, est une préoccupation importante pour l'aquaculture de cette espèce. Cette croissance différentielle est bien connue en élevage. Toutefois, sa caractérisation se limite à l'analyse de données morphométriques et elle a surtout été faite lors des traitements d'inversion hormonale du sexe (Guerrero, 1975; Yamazaki, 1976; Hanson *et al.*, 1983; Ufodike et Madu, 1986; Philippart et Mélard, 1987). Il existe peu de données, d'une part sur la période d'apparition d'une différence de croissance entre les deux sexes, et d'autre part sur les facteurs génétiques, physiologiques, comportementaux ou environnementaux qui la sous-tendent. Nous ne savons pas, par exemple, s'il existe une période pendant laquelle la croissance est comparable entre les 2 sexes, ou si au contraire cette différence se met en place dès l'éclosion ou au cours du stade larvaire. Aucune corrélation concernant la mise en place de cette caractéristique biologique avec l'apparition de la première gamétogenèse n'a été rapportée chez le tilapia.

L'existence d'une différence de croissance entre les mâles et les femelles ne peut être mise en évidence pratiquement qu'à partir du moment où les animaux sont sexables d'après la papille urogénitale, c'est à dire à un poids moyen de 30 à 50 g. Or à cette taille, certaines femelles peuvent être déjà sexuellement matures (ovogenèse avancée ou achevée), au moins dans certaines conditions d'élevage. Chez d'autres espèces, la période précédant la puberté est caractérisée par une croissance importante dans une première phase, suivie dans une deuxième phase d'une diminution également importante de la croissance au moment de la maturation sexuelle et de la reproduction (Hunt *et al.*, 1982; Le Bail, 1988).

De plus, la période pubertaire est caractérisée par une augmentation très importante du niveau plasmatique de certaines hormones impliquées directement ou indirectement dans le contrôle de la croissance (Hunt *et al.*, 1982; Baynes et Scott, 1985). Chez les salmonidés, au cours de la maturation sexuelle, l'augmentation du taux de vitellogénine coïncide ou est précédée par une augmentation des taux d'oestrogènes, particulièrement de l'oestradiol-17β (Ho, 1991). La synthèse hépatique de la VTG induite par l'oestradiol-17β se fait au dépend de la croissance musculaire (Olin et von der Decken, 1987; Waters et von der Decken, 1989). Les stéroïdes sexuels pourraient donc être impliqués dans le déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe chez le tilapia, directement ou indirectement par leurs actions sur d'autres systèmes hormonaux impliqués dans la croissance (axes somatotrope et thyréotrope).

Cette première partie a pour objectif de caractériser la croissance différentielle chez le tilapia. Il s'agit en particulier d'identifier la période la plus précoce d'apparition de la différence de croissance en relation avec la mise en place des organes sexuels et la maturation sexuelle. Une étude séquentielle a donc été réalisée depuis la résorption de la vésicule vitelline jusqu'à l'apparition d'une différence de croissance significative entre les mâles et les femelles. Dans cette étude, une méthodologie appropriée d'évaluation de la croissance a été mise au point. La recherche de différence de croissance précoce nous a amené à mettre en oeuvre des analyses de la croissance instantanée du muscle (rapport ARN/protéines). Le suivi de la croissance globale est associé à une analyse du statut endocrinien (axe somatotrope, hormones stéroïdiennes) durant toute la période (pré et post différentiel de croissance), afin de déterminer les hormones susceptibles d'être impliquées dans le processus.

Cette première étude séquentielle, qui vise à analyser les changements tissulaires et hormonaux dans la période précédent l'apparition d'une croissance différentielle entre les mâles et les femelles, a suggéré un effet de l'alimentation *ad libitum* sur l'installation du différentiel de croissance. Nous avons donc testé dans une deuxième étude les effets du niveau d'alimentation. Par ailleurs, nous avons voulu explorer le rôle possible des interactions sociales, en particulier alimentaire, en comparant des cohortes présentant différents sex-ratios. Une méthodologie d'analyse de l'apparition du différentiel de croissance lié au sexe a également été testée.

2- PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Les expériences ont été réalisées à la station piscicole de l'IDESSA à Bouaké (Côte d'Ivoire). La souche utilisée est la "Souche Bouaké" (Rognon, 1993). Les reproductions, de même que l'élevage larvaire, ont été effectués en aquarium. Les animaux sont transférés dans des bacs extérieurs en béton (1x1x0,5 m) pour la phase de croissance.

2.1. Expérience I

L'objectif de cette première expérience est de suivre les croissances des mâles et des femelles d'une cohorte d'*Oreochromis niloticus* à partir des stades précoces, dans des conditions d'élevage homogènes et de prélèvements les moins perturbantes possibles pour les poissons. Le suivi des performances de croissance, de la mise en place des gonades et de la

Composition : farine de poisson, concentré soluble de protéines de poisson, levures, huile de poisson, lactosérum, amidon cuit, farine de soja toasté, composé minéral vitaminé.

Garanties :	au minimum	Protéines brutes	53,00%
		Matières grasses	8,50%
	au maximum	Humidité	10,50%
		Cellulose	2,00%
		Matières minérales	8,00%
Vitamines ajoutées par 100 kg			
	Vitamine A		2 000 000 IU
	Vitamine D3		200 000 IU
	Vitamine E		6 000 mg
	Vitamine K3		300 mg
	Vitamine C		40 000 mg
	Vitamine B1		1 500 mg
Supplementations par 100 kg			
	Zinc		6 000 ppm
	Manganèse		11 000 ppm
	Antioxydant		15 000 ppm

Figure 16 : Composition de l'aliment "Trouvit" utilisé au cours des différentes expérimentations (aliment complet pour alevin 2ème phase)

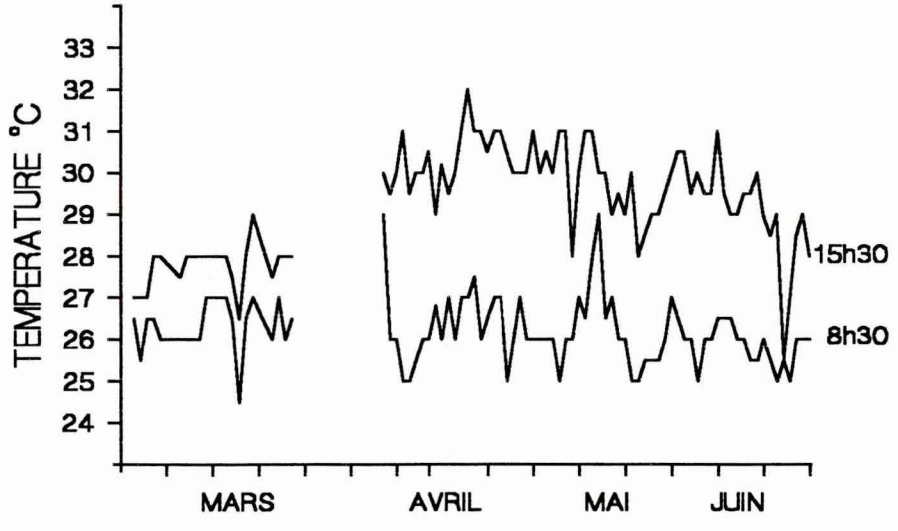


Figure 17 : Evolution de la température de l'eau dans les bacs au cours de l'expérimentation

Tableau VIII : Répartition des bacs en fonction des classes de poids

N° de classe	Intervalles de poids	N° des bacs
1	[2 , 4[	1 et 2
2	[4 , 8[	3 et 4
3	[8 , 16[	5 et 6
4	[16 , 24[	7 et 8
5	[24 , 32[	9 et 10
6	[32 , 100[	11 et 12

maturité sexuelle, est associé à une analyse de certains critères biochimiques du développement musculaire et du statut endocrinien.

Les poissons utilisés sont issus de deux couples différents. Les alevins prélevés à 11 jours post-fécondation (PF) de la bouche des femelles, sont élevés dans un aquarium de 400 litres. Ils sont nourris *ad libitum* (30% de la biomasse par jour) durant 15 jours et en continu pendant la photophase (distributeur automatique) avec de l'aliment TROUVIT 2ème phase (53% de protéines, figure 16). Ils sont ensuite repartis, de façon aléatoire, dans des bacs en béton à raison de 100 individus par bac recevant le même taux d'alimentation avec le même mode de distribution. Ils sont nourris jusqu'au 40ème jour PF à 30% de la biomasse, puis à 20% jusqu'à 55 jours PF et enfin à 15% jusqu'à la fin de l'expérience. Suite à une rupture de stock à 10 jours de la fin de l'expérience, l'aliment commercial TROUVIT a été remplacé par un aliment extrudé 2GE (granulés d'engraissement fabriqués sur place, 35% de protéines). La température varie en moyenne entre 25 et 32°C en conditions naturelles (figure 17).

Afin de minimiser les stress de manipulations, deux lots témoins sont utilisés pour suivre la croissance de l'ensemble des lots. Chaque abattage porte sur la totalité d'un des lots pour éviter de modifier la structure du groupe par des échantillonnages réguliers. Pour cela, 12 lots destinés à être abattus à 6 stades différents ont été constitués et placés dans 12 bacs. Les stades représentés par des classes de poids (Tableau VIII) ont été choisis en fonction de données antérieures reliant le poids corporel et la gamétogenèse (Baroiller, données non publiées). Les replicats sont pesés alternativement toutes les deux semaines. Lorsque les individus des bacs témoins atteignent l'une des classes de poids fixées, les animaux des deux bacs correspondants sont pêchés et pesés individuellement. Des prélèvements de sang, d'hypophyse, de foie, de gonades et de muscle blanc sont alors effectués sur une cinquantaine d'individus, à raison de 10 individus par jour, de façon alternative dans les 2 bacs concernés. Les organes prélevés sont immédiatement congelés dans l'azote liquide. Le plasma, prélevé après une centrifugation à 3000 g pendant 15 minutes, est conservé à -20°C.

2.2. Expérience II

3 types de groupes ont été utilisés (tableau IX) :

- un groupe mixte classique composée théoriquement de 50% de mâles et 50% de femelles.
- un groupe génétiquement femelle composée d'un pourcentage de femelles proche de 100% (Baroiller, 1995) issue d'un croisement entre un néomâle, individu de génotype femelle et de phénotype mâle (mâle de génotype XX, figure 2) et une femelle normale (génotype XX).

Tableau IX : Nombre de réplicats en fonction du type de population et du niveau d'alimentation

Type de population	Niveau haut = *ad libitum* (1)	Niveau bas = restreint (2)
Mixte (50% / 50%)	4	4
Monosexe femelle	2	2
Mélangée (25% / 75%)	2	2

Tableau X : Taux de nourrissage appliqués au cours de l'expérimentation II en fonction de l'âge ou du poids corporel

Age ou Poids corporel	Niveau haut = *ad libitum* (1)	Niveau bas = restreint (2)
11 - 31 jours PF	30%	30%
mise en lot (31 jours PF) à 2 g	16%	8%
2 - 6 g	12%	6%
6 - 45 g	8%	4%
45 - 100 g	4%	2%

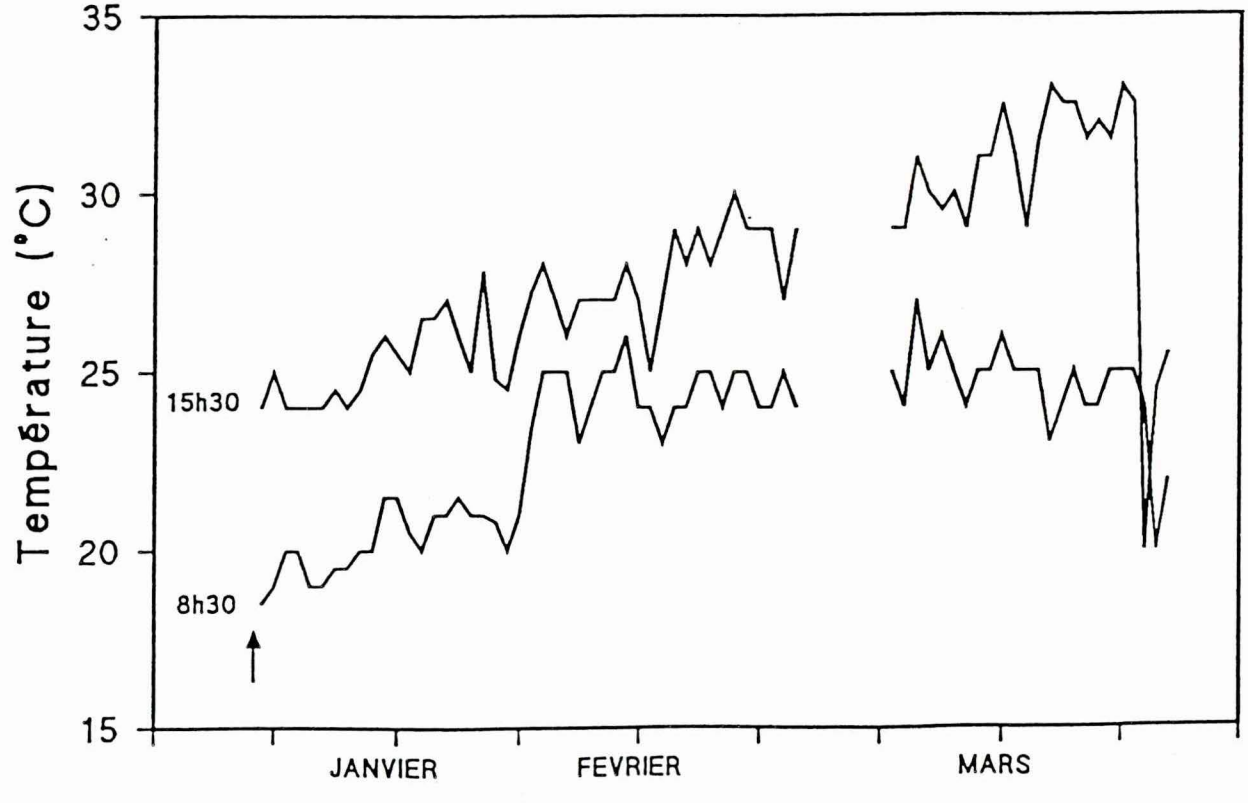


Figure 18 : Evolution de la température de l'eau dans les bacs au cours de l'expérimentation.

-un groupe dit "mélangé" composé de 50% de la cohorte monosexe femelle et 50% de la cohorte mixte classique (sex-ratio théorique : 25% mâles et 75% femelles).

Les différents groupes seront respectivement désignés par **F50**, **F100** et **F75** (F = femelle, 50 = % de femelles dans le groupe)

Chaque groupe a été nourri, avec de l'aliment TROUVIT 2ème phase (53% de protéines, figure 16), à niveaux d'alimentation (tableau X). Pour obtenir les deux niveaux que sont l'*ad libitum* (niveau haut ou 1) et la restriction (moitié de l'*ad libitum* = niveau bas ou 2), les quantités d'aliment distribuées ont été fixées en fonction de la table d'alimentation de Marek (1975).

Les alevins sont prélevés sur la femelle à 11 jours PF et élevés pendant 2 semaines en aquarium puis transférés dans des petits bacs en béton soumis aux conditions naturelles de photopériode et de température. Les 3 types de cohortes d'alevins sont alors répartis dans 16 bacs à raison de 100 individus par bac. Cette densité est inférieure à la densité maximale. Les poissons sont nourris dans les mêmes conditions que lors de la première expérience. Les températures sont relevées 3 fois par jour et varient en moyenne entre 19 et 33°C (figure 18).

Une pêche est effectuée toutes les 2 semaines, de façon alternative, dans les 2 ou 4 replicats (figure 19) de chaque groupe afin de suivre l'évolution du poids corporel. Des fréquences de distribution, des poids individuels sont établies à chaque pêche. Dès l'apparition d'une bimodalité au sein du groupe F50 (exemple figure 20), 70 individus (35 mâles et 35 femelles) sont pêchés dans les groupes F50 et F75, et 40 dans le groupe F100 pour obtenir les mensurations et effectuer le prélèvement des différents tissus (voir expérience I).

Dans les deux expériences (I et II), le sexage des poissons de poids corporel inférieur à 10 g a été réalisé par la technique du "Squash gonadique" (écrasement de la gonade entre lame et lamelle, et observation au microscope photonique; planche III) et observation des gonades dans la cavité abdominale (planche IV). Les ARN totaux sont quantifiés par spectrophotométrie à 260 nm et les protéines totales par la technique au Folin. Les stéroïdes sexuels (11-KT, T, 11-βOHΔ4, E2-17β) la charge hypophysaire en GH (quantité totale de GH dans une hypophyse rapportée au poids de l'animal) et les taux circulant de GH ont été dosés par RIA. De plus, au cours de la deuxième expérience, les hormones thyroïdiennes (T4 et T3) sont quantifiées, également par RIA et la vitellogenine par ELISA (cf. chapitre II).

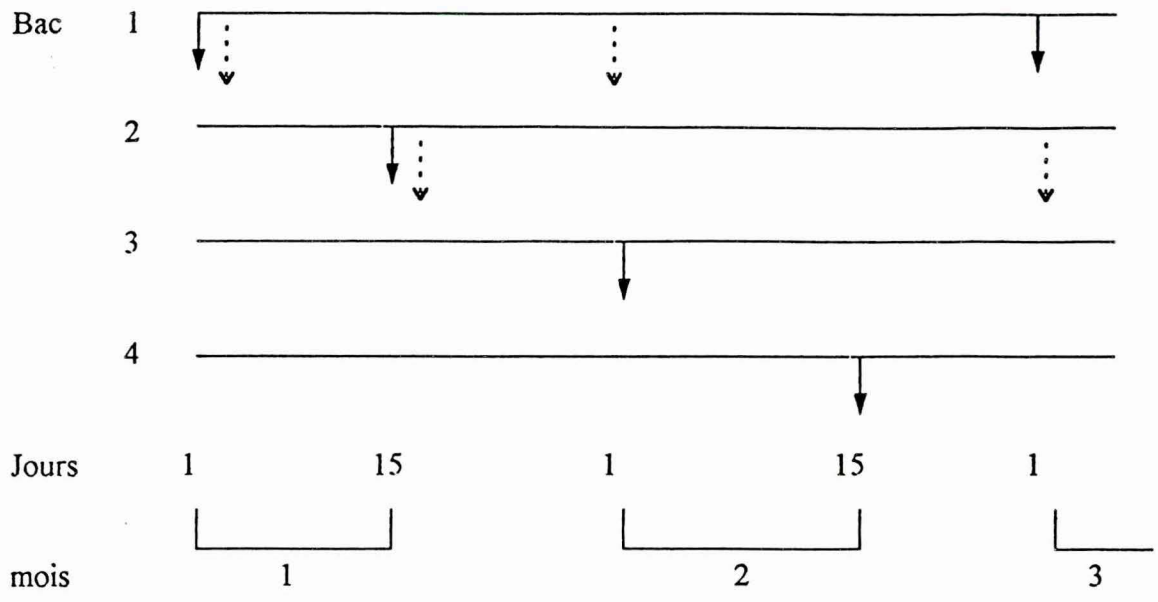


Figure 19 : Etalement des pêches (flèches) dans les réplicats (bacs 1 à 4) pour chaque niveau d'alimentation et pour chaque groupe. Flèche continue = 4 réplicats ; flèche discontinue = 2 réplicats.

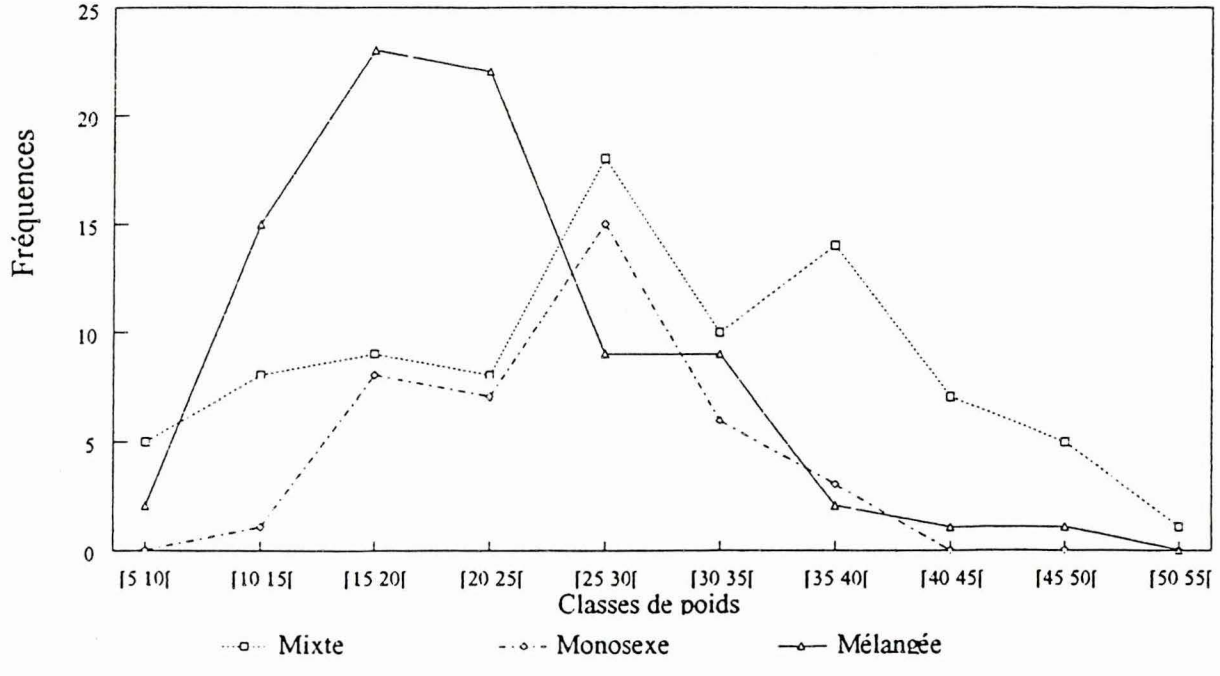


Figure 20 : Distribution des fréquences des poids corporels en classes au sein des différentes cohortes au moment de l'abattage.

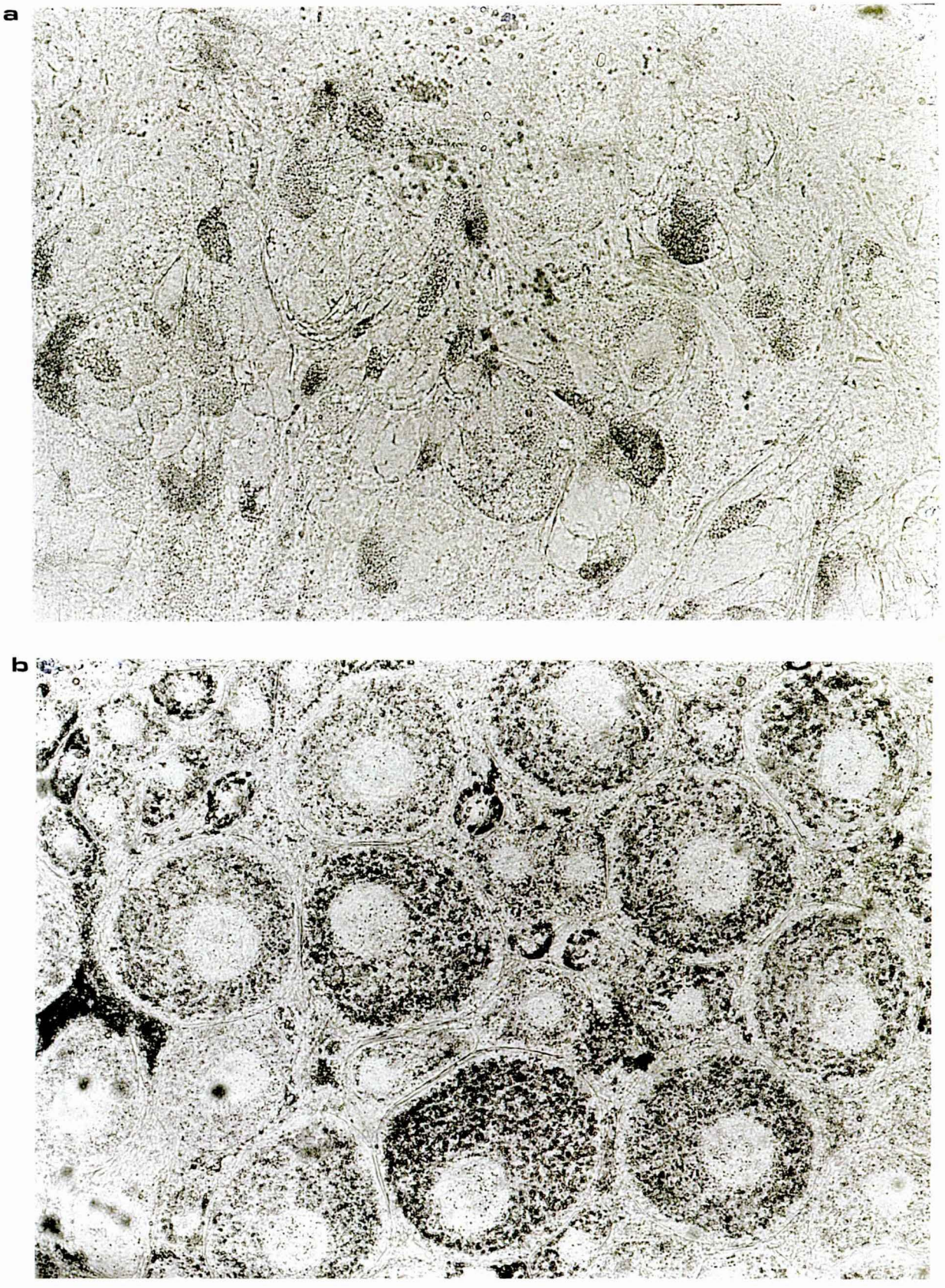
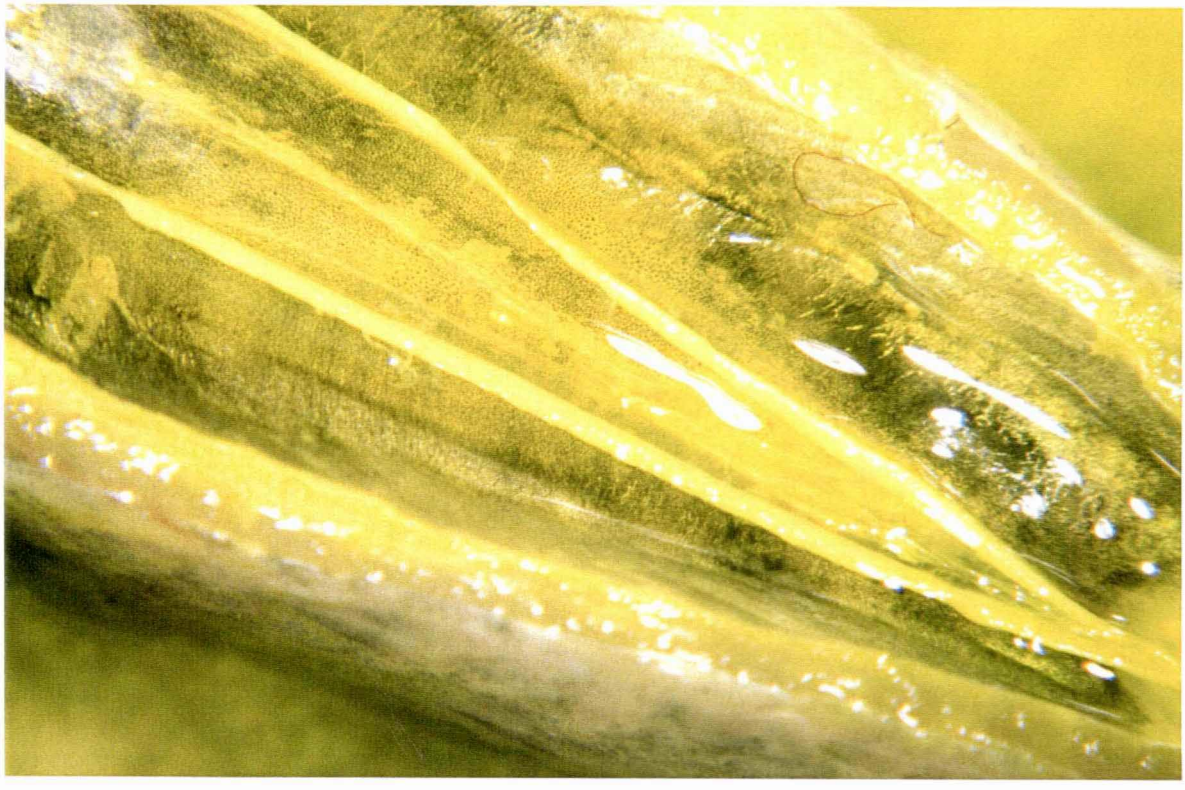


Planche III : Observation microscopique d'un « squash » de testicule (a) chez un mâle de 46 g et d'ovaire (b) chez une femelle de 30 g. Les ovaires sont caractérisés par la présence de nombreuses cellules ovoïdes de grosses tailles (ovocytes) munies d'un volumineux noyau, et les testicules par l'existence de structures lobulaires et cystiques . Grossissement = 33 x.
(Photo Toguyéni et Baroiller).

a



b

Planche IV : Dimorphisme sexuel des gonades dans la cavité péritonéale chez un mâle de 10 g (a) et chez une femelle de 7 g (b). Les ovaires apparaissent plus trappus alors que les testicules sont filiformes et occupent toute la longueur de la cavité. Les gonades et la cavité sont colorées par du Bouin Hollande. Grossissement = 40 x.
(Photo Toguyéni et Baroiller).

3. RESULTATS

3.1. Difficultés méthodologiques

Les prélèvements de sang dans l'aorte dorsale à l'aide de seringue à insuline (1ml, aiguille 0,5 x 16 mm) n'ont pu être réalisés sur les animaux de poids corporel inférieur à 4g (classe 1). La centrifugation du poisson après décapitation a été testée sans plus de succès, le sang recueilli étant souillé par les fèces.

Sur les poissons de cette même classe de poids, il n'a pas été possible de séparer intégralement le muscle blanc du muscle rouge.

Sur les individus de 4 à 25 g, les quantités de plasma recueillies se sont révélées insuffisantes pour le dosage de l'ensemble des hormones prévues. La GH plasmatique a donc été dosée en priorité.

Le changement d'aliment dans la phase finale de l'expérience I a entraîné une baisse des performances préjudiciables à l'analyse de l'installation du différentiel de croissance lié au sexe. De plus, il a été accompagné d'une importante mortalité. La teneur en protéines (25 à 30%) de cet aliment est inférieure à celle de l'aliment précédent (53%).

Pour l'expérience I, les sex-ratios au sein de chaque lot sont assez équilibrés, mais sont significativement différents entre certains replicats (tableau XI).

Au cours de l'expérience II, la méthode de marquage (ablation de la nageoire pectorale ou pelvienne) n'a pu être réalisée à cause de la petite taille des animaux. Il n'a donc pas été possible de comparer les croissances des femelles, provenant d'une part de la cohorte F100 et celles provenant d'autre part de la cohorte F50, dans les groupes F75. C'est donc une analyse globale des différences entre les mâles et les femelles qui a été faite dans les groupes mélangés.

Les quantités de plasma recueillies ont été insuffisantes pour permettre le dosage des hormones thyroïdiennes sur l'ensemble des animaux.

Au cours de l'expérience I, la quantité de membrane extraite à partir du foie prélevé sur chaque individu était insuffisante pour l'étude de la liaison de l'hormone de croissance aux récepteurs hépatiques et pour des tests de spécificité des liaisons. Nous avons donc procédé au regroupement d'échantillons pour ces analyses. L'adaptation de la technique d'analyse des récepteurs mise au point chez les Salmonidés (Yao *et al.*, 1991) n'a pu être faite. Lors des tests de saturation, une diminution de la quantité de liaisons spécifiques est observée avec l'augmentation de la concentration tissulaire (figure 21), ce qui laisse penser à une activité protéolytique beaucoup plus importante chez les tilapias.

Tableau XI : Taux de survie et sex-ratio dans les différents bacs d'élevage au cours de l'expérience I.

N° de bac	Taux de survie (%)	% de mâles	% de femelles
1	95	61	39
2	100	60	40
3	96	43	57
4	97	62	38
5	97	54	46
6	98	57	43
7	92	42	58
8	98	51	49
9	94	50	50
10	98	54	46
11	82	42	58
12	84	46	54
13	97	51	49
14	100	40	60

Les mêmes difficultés ont également été rencontrées au cours de la deuxième expérience, et ce malgré l'utilisation d'un autre inhibiteur de protéase, plus spécifique que le PMSF utilisé précédemment. Les prélèvements étant réalisés à Bouaké (Côte d'Ivoire), tous les échantillons ont pourtant été congelés à l'azote liquide et ramenés à Rennes (France) dans la carboglace pour les analyses. Les analyses que nous avons ensuite effectuées sur des fractions de foie congelées dans l'azote liquide puis décongelées, et sur du foie frais, suggèrent un effet négatif de la congélation sur les liaisons des récepteurs.

Une nouvelle mise au point des conditions d'incubation, prenant en compte les spécificité biochimiques des tissus de tilapia, est à faire.

3.2. Expérience I

3.2.1. Performances zootechniques des groupes étudiés

Le taux de survie dans les bacs varie de 82 à 100%. Les plus forts taux de mortalité ont été observés dans les 10 derniers jours de l'expérience et cela après le changement d'aliment.

L'analyse de la courbe de croissance (figure 22) montre une évolution pratiquement linéaire du poids corporel en fonction de l'âge, avec cependant un léger tassement de la croissance à la fin de l'expérience. Cette inflexion de la courbe de croissance correspond à la période de changement d'aliment. La différence de poids vif entre chaque stade d'échantillonnage est significative. Par contre, il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles à tous les stades analysés (de 2 g à 35-40 g). Dans la première classe de poids, les femelles présentent même un poids légèrement plus élevé que les mâles.

Les lots témoins, utilisés pour suivre la croissance et déterminer les périodes d'abattage, ont eu une croissance légèrement inférieure, mais non significativement, à celle des lots expérimentaux abattus. Leur poids moyen final (25 g) est inférieur à la moyenne des individus de même âge (34 g) qui n'ont pas été manipulés durant tout le cycle d'élevage.

Les analyses des « squash » gonadiques (planche III) réalisée sur les individus de la première classe de poids ont révélé des gonades bien différenciées aussi bien chez les mâles que chez les femelles.

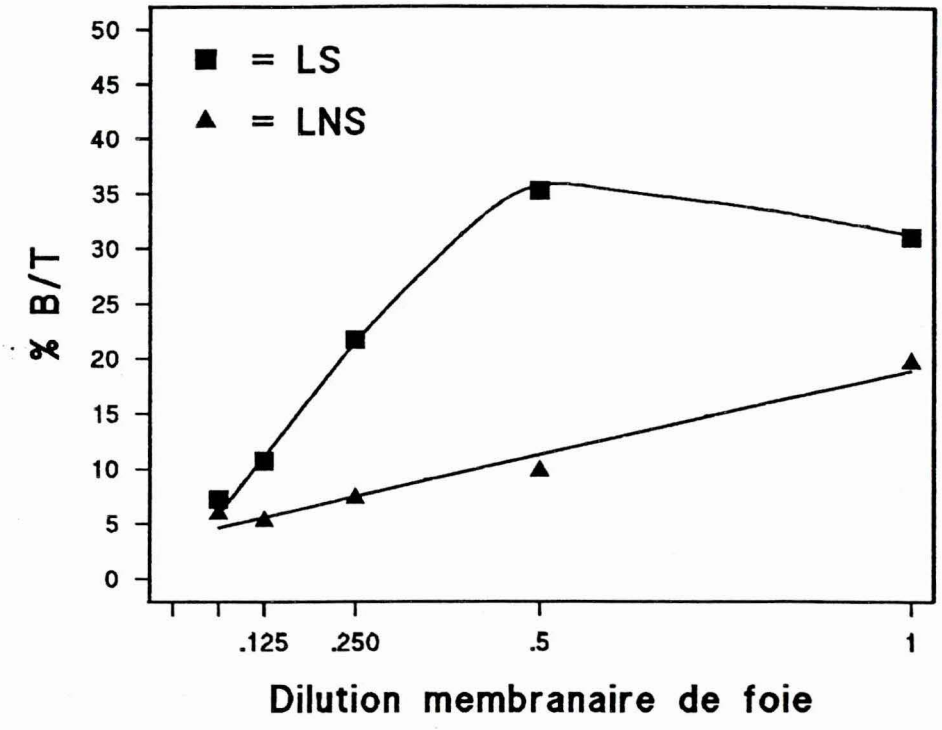


Figure 21 : Test de liabilité de l'hormone de croissance aux récepteurs hépatiques en fonction de la concentration membranaire.

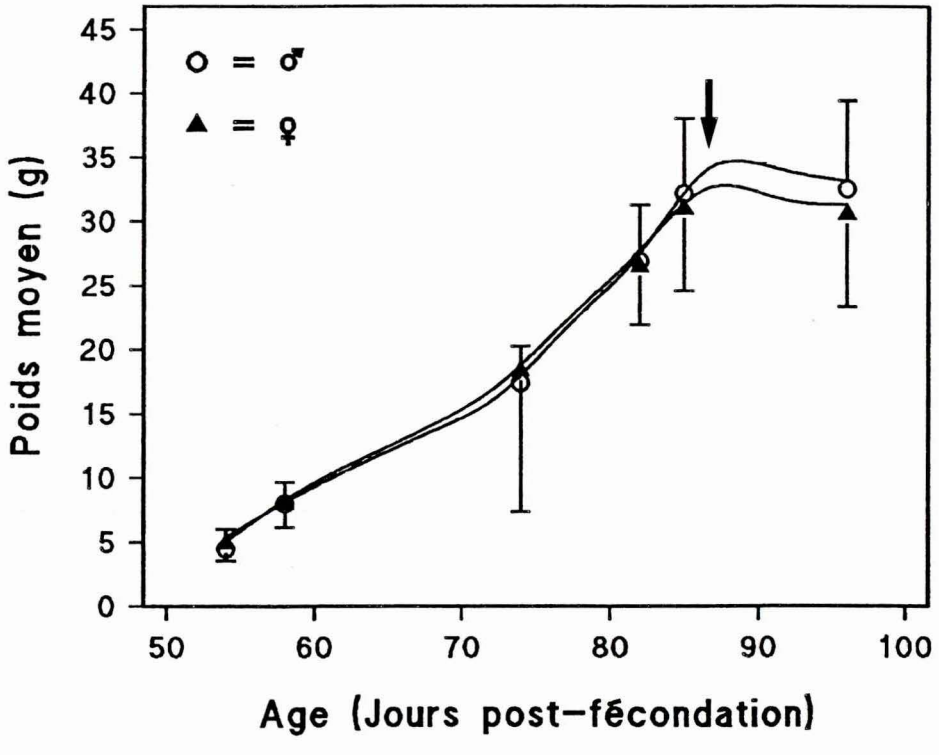


Figure 22 : Evolution du poids corporel moyen au cours de l'expérimentation. Moyenne ± SEM; n = 200 mâles + 200 femelles. La flèche indique la période de changement de l'aliment.

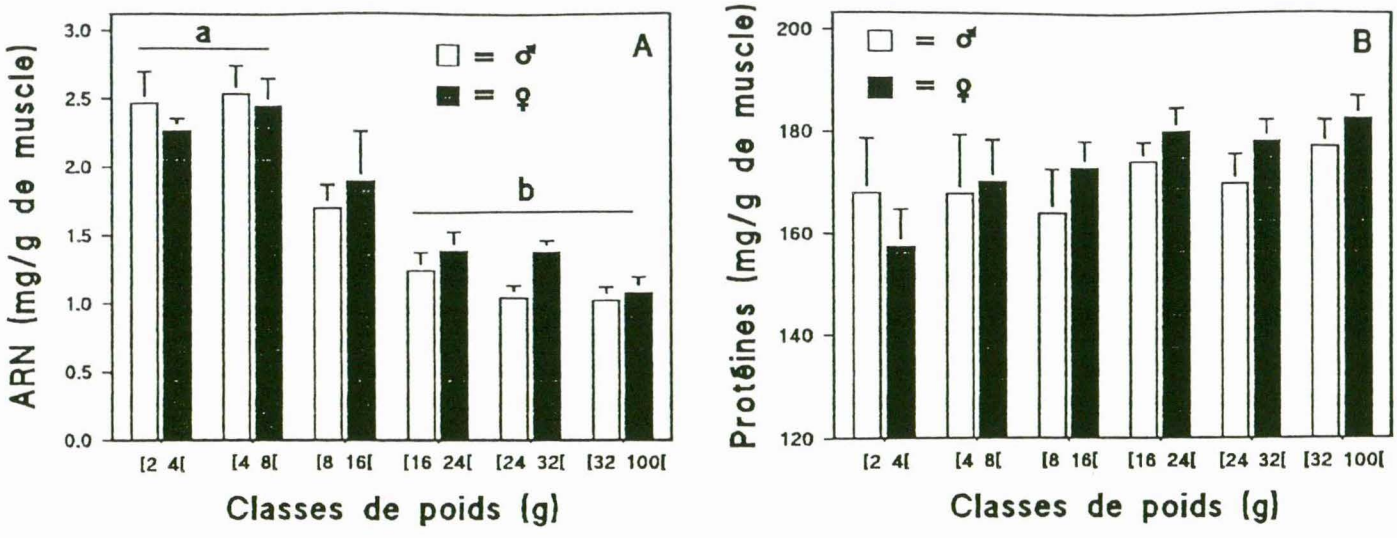


Figure 23 : Concentrations en ARN totaux (A) et teneurs en protéines du muscle blanc en fonction des classes de poids. Moyenne + SEM. n = 3 mâles et 3 femelles. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

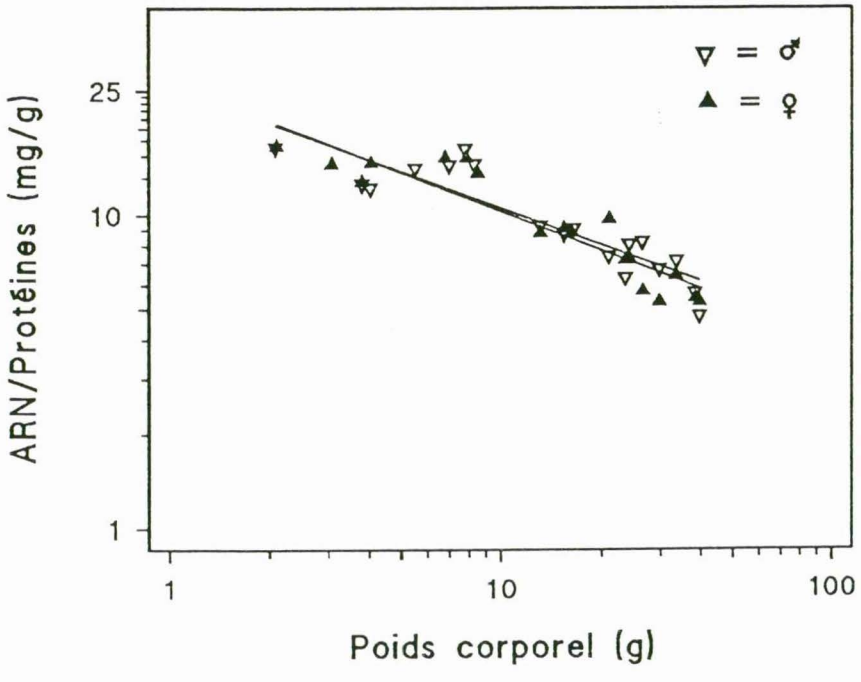


Figure 24 : Régression log-log entre le rapport ARN/protéine dans le muscle blanc et le poids corporel.
Mâles : $y = 1,42 - 0,41 x$, $r = 0,92$
Femelles : $y = 1,38 - 0,37 x$, $r = 0,89$

Tableau XII : Evolution des concentrations hormonales et des différences entre mâles et femelles en fonction de l'âge. Les flèches dirigées vers le haut et vers le bas indiquent respectivement une augmentation ou une diminution avec l'âge. Les symboles < et > signifient inférieur ou supérieur respectivement. # : peu différent

	Mâles + femelles	Différences entre mâles et femelles
Charge hypophysaire en GH	↘	♂ > ♀ dans la classe 1 ♂ # ♀
GH plasmatique	↗	♂ > ♀ dans les classes 5,6
11-cétotestostérone	↘	♂ > ♀ dans les classes 1,2
Testostérone	↘	♂ > ♀ dans la classe 3
11β-Hydroxyandrosténedione	↗ ↘	♂ > ♀ dans la classe 5 ♂ < ♀ dans la classe 6
Oestradiol-17β	↗	♂ < ♀ dans la classe 5

3.2.2. Analyses biochimiques

Les taux d'ARN et de protéines du muscle ont été mesurés sur un échantillon de 36 individus, à raison de 6 individus (3 mâles, 3 femelles) par classe de poids.

Les plus fortes quantités d'ARN, exprimées en mg/g de muscle frais, ont été observées dans les premières classes (figure 23A). Elles diminuent d'une manière générale en fonction du poids ($r = -0,87$, $p < 0,001$) et de l'âge ($r = -0,92$, $p < 0,001$). Les teneurs en ARN sont corrélées positivement avec les charges hypophysaires en GH ($r = 0,50$, $p < 0,001$). Il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles pour les teneurs en ARN.

Les quantités de protéines totales du muscle évoluent très peu au cours de la croissance (figure 23b). Elles varient autour de 150 mg/g de muscle pour toutes les classes de poids. Il n'y a pas de différence significative des teneurs en protéines entre les mâles et les femelles.

Le rapport ARN/protéines dans le muscle (figures 24) décroît significativement en fonction du poids corporel ($r = -0,91$, $p < 0,001$) et de l'âge ($r = -0,95$, $p < 0,001$). Cette diminution en fonction du poids corporel des poissons est légèrement plus importante chez les mâles que chez les femelles, mais la différence n'est pas significative. Ce rapport ARN/protéines est corrélé positivement avec la charge hypophysaire de GH ($r = 0,51$, $p < 0,001$).

3.2.3. Evolution du statut endocrinien au cours de l'ontogenèse post-larvaire (tableau XII)

3.2.3.1. L'hormone de croissance

3.2.3.1.1. Les niveaux hypophysaire

La charge hypophysaire en GH a été mesurée sur l'ensemble des 6 classes de poids (figure 25A). De fortes charges (150 à 200 ng/g de poids corporel) sont obtenues chez les individus de la première classe (2 à 4 g de poids corporel) avec une différence significative ($P<0,05$) en faveur des mâles (178 ng/g pour les mâles et 146 ng/g pour les femelles). Ces charges sont significativement plus faibles (environ 50 ng/g) dans les classes 3 à 5 (8 à 32 g), mais sont de nouveau significativement plus élevées dans la dernière classe (figure 25A). Cette évolution de la charge hypophysaire est similaire pour les deux sexes et il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles, si on excepte le premier stade.

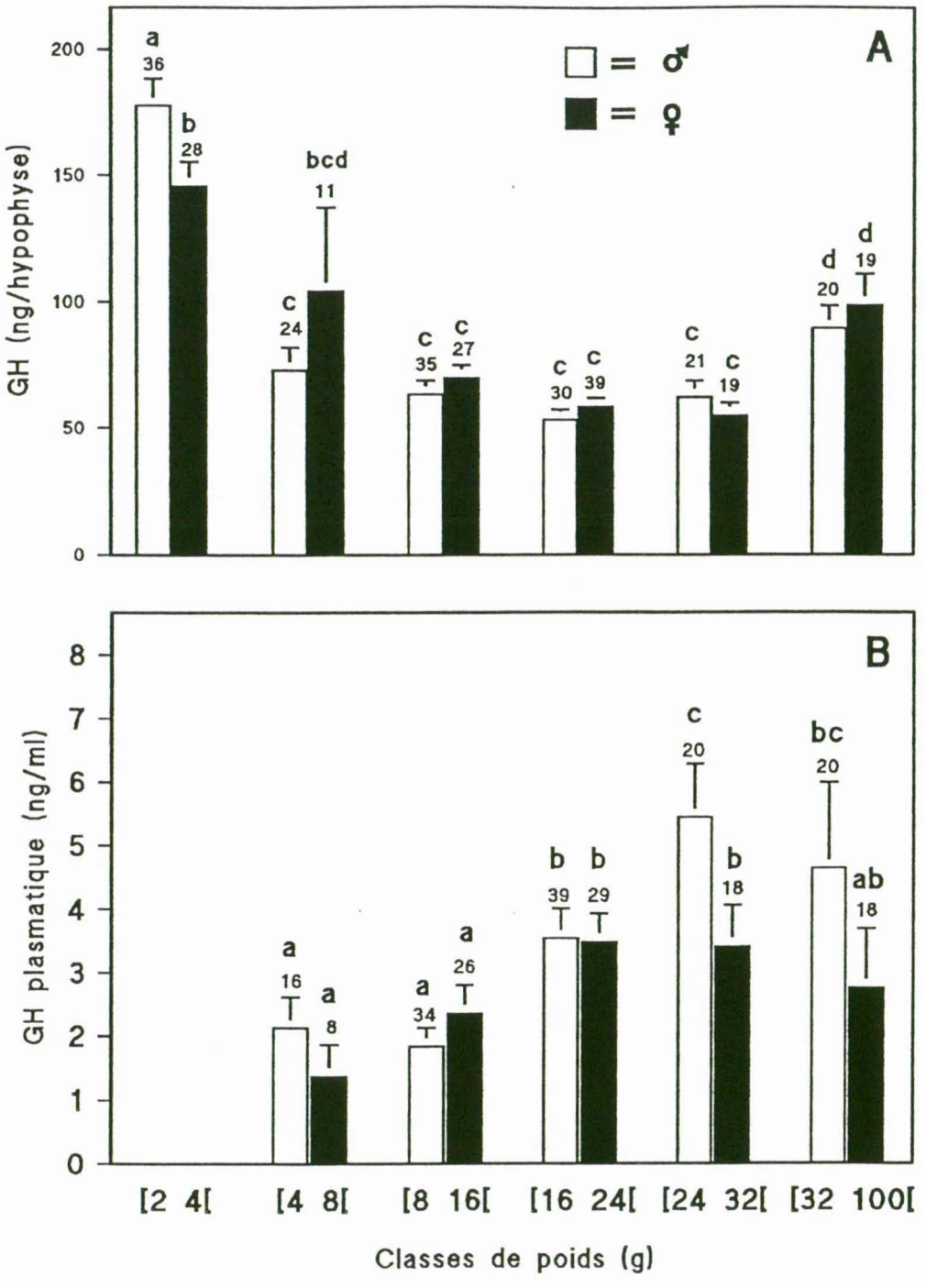


Figure 25: Charge hypophysaire en GH (A) et taux plasmatiques (B) en fonction des classes de poids. Moyenne + SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

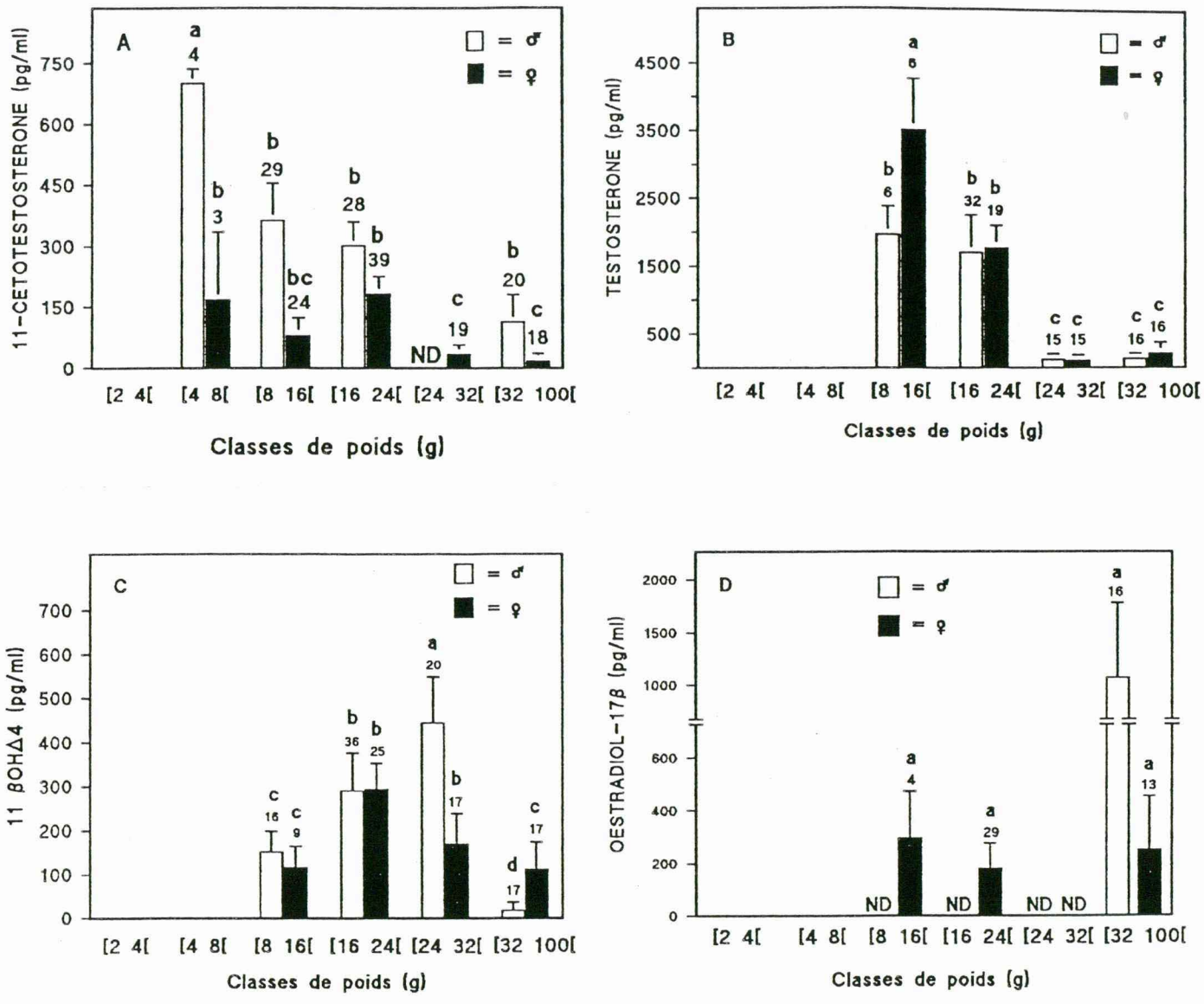


Figure 26 : Niveaux plasmatiques de 11-KT (A) de testostérone (B), de 11- βOHΔ4 (C) et de E2-17β en fonction des classes de poids. Moyenne + SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$)

3.2.3.1.2. Les niveaux plasmatiques

De faibles taux circulants de GH sont observés dans la première classe de poids (figure 25B). Ces niveaux sont de l'ordre de 1 ng/ml pour les femelles et 2 ng/ml pour les mâles, mais ces différences ne sont pas significatives. Ces niveaux sont de plus en plus élevés lorsque le poids augmentent pour atteindre 3,5 ng/ml pour les femelles et 5,5 ng/ml pour les mâles (individus de la classe 5, 24 à 32 g). Les valeurs observées dans la dernière classe de poids sont légèrement plus faibles. Il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles, excepté pour la classe de poids (24 à 32 g), où les concentrations plasmatiques sont environ 40% plus élevés chez les mâles que chez les femelles.

3.2.3.2. Les stéroïdes sexuels

Pour la 11-KT et la T, les niveaux plasmatiques sont significativement plus élevés dans les premiers stades où ils ont été recherchés (classe 2 et 3 respectivement) que dans les suivants.

Les niveaux de 11-KT sont d'une manière générale significativement plus importants ($p< 0,01$) chez les mâles que chez les femelles (figure 26A). Ils décroissent avec l'âge. Les différences entre les classes de poids sont significatives chez les mâles, et seulement pour les dernières classes de poids chez les femelles.

La testostérone, analysée seulement à partir de la 3ème classe de poids (poids corporel supérieur à 8 g), est plus importante chez les femelles (3500 pg/ml) que chez les mâles (2000 pg/ml) de cette classe (figure 26B). Aucune différence significative n'est ensuite observée entre les mâles et les femelles. Les taux circulants de cette hormone diminuent également avec l'âge. Des taux circulants de 200 pg/ml sont obtenus dans les derniers stades.

Contrairement aux deux précédents androgènes, les niveaux de 11β-OHΔ4 sont faibles (120 pg/ml) dans les premières classes de poids (figure 26C). Des valeurs significativement différentes (300 pg/ml chez les femelles et 450 pg/ml chez les mâles) sont observées chez les individus des stades suivants. Chez les individus de la dernière classe de poids, des niveaux (20 pg/ml) très inférieurs à ceux trouvés initialement chez les mâles, sont observés. Les différences entre les mâles et les femelles ne sont pas significatives, excepté chez les individus de la classe 5 (24 à 32 g).

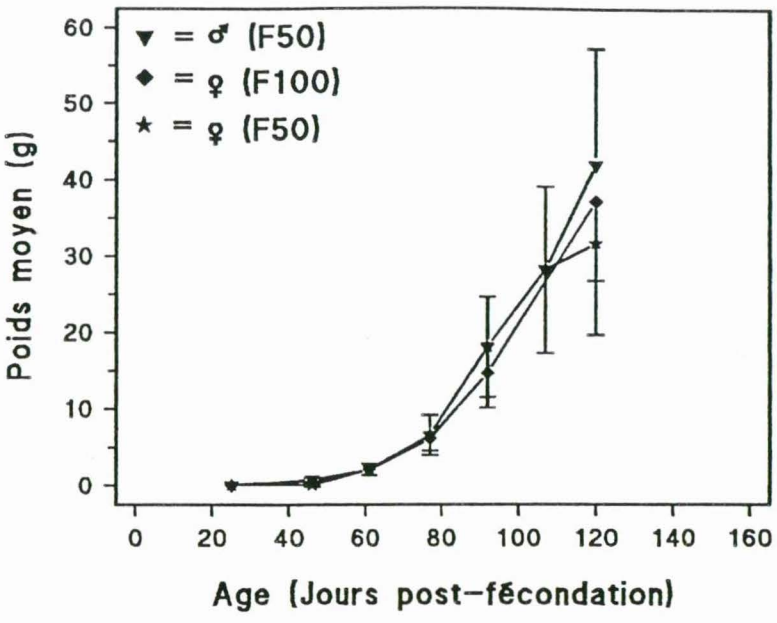


Figure 27 : Evolution du poids corporel au cours de l'expérience. Moyenne ± SEM. n = 100.

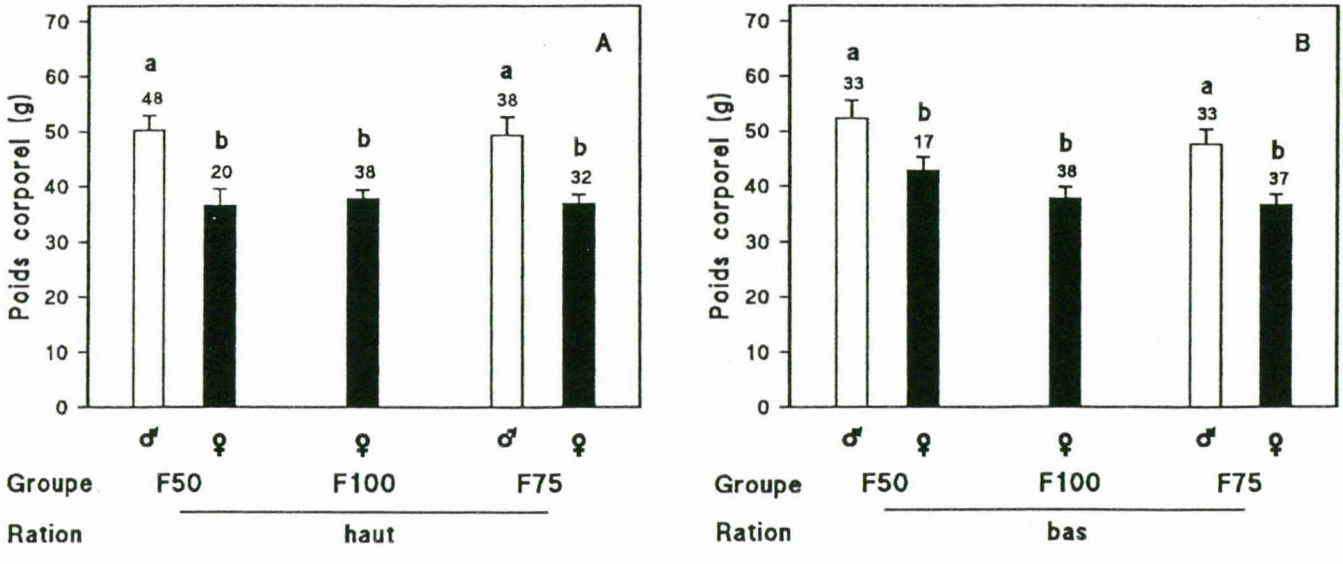


Figure 28 : Poids corporel final dans les groupes nourris *ad libitum* (A) à 120 jours PF et restreints (B) à 142 jours PF. Moyenne + SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$). F50 = % de femelles dans le groupe.

Le seul oestrogène analysé est l'oestradiol-17β. Les niveaux circulants sont indétectables chez les mâles sauf chez les individus de la dernière classe de poids (figure 26C). Chez les femelles les taux sont assez faibles dans l'ensemble (300 pg/ml) et même indétectables dans l'avant dernière classe de poids.

3.2.3.3. Corrélation entre les différentes hormones

Sur l'ensemble de la période étudiée, les niveaux de 11-KT sont corrélés, positivement ($r=0,53$, $p< 0,001$) avec les niveaux de testostérone chez les mâles, et négativement avec ceux de la 11β-OHΔ4 ($r = -0,28$, $p< 0.001$) chez les femelles. Il existe également une relation positive entre la GH plasmatique et la 11β-OHΔ4 ($r = 0,31$, $p< 0,001$) chez les mâles. Par ailleurs la charge hypophysaire en GH est corrélée négativement avec la testostérone ($r = -0,27$, $p< 0,02$) chez les femelles, et positivement avec l'oestradiol-17β ($r = 0,43$, $p< 0,001$) chez les mâles.

3.3. Expérience II

3.3.1. Performances zootechniques

Le taux de survie a été très élevé (environ 95%) durant toute l'expérience pour l'ensemble des lots des deux rations alimentaires. La croissance a été faible au cours du premier mois d'élevage en bac dans tous les groupes (cf. courbe de croissance des animaux nourris *ad libitum* figure 27). Ces mauvaises croissances sont, sans doute, la conséquence directe des faibles températures (19 à 25°C) pendant cette période. Cette phase est suivie d'une croissance exponentielle dans tous les groupes et dans les 2 conditions d'alimentation. Les animaux nourris *ad libitum* ont eu une croissance significativement plus élevée que les restreints dès 60 jours PF. Les poids corporels moyens à 142 jours PF des lots restreints sont équivalents à ceux des lots nourris *ad libitum* à 120 jours (figures 28A et B).

L'abattage des animaux au moment où une bimodalité est observée dans les groupes F50 a bien été associé dans la cohorte à des différences de croissance significatives entre les mâles et les femelles. La différence de croissance est observée d'abord chez les animaux nourris *ad libitum* (120 jours PF), avec des poids corporels moyens d'environ 35 g pour les femelles et 50 g pour les mâles, et ceci quel que soit le sex-ratio. Elle est apparue plus tardivement (142 jours PF) chez les animaux restreints, autour des mêmes poids corporels moyens que dans les lots nourris *ad libitum*.

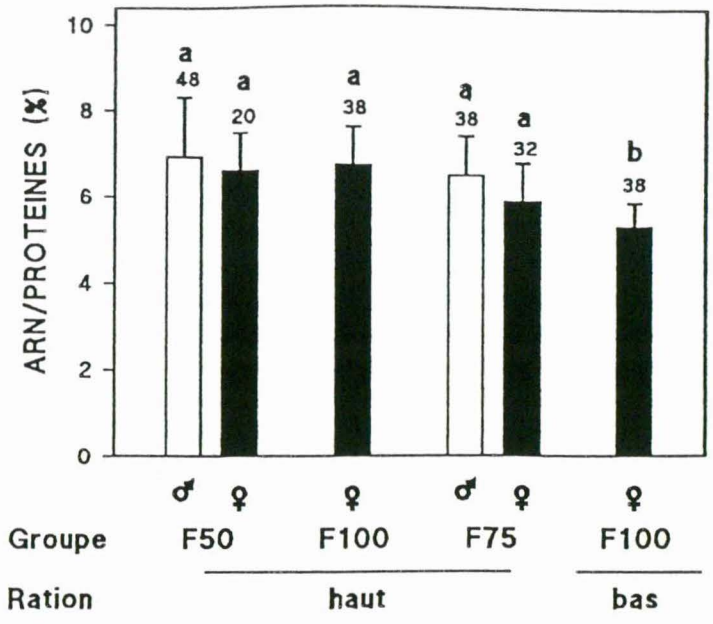


Figure 29 : Le rapport ARN/protéines dans le muscle blanc en fonction du groupe et du niveau d'alimentation. Moyenne + SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$). F50 = % de femelles dans le groupe.

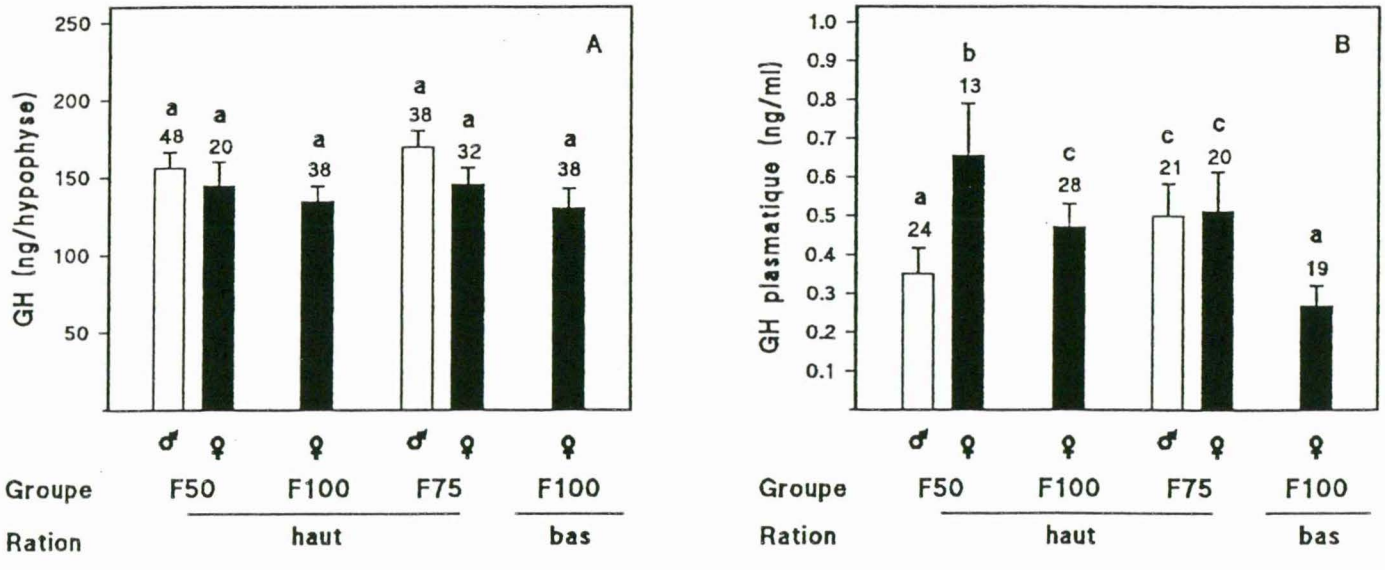


Figure 30 : Charges hypophysaires en GH (A) et taux plasmatiques (B) en fonction du groupe et du niveau d'alimentation. Moyenne + SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$). F50 = % de femelles dans le groupe.

L'analyse des poids moyens finaux (figure 28A et B) révèle des différences significatives ($p < 0,01$) entre les mâles et les femelles quels que soient le sex-ratio du groupe et sa ration alimentaire. Il n'y a pas de différence significative entre les mâles d'une part et entre les femelles d'autre part quel que soit le sex-ratio au sein d'une même ration alimentaire.

Le rapport ARN/protéines varie très peu entre les différents groupes et ne présente pas de différences significatives entre les mâles et les femelles (figure 29) pour les poissons nourris *ad libitum*. Une différence significative est observée entre les monosexes femelles nourries *ad libitum* et celles restreintes.

3.3.2. Analyses du statut endocrinien

Nous avons choisi d'analyser le statut endocrinien de l'ensemble des lots nourris *ad libitum* et du lot monosexe femelle restreint.

La charge hypophysaire en GH, pondérée par le poids corporel (figure 30A) est similaire dans les deux lots ayant des sex-ratios différents (F50 et F100). Il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles. Les femelles restreintes ont par ailleurs des charges équivalentes à celles des autres femelles nourries *ad libitum*.

Les niveaux plasmatiques de GH (figure 30B) présentent une très grande variabilité inter-individuelle. Il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles. Les niveaux de GH chez les individus du groupe F100 restreintes sont significativement plus faibles que chez les animaux du lot F100 nourries *ad libitum*. Les plus forts niveaux sont observés chez les femelles du groupe F50.

Les niveaux moyens de 11-KT (figure 31A) et de E2-17β (figure 31B), sont significativement plus importants ($p < 0,01$) respectivement chez les mâles et les femelles quel que soit le groupe. Il n'y a pas de différences significatives d'une part entre les mâles et d'autre part entre les femelles pour les deux stéroïdes en fonction des groupes.

Les niveaux circulants de 11β-OHΔ4 (figure 31C) ne présentent pas de différence significative entre les mâles et les femelles. Une tendance à un plus fort niveau est observée chez les femelles restreintes.

D'une manière générale, les niveaux de T4 (figure 32A) sont plus importants que ceux de T3 (figure 32B), aussi bien chez les mâles que chez les femelles. Une très grande variabilité des taux circulants des deux hormones est observée dans tous les lots. Les niveaux plasmatiques des deux hormones sont plus élevés chez les mâles que chez les femelles, mais

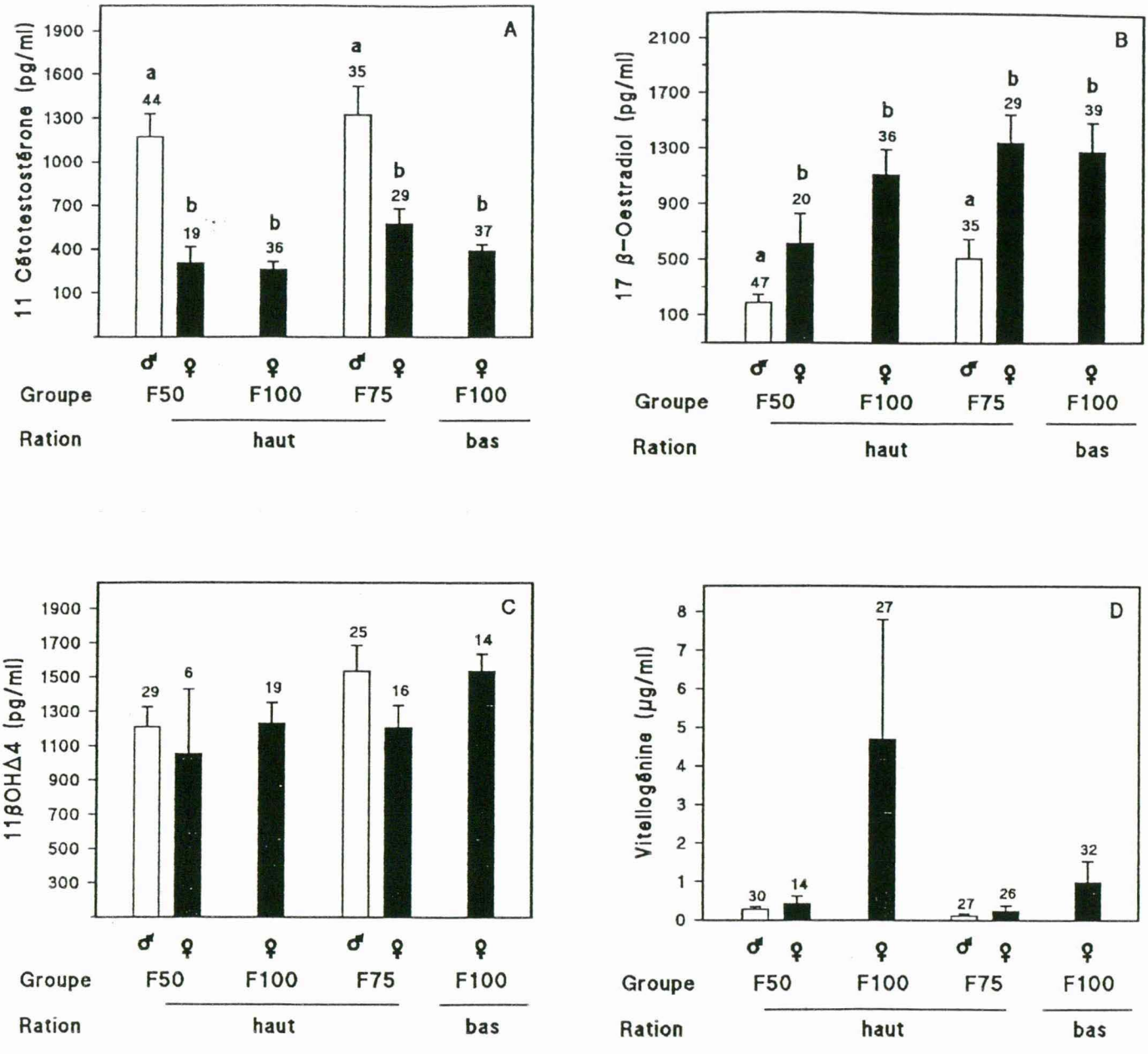


Figure 31 : Niveaux plasmatiques de 11-KT (A), E2-17β (B), 11-βOHΔ4 (C) et de vitellogénine (D) en fonction du groupe et du niveau d'alimentation. Moyenne + SEM ; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$). F50 = % de femelles dans le groupe.

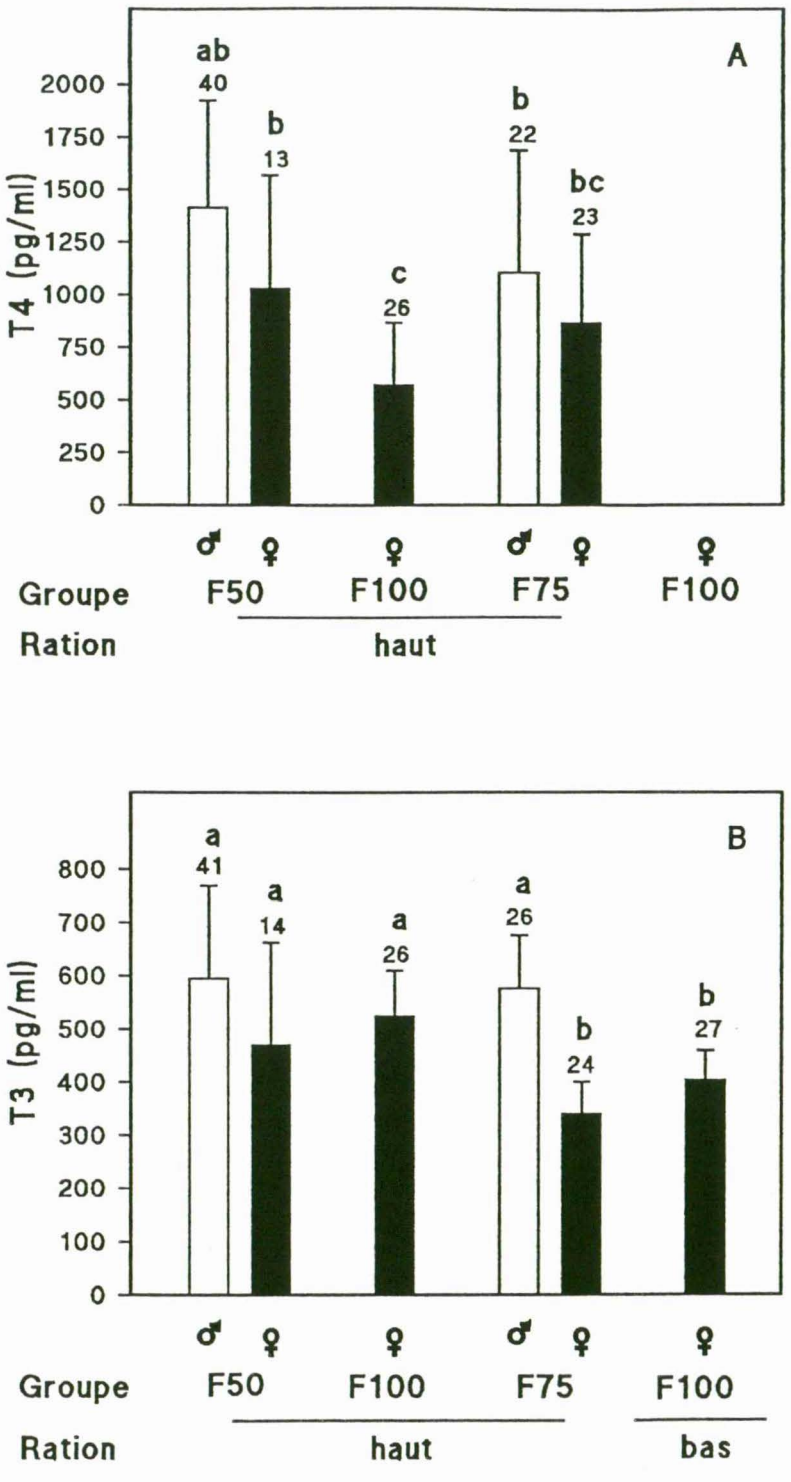


Figure 32 : Niveaux plasmatiques de T4 (A) et de T3 (B) en fonction du groupe et du niveau d'alimentation. Moyenne + SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$). F50 = % de femelles dans le groupe.

Tableau XIII : Corrélations significatives entre les différents paramètres. Les valeurs représentent respectivement le coefficient de corrélation, le nombre d'individus et la signification. A : femelles; B : mâles.
PC = poids corporel; T = taille; VTG = vitellogénine; GHH = charge hypophysaire en GH; GHP = GH plasmatique; 11-KT = 11-cétotestostérone; E2 = Oestradiol-17β; 11β-OHΔ$_4$ = 11β-hydroxy-androstenedione; RGS = rapport gonado-somatique; ARN/PRO = rapport ARN sur protéines.

A	PC	T	VTG	GHH	GHP	11-KT	E2	11β-OHΔ$_4$	RGS
T									
VTG	0.203								
	99								
	0.0436								
GHH	0.262	0.214							
	128	128							
	0.0028	0.0150							
GHP									
11-KT					0.236				
					75				
					0.0415				
E2	0.296		0.402			0.245			
	122		97			121			
	0.0009		0.0000			0.0067			
11β-OHΔ$_4$									
							55		
							0.0001		
RGS	0.444		0.389	0.234		0.218	0.4940		
	126		98	126		119	120		
	0.0000		0.0001	0.0083		0.0173	0.0000		
ARN/PRO						-0.205	-0.277		-0.180
						121	122		126
						0.0238	0.0020		0.0440

B	PC	T	VTG	GHH	GHP	11-KT	E2	11β-OHΔ$_4$	RGS
T									
VTG									
GHH	0.279	0.286							
	86	86							
	0.0093	0.0075							
GHP									
11-KT				0.331					
				79					
				0.0029					
E2									
11β-OHΔ$_4$						0.417			
						54			
						0.0017			
RGS	0.572	0.563		0.311					
	86	86		86					
	0.0000	0.0000		0.0036					
ARN/PRO	-0.533	-0.515						0.274	-0.371
	86	86						54	86
	0.0000	0.0000						0.0452	0.0004

cette différence n'est pas significative. Les plus faibles niveaux de T4 sont obtenus chez les individus du groupe F100 nourries *ad libitum* alors que les femelles du groupe F75, du même taux d'alimentation, ont les plus faibles niveaux de T3. Les niveaux de T4 sont relativement plus élevés chez les individus des deux sexes du groupe F50 comparativement à ceux du groupe F75. Les individus du groupe F100, du niveau restreint, ont des niveaux de T3 plus faibles que ceux du niveau haut (*ad libitum*).

3.2.4. Statut sexuel des animaux

L'observation des gonades (par squash gonadique et observation des gonades dans la cavité abdominale, planches III et IV) n'a permis de détecter que très peu d'ovocytes en vitellogenèse exogène. Sur les gonades de 1400 individus analysés, seules 5 femelles présentent un début de vitellogenèse. Les taux circulants de vitellogénine sont faibles chez la majorité des femelles (figure 31D). Les plus fortes valeurs sont observées chez les femelles du groupe F100. De faibles niveaux ont également été observés chez les mâles dans tous les groupes.

3.2.5. Corrélations entre les paramètres

Des analyses de corrélations ont été effectuées sur l'ensemble des données morphométriques et endocriniennes (tableau XIIIA et B). Une régression linéaire est ensuite réalisée sur les corrélations les plus significatives. Chez les femelles, des corrélations significatives entre l'oestradiol-17β et le rapport ARN/protéines d'une part, la 11β-OHΔ4 et la vitellogénine d'autre part, sont observées. Chez les mâles, une corrélation négative est observée entre les charges hypophysaire en GH et le poids corporel ou la taille (longueur standard). Une corrélation positive est observée entre la charge hypophysaire en GH et les niveaux plasmatiques de 11-KT.

4. DISCUSSION

4.1. Contraintes et limites méthodologiques

Chez le tilapia, une difficulté majeure, dans les expériences qui nécessitent de nombreux individus, réside dans la faible taille des pontes. De plus, le tilapia est une espèce asynchrone. Il faut alors procéder à des mélanges de plusieurs cohortes issues de couples différents dont les fécondations ont eu lieu à 1 ou 2 jours d'intervalle. Les effets parentaux peuvent alors introduire des biais notamment au niveau de la croissance. Une solution serait de féconder *in*

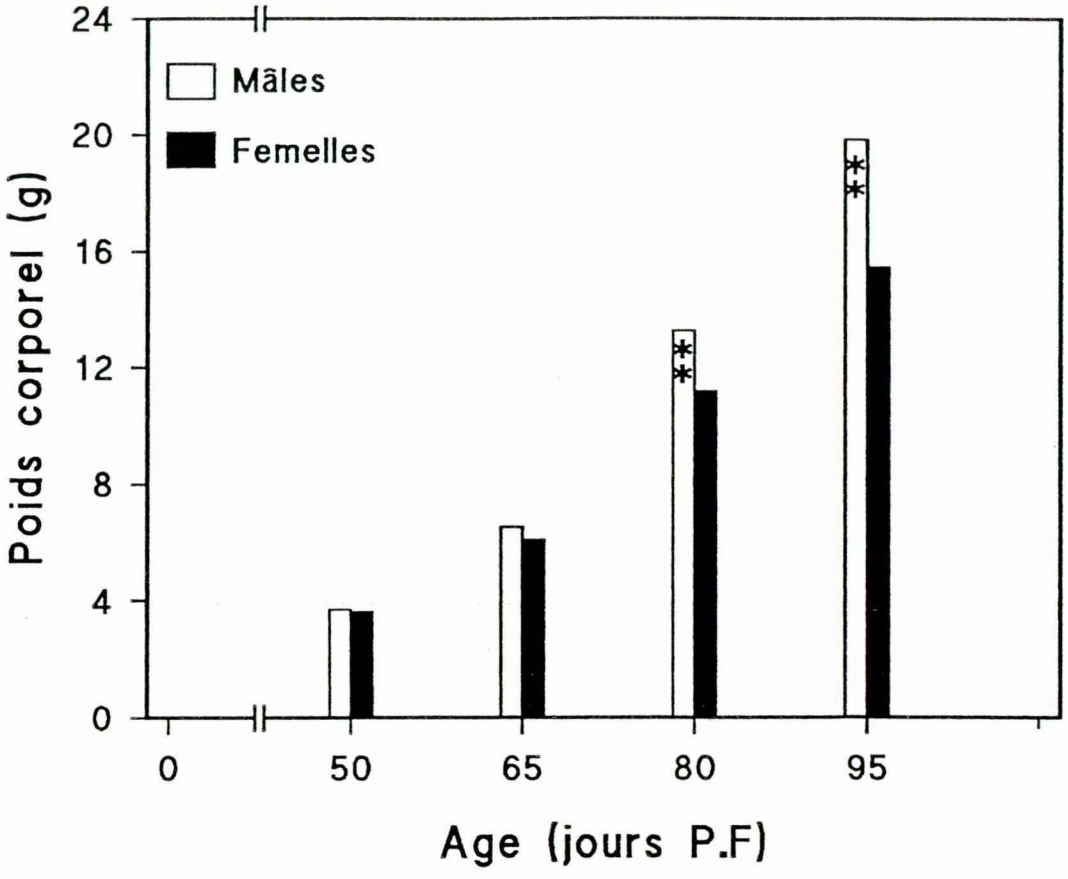


Figure 33 : Evolution des poids corporels des mâles et des femelles au sein d'une même cohorte (Baroiller et Shep, données non publiées)

vitro les ovules de deux femelles avec le sperme d'un seul mâle et d'incuber artificiellement les oeufs. Toutefois, une forte variabilité est observée dans les taux de mortalité lors de la phase d'incubation des oeufs et des larves. Une amélioration de la technique doit être préalablement réalisée.

Une autre difficulté de ce type d'expérience réside dans les techniques d'échantillonnage. Même si les individus sont répartis de façon aléatoire dans les différents lots, des biais peuvent apparaître tel qu'un sex-ratio hétérogène d'un replicat à l'autre, comme nous l'avons observé dans cette expérience. Les différences, non significatives, de croissance entre certains replicats d'une même classe pourraient être expliquées par des différences de sex-ratios.

Un des objectifs de ce travail était aussi de rechercher et de préciser les conditions et les techniques optimales de prélèvements pour les expériences futures. Des techniques de prélèvements, notamment pour la prise de sang devraient être mises au point pour pallier la faible taille des veines caudales. Néanmoins, le volume de sang recueilli reste un facteur limitant pour la seule analyse des niveaux d'une hormone.

La petite taille des gonades a nécessité le sexage par la technique du "squash gonadique", qui constitue un outil fiable dès lors que la différenciation est suffisamment avancée. La prévitellogenèse chez les femelles et l'apparition de lobules chez les mâles ne sont bien distinctes que vers 45-50 jours PF. Utilisée précocement, cette technique comporte alors des possibilités d'erreurs, notamment sur les gonades insuffisamment engagées dans leur différenciation. Les résultats obtenus peuvent être confirmés par des coupes histologiques, qui permettent de déterminer avec précision les stades gamétogénétiques.

4.2. Performances globales

4.2. 1. Effet de l'âge

Comparativement aux précédentes expériences réalisées à la station piscicole de Bouaké (figure 33, Baroiller et Shep, comm. pers), nous avons observé de meilleures performances de croissance aussi bien chez les mâles que les femelles. Cette bonne croissance pourrait s'expliquer par les conditions d'élevage contrôlées et des conditions favorables d'alimentation (nature de l'aliment et mode de distribution). En effet, les animaux ont été nourris en continu pendant toute la photophase à l'aide de distributeurs à tapis roulant alors que l'aliment est habituellement distribué manuellement 3 à 4 fois par jour. Des travaux ont en effet montré que le mode de distribution de l'aliment, et notamment l'augmentation de la

fréquence de distribution améliore les performances de croissance (Grayton et Beamish, 1977; Luquet *et al.*, 1981; Fauconneau et Luquet, 1984; Boujard et Leatherland, 1992a).

De plus, les densités d'élevage (25 poissons/ m^2) sont faibles et les poissons n'ont pas été manipulés pendant la période d'élevage. Le stress lié à des pêches régulières semble jouer un rôle très important sur la croissance des individus puisque les lots témoins, maintenus dans les mêmes conditions, mais régulièrement pêchés et pesés toutes les semaines ont eu une moins bonne croissance. Cette sensibilité au stress devrait être prise en compte systématiquement dans les expériences à caractère zootechnique.

Le rapport ARN/protéines est souvent utilisé pour l'évaluation du taux de croissance (Bulow, 1987; Busacker *et al.*, 1990). La forte corrélation négative observée entre ce rapport et l'évolution du poids moyen des individus traduit une baisse des capacités de synthèse protéique (Houlihan, 1991), en relation avec la diminution de la vitesse de croissance avec l'âge.

La baisse de la charge hypophysaire en GH concomitante avec l'augmentation des niveaux circulants de GH traduirait une maturation de l'axe somatotrope avec l'âge en relation avec la baisse de la capacité de croissance (Donaldson *et al.*, 1979; Le Bail, 1988). Ceci a déjà été observé au cours de l'ontogenèse dans des espèces comme la truite (Le Bail, 1988).

Une forte corrélation positive entre la charge hypophysaire en GH et le taux d'ARN d'une part, et le rapport ARN/protéines d'autre part, est observée. Des travaux ont montré chez les mammifères que la GH influence le taux de synthèse d'ARN, ce qui augmente la capacité de synthèse des protéines, et a un effet positif sur les mécanismes de transcription (Donaldson *et al.*, 1979). La capacité de synthèse de la GH pourrait donc constituer un facteur limitant de la croissance avec l'âge. Toutefois, il serait intéressant d'évaluer si ce n'est pas la réceptivité hépatique qui devient un facteur limitant avec l'âge.

Indépendamment du sexe, les niveaux circulants des androgènes, élevés dans les stades précoces exceptés ceux de la 11β-OHΔ4, diminuent avec l'âge, ce qui pourrait être lié à la fin de l'ontogenèse gonadique et de la différenciation sexuelle.

4.2.2. Alimentation et maturation sexuelle

Les bonnes performances de croissance observées dans cette expérience semblent avoir affecté l'ontogenèse gonadique et la maturation sexuelle. Dans les conditions de la station de Bouaké (Côte d'Ivoire), la maturation sexuelle est généralement observée chez cette même espèce à partir de 12 à 15 g (Baroiller, données non publiées). D'autres travaux réalisés sur 7

souches de la même espèce montrent que la première reproduction a lieu autour de 8 g pour les femelles précoces et de 25 g pour les tardives (Bolivar *et al.*, 1993). Comparativement aux données de la littérature (Rothbard *et al.*, 1987; Baroiller, 1988; Nakamura et Nagahama, 1989), l'augmentation des niveaux plasmatiques des stéroïdes au cours de cette expérience est plus tardive. Les résultats de l'expérience I suggèrent que l'alimentation, en favorisant une meilleure croissance, pourrait retarder la maturation sexuelle. Cependant ces résultats sont en contradiction avec ceux de la littérature (Wee et Tuan, 1988). D'après ces auteurs, une maturation précoce est observée chez les femelles nourries avec une alimentation à 42 ou 50% de protéines par rapport à celles nourries à 35%. Au cours de notre expérience, nous avons utilisé un aliment avec 53% de protéine.

Les interactions entre la croissance et la reproduction sont complexes chez les poissons, mais elles démontrent souvent, comme c'est le cas chez les salmonidés, que l'accélération de la croissance favorise une maturation précoce. Toutefois, les bonnes performances de croissance que nous avons observées pourraient résulter simplement d'une meilleure croissance des femelles dont la maturation serait tardive. En effet, les travaux de Bolivar *et al.* (1993) montrent chez le tilapia que les femelles à maturation tardive ont un meilleur taux de croissance que les femelles précoces.

Les résultats de l'expérience I suggèrent que le taux d'alimentation pourrait retarder l'ontogenèse gonadique et la gamétogenèse chez *Oreochromis niloticus*, contrairement à ce qui existe dans la littérature chez les mammifères. L'expérience II a donc cherché à approfondir le rôle de l'alimentation, en comparant une alimentation *ad libitum* à une alimentation restreinte (utilisation normale).

L'analyse des gonades, au moment où une différence de croissance significative entre les mâles et les femelles est installée, n'a révélé aucune femelle en vitellogenèse. Ces observations sont confirmées par les niveaux de vitellogenine qui sont très faibles chez la majorité des femelles (4,5 µg/ml), comparativement aux taux circulants observés chez les femelles matures (20 mg/ml; Tacon, 1995). De plus, les taux d'E2-17β, principale hormone induisant la synthèse de la vitellogenine dans le foie, sont encore très faibles (1,5 ng/ml) par rapport à ceux de femelles matures (5 à 25 ng/ml; Tacon, 1995). Ces résultats corroborent les effets de la ration alimentaire sur la gamétogenèse suspectés lors de l'expérience I. Cependant, l'analyse des gonades montre que les individus nourris *ad libitum* sont à des stades sexuels plus avancés que les individus restreints, ce qui suggère qu'à partir d'une certain niveau d'alimentation, c'est la croissance qui détermine prioritairement le statut sexuel.

4.2.3. Alimentation et croissance

Deux niveaux d'alimentation: *ad libitum* et restreint ont été appliqués. Le niveau *ad libitum* est en faite supérieur à la consommation volontaire pour s'assurer que tous les poissons s'alimentent à satiété. Le niveau restreint est donc proche de l'*ad libitum* les animaux ont probablement pu compenser leur ration alimentaire par la production primaire dans les bacs d'élevage.

Quel que soit le niveau d'alimentation, nous avons observé de bonnes performances de croissance et les différences de croissance entre les deux niveaux sont faibles bien que significatives. Dans cette expérience, il est montré clairement que la restriction alimentaire n'accélère pas l'apparition du différentiel de croissance mais la retarde. En effet, la différence de croissance entre les mâles et les femelles est apparue plus tardivement dans les groupes restreints que chez les groupes nourris *ad libitum*. La croissance différentielle pourrait donc résulter d'un équilibre entre la quantité totale d'énergie disponible pour les besoins de maintien et celle destinée à la reproduction et à la croissance.

La charge hypophysaire en GH n'est pas affectée par la ration alimentaire. Par contre, les niveaux circulants sont plus faibles chez les monosexes femelles restreintes que chez les individus nourris *ad libitum*. La ration alimentaire pourrait donc intervenir dans la régulation de la libération de l'hormone de croissance dans le sang. Cette relation entre le niveau d'alimentation et les taux circulants de GH a été observée au cours d'autres expériences (Toguyéni *et al.*, 1996a) et pourrait s'expliquer par une diminution de la réceptivité des récepteurs à la GH.

La ration alimentaire ne semble pas affecter directement les niveaux circulants des hormones stéroïdiennes, puisqu'aucune différence n'est observée entre les femelles restreintes et celles nourries *ad libitum*. Cependant, une influence plus tardive, liée à la reproduction particulièrement chez les femelles, n'est pas à exclure.

4.2.4. Sex-ratio et croissance

L'analyse des performances de croissance en fonction du sex-ratio révèle une tendance à une croissance plus faible des mâles comme des femelles du groupe F75 par rapport aux animaux du groupe F50. Cette tendance est observée pour les deux rations alimentaires et les différences entre les deux groupes sont pratiquement identiques. Cette différence de croissance pourrait être liée à l'existence d'interactions sociales différentes entre les 2 types de lots

comme cela a été observé chez le tilapia (Koebele, 1985; Volpato *et al.*, 1989). Les travaux de Volpato *et al.* (1989) démontrent en effet l'existence d'interactions ayant des conséquences sur la croissance au sein des groupes de tilapia, indépendamment du sexe. Nos travaux montrent donc que le sex-ratio d'un groupe ou le mélange de cohortes différentes, à travers des interactions sociales, peut affecter positivement ou négativement la croissance de l'ensemble des groupes. Ces interactions affectent négativement la croissance aussi bien des mâles que des femelles. La croissance des femelles est variable en lot F50 dans les deux régimes, tout étant plus faible que celle des mâles. Ces résultats semblent suggérer que ce ne sont pas les interactions sociales qui seraient déterminantes dans la différence de croissance entre les mâles et les femelles.

4.3. Période d'apparition de la différence de croissance liée au sexe

L'analyse de l'évolution du poids corporel par sexe révèle une tendance, non significative, à une meilleure croissance des femelles dans la première classe de poids (poids corporel inférieur à 4 g). Cette tendance résulte de la présence d'individus de grande taille (têtes de lots) qui sont essentiellement des femelles. Ceci a déjà été observé dans d'autres expériences réalisées sur la même espèce (Baroiller, données non publiées). A ce stade (54 jours PF) la différenciation ovocytaire se met en place chez les futures femelles (Rothbard *et al.*, 1987; Baroiller, 1988), ce qui pourrait être associé à une phase d'anabolisme. Ceci est conforté par les niveaux circulants de testostérone qui sont plus importants chez les femelles que chez les mâles. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature (Rothbard *et al.*, 1987; Baroiller, 1988). Or de nombreux travaux ont montré que la 17α-méthyltestostérone, une hormone de synthèse analogue de la testostérone, utilisée en inversion hormonale du sexe avait d'importants effets anabolisants (Guerrero, 1975; Fagerlund et McBride, 1975; Yamazaki, 1976; Fagerlund *et al.*, 1978; Ufodike et Madu, 1986). Ces différences de statut stéroïdiens pourraient expliquer cette tendance à une croissance plus importante des femelles.

Après les premiers stades et jusqu'à la fin de la première expérience nous n'avons pas observé de différence significative de croissance entre les mâles et les femelles. Elle est par contre observée, au cours de la deuxième expérience, sur des animaux de 35 g de poids corporel pour les femelles et 45-50 g pour les mâles, sous dépendance de la ration alimentaire. En effet, les groupes du régime restreint dont la croissance est inférieure à celle des animaux nourris *ad libitum*, présentent une différence de croissance entre les mâles et les femelles plus tardive (142 jours PF au lieu de 120 jours), mais à des poids corporels identiques.

Ces résultats suggèrent par ailleurs que l'apparition d'une différence de croissance significative entre les mâles et les femelles pourrait être retardée par une meilleure croissance des individus. En effet, la différence de croissance liée au sexe, habituellement observée dans les conditions de la station piscicole de Bouaké autour de 12 à 20 g de poids corporel (Baroiller et Shep, données non publiées), n'était pas établie à 30g dans nos conditions, au cours de la première expérience. Ces résultats semblent indiquer que la différence de croissance entre les mâles et les femelles, dans des conditions d'alimentation et de croissance favorables, serait étroitement lié au poids corporel des individus.

Nos résultats montrent, en outre, que la différence de croissance entre les mâles et les femelles chez *Oreochromis niloticus* n'existe pas dans les phases précoces. Les « squash » gonadiques, réalisés chez les animaux de la classe 1, ont révélé des gonades bien différenciées, ce qui démontre que la différence de croissance entre les mâles et les femelles se met en place après la différenciation sexuelle.

Enfin, dans l'expérience II, la bimodalité est apparue un peu plus tardivement dans les groupes F75 qui se caractérisent par des performances de croissance plus faibles par rapport aux groupes F50. Ces résultats suggèrent que le sex-ratio d'un groupe peut affecter négativement la croissance aussi bien des mâles que des femelles, probablement à travers les interactions sociales, entre autre la compétition alimentaire comme cela a été montré chez d'autres espèces (Jobling, 1985; Koebele, 1985).

4.4. Déterminisme endocrinien de la différence de croissance liée au sexe

Au cours des deux expériences, nous avons observé d'une part des charges hypophysaire en GH plus élevées dans les phases précoces (classe 1 de l'expérience I) chez les mâles que chez les femelles, et d'autre part une corrélation positive, en particulier chez les mâles, entre les charges hypophysaires en GH et la 11-KT, qui est significativement plus élevée chez les mâles que chez les femelles. La mise en place du déterminisme de la croissance différentielle pourrait peut être passer (au moins en partie) par ces charges précoces en GH à travers une régulation positive par la 11-KT, l'expression de la différence de croissance n'apparaissant que plus tard. De plus, les niveaux plasmatiques de GH sont plus élevés, significativement ou non, chez les mâles que chez les femelles à la fin de l'expérience I. Ces différences de taux circulants dans les phases précédant la visualisation d'une différence de croissance significative entre les mâles et les femelles, confortent cette hypothèse d'une

implication précoce possible de la GH dans le déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe.

Par ailleurs, les niveaux circulants de GH sont corrélés positivement chez les mâles mais pas chez les femelles avec la 11β-OHΔ4, un androgène spécifique du mâle. Ces relations entre l'hormone de croissance et des androgènes connus pour leurs effets anabolisants, pourraient témoigner d'une régulation hormonale, dont le mécanisme reste à être analysé, de la différence de croissance entre les mâles et les femelles, ce mécanisme permettant une capacité de croissance plus forte chez les mâles que chez les femelles. Des travaux ont en effet montré une action des stéroides sexuels sur la synthèse et la sécrétion de GnRH (Breton et Sambroni, 1996) qui lui même stimule la libération de GH (Marchant *et al.*, 1989).

Chez les femelles, une corrélation négative entre la GH hypophysaire et la testostérone est observée et pourrait constituer un autre élément de régulation négative de la différence de croissance liée au sexe.

La combinaison de ces types de régulation, positive chez les mâles et négative chez les femelles, pourrait correspondre à la sexualisation des régulations hormonales de la croissance à l'origine de l'installation de la différence de croissance entre les mâles et les femelles.

L'analyse des niveaux circulants des hormones stéroïdiennes révèle un statut stéroïdien normal, la 11-KT étant plus élevée chez les mâles et l'E2-17β chez les femelles.

Chez les femelles, l'oestradiol-17β est corrélée positivement avec le poids corporel et une forte corrélation positive est également observée entre les taux plasmatiques d'E2-17β et de vitellogenine. Cette relation traduit certainement l'entrée en vitellogenèse des gonades femelles. Elle est également associée à une relation négative entre l'oestradiol-17β et le rapport ARN/protéines dans le muscle. Des travaux ont montré que la mobilisation des acides aminés pour la synthèse de la vitellogénine dans le foie se fait aux dépens de la synthèse protéique dans le muscle (Olin et von der Decken, 1987; Waters et von der Decken, 1989) et coïncide avec la période de forts niveaux circulants de l'E2-17β. Ceci pourrait révéler une autre régulation négative impliquée dans le déterminisme de la croissance différentielle entre les mâles et les femelles.

L'analyse du statut des hormones thyroïdiennes ne révèle aucune différence significative entre les mâles et les femelles en ce qui concerne les niveaux de T4 bien qu'il existe une tendance à de plus forts niveaux chez les mâles. Cette hormone ne présente pas de corrélation significative ni avec le poids corporel, ni avec le rapport ARN/protéines, un estimateur de la croissance instantanée, ce qui est en accord avec le fait que la T4 n'est pas la

forme active. Cette hormone, principale production de la thyroïde, est considérée plutôt comme un précurseur de la T3. Une corrélation positive est en effet observée entre les niveaux plasmatique de T4 et de T3. Les taux circulants de T3 ne sont pas non plus significativement différents entre les mâles et les femelles. Toutefois, le dosage des hormones thyroïdiennes a été réalisé, pour cette expérience, uniquement sur des animaux pour lesquels du plasma restait disponible après les dosages des autres hormones. D'autres études sont donc nécessaires pour analyser le rôle de ces hormones au cours de la croissance chez le tilapia et en particulier dans le processus de mise en place de la différence de croissance liée au sexe.

5. CONCLUSION

Les résultats obtenus au cours de cette expérience s'accordent avec l'hypothèse d'un effet de la ration alimentaire sur la gamétogenèse. Cependant, en l'absence d'un lot réellement restreint, cet effet n'est pas clairement démontré.

Au cours de l'expérience I, des différences de niveaux hormonaux très précoces (classe 1, expérience I) sont observées entre les males et les femelles (charge hypophysaire en GH et taux plasmatiques de 11-KT plus élevés chez les mâles que chez les femelles). Or à un stade plus avancé, dans l'expérience II, une corrélation positive est observée chez les mâles entre les charges hypophysaires en GH et les taux plasmatiques de 11-KT. Ce phénomène est peut être un élément important de la mise en place de la croissance différentielle liée au sexe.

Plus tard, sur des animaux de poids corporel supérieur à 4 g (expériences I et II), nous n'observons plus de différence sexuelle pour les charges hypophysaires en GH. Par contre les niveaux plasmatiques de GH sont soit plus élevés chez les mâles (expérience I, classe 24 à 32 g), soit au contraire plus faibles (expérience II). Ceci confirme que la mesure (du moins ponctuelle) de la GH plasmatique n'est pas toujours un bon critère de croissance.

Pour un groupe F50, les courbes de croissance, aussi bien pour l'expérience I et pour l'expérience II, des mâles et des femelles commencent à diverger à partir d'une trentaine de grammes, période où la maturation sexuelle n'est que peu ou pas engagée, ce qui indique que la croissance différentielle n'est pas liée uniquement à une mobilisation d'énergie importante pour le développement ovarien.

Malgré les réserves faites sur l'utilisation de la GH plasmatique dans l'interprétation des régulations de la croissance, il faut noter que dans cette période d'un début d'expression de la croissance différentielle, les niveaux plasmatiques de GH sont environ 40% plus élevés chez les

mâles (expérience I) que chez les femelles. C'est aussi un moment où la 11β-OHΔ4 est 2 fois plus élevée chez le mâle que chez la femelle (expérience I). Or il existe une corrélation positive entre la GH plasmatique et la 11β-OHΔ4 chez les mâles (expérience I). On peut donc imaginer une régulation en 2 phases : une charge hypophysaire précoce plus élevée chez le mâle (avant l'apparition de la croissance différentielle), puis une stimulation de la libération de la GH au moment de la mise en place de l'expression de la croissance différentielle.

Plus tard, au début de l'entrée en maturation sexuelle (expérience II), les différences de niveaux de 11β-OHΔ4 entre les mâles et les femelles ne sont plus détectables. La différence persiste pour la 11-KT, et s'affirme pour l'oestradiol-17β. Il pourrait alors intervenir une régulation négative directe sur la synthèse protéique (corrélation négative entre l'E2-17β et le rapport ARN/protéines, expérience I). A cela s'ajouterait également le coût énergétique de la vitellogenèse pour les femelles. En effet, les femelles du groupe F100 ont les plus faibles poids corporels et les taux de vitellogénine les plus élevés pour des concentrations d'oestradiol-17β comparables aux femelles des autres groupes.

Le sex-ratio semble également influencer la croissance aussi bien des mâles que des femelles, probablement à travers des interactions sociales qui pourraient affecter la consommation et la physiologie générale des individus en groupe. Le comportement alimentaire et l'influence des interactions sur la mise en place de la différence de croissance liée au sexe seront analysés plus spécifiquement dans les prochains chapitres.

CHAPITRE IV
CARACTERISATION DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE

1. INTRODUCTION

L'objectif du travail décrit dans ce chapitre est de caractériser la différence de croissance entre les mâles et les femelles du point de vue de la croissance relative des différentes zones corporelles, de la croissance musculaire et du métabolisme protéique en relation avec la croissance.

Jusqu'à présent, les analyses morphologiques ont été orientées vers le sexage. Elles ont révélé un dimorphisme au niveau de la papille urogénitale (2 fentes chez la femelle et une chez le mâle, planche II), des nageoires pelviennes (atteignant l'anus chez le mâle et non chez la femelle) et des nageoires dorsale et anale (arrondies chez la femelle et pointues chez le mâle) (Chervinski, 1965; 1983; Oliveira et Almada, 1995). La première partie de ce chapitre, réalisée sur les animaux de l'expérience III (cf. chapitre IV), vise à une analyse plus systématique de la conformation extérieure des mâles et des femelles, et à rechercher des paramètres discriminants les deux sexes en relation avec la différence de croissance.

La deuxième partie de ce chapitre, réalisée sur les animaux de l'expérience VIII (cf. chapitre VIII), vise à étudier les caractéristiques des tissus musculaires à travers une analyse de la distribution de la taille des fibres du muscle rouge et du muscle blanc. Les caractéristiques des muscles squelettiques ont été décrites chez la plupart des téléostéens d'intérêt aquacole et halieutique, mais, à notre connaissance, aucune étude de ce type n'a été réalisée chez le tilapia. La croissance post-natale du muscle squelettique des poissons présente la particularité d'être le résultat d'une augmentation de la taille des fibres (hypertrophie) mais aussi d'une augmentation du nombre de fibres (hyperplasie). L'analyse de la contribution de ces deux types de croissance chez les espèces à faible et à fort taux de croissance suggèrent que les forts taux de croissance sont fonction du taux de recrutement de nouvelles fibres plus que de la capacité d'augmentation de la taille des fibres. Il s'agissait donc, dans notre travail, d'examiner si la différence de croissance entre les mâles et les femelles pouvait être associée à une différence dans la croissance hyperplasique et/ou hypertrophique entre les deux sexes.

La recherche de différence de croissance précoce entre les mâles et les femelles nous a amené à mettre en oeuvre, dans l'expérience I, une analyse de l'état de différenciation (profil électrophorétique des chaînes légères de la myosine) du muscle blanc. La croissance est associée à une stimulation du métabolisme protéique dans les tissus participants à la croissance (muscle, os) et particulièrement dans des structures dont le dépôt de protéines sert de soutien au dépôt de minéraux (otolithes, écailles).

La myosine, protéine la plus abondante des protéines myofibrillaires, est une molécule hexanumérique, formée de deux chaines lourdes (Heavy chain, HC) et de deux paires de chaines légères (Light chain, LC), dont une phosphorylable et l'autre alcaline. Dans le muscle, il existe 3 classes de chaines légères (LC1, LC2, LC3). Ces différentes chaînes légères sont de type rapide (fast, f) dans le muscle blanc et lent (slow, s) dans le muscle rouge. Les caractéristiques des protéines myofibrillaires évoluent en fonction de l'âge et le rapport de la LC3f/LC1f dans le muscle varie au cours du développement et traduit l'état de maturation du muscle.

Enfin, nous avons analysé, dans l'expérience II, la synthèse des protéines dans les écailles à travers l'incorporation de la glycine marquée au ^{14}C. Chez les poissons, une forte corrélation positive est en effet observée entre la croissance et la concentration d'ARN d'une part, et d'autre part le taux de synthèse protéique dans le muscle blanc (Bulow, 1987; Fauconneau *et al.*, 1990). Le rapport ARN/protéines qui traduit le taux de synthèse de protéines du muscle blanc est donc souvent utilisé comme un index du taux de croissance. L'analyse de ce ratio au cours des précédentes expériences n'a pas révélé de différence significative entre les mâles et les femelles. Il apparaissait intéressant d'analyser l'activité de synthèse protéique dans les écailles. Chez plusieurs espèces de téléostéens, une forte corrélation est en effet observée entre le taux de croissance et l'incorporation de la glycine dans les écailles (Ottaway et Simkiss, 1979; Adelman, 1980; Smith, 1986). La glycine est le principal acide aminé du collagène (1/3) et de l'ichtylepédine qui représentent l'essentiel des protéines structurales des écailles (Seshaiya *et al.*, 1963; Ottaway et Simkiss, 1977). L'incorporation de la glycine-marquée dans les écailles est donc utilisée comme un index de la croissance instantanée du poisson (Ottaway, 1978). Cette technique pourrait permettre en outre une détection précoce des différences de croissance entre les mâles et les femelles.

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

2.1. Analyse de la conformation

L'étude de la conformation a été réalisée sur une vingtaine d'individus de chaque sexe de l'expérience III (cf. liste des expériences). Le poids corporel moyen est de 60 g pour les mâles et de 40 g pour les femelles.

Certaines grandeurs remarquables (surfaces, longueurs, hauteurs) sont calculées à l'aide du logiciel « Emmanuelle ». Une analyse en composante principale est réalisée à l'aide d'un

logiciel statistique SPADN pour visualiser les grands traits de la morphologie globale. Des analyses discriminantes sont ensuite réalisées, sur les variables présentant des différences significatives (analyse de variance) entre les deux sexes à l'aide du même logiciel statistique, afin de déterminer les paramètres qui discriminent le plus les mâles et les femelles.

2.2. Structure histologique du muscle

Les échantillons de muscle sont prélevés sur les individus des lots témoins et implantés par un bloqueur de synthèse de l'oestradiol-17β (ATD, cf. expérience VIII). Une partie des animaux de cette expérience sont supplémentés soit en tamoxifène, soit en ATD à travers des implants Silastic, à une dose de 50 µg/g et 3 µg/g de poids corporel respectivement.Le poids corporel moyen est de 250g pour les mâles et de 200g pour les femelles.

Des tranches de muscle de 5 mm d'épaisseur, prélevées à l'arrière de la nageoire dorsale et au dessus de la ligne latérale, sont fixées dans le liquide de Bouin-Hollande pendant 72 heures, puis déshydratées et inclues dans la paraffine. Des coupes transversales de 10 microns sont réalisées sur chaque échantillon (voir chapitre II, paragraphe 9) et montées entre lame et lamelle. Les lames observées au microscope et des champs représentatifs de chaque type de muscle sont photographiés. Les diapositives sont ensuite projetées sur une table à digitaliser et les diamètres de 100 fibres par échantillon et par type de muscle sont enregistrés sur un micro-ordinateur.

La distribution des fréquences de tailles de fibres est ensuite calculée pour chaque individu et une moyenne par classe de taille de fibres est réalisée pour chaque sexe.

2.3. Analyse biochimique du muscle

Les analyses ont été réalisées sur les échantillons de muscle prélevés au cours de l'expérience I.

Les protéines myofibrillaires sont séparées par électrophorèse sur un gel de polyacrylamide (15%) en présence de SDS (2%). Les gels ont ensuite été analysés par un logiciel de traitement d'image (cf.. chapitre II).

2.4. Incorporation de la [^{14}C]-Glycine dans les écailles

L'analyse de la cinétique d'incorporation de la glycine marquée au ^{14}C dans les écailles est effectuée sur une partie des poissons de l'expérience II. Le poids corporel moyen est de 50g pour les mâles et de 40g pour les femelles.

Tableau XIV : Comparaison des différents paramètres de conformations (moyenne, écart-type) entre les mâles et les femelles. Les différences sont testées par le test t de Student. Les différentes grandeurs de surface, de longueur et de hauteur ont été pondérées par la longueur totale. Les moyennes ont été arrondies au chiffre supérieur ou inférieur. (* = 5% ; ** = 1% ; *** = 0,1%)

Variables	Mâles (n = 19)	Femelles (n = 24)	Signification des différences mâle/femelle
Poids corporel	66,352 ± 17,124	41,866 ± 11,022	***
Longueur totale	14,395 ± 0,831	12,883 ± 1,148	***
Coefficient de condition (K)	2,186 ± 0,288	1,935 ± 0,222	**
Surface totale	0,453 ± 0,014	0,437 ± 0,006	***
Surface carcasse	0,417 ± 0,013	0,400 ± 0,007	***
Surface tête	0,177 ± 0,009	0,172 ± 0,006	*
Surface viscérale	0,254 ± 0,011	0,236 ± 0,009	***
Surface viscérale postérieure	0,188 ± 0,011	0,176 ± 0,008	***
Surface viscérale antérieure	0,169 ± 0,012	0,156 ± 0,008	***
Surface musculaire totale	0,331 ± 0,013	0,324 ± 0,008	
Surface musculaire dorsale antérieure	0,191 ± 0,008	0,185 ± 0,006	*
Surface musculaire dorsale postérieure	0,223 ± 0,013	0,221 ± 0,008	
Surface musculaire ventrale postérieure	0,153 ± 0,011	0,149 ± 0,012	
Surface antérieure	0,320 ± 0,012	0,308 ± 0,005	***
Surface postérieure	0,318 ± 0,010	0,309 ± 0,006	***
Longueur tête	0,260 ± 0,017	0,254 ± 0,009	
Longueur machoire	0,048 ± 0,006	0,050 ± 0,006	
Longueur antérieure	0,435 ± 0,009	0,427 ± 0,010	*
Longueur postérieure sans nageoire caudale	0,427 ± 0,008	0,420 ± 0,008	**
Longueur standard	0,862 ± 0,015	0,847 ± 0,017	**
Longueur sans tête et sans nageoire caudale	0,603 ± 0,015	0,593 ± 0,018	
Longueur antérieure sans tête	0,175 ± 0,013	0,172 ± 0,014	
Longueur postérieure	0,565 ± 0,009	0,573 ± 0,010	*
Hauteur 1 (Hauteur pédoncule caudal)	0,139 ± 0,006	0,136 ± 0,006	
Hauteur 11 (diagonale zone caudale)	0,093 ± 0,010	0,092 ± 0,012	
Hauteur 12 (diagonale zone caudale	0,159 ± 0,009	0,154 ± 0,008	*
Hauteur 2 (hauteur fin nageoire dorsale)	0,165 ± 0,010	0,159 ± 0,013	
Hauteur 21 (diag. zone fin nageoire dorsale1	0,164 ± 0,009	0,165 ± 0,009	
Hauteur 22 (diag. zone fin nageoire dorsale2	0,261 ± 0,014	0,254 ± 0,012	
Hauteur 3 (hauteur milieu nageoire dorsale	0,296 ± 0,018	0,280 ± 0,010	***
Hauteur 31 (diag. milieu nageoire dorsale 1)	0,295 ± 0,018	0,280 ± 0,010	***
Hauteur 32 (diag. milieu nageoire dorsale 2)	0,397 ± 0,024	0,381 ± 0,010	**
Hauteur 4 (hauteur début nageoire dorsale)	0,336 ± 0,021	0,315 ± 0,010	***
Hauteur 41 (diag. début nageoire dorsale 1)	0,374 ± 0,016	0,351 ± 0,011	***
Hauteur 42 (diag. début nageoire dorsale 2)	0,337 ± 0,022	0,315 ± 0,013	***
Hauteur 43 (diag. début nageoire dorsale 3)	0,407 ± 0,014	0,389 ± 0,010	***
Hauteur 5 (hauteur début nageoire dorsale)	0,319 ± 0,020	0,295 ± 0,009	***
Hauteur 6 (hauteur tête)	0,249 ± 0,013	0,238 ± 0,006	***
Demi hauteur 41 (demi hauteur musculaire)	0,174 ± 0,013	0,168 ± 0,011	
Demi hauteur 42 (demi hauteur viscérale)	0,163 ± 0,016	0,147 ± 0,012	***
Demi hauteur 31 (demi hauteur musculaire)	0,139 ± 0,016	0,140 ± 0,011	
Demi hauteur 32 (demi hauteur viscérale)	0,154 ± 0,011	0,140 ± 0,012	***

Les prélèvements d'écailles sont réalisés le matin à 8 heures sur une dizaine d'individus de chaque sexe dans les groupes mixtes, nourris *ad libitum* ou restreints. 4 échantillons de 3 écailles sont prélevés dans la partie antérieure du poisson, derrière l'opercule. Ils sont ensuite incubés pendant quatre durées différentes: 1, 2, 3 ou 6 heures. L'incorporation est arrêtée par un rinçage des écailles dans une solution saline (NaCl 9 g/l).

La radioactivité incorporée dans les écailles est mesurée par comptage en scintillation liquide (compteur bêta) après dissolution des écailles et les protéines totales par la technique au Folin.

3. RESULTATS

3.1. Analyse de la conformation

Sur l'ensemble des grandeurs morphologiques mesurées et pondérées par la longueur totale (tableau XIV), 28 sont significativement différentes ($p<0,05$) entre les mâles et les femelles. Sur le plan morphologique, les mâles présentent un coefficient de condition plus important, qui peut être relié à un développement plus important des surfaces et des hauteurs viscérales par rapport aux femelles. Des différences entre les sexes sont également observées pour les principales hauteurs : tête (H6), début (H5), milieu (H4) et fin (H3) de la nageoire dorsale mais pas pour les hauteurs du pédoncule caudal.

L'analyse discriminante à deux groupes, effectuée sur la totalité des paramètres, permet d'identifier 95% des mâles et 100% des femelles (tableau XV; figure 34). Les analyses réalisées en utilisant différentes combinaisons des variables les plus significativement différentes offrent des pourcentages plus faibles de distinction entre les deux sexes (tableau XV).

3.2. Analyse histologique du muscle

L'analyse des coupes histologiques montre que les trois types de muscles (le muscle rouge périphérique, le muscle intermédiaire et le muscle blanc profond) qui constituent le muscle squelettique ne sont pas séparés anatomiquement au sein de chaque myomère. Le muscle rouge est en continuum avec le muscle blanc (planche IV). Nous avons analysé plus spécifiquement le muscle rouge et le muscle blanc.

Le muscle rouge situé juste sous la peau est constitué de fibres de taille assez homogène. Le diamètre des fibres varie entre 6 et 29 microns. La distribution des diamètres des fibres suit approximativement une loi normale (figure 35a). Il n'y a pas de différence

Tableau XIV : Efficacité de la discrimination entre mâles et femelles de tilapia de poids corporel moyen 50 g : pourcentage des individus bien classés en fonction des différentes combinaisons de paramètres.

Variables	Groupe mâle	Groupe femelle
Ensemble des paramètres	94,7	100
a1, a18, a25, a40	68,4	91,7
a1, a19, a25, a40	73,7	83,3
a18, a25, a31, a40	73,7	91,7
a19, a25, a31, a40	78,9	87,5
a1, a18, a19, a25, a31, a40	73,7	91,7

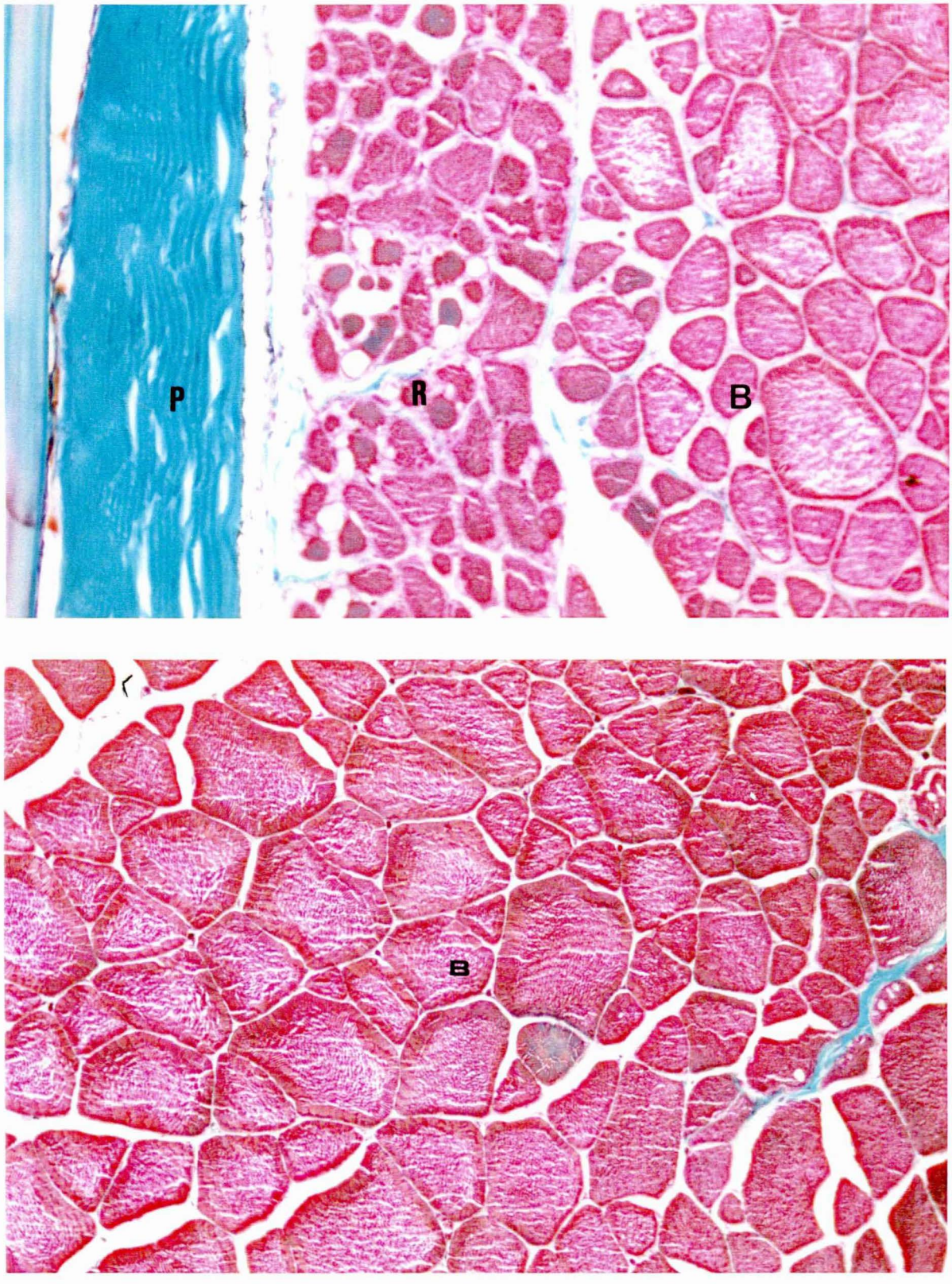


Planche V : Coupe transversale du muscle rouge (R) et du muscle blanc (B) d' *Oreochromis niloticus* sur des individus de 200 g de poids corporel. Fixation au carnoy ; coloration par le trichrome de Masson, variant Golner ; coupe 10µ. Grossissement microscope 20 x.
(Photo Toguyéni et Cauty).

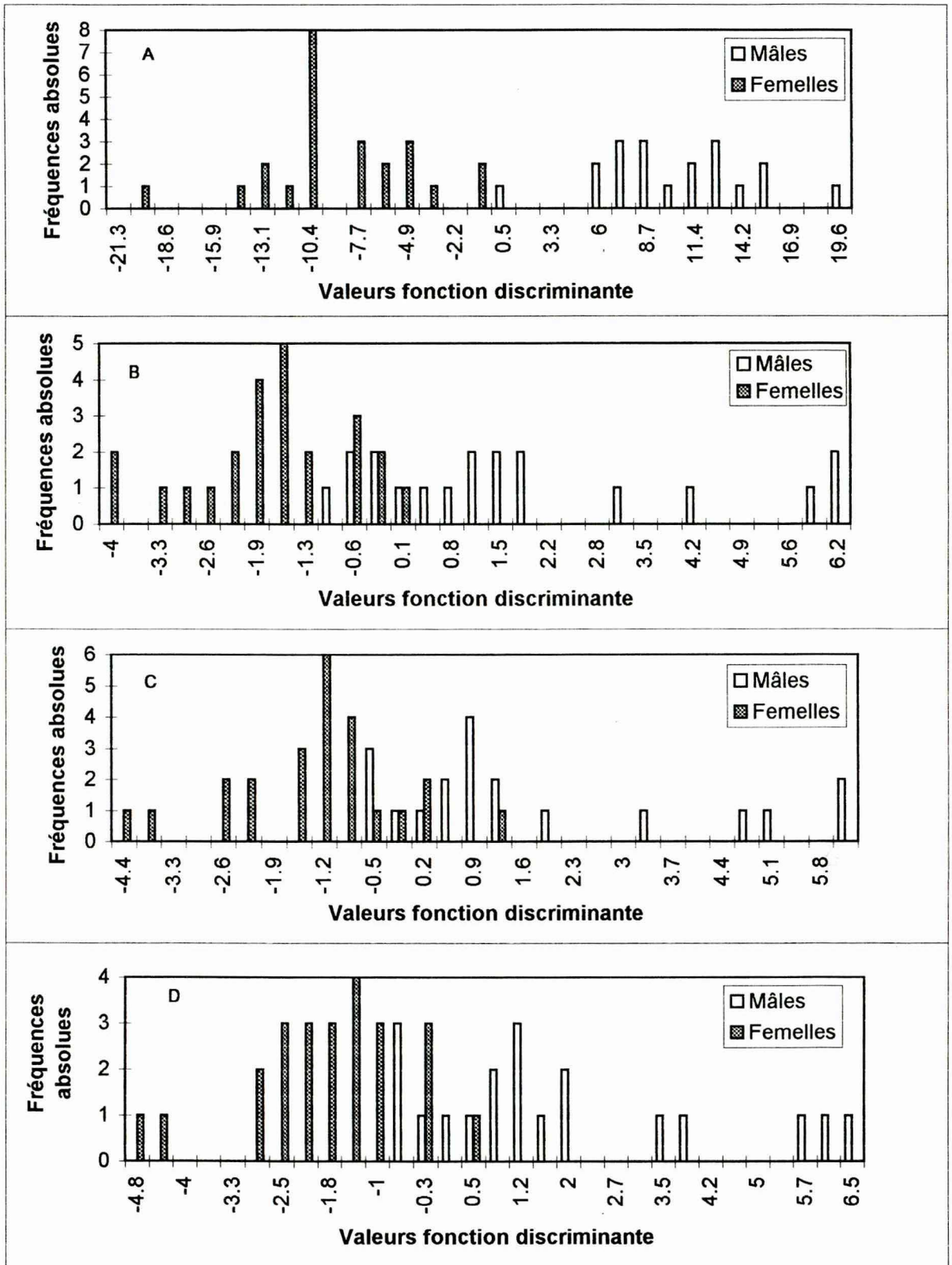


Figure 34 : Distribution des individus mâles et femelles en fonction des valeurs de la fonction discriminante.
A : l'ensemble des paramètres
B : paramètres a1, a18, a25, a40
C : paramètres a18, a25, a31, a40
D : paramètres a1, a18, a19, a25, a31, a40

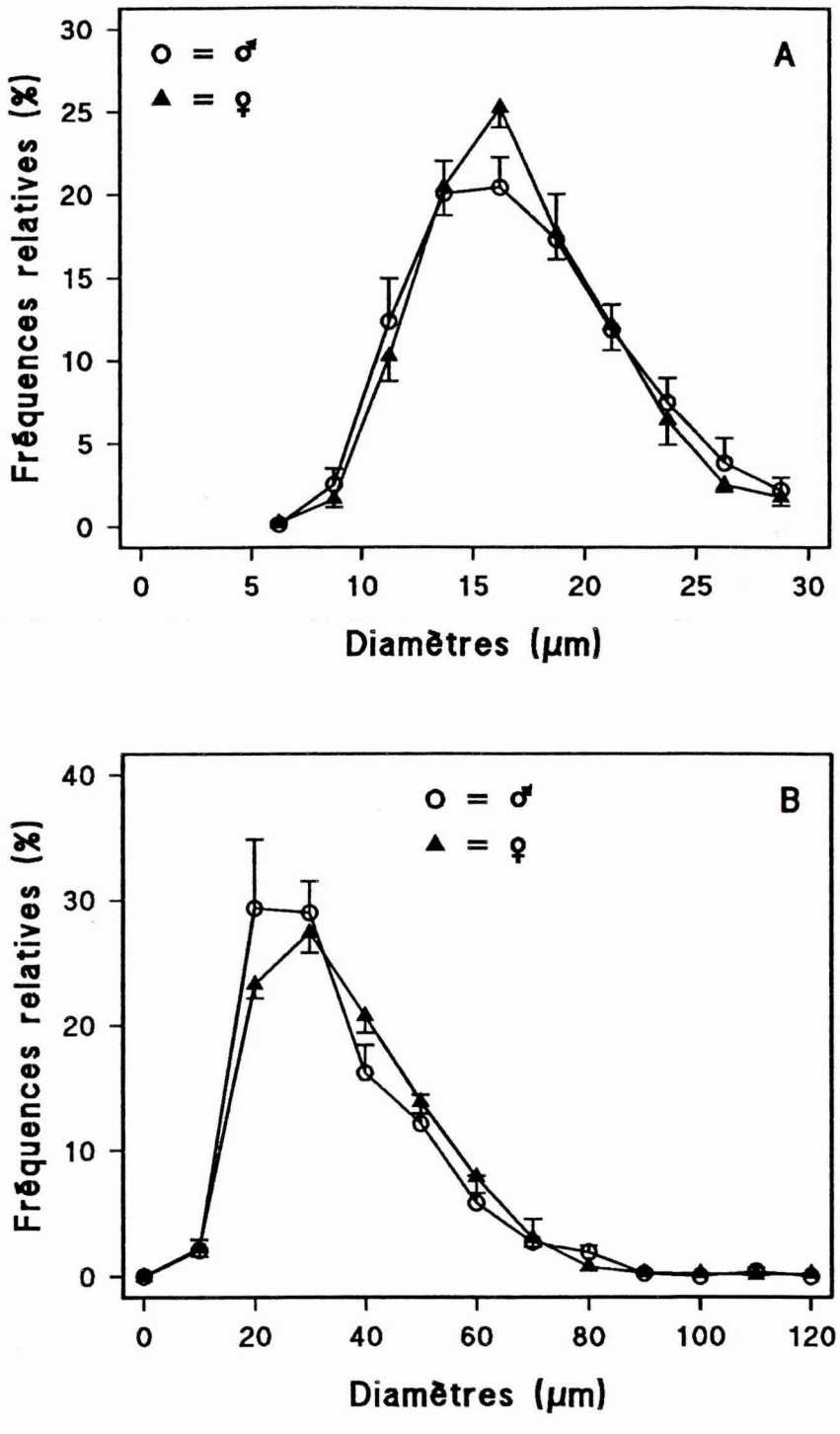


Figure 35 : Distribution de la taille des fibres dans le muscle rouge (A) et dans le muscle blanc (B) pour des mâles et des femelles de 50 g de poids corporel moyen. Moyenne ± SEM; n = 16 individus par sexe.

significative de tailles de fibres entre les mâles et les femelles. Toutefois, une tendance à un plus grand nombre de fibres dans la classe centrale est observée chez les femelles.

Le muscle blanc est constitué de fibres de plus grand diamètre et est plus hétérogène que dans le muscle rouge. Les diamètres des fibres varient de 10 à 120 microns, mais la majeure partie des fibres a un diamètre inférieur à 60 microns (figure 35b). Il n'y a pas de différences significatives de taille des fibres entre les mâles et les femelles. Les mâles ont un plus grand nombre de fibres de petite taille par rapport aux femelles, mais la différence n'est pas significative.

3.3. Analyses biochimiques du muscle

Les teneurs en protéines myofibrillaires sont plus faibles que les teneurs en protéines totales. Elles représentent en moyenne 90% des protéines totales. Cette teneur augmente avec l'âge ($r = 0,38$, $p< 0,02$) et est corrélée négativement avec la teneur en ARN ($r = -0,50$, $p< 0,001$). Il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles pour la teneur en protéines myofibrillaires.

Chez les jeunes poissons pour lesquels nous avons prélevé l'ensemble de la musculature, les chaînes légères de la myosine (LC1fast, LC2f, LC3f) caractéristiques du muscle blanc sont contaminées par les chaînes légères du muscle rouge (LC2slow, figure 36). Le rapport LC3f/LC1f n'évolue pas de manière significative en fonction de l'âge des poissons. Par contre, des dédoublements de certaines chaînes légères LC3f et LC1f sont observés chez certains individus.

3.4. Incorporation de la [^{14}C]-Glycine dans les écailles

La radioactivité incorporée au cours de la première heure d'incubation des écailles est élevée (figure 37). L'incorporation augmente et se poursuit ensuite à un taux plus faible, pour atteindre un plateau au bout de 3 heures d'incubation.

Les quantités de glycine radioactive incorporées, exprimées en fmol/mg de protéines ou d' écaille sont significativement plus élevées chez les animaux nourris *ad libitum* (figure 37A et 37B) que chez les restreints (figure 37C et D).

Il n'y pas de différence significative entre les mâles et les femelles. Cependant une tendance à des capacités d'incorporation plus importantes chez les femelles est observée chez les animaux nourris *ad libitum*, principalement à partir de la troisième heure (figure 37A et B).

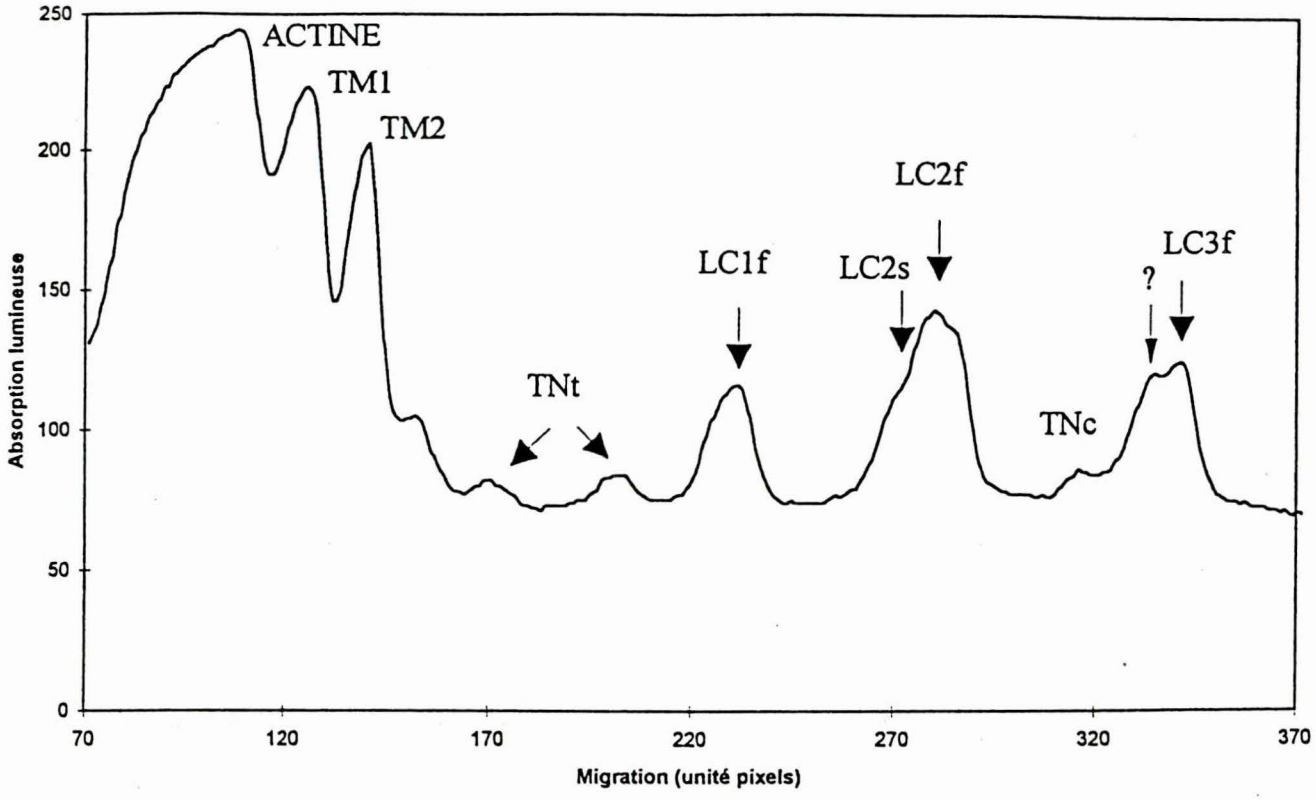


Figure 36 : Profil électrophorétique des protéines myofibrillaires chez *Oreochromis niloticus*.
TM1 : tropomyosine 1
TM2 : tropomyosine 2
TNt : troponine t
TNc : troponine c
LC (1,2,3)f : « Light Chain (1,2,3) fast » = chaînes légères de type rapide
LC2s : « Light Chain slow » = chaîne légère de type lent

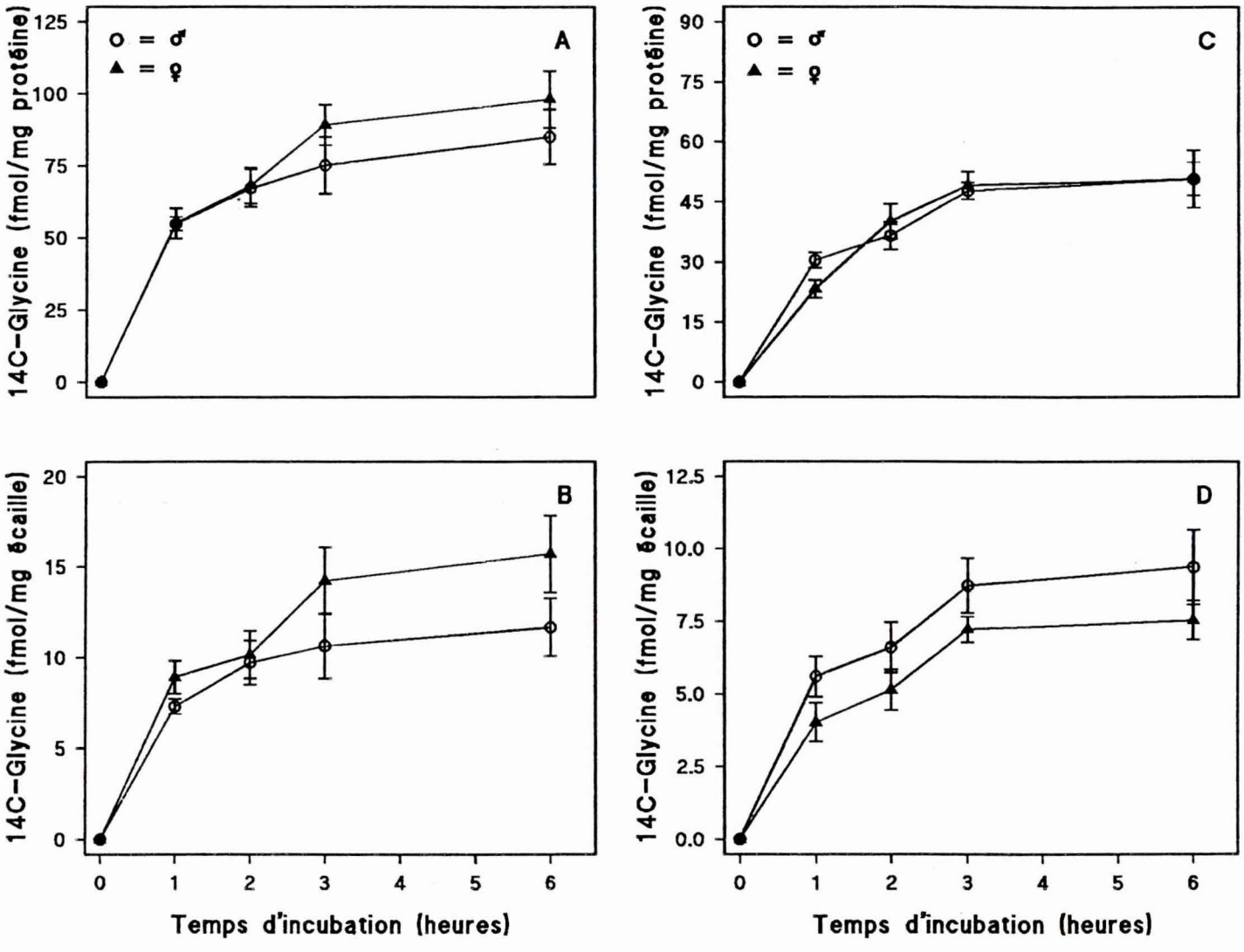


Figure 37 : Cinétiques d'incorporation de la glycine marquée au ^{14}C dans les écailles chez des mâles (50 g) et des femelles (40 g) nourris *ad libitum* (A et B) ou restreints (C et D). Moyenne ± SEM; n = 8 mâles et 8 femelles.

Chez les animaux restreints, les quantités incorporées par mg d'écaille sont plus élevées chez les mâles à tous les temps d'incubation (figure 37D).

4. DISCUSSION

4.1. Analyses de la conformation globale et structure musculaire

L'analyse des données de la conformation montre que la morphologie externe est relativement conservée entre les mâles et les femelles malgré les différences significatives de croissance en poids et en longueur entre les deux sexes. Comme cela est demontré chez d'autres espèces de téléostéens (Le Bail, 1981; Saillant, 1994), des différences de croissance de la tête sont observées. Des travaux ont montré chez *Oreochromis mossambicus* un développement plus important de la cavité buccale des femelles et des os de la mâchoire des mâles (Chervinski, 1983). Ces différences de croissance de la tête peuvent être considérées comme des caractères sexuels secondaires. Nous n'avons pas analysé finement ces paramètres, mais les différences observées dans notre échantillon portent plus sur la croissance en hauteur de la tête, qui est plus importante chez les mâles que chez les femelles, que sur la croissance en longueur.

Deux autres caractéristiques de la conformation sont significativement différentes entre les mâles et les femelles. D'une part l'allongement des mâles est plus important comparé à celui des femelles, surtout dans la partie postérieure (à partir de la nageoire dorsale). Cette modification du pédoncule caudal a été suspectée dans une autre étude récente sur la conformation du tilapia (Oliveira et Almada, 1995). Elle est peut être associée à l'activité de nage plus importante chez les mâles que chez les femelles. D'autre part, des hauteurs corporelles plus grandes sont observées chez les mâles dans la partie antérieure (derrière la tête et au niveau du début et du milieu de la nageoire dorsale), mais pas dans la partie caudale. Ces hauteurs plus importantes sont associées à une augmentation des grandeurs de la zone viscérale (surface et demi-hauteur), mais pas dans la zone musculaire, ainsi qu'à un coefficient de condition plus fort. De telles différences de morphologie n'ont pas été rapportées par les autres études réalisées sur le tilapia qui montrent, qu'exceptés certains critères méristiques, il existe peu de différences de grandeurs morphologiques sauf l'épaisseur, qui est plus importante chez les mâles que chez les femelles. Notre étude met donc en évidence, pour la première fois, une modification du profil viscéral associée à un allongement de la zone postérieure chez les mâles comparés aux femelles.

Cette modification des conformations permet de distinguer globalement plus de 90% des individus des deux sexes par une fonction discriminante utilisant l'ensemble des paramètres étudiés. Une analyse sur des combinaisons de paramètres restreints ne permet pas de discriminer les deux sexes de manière aussi efficace. Les individus mal classés ne sont pas toujours les mêmes, ce qui laisse penser qu'une combinaison des fonctions discriminantes testées permettrait d'obtenir un résultat satisfaisant.

Le muscle squelettique du tilapia présente une organisation particulière au sein du myomère qui n'a jamais été décrite chez les téléostéens. En effet, il n'existe pas de séparation anatomique entre les fibres situées à la périphérie constituant classiquement le muscle rouge et les fibres plus profondes constituant le muscle blanc. Cette structure est retrouvée systématiquement sur tous les individus étudiés, ce qui démontre qu'elle n'est pas le résultat d'un artefact méthodologique. Cette distinction entre les caractéristiques des fibres superficielles et profondes devrait toutefois être confirmée par une étude histoimmunologique avec des anticorps spécifiques de chaque type de muscle.

Il n'existe pas de différence d'organisation du muscle entre les mâles et les femelles. L'analyse de la distribution de la taille des fibres présente un intérêt particulier chez les poissons car elle apporte des informations sur le processus de croissance du muscle. Contrairement aux mammifères dont la croissance post-natale du muscle résulte exclusivement d'une augmentation de la taille des fibres existantes, la croissance post-embryonnaire du muscle chez les poissons se fait par la combinaison de deux processus: une augmentation du nombres de fibres, la croissance hyperplasique, et une augmentation de la taille des fibres, la croissance hypertrophique (Johnston, 1982; Van Raamsdonk *et al.*, 1982). Chez les jeunes individus, la croissance musculaire se fait même essentiellement par le recrutement de nouvelles fibres (Weatherley *et al.*, 1980a, b; Stickland, 1983). La présence de petites fibres au sein du muscle (donnant un aspect mosaïque aux coupes de muscles) est le témoin de ce processus de recrutement de nouvelles fibres. Le faible diamètre moyen des fibres, particulièrement du muscle blanc, par rapport à celui observé chez d'autres espèces, et notamment chez les salmonidés (Weatherley *et al.*, 1979; Kiessling *et al.*, 1991; Douirin, 1992), et le nombre relativement élevé (50%) de fibres de petites tailles (<30 µm) observé chez nos animaux, suggèrent que le muscle de tilapia a une croissance essentiellement hyperplasique à ce stade.

Chez la truite, il a été montré que les animaux ayant les meilleurs taux de croissance étaient ceux qui possédaient le plus grand nombre de fibres de petite taille (Weatherley *et al.*, 1979). La tendance à un nombre plus élevé de fibres de petite taille dans le muscle blanc chez

les mâles pourraient révéler des capacités de croissance hyperplasique plus importantes des mâles par rapport à celles des femelles.

L'analyse du profil électrophorétique montre que la myosine du muscle blanc de tilapia possède les mêmes types de chaînes légères que celles mises en évidence chez les téléostéens, les mammmifères et les oiseaux (Martinez *et al.*, 1990). Toutefois, contrairement aux mammifères (Huriaux et Focant, 1985), les quantités de la LC3f tendent à être plus importantes que celles de la LC1f. Cette tendance a été observée chez d'autres espèces de téléostéens et serait liée à l'activité locomotrice particulière du poisson (Watabe *et al.*, 1982).

Par ailleurs, un dédoublement de la LC1 ou de la LC3 est observé chez certains individus. Ce polymorphisme des chaînes légères de la myosine est observé chez d'autres espèces de téléostéens (Martinez *et al.*, 1989; Ochiai *et al.*, 1990; Crockford *et al.*, 1995). Crockford *et al.* (1995) montrent chez *Oreochromis andersonii* que ce polymorphisme est d'origine allélique et obéit aux lois de Mendel. Cependant, les caractéristiques des protéines myofibrillaires évoluant avec l'âge, ce polymorphisme pourrait révéler des formes embryonnaires dans le cas de notre expérience. En effet, les analyses réalisées sur des géniteurs d'*Oreochromis niloticus* de la souche « Egypte, Lac Manzala » (180 - 265 g de poids corporel) ne montrent pas de polymorphisme (Crockford *et al.*, 1995). En absence d'une étude séquentielle depuis les stades précoces, cette hypothèse reste à démontrer.

4.2. Estimation de la croissance instantanée

La cinétique d'incorporation de la glycine radioactive dans les écailles est similaire à celle observée dans d'autres espèces bien que les quantités incorporées soient relativement plus faibles par rapport à celles observées chez d'autres espèces de téléostéens (Ottaway et Simkiss, 1977; Goolish et Adelman, 1983). Différents paramètres dans la mise en oeuvre de la méthodologie (radioactivité spécifique de la glycine, température d'incubation) ainsi que la période de mesure peuvent expliquer cette différence. Il existe par exemple des rythmes circadiens de synthèse protéique dans les écailles chez le tilapia, les plus faibles taux de synthèse de protéines étant observés le matin à 6 heures et les plus fortes valeurs à 18 heures (Smith, 1986).

Les résultats obtenus sont cohérents puisque, par exemple, l'incorporation de la glycine dans les écailles est très influencée par la ration alimentaire, les quantités incorporées chez les animaux nourris *ad libitum* étant pratiquement le double de celles observées chez les animaux restreints. Cet index de croissance apparaît plus sensible que le rapport ARN/protéine dans le

muscle blanc, qui ne présente pas de différence significative entre les animaux nourris *ad libitum* et les animaux restreints. Ce taux d'incorporation de la glycine dans les écailles, témoin de l'activité de synthèse des écailles, semble donc être un outil très sensible, utilisable pour une analyse de la différence de croissance liée au sexe.

Il n'existe pas de corrélations significatives entre le poids corporel final et le taux d'incorporation de la glycine radioactive dans les écailles. Les prélèvements d'écailles ayant été réalisés le matin à 8 heures, il est possible que le rythme circadien de synthèse des protéines masque la relation entre la croissance et l'incorporation en phase minimale. Il est également possible que le poids final ne reflète pas la croissance instantanée du poisson dans la période de mesure d'incorporation de glycine dans les écailles.

Les différences d'incorporation de la glycine dans les écailles entre les mâles et les femelles sont contradictoires.

Chez les animaux nourris *ad libitum,* on observe un taux d'incorporation plus élevé chez les femelles que chez les mâles. Les quantités de protéines mesurées dans les écailles sont plus importantes chez les mâles que chez les femelles, ce qui est en accord avec les résultats de l'analyse de la composition corporelle qui montrait un taux de rétention protéique plus important des mâles que chez les femelles. Toutefois la différence d'incorporation existe lorsqu'elles sont rapportées au poids de l'écaille et non à la quantité de protéine. Cette différence révèle donc, soit une caractéristique indépendante de celle mesurée, la captation de substrat par l'écaille pouvant être affectée par l'architecture de l'écaille ou sa structure, soit une différence réelle de synthèse des protéines dans les écailles à ce stade chez les femelles qui serait spécifique, puisque la synthèse des protéines ne semble pas stimulée dans un tissu comme le muscle. Les différences de statut endocrinien, et notamment des stéroïdes, peuvent participer à cette orientation du métabolisme protéique vers la croissance ou des structures apparentées chez les femelles.

Chez les animaux restreints, la tendance inverse est observée avec un taux d'incorporation, rapporté au poids de l'écaille, plus élevé chez les mâles que chez les femelles ou équivalente lorsqu'il est rapporté à la quantité de protéine de l'écaille. Les effets de la restriction alimentaire pourraient être plus marqués chez les femelles que chez les mâles au travers par exemple des baisses de l'activité de synthèse protéique (Ottaway, 1978).

5. CONCLUSION

La différence de croissance liée au sexe chez le tilapia est associée à des différences de conformation de la tête, de la zone corporelle viscérale et de la zone du pédoncule caudal. Les mâles sont donc plus trappus vers l'avant et plus allongés vers l'arrière. Ces différences de conformation sont associées à des différences, faibles mais significatives, de la distribution de la taille des fibres dans la zone du pédoncule caudal pour les fibres du muscle blanc mais pas du muscle rouge.

Le muscle de tilapia présente par ailleurs une structure particulière comparativement à celle observée chez les salmonidés et la carpe. Les muscles rouge, intermédiaire et blanc ne constituent pas des entités anatomiquement distinctes mais une structure continue. Cette structure particulière du muscle ainsi que les différences de conformation sont peut être à relier à l'activité de locomotion du tilapia.

Des différences de taux d'incorporation de précurseurs marqués dans les écailles entre les mâles et les femelles suggèrent une orientation particulière du métabolisme protéique chez les femelles, à relier peut être aux différences de morphologies de la tête entre les mâles et les femelles.

Le taux d'incorporation de la glycine marquée au ^{14}C dans les écailles semble être un bon indice de croissance dont la mise oeuvre est très simple et n'affecte pas la croissance des individus.

CHAPITRE V
COMPORTEMENT ALIMENTAIRE ET EFFICACITE ALIMENTAIRE EN RELATION AVEC LE SEXE

1. INTRODUCTION

Les résultats acquis dans le chapitre III, montrent que la différence de croissance entre les mâles et les femelles apparait dans les conditions de la station de Bouaké (Côte d'Ivoire) autour de 35g pour les femelles et de 45-50g pour les mâles. Nos résultats montraient également que la période d'apparition de la différence de croissance est influencée par le taux d'alimentation. Ce chapitre sera donc consacré à une analyse plus approfondie de l'influence de ce facteur dans la différence de croissance entre les mâles et les femelles.

L'alimentation est en effet l'un des facteurs susceptibles d'être impliqué au travers:

1) du comportement alimentaire (horaire et durée de la prise alimentaire)
2) de la quantité d'aliment ingéré
3) de l'efficacité de l'utilisation des nutriments ingérés

Le comportement alimentaire peut être étudié en milieu d'élevage lorsque les animaux ont libre accès à l'aliment. L'existence d'un rythme alimentaire journalier a été démontré chez plusieurs espèces de poissons. Ainsi la truite s'alimente principalement le jour (Boujard et Leatherland, 1992b) alors que le poisson chat se nourrit essentiellement la nuit (Anthouard *et al.*, 1986; Boujard *et al.*, 1990; Boujard, 1995). L'alimentation de ces animaux en dehors de leur rythme naturel de prise alimentaire peut conduire à une diminution de la consommation (Boujard, 1995), à une faible efficacité alimentaire (Boujard *et al.*, 1995) et à une augmentation des teneurs en lipides totales (Noeske-Hallin *et al.*, 1985). De la même façon, l'alimentation contrôlée (horaire, nombre de repas), directement au travers de la prise alimentaire ou indirectement au travers de différences d'activité des animaux, a un effet significatif sur la croissance (Grayton et Beamish, 1977; Boujard et Leatherland, 1992a). La croissance et l'efficacité de la conversion alimentaire sont affectées positivement par l'accroissement de la fréquence d'alimentation, jusqu'à une certaine limite pour des quantités ingérées équivalentes (Greenland et Gill, 1979; Luquet *et al.*, 1981; Fauconneau et Luquet, 1984; Kerdchuen et Legendre, 1991).

Les différences de croissance entre les mâles et les femelles, observées dans différentes espèces, sont associées le plus souvent à des différences de quantités d'aliment ingérées (Temming et Hammer, 1994). En outre, de nombreux travaux font état d'une stimulation d'une part de la prise alimentaire et d'autre part de la conversion et de l'utilisation alimentaire par les stéroïdes sexuels, notamment les androgènes, et par les hormones thyroïdiennes (Matty et Cheema, 1978; Yu *et al.*, 1979; Fagerlund *et al.*, 1980). Cependant, à notre connaissance,

aucun travail de ce type n'a été réalisé chez *Oreochromis niloticus*, notamment en ce qui concerne l'analyse de la croissance différentielle entre les mâles et les femelles.

L'objectif de cette partie de notre travail est d'analyser et de comparer le comportement alimentaire des mâles et des femelles d'*Oreochromis niloticus*, et notamment les horaires d'alimentation et les quantités d'aliment ingéré. Cette étude est réalisée sur des groupes monosexes (mâles et femelles) et sur des groupes mixtes. Ce travail a également pour objectif d'analyser l'efficacité d'utilisation des nutriments ingérés des mâles et des femelles. Il est complété par une analyse du statut hormonal, stéroïdien et thyroïdien, pour rechercher les facteurs endocriniens susceptibles d'être impliqués dans les différences soit de comportement alimentaire, soit d'efficacité d'utilisation des nutriments.

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL (expérience III)

2.1. Les poissons

Les alevins d'*Oreochromis niloticus* (Souche Bouaké) issus d'une même fécondation (réalisée à la station expérimentale du GAMET / CIRAD-EMVT à Montpellier) sont sexés à 4 mois d'âge par observation macroscopique de la papille uro-génitale. Ils sont ensuite transférés à la station expérimentale de Saint Pée-sur-Nivelle (Unité Nutrition/INRA) où ils sont répartis en 3 groupes composés :

* uniquement d'individus mâles (groupe monosexe mâle = F0)
* uniquement d'individus femelles (groupe monosexe femelle = F100)
* pour moitié de mâles et pour l'autre moitié de femelles (groupe mixte = F50)

Chaque groupe est ensuite réparti au hasard en 3 réplicats de 22 individus. Le poids corporel moyen initial est d'environ 12 g pour les mâles et 10 g pour les femelles.

2.2. Conditions d'élevage et de prélèvements

Les animaux sont élevés dans des bacs en plastique de 100 litres, en circuit fermé, à une température de 27 ± 0,2°C et une photopériode de 12J/12N. L'éclairage est réalisé avec 2 lampes : une lampe de 4W s'allumant 30 minutes avant et s'éteignant 30 minutes après une autre de 40W pour créer artificiellement l'aube et le crépuscule. Les poissons sont nourris à satiété, avec un aliment commercial extrudé (44% de protéines, 17% de lipides, 19% d'énergie et 92% de matières sèches) à l'aide de nourrisseurs à la demande ou self-feeders (Boujard *et*

al., 1992). Le système est composé d'un distributeur automatique qui délivre environ 2 g d'aliment (70 granulés) à chaque fois qu'un poisson vient activer la tige du détecteur, située à 2 mm de la surface de l'eau. L'ensemble (distributeur d'aliment et détecteur) est relié à un micro-ordinateur qui enregistre l'heure et le numéro du bac demandeur (figure 9). Les granulés non consommés sont collectés par décantation au fond du tuyau de vidange et récupérés une ou deux fois par jour pour évaluer les quantités de granulés réellement ingérées.

L'expérience est réalisée en deux phases. Une première phase (10 jours) permet l'apprentissage des animaux au système d'alimentation à la demande. Au cours de cette phase, les demandes ont été enregistrées pour tous les lots sauf ceux du groupe 3 (lots mixtes) suite à une défaillance du système d'enregistrement. Après cette période d'adaptation au système, les animaux sont pesés individuellement (après un jeûne de 24 heures) et le sexe est vérifié. Tous les lots sont alors réduits à 20 individus par bac. Au cours de la seconde phase de l'expérience qui a duré 31 jours, les demandes ont été enregistrées pour l'ensemble des bacs. Une pesée intermédiaire (par lot) est réalisée au bout de 15 jours pour suivre l'évolution du poids moyen de chaque lot. En fin d'expérience, tous les poissons sont pesés individuellement et sexés par observation macroscopique des gonades dans la cavité péritonéale. Des prises de vues vidéo de quelques poissons sont réalisées à l'aide de l'appareil photo Ion Canon.

Au début et à la fin de l'expérience, un échantillon de 10 individus de chaque sexe est prélevé de manière équilibrée dans les triplicats de chaque groupe pour analyser les compositions corporelles initiales et finales (matières sèches, protéines, lipides, énergie). Ces analyses sont réalisées sur l'animal entier, préalablement congelé et conservé à -20°C.

Une prise de sang est réalisée sur l'ensemble des individus en fin d'expérience, pour le dosage des hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes par radio-immunologie.

2.3. Calculs

Les paramètres suivants sont calculés sur chaque lot : taux de croissance spécifique (TCS), consommation volontaire (CV), indice de consommation (IC), coefficient d'efficacité protéique (CEP), coefficient d'utilisation protéique (CUP), coefficient de rétention lipidique (CRL), coefficient de rétention énergétique (CRE).

Des analyses statistiques (ANOVA à deux facteurs, corrélations et régression linéaire) sont effectuées et les moyennes des sexes sont comparées par le test "t" de Student.

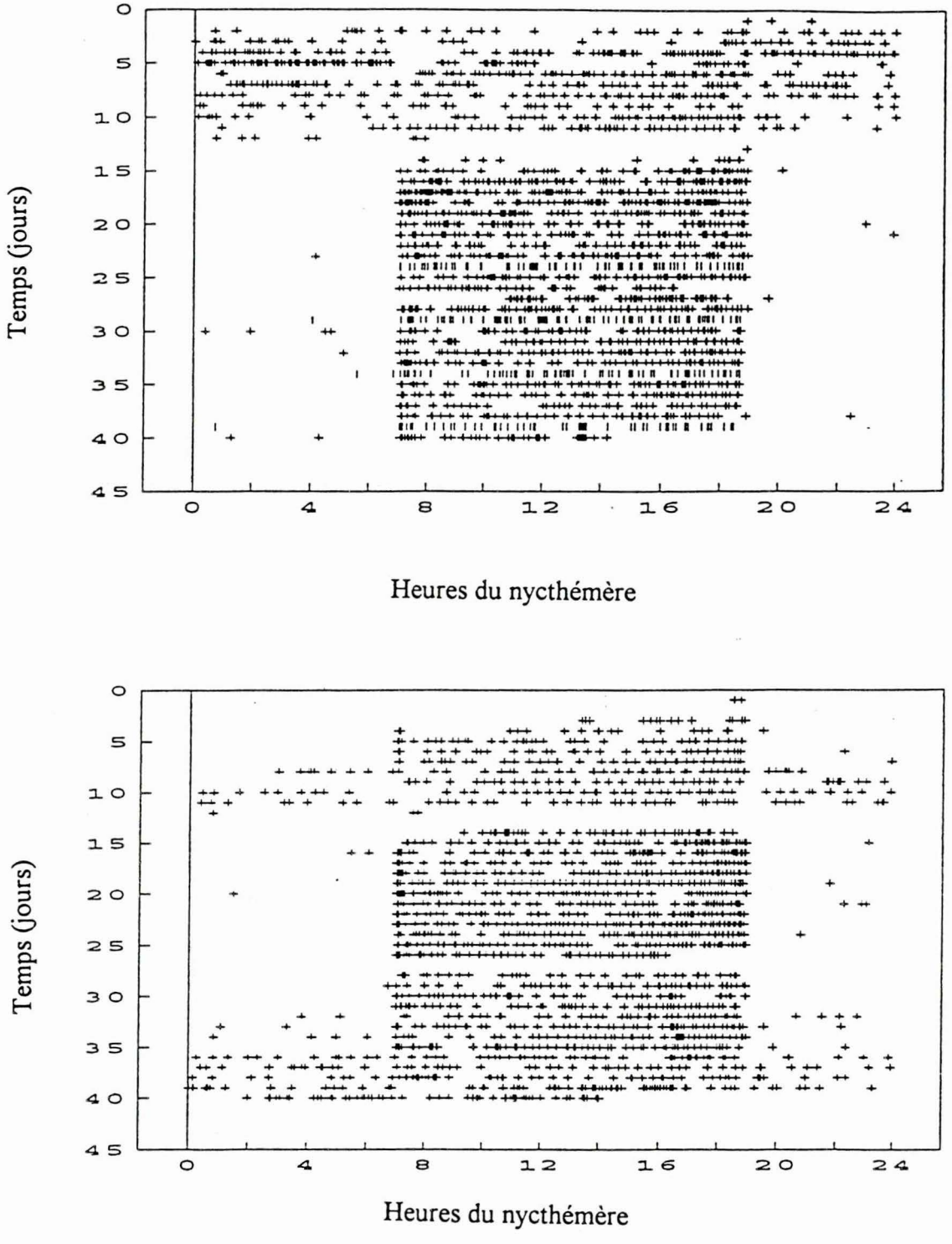


Figure 38 : Profils des demandes journalières d'aliment au cours de l'expérience. Les profils des différents réplicats (20 individus par réplicat) est similaire à l'un des deux cas ci-dessus. Chaque croix représente une demande.

3. RESULTATS

3.1. Comportement alimentaire

Les quantités d'aliment distribuées quotidiennement, corrigées par le poids des granulés non consommés, permettent d'estimer les quantités réellement ingérées. Durant toute la période de l'expérience, les quantités d'aliment demandées mais non consommées sont très faibles (moins de 1% de la quantité totale journalière). Le comportement volontaire analysé est donc l'expression d'une activité alimentaire.

L'évolution des demandes au cours de la phase d'adaptation révèle un rapide apprentissage du tilapia à l'utilisation des nourrisseurs à la demande. L'activité alimentaire pendant 3 à 4 jours est arythmique (exemple figure 38), certains lots ayant une activité alimentaire entièrement diurne et d'autres ayant une activité alimentaire continue sur 24 heures. Les lots femelles semblent s'adapter plus lentement à la consommation diurne que les lots mâles. Toutefois, aucune différence significative, en terme de période d'utilisation des self-feeders, n'est observée entre les lots mâles et les lots femelles. Au bout de 3 à 4 jours, les poissons de la majorité des 12 replicats ont une activité alimentaire stable et ils peuvent être considérés comme parfaitement adaptés au système.

Après cette phase d'adaptation, les différents groupes (F0, F50, F100) ont eu une activité alimentaire diurne à plus de 80% (figure 39). Ce profil d'activité alimentaire est observé sur plus de 80% des cycles journaliers. Certains lots ont une activité nocturne non négligeable, c'est le cas les lots mâles (F0) au début de la période de mesure et des lots F50 à la fin de l'expérience. Ces demandes au cours de la nuit ne sont pas accidentelles puisque tout l'aliment distribué est entièrement consommé. Toutefois, ce n'est pas le cas pour les lots F50 en fin d'expérience. Les lots F100 ont une activité alimentaire exclusivement diurne, commençant à l'aube et s'arrêtant dès le crépuscule.

L'analyse des profils d'activités par demi-heure, après la période d'adaptation, révèle une importante activité alimentaire à l'aube avec un pic d'activité au cours de la première demi-heure de la phase diurne (figure 40). Le nombre de demandes chute ensuite et est assez stable au cours de la photophase pour l'ensemble des lots. Toutefois une légère augmentation est observée dans les F100 et F50 mais pas dans les lots F0. Puis, une nouvelle phase d'activité intense est observée au cours de la dernière heure d'éclairement. Cette activité semble plus importante dans les lots F0 comparativement aux deux autres groupes (F50 et F100).

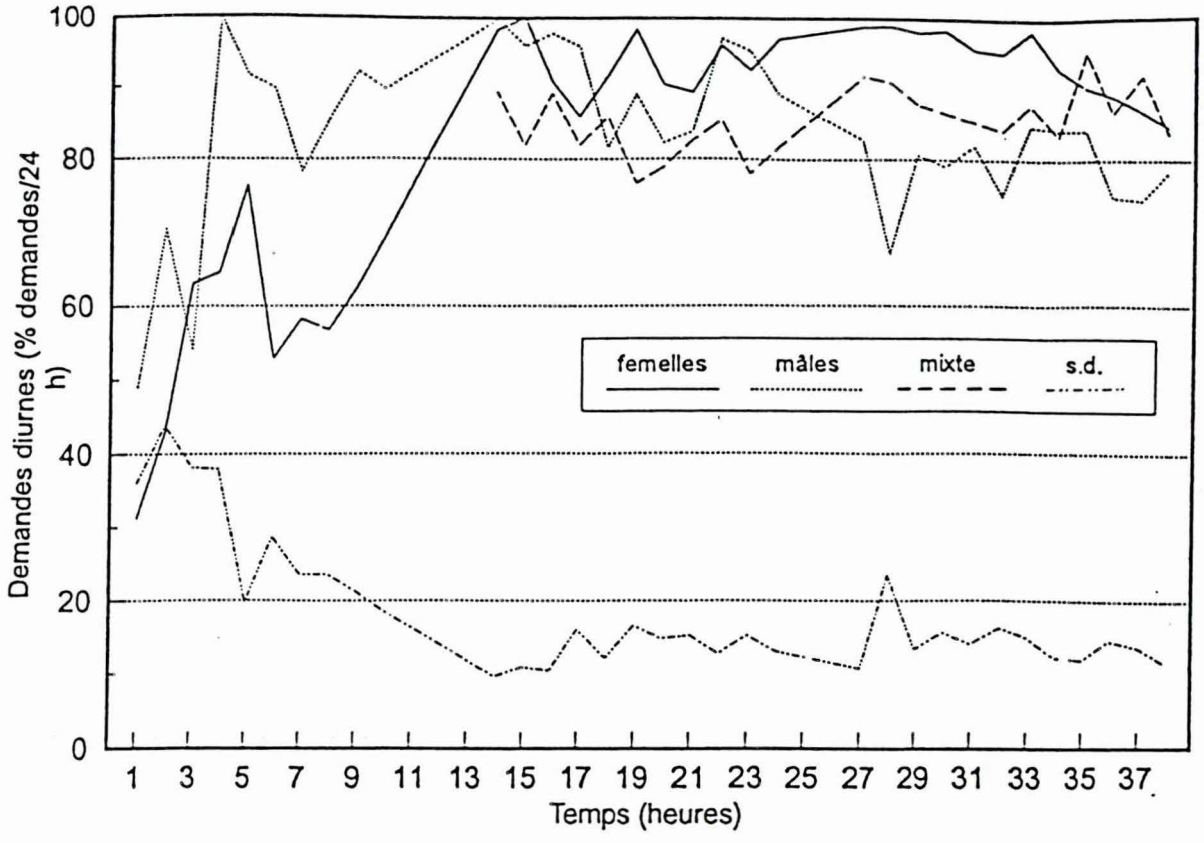


Figure 39 : Evolution de la proportion des demandes diurnes dans les groupes monosexes et mixtes (n = 3, moyenne des triplicats) au cours de l'expérience. Seule la déviation standard totale (s.d.) des 3 groupes en triplicats (n = 9) est représentée.

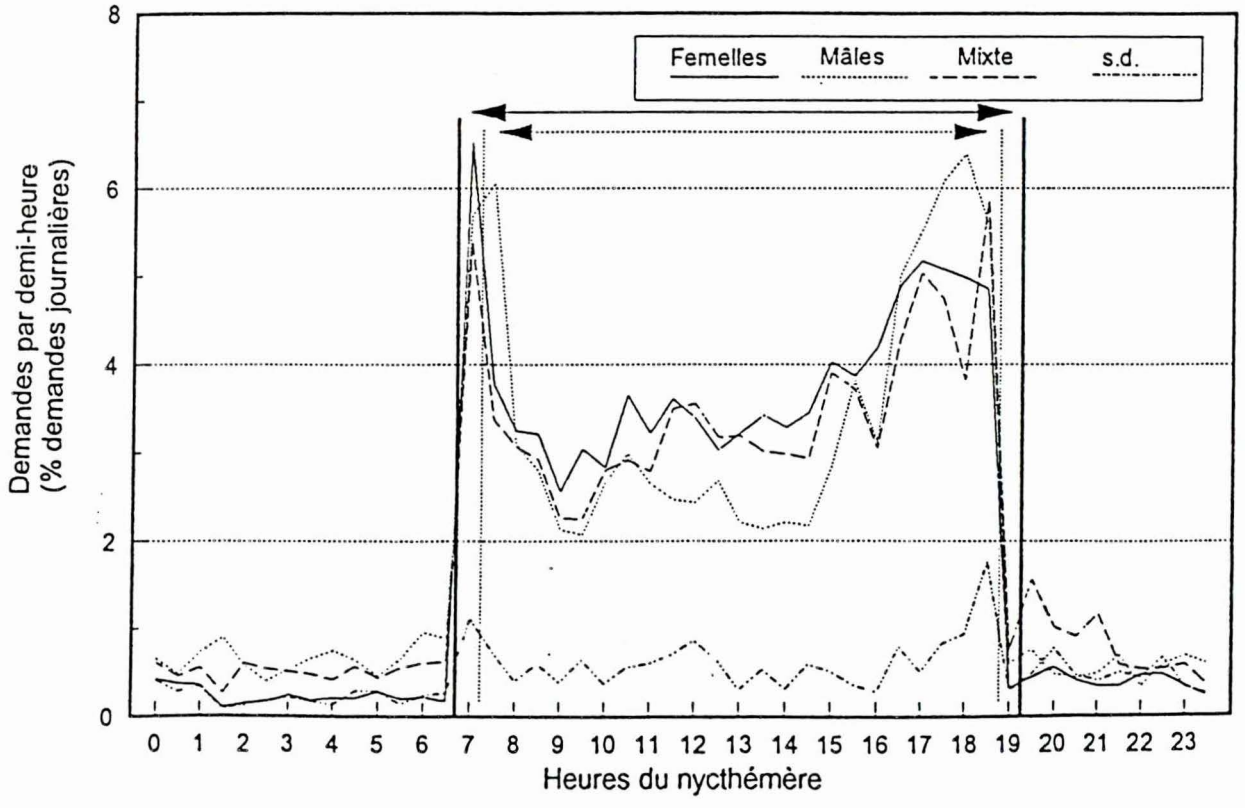


Figure 40 : Profils moyens des demandes dans les groupes monosexes et mixtes (n = 3, moyenne des triplicats) au cours de la seconde phase de l'expérience. Pour plus de clarté, seule la déviation standard (s.d.) de l'ensemble des 3 groupes en triplicats (n = 9) est représentée. La flèche en pointillée délimite la période de fort éclairage et la flèche en continue la totalité de la photophase. La différence entre les deux indique les périodes de croissance et de décroissance lumineuse.

3.2. Croissance et composition corporelle

Aucune mortalité n'a été observée au cours de l'expérience. Pour l'ensemble des lots, le poids moyen a pratiquement doublé pendant la phase d'adaptation. En outre, une diminution du coefficient de variation des poids corporels de 30% à 20% est observée au cours de l'expérience.

Les poids moyens finaux sont très significativement différents ($P<0,01$) entre les mâles et les femelles, quel que soit le groupe (figure 41). Le TCS moyen pour l'ensemble de l'expérience varie autour de 4% (figure 42), les mâles des lots F0 ayant le plus fort taux de croissance et les femelles des groupes F50 et F100, le plus faible. Les mâles du groupe F50 ont eu une croissance plus faible que ceux du groupe F0. Il n'y a pas de différence significative entre les femelles du groupe F50 et celles du groupe F100.

Les compositions corporelles finales des mâles et des femelles des différents groupes (tableau XVI) ne sont pas significativement différentes.

3.3. Prise alimentaire, rétentions protéique et énergétique

La consommation volontaire (CV) est plus faible pour les individus des lots F0 et F100 que pour ceux des lots F50; cependant seule la différence entre le groupe monosexe mâle et le groupe mixte est significative (tableau XVII).

L'indice de consommation est significativement plus faible ($p<0,05$) dans le groupe F0 que dans le groupe F100. Cet indice est meilleur dans les groupes F0 et F100 que dans les groupes F50. Les différents coefficients d'efficacité d'utilisation des nutriments (protéique, lipidique, énergétique) sont très significativement plus élevés dans le groupe F0 (tableau XVII) que dans les autres groupes. Ces coefficients sont équivalents dans le groupe F50 et dans le groupe F100.

3.4. Niveaux plasmatiques des hormones analysées

Les taux plasmatiques de 11-KT (figure 43A) et de E2-17ß (figure 43B) sont respectivement plus forts et plus faibles chez les mâles que chez les femelles. Il n'y a pas de différence significative entre les individus d'un même sexe issus des groupes monosexes ou mixtes.

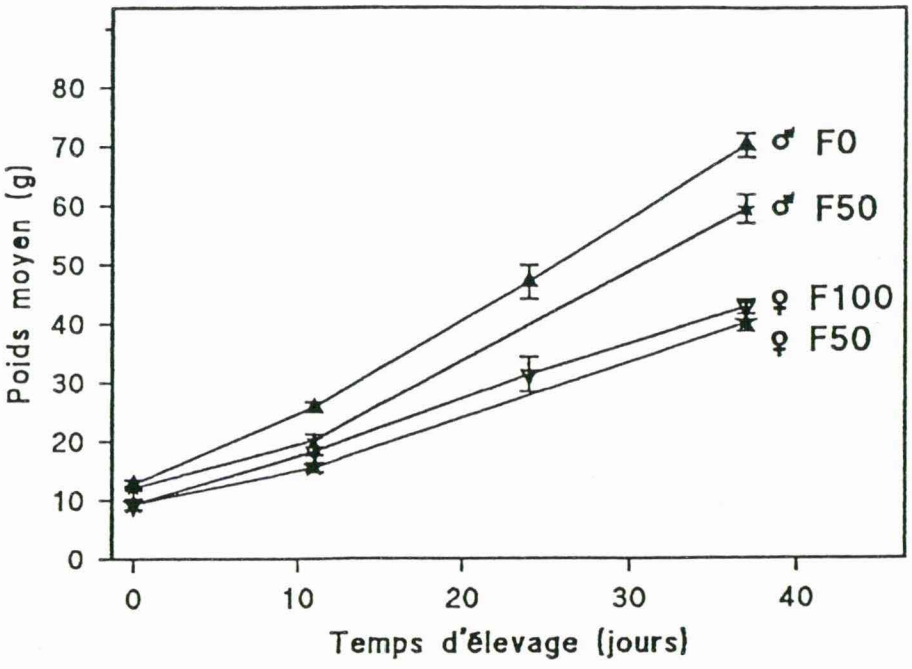


Figure 41 : Evolution du poids corporel dans les groupes monosexes et mixtes (n = 3, moyenne des réplicats de 20 individus) au cours de l'expérience et en fonction du sexe. Moyenne ± SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

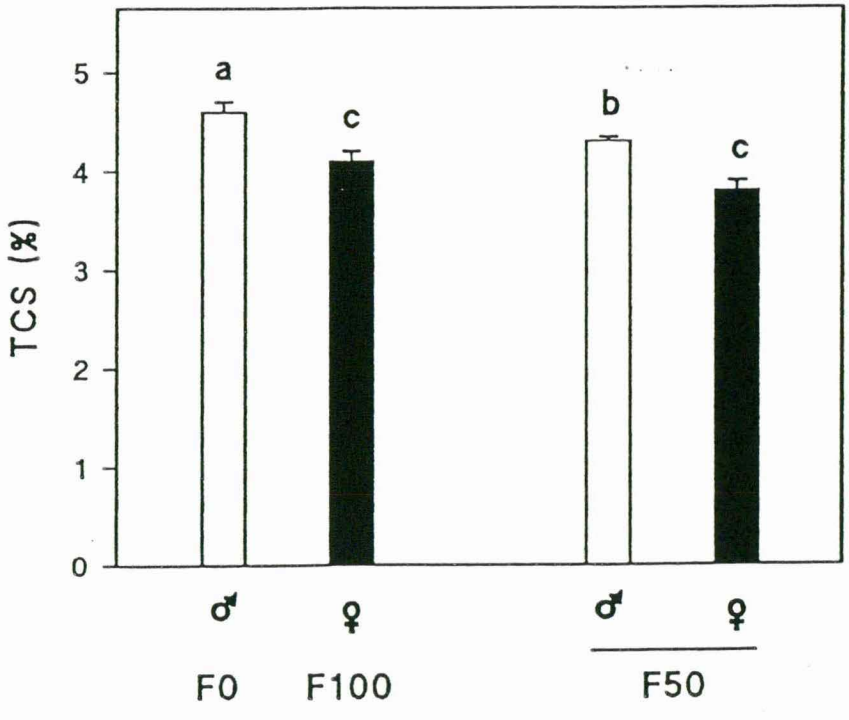


Figure 42 : Taux de croissance spécifique dans les groupes monosexes et mixtes (n = 3, moyenne des réplicats de 20 individus) au cours de l'expérience et en fonction du sexe. Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

Tableau XVI : Composition corporelle initiale et finale de tilapia mâles et femelles nourris par un distributeur d'aliment à la demande. Poids initial 10 g pour mâles et femelles; poids final 60 g pour les mâles et 40 g pour les femelles. Moyenne ± SEM..

	Initiale		Finale			
Groupes			monosexe		mixte	
Sexe	mâle	femelle	mâle	femelle	mâle	femelle
Matières sèches (MS, %)	27	30	33,3±0,1	34,5±0,2	33,6±0,7	33,9±0,3
Protéines (% de MS)	48	47	46,1±0,5	46,2±1,2	46,6±0,4	46,6±0,2
Lipides (% de MS)	25	28	35,1±0,5	34,3±0,1	35,6±0,3	35,8±0,6
Energie (kJ/g de MS	21	22	24,7±0,1	24,5±0,1	24,9±0,1	25,0±0,2

Tableau XVII : Prise alimentaire et rétention protéique, lipidique et énergétique de tilapia mâles et femelles nourris par un distributeur d'aliment à la demande. Poids corporel 60 g pour les mâles et 40 g pour les femelles.. Moyenne ± SEM, les groupes marqués par des lettres différentes sont significativement différents ($p<0,05$)

Groupe	monosexe mâle	monosexe femelle	mixte
Consommation volontaire (%)	3.6±0.1 ab	3.9±0.1 bc	4.1±0.1 c
Indice de consommation	0.98±0.04 a	1.13±0.03 b	1.22±0.03 b
Coefficient d'efficacité protéique	2.4±0.1 a	1.9±0.0 b	1.93±0.4 b
Coefficient d'utilisation protéique (%)	38.7±1.2 a	31.2±0.9 b	30.2±1.1 b
Coefficient de rétention lipidique (%)	80.5±1.5 a	62.8±1.5 b	65.1±3.0 b
Coefficient de rétention énergétique (%)	48.6±0.9 a	38.5±0.6 b	38.8±1.4 b

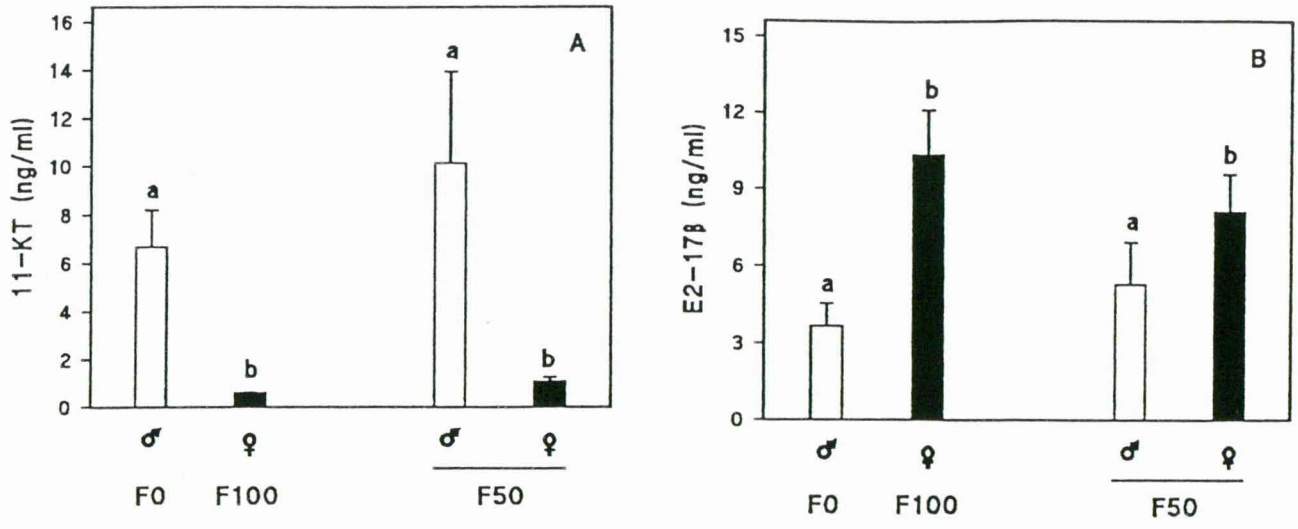


Figure 43 : Taux plasmatiques de 11-cétotestostérone (A) et d'oestradiol-17β dans les groupes monosexes et mixtes (n = 3, moyenne des réplicats de 20 individus) au cours de l'expérience et en fonction du sexe. Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

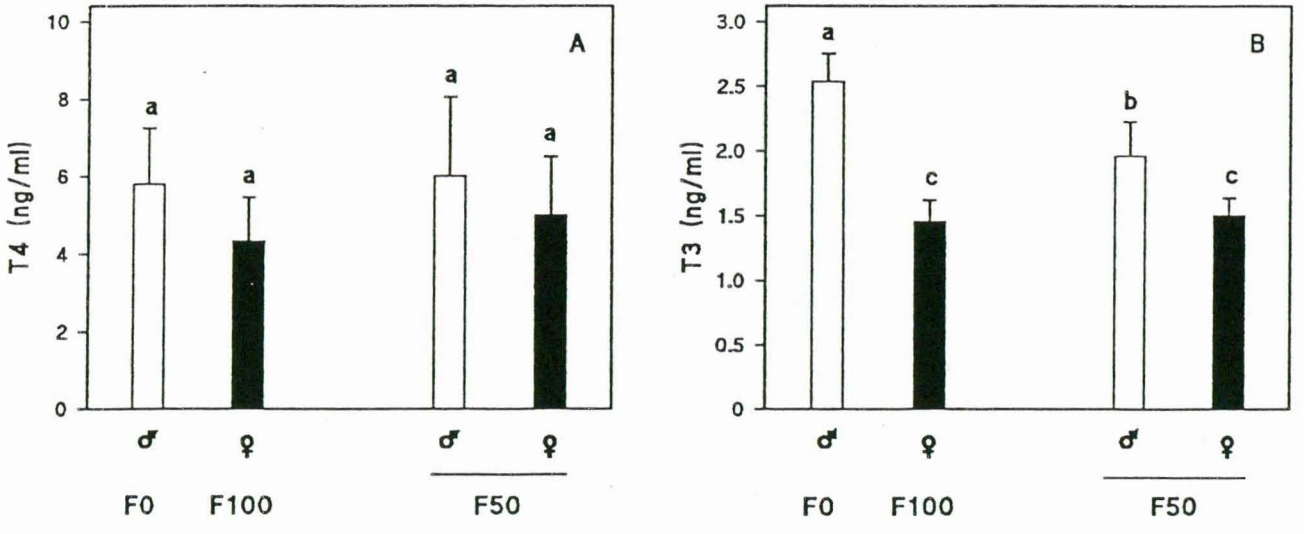


Figure 44 : Taux plasmatiques de T4 (A) et de T3 (B) dans les groupes monosexes et mixtes (n = 3, moyenne des réplicats de 20 individus) au cours de l'expérience et en fonction du sexe. Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

Les niveaux plasmatiques de T4 ne sont pas significativement différents entre groupes et entre sexe (figure 44A) bien qu'il y ait une tendance à de plus forts niveaux chez les mâles que chez les femelles aussi bien en groupe monosexe qu'en mixte. Les niveaux plasmatiques de T3 (figure 44B) sont significativement plus élevés chez les mâles que chez les femelles. De plus ces niveaux circulants sont significativement plus élevés chez les individus du groupe F0 que chez les mâles du groupe F50.

3.5. Corrélations entre les paramètres mesurés

Les taux circulants de T3 sont corrélés positivement au poids corporel final. Cette corrélation est plus forte chez les mâles ($r = 0,59$; $n = 68$; $p< 0,001$) que chez les femelles ($r = 0,22$; $n = 82$; $p< 0,03$). On note également une corrélation positive, bien que faible, entre la 11-KT et la T3 chez les mâles ($r = 0,28$; $n = 60$; $p< 0,02$) et entre la 11-KT et la T4 chez les femelles ($r = 0,46$; $n = 61$; $p< 0,001$).

4. DISCUSSION

4.1. Comportement alimentaire

Les résultats de la présente expérience montrent que le tilapia est une espèce capable de s'adapter au self-feeder. Malgré la disponibilité permanente de l'aliment, il n'a pas été constaté de gaspillage.

Il est clairement démontré pour la première fois que le tilapia est une espèce essentiellement diurne, 80% de l'activité alimentaire ayant lieu au cours de la photophase. L'analyse des profils d'activités par demi-heure montre un net déterminisme photopériodique puisqu'on observe essentiellement deux pics d'activité, l'un à l'aube (6h30-7h30) et l'autre en fin d'après midi (16h30-18h30). Ce profil d'activité est similaire à celui observé chez la truite ou le saumon (Kadri *et al.*, 1991). Toutefois, lors de la période d'adaptation au système du self-feeder et au cours de l'expérience dans certains lots, une activité alimentaire nocturne est observée. Le tilapia aurait donc également une aptitude à s'alimenter la nuit.

Il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles en terme d'activité alimentaire. Les profils d'activité des groupes F0 et F100 ne sont pas différents significativement. Cependant, certains lots F0 et F50 semblent présenter une certaine alimentation nocturne de manière systématique ou épisodique. Ces lots sont ceux qui sont

susceptibles d'exprimer des interactions sociales importantes mâles/mâles et mâles/femelles au cours de la période diurne. Les consommations nocturnes pourraient compenser la baisse d'activité alimentaire de la journée. Ce comportement serait plus spécifique des mâles.

La consommation volontaire observée dans ces conditions est plus faible chez les mâles que chez les femelles, et les mâles expriment des croissances plus élevées que les femelles. Il est donc démontré clairement que les mâles possèdent des capacités de croissance intrinsèques supérieures aux femelles. Il est intéressant d'analyser l'origine de ces différences intrinsèques. L'importance des compétitions alimentaire ne peut être négligée car les croissances des mâles comme des femelles des lots F50 sont plus faibles qu'en lots monosexes (cependant les différences ne sont pas significatives entre les femelles des deux types de groupes).

4.2. Alimentation à volonté et performances de croissance

Dans ces conditions d'alimentation volontaire, les performances de croissance et les indices d'efficacité alimentaire sont supérieurs à ceux généralement observés dans nos précédentes études (Toguyéni *et al.*, non publié) et même dans la littérature (Meyer-Burgdorff *et al.*, 1989).

L'activité alimentaire du tilapia est régulière et quasi constante au cours de la photophase, exception faite des deux pics journaliers, et compte tenu des quantités de granulés distribués, cette activité alimentaire concerne l'ensemble des poissons d'un bac. D'une manière générale, l'augmentation de la fréquence d'alimentation entraîne un étalement de l'apport de nutriment et par conséquence accroit l'efficacité d'utilisation digestive et métabolique des nutriments (Cohen et Joseph, 1959; Cohen *et al.*, 1963; Stevenson *et al.*, 1964; Leveille et Hanson, 1965a et b; Greenland et Gill, 1979). Le comportement alimentaire volontaire permettrait donc un meilleur ajustement de l'apport de nutriments aux besoins métaboliques chez le tilapia.

Bien que l'activité alimentaire soit régulière au cours de la photophase, on note une tendance à une augmentation de l'activité au cours de la journée et un pic d'activité très important à la fin de la photophase. La prise alimentaire horaire au cours des 4 dernières heures d'éclairement est plus importante (environ 66%) qu'au cours des premières heures de la photophase. La distibution d'aliment à certaines phases du rythme alimentaire est associée à des indices de conversion alimentaire plus élevés (Hogendoorn, 1981; Noeske-Hallin *et al.*, 1985; Kerdchuen et Legendre, 1991). La sécrétion de la plupart des hormones et des

métabolites impliqués dans le métabolisme général du poisson suit un rythme circadien (Boujard et Leatherland, 1992b). L'apport d'aliment en adéquation avec ces rythmes permettrait une meilleure transformation de l'aliment. Nous pouvons donc supposer que les bonnes performances de croissance et les bons indices d'efficacités alimentaires observés au cours de cette expérience pourraient être liés à une bonne synchronisation de l'apport de nutriments aux rythmes circadiens de sécrétion des hormones.

Cependant, l'élevage de poissons dans les conditions d'alimentation volontaire se traduit souvent par une augmentation des dépôts de lipides, ce qui est le cas dans cette expérience pour l'ensemble des lots.

4.3. Performances de croissance et capacités d'utilisation des nutriments

Malgré une augmentation volontaire plus élevée chez la femelle (+10%), les performances de croissance des mâles sont significativement supérieures, ce qui suggère des différences de capacités de croissance entre les deux sexes. De tels résultats ont été obtenus chez le poisson chat africain, *Clarias gariepinus* (Henken *et al.*, 1987), autre espèce chez laquelle il existe une croissance différentielle en faveur des mâles quel que soit le sexe-ratio du groupe et les conditions d'alimentation. La différence de croissance entre les mâles et les femelles peut s'expliquer par des capacités d'utilisation métabolique des nutriments supérieures chez les mâles que chez aux femelles, puisque nous avons observé de meilleurs indices de consommation et de meilleurs coefficients d'utilisation des nutriments chez les mâles que chez les femelles.

Les coefficients d'utilisation des nutriments sont très élevés dans les lots monosexes mâles (+20 à +23%) par rapport aux lots monosexes femelles et mixtes. Ces différences sont similaires quelque soit le nutriment: protéines ou énergie. Elles sont donc plutôt liées aux différences de croissance globale. Ces différences de capacité de transformation de l'aliment ingéré qui est sous le contrôle de facteurs interne et externe, pourraient résulter de différences de statut hormonal, et plus spécifiquement soit des stéroïdes sexuels, soit des hormones thyroïdiennes.

4.3. Relations croissance et statut endocrinien

Les forts niveaux de 11-KT chez les mâles par rapport aux femelles suggèrent une implication des androgènes dans les meilleures performances métaboliques des mâles. Les androgènes stimulent la croissance par une amélioration de la consommation volontaire (CV)

et/ou du taux de conversion alimentaire (Fagerlund *et al.*, 1979; Matty et Lone, 1979; Ufodike et Madu, 1986; Varadaraj et Pandian, 1988). Dans nos conditions, c'est davantage la deuxième action qui pourrait s'exercer en situation de prise alimentaire comparable. La supplémentation en stéroïdes sexuels par injection ou par l'alimentation montre une stimulation de l'incorporation des acides aminés dans les protéines et du dépôt protéique dans le muscle chez la truite et la carpe (Matty et Cheema, 1978; Matty et Lone, 1985). Les androgènes comme la 11-KT pourraient donc avoir une action spécifique sur la croissance, sur le dépôt protéique ou la croissance de certains tissus comme le muscle. Ceci est partiellement confirmé par la corrélation significative chez les mâles entre la 11-KT et la croissance.

Toutefois, des différences dans les niveaux plasmatiques des androgènes sont souvent observées entre les mâles et les femelles de nombreuses espèces, mais très peu expriment une différence sexuelle de croissance aussi nette que chez le tilapia. De plus, nous avons plutôt observé une prise alimentaire plus faible chez les mâles que chez les femelles, contrairement aux travaux antérieurs qui suggéraient une stimulation de la prise alimentaire par les androgènes. Contrairement à la tendance à une diminution des taux lipidiques observée dans les expériences de supplémentation en androgènes (Fauconneau *et al.*, 1995), nous n'avons pas observé de différences de composition corporelle et plutôt une tendance à des dépôts lipidiques importants chez les mâles par rapport aux femelles. Si les androgènes sont impliqués dans la différence de croissance entre les mâles et les femelles, ce n'est donc pas de façon simple et directe.

Les niveaux plasmatiques de 11-KT tendent à être plus importants chez les mâles en groupes mixtes que chez les mâles en groupes monosexes ces derniers ayant les meilleurs taux de croissance et de conversion alimentaire. De forts niveaux de 11-KT pourraient éventuellement être associés à des interactions sociales plus fortes. L'implication des androgènes dans le comportement aggressif des mâles a été relevée dans différentes espèces. Les androgènes peuvent avoir, en fait, des actions opposées sur la croissance, *via* leurs effets comportementaux. La stimulation de l'agressivité favorise l'accès à l'aliment mais elle peut aussi être consommatrice d'energie, en particulier du fait de l'activité musculaire. La plus forte croissance des mâles en groupe monosexe pourrait s'expliquer par l'absence d'interactions mâle-femelle par une baisse d'agressivité des mâles du fait de l'absence de compétitions entre mâles dans leurs interactions avec les femelles.

Les différences entre les mâles et les femelles pourraient théoriquement tout autant s'expliquer par les différences de niveaux de 11-KT que par les différences d'E2-17β, ou par le rapport relatif de ces deux stéroïdes. Les effets des oestrogènes sont moins bien documentés et seront plus spécifiquement discutés et analysés dans le chapitre VII.

Les hormones thyroïdiennes sont impliquées dans le contrôle de la croissance somatique (Donaldson *et al.*, 1979; Higgs *et al.*, 1982). Les niveaux de T3, et à un moindre degré de T4, plus élevés chez les mâles que chez les femelles suggèrent un rôle des hormones thyroïdiennes dans la différences de croissance entre les mâles et les femelles. Les niveaux de T3 plus élevés chez les mâles par rapport aux femelles ont également été observés chez une autre espèce de tilapia, *Oreochromis aureus* (Mol *et al.*, 1994). Comme l'a montré l'expérience précédente, les niveaux des hormones thyroïdiennes sont dépendantes des conditions d'alimentation. Les travaux de Eales et Shostack (1985) chez l'omble chevalier ont montré que l'alimentation agit sur la fonction thyroïdienne et sur la conversion périphérique de T4 en T3. De plus, une forte concentration de récepteurs nucléaires hépatiques à la T3 est observée chez les animaux nourris par rapport aux animaux à jeun (Van der Kraak et Eales, 1980; Darling *et al.* 1982). Dans cette espèce, les différences de statut thyroïdien entre les mâles et les femelles sont sans rapport avec les différences de statut nutritionnel, les différents lots étant correctement nourris et les différences de consommation volontaire très faibles.

D'une manière générale, les hormones thyroïdiennes ont des effets sur la croissance des poissons à travers une augmentation de l'appétit et/ou du taux de conversion alimentaire. En effet, la supplémentation en T4 accroît l'appétit mais serait sans effet direct sur la conversion alimentaire (Higgs *et al.*, 1977; 1982; Donaldson *et al.*, 1979). La supplémentation en T3, qui est l'hormone active, stimule la croissance chez les salmonidés à travers une stimulation de l'appétit et de l'utilisation alimentaire (Gross *et al.*, 1963; Higgs *et al.*, 1977).

Compte tenu des grandes différences de taux de T3 entre les mâles et les femelles et du fait que les taux plasmatiques de T3 sont corrélés positivement au poids corporel final et au taux de croissance spécifique, il est probable que cette hormone soit impliquée dans la différence de croissance et d'efficacité alimentaire entre les mâles et les femelles.

Le mécanisme par lequel les hormones thyroïdiennes, directement ou indirectement, influenceraient la croissance *via* l'indice de conversion alimentaire peut être recherché. Chez les mammifères et les oiseaux, il est bien établi que les hormones thyroïdiennes sont impliquées dans le contrôle de la croissance et de la différenciation tissulaire et plus spécifiquement celle du muscle au travers de récepteurs spécifiques. Certains travaux suggèrent l'existence d'un tel

mécanisme chez les poissons dans les stades précoces et dans les espèces présentant une métamorphose (Donaldson *et al.*, 1979; Lam, 1980; Nacario, 1983; Matty et Lone, 1985). La T3 pourrait donc être plus efficace sur la croissance musculaire des mâles que sur celle des femelles. Ceci devrait se traduire par des différences morphologiques relatives au développement du muscle squelettique, or aucune différence significative de morphologie n'a pu être observé entre les mâles et les femelles chez le tilapia (Oliveira et Almada, 1995).

De plus, les tilapia semblent avoir la capacité d'utiliser préférentiellement les lipides, par rapport aux autres substrats, comme source d'énergie pour le métabolisme énergétique (Meyer-Burgdorff *et al.*, 1989). Les hormones thyroïdiennes pourraient réguler cette capacité préférentielle à utiliser les lipides à des fins énergétiques. L'augmentation de la capacité de croissance musculaire par la T3 chez les mâles, associée à une utilisation préférentielle des lipides à des fins énergétiques se traduirait par une meilleure efficacité de transformation des nutriments en protéines chez les mâles que chez les femelles.

5. CONCLUSION

Les résultats de cette expérience montrent que le tilapia a une activité alimentaire essentiellement diurne. Cependant, il est aussi capable, dans certaines conditions, de s'alimenter la nuit. Il n'y a pas de différences de comportement alimentaire entre les mâles et les femelles. Dans des conditions d'alimentation volontaire, la consommation des mâles est plus faible que celle des femelles. Toutefois, les mâles ont une efficacité de transformation de l'aliment ingéré plus importante que celle des femelles. Compte tenu des effets anaboliques des androgènes, et de l'implication des hormones thyroïdiennes dans le métabolisme énergétique, ces meilleurs performances chez les mâles pourraient être le résultat d'une action synergique entre ces deux types d'hormones. Cette meilleure capacité d'utilisation de l'aliment des mâles par rapport aux femelles pourrait constituer un élément important du déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe.

L'expression de la différence de croissance liée au sexe et de ses composantes endocriniennes de croissance semble être également dépendante des interactions sociales entre les mâles, et entre les mâles et les femelles. Une analyse plus approfondie des interactions sociales sur la croissance en général et la différence de croissance entre les mâles et les femelles est présentée dans le chapitre suivant.

CHAPITRE VI
ANALYSE DE L'INFLUENCE DES INTERACTIONS SOCIALES SUR LA CROISSANCE

1. INTRODUCTION

L'analyse du comportement alimentaire dans le chapitre V, a montré des différences entre les mâles et les femelles surtout en ce qui concerne l'efficacité de l'utilisation des nutriments. Cette étude a également suggéré l'existence d'interactions sociales dans les différents groupes (monosexe et mixte) qui pourraient influencer le comportement alimentaire. L'analyse du comportement d'alimentation volontaire, et en particulier ses conséquences sur la croissance différentielle entre les mâles et les femelles, constitue l'objet de ce chapitre.

L'hétérogénéité de croissance au sein d'un groupe est un phénomène couramment rencontré chez les poissons. Elle est souvent attribuée à une compétition alimentaire ou territoriale (Nakamura et Kasahara, 1955 ; Magnuson, 1962 ; Jobling, 1985 ; Koebele, 1985), ou à des hiérarchies sociales (Yamagishi, 1962 ; Fenderson et Carpenter, 1971 ; Li et Brocksen, 1977 ; Jobling et Wandsvick, 1983).

Le comportement territorial et la compétition alimentaire sont deux facteurs interdépendants, le premier étant le plus souvent motivé par le second. Chez le guppy par exemple, dont le comportement territorial est très marqué, l'hétérogénéité de croissance est directement liée à des activités alimentaires différentes, les animaux les plus agressifs se nourrissant et grandissant le plus. Des résultats analogues sont observés aussi chez le *Tilapia zillii* (Koebele, 1985). Les travaux de Magnuson (1962) chez le médaka (*Oryzias latipes*), montrent qu'en présence d'un excès d'aliment distribué régulièrement, la surface contrôlée par individu n'a pas d'influence sur la croissance. Ces résultats suggèrent que la compétition alimentaire est un des facteurs participant aux différences de croissance entre les individus mais il n'est pas le seul. Chez la plie (*Pleuronectes platessa)* en effet, la restriction alimentaire n'accentue pas l'hétérogénéité de croissance (Jobling, 1982).

L'établissement d'une hiérarchie sociale entraîne en général un état de stress chronique chez les individus dominés aboutissant à une diminution de l'appétit des dominés et à un état physiologique où les dépenses énergétiques sont plus importantes (consommation d'oxygène et fréquence de ventilation plus élevées). L'hétérogénéité de croissance observée dans ces groupes à structure hiérarchique forte serait la conséquence d'une différence de prise alimentaire mais aussi d'une utilisation différentielle des ressources énergétiques en fonction du statut social.

La plupart des travaux attribuent cette hiérarchie sociale à une différence de taille entre les individus. Cependant, les poissons ayant le plus fort niveau d'agressivité, ou présentant plus d'interactions sociales, n'ont pas toujours de meilleures croissances que les dominés de la même cohorte. Les animaux dominants pourraient en effet consacrer, dans ce cas, une partie non négligeable de leur énergie à une activité de déplacement permettant le maintien de leur position sociale, au détriment de la croissance (Turner, 1986).

Ces deux types d'interactions sociales (compétition et hiérarchie) ne peuvent être dissociés puisque l'accès à l'aliment est le plus souvent directement sous le contrôle des animaux dominants. Cette analyse des relations entre les interactions sociales et les variations de la croissance, au travers de l'accès à l'aliment, pourrait être appliquée à l'interprétation des différences de croissance entre les mâles et les femelles chez le tilapia. Comme la plupart des Cichlidés, il existe chez cette espèce une structure sociale très importante (hiérarchie, comportement territorial, comportement de "cour", garde des oeufs et des alevins).

L'objectif de cette partie est d'étudier et d'analyser l'influence des différentes composantes des interactions sociales sur la croissance des mâles et des femelles chez *Oreochromis niloticus*. Cette étude s'appuie sur trois expériences. Les deux premières études ont été décrites dans les chapitres III et IV (expériences II et III).

La première partie de cette étude avait pour objectif d'analyser les effets combinés du sex-ratio (par mélange d'une cohorte mixte avec une cohorte monosexe femelle) et du niveau d'alimentation (*ad libitum* et restreint) sur la croissance des mâles et des femelles et la période d'apparition de la croissance différentielle liée au sexe (cf. expérience II).

La deuxième partie avait pour objectif l'analyse de l'influence des interactions sociales à travers le sex-ratio sur le comportement alimentaire, le volume de prise alimentaire journalière et l'utilisation des nutriments (cf. expérience III).

La troisième partie (expérience IV), décrite ici et complémentaire de la première, a été réalisée à la station du FAC/CLSU de Munõz (Philippines). L'influence du sex-ratio sur la croissance a été étudiée grâce à l'existence de cohortes monosexes mâles et femelles. Nous avons donc pu réaliser des groupes ayant des sex-ratios très variés, par rapport à l'expérience II où nous ne disposions que de cohortes mixtes ou monosexes femelles. La souche utilisée dans cette expérience est toutefois différente de celle des deux précédentes. Cette différence d'origine ne devrait pas affecter l'analyse des interactions sociales, mais elle limite les comparaisons des résultats des différentes expériences.

Seul le protocole expérimental de cette dernière expérience et les résultats obtenus sont présentés dans ce chapitre.

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL (expérience IV)

2.1. Les poissons

Les poissons appartiennent à la souche Egypte-UCS (provenant du lac Manzala). Ces animaux ont été introduits aux Philippines en 1979 *via* l'Université de Swansea et élevés dans les installations expérimentales du FAC/CLSU et du projet GIFT à Munõz. Cette station dispose d'individus mâles de génotype YY (voir figure 2) qui croisés avec des femelles classiques XX produisent théoriquement 100% d'individus mâles de génotype XY.

Deux fécondations différentes ont permis de produire d'une part une cohorte monosexe mâle (croisement entre un mâle YY et une femelle XX), et d'autre part une cohorte monosexe femelle (croisement entre un néomâle XX et une femelle XX).

2.2. Conditions d'élevage et de prélèvements

Les deux cohortes sont collectées dans la bouche des femelles après la fécondation et sont incubées artificiellement. Elles sont ensuite élevées séparément dans des happas (1 x 0,5 x 0,5 m) installés dans un étang en terre. L'alimentation en eau de l'étang est réalisée à partir d'un forage. La température de l'eau dans l'étang est très stable, avec une moyenne de 26,3°C entre 7 et 8 heures le matin et de 29,4°C entre 15 et 16 heures l'après-midi.

Après un mois d'élevage séparé, la cohorte monosexe femelle est divisée en 4 lots; chacun d'entre eux est mélangé avec des individus issus de la cohorte monosexe mâles afin d'obtenir des pourcentages de 25, 50 ou 75% de mâles. Un marquage des individus mâles, est réalisé par section d'une nageoire pelvienne, pour permettre un suivi de la croissance par sexe. Cinq groupes de 100 individus ont été constitués en duplicats:

* groupe 1 : 100% de femelles = F100
* groupe 2 : 75% de femelles + 25% de mâles = F75
* groupe 3 : 50% de femelles + 50% de mâles = F50
* groupe 4 : 25% de femelles + 75% de mâles = F25
* groupe 5 : 100% de mâles = F0

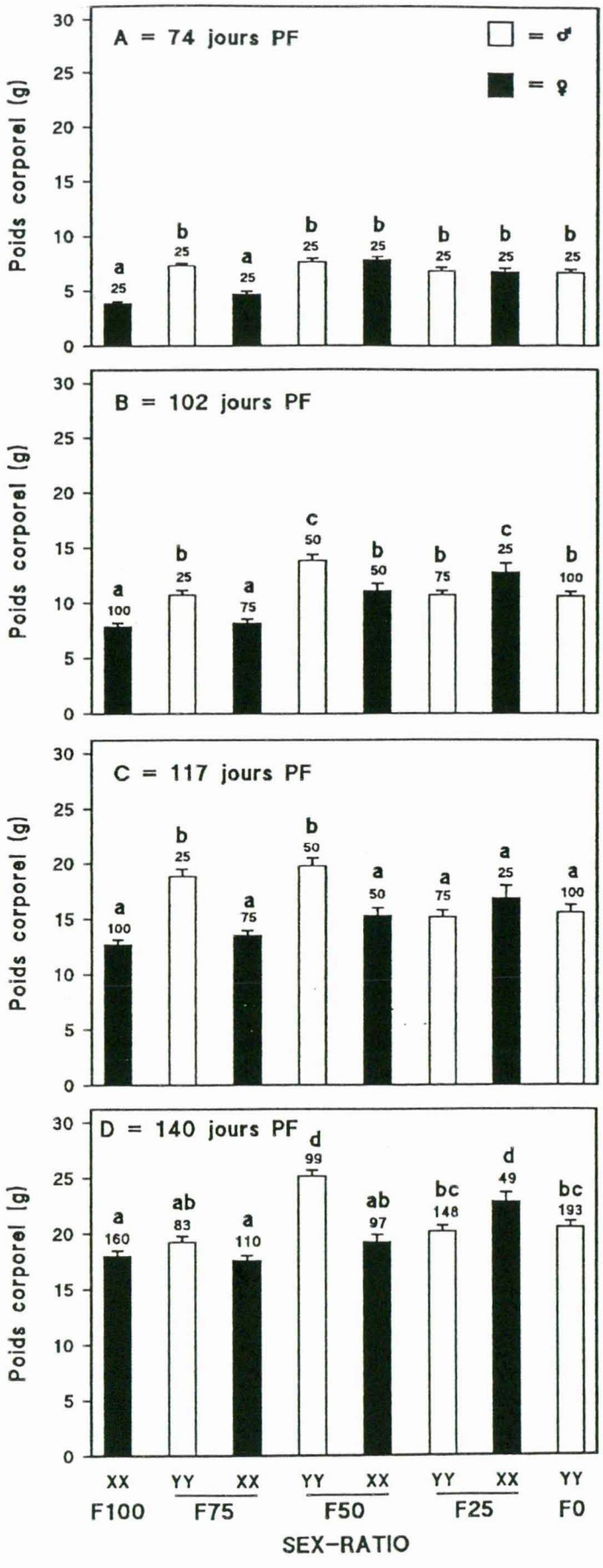


Figure 45 : Evolution du poids corporel des mâles et des femelles au cours de l'expérience en fonction du sex-ratio du groupe. Moyenne ± SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$). Age en jours post-fécondation (PF).

Ces différents groupes ont été transférés dans des hapas de 1,5 x 1,5 x 0,75 m (hauteur d'eau 0,5 m). Les animaux sont nourris *ad libitum* (voir niveau haut, tableau X). L'aliment est distribué à la main 3 fois par jour. Tous les poissons d'un réplicat par groupe sont pesés au bout de 74 jours puis un mois après, et enfin toutes les 2 semaines jusqu'à 140 jours.

Après 140 jours d'élevage, tous les animaux ont été pesés et sexés individuellement. Des prélèvements de sang, du foie et des gonades sont réalisés sur une trentaine d'individus par lot.

Les paramètres suivants sont calculés sur l'ensemble des individus prélevés à la fin de l'expérience : coefficient de condition, le RGS et le RHS.

3. RESULTATS

Le taux de mortalité est très faible durant toute l'expérience (<5%). Comparativement aux expériences I, II et III, la croissance de l'ensemble des groupes est très faible.

A 74 jours PF (figure 45), le poids corporel moyen des femelles du groupe F100 est équivalent à celui des femelles du groupe F75 et significativement inférieur aux poids des femelles des groupes F50 et F25. Au sein des mâles, aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes. Les poids corporels des mâles de chaque groupe sont significativement différents ($p<0,05$) des femelles des groupes F75 et F100.

De 102 jours jusqu'à la fin de l'expérience à 140 jours PF, la différence de poids corporel entre les mâles du groupe F0 et les femelles du groupe F100 (groupes monosexes) demeure significative. Par contre, dans le groupe mixte F75, la différence significative de poids entre les mâles et les femelles disparaît à la fin de l'expérience. Dans les groupes mixtes F50 et F25, des différences significatives de croissance entre les mâles et les femelles apparaissent et se maintiennent jusqu'à la fin de l'expérience. Toutefois, dans le groupe mixte F25, ce sont les femelles qui ont un poids corporel significativement plus élevé que les mâles (figure 45).

Les femelles des groupes mixte F50 et F25 ont des poids moyens plus élevés que les femelles des groupes F100 et F75. Cette différence significative à 74 et 102 jours PF tend à disparaître à partir de 117 jours PF. La tendance est inverse chez les mâles : la croissance des mâles, dans les groupes où ils ne sont pas majoritaires (F75 et F50) est supérieure à celle observée dans les groupes où ils le sont (F25 et F0) particulièrement à 117 jours PF. Toutefois, cette tendance est surtout nette dans le lot F50.

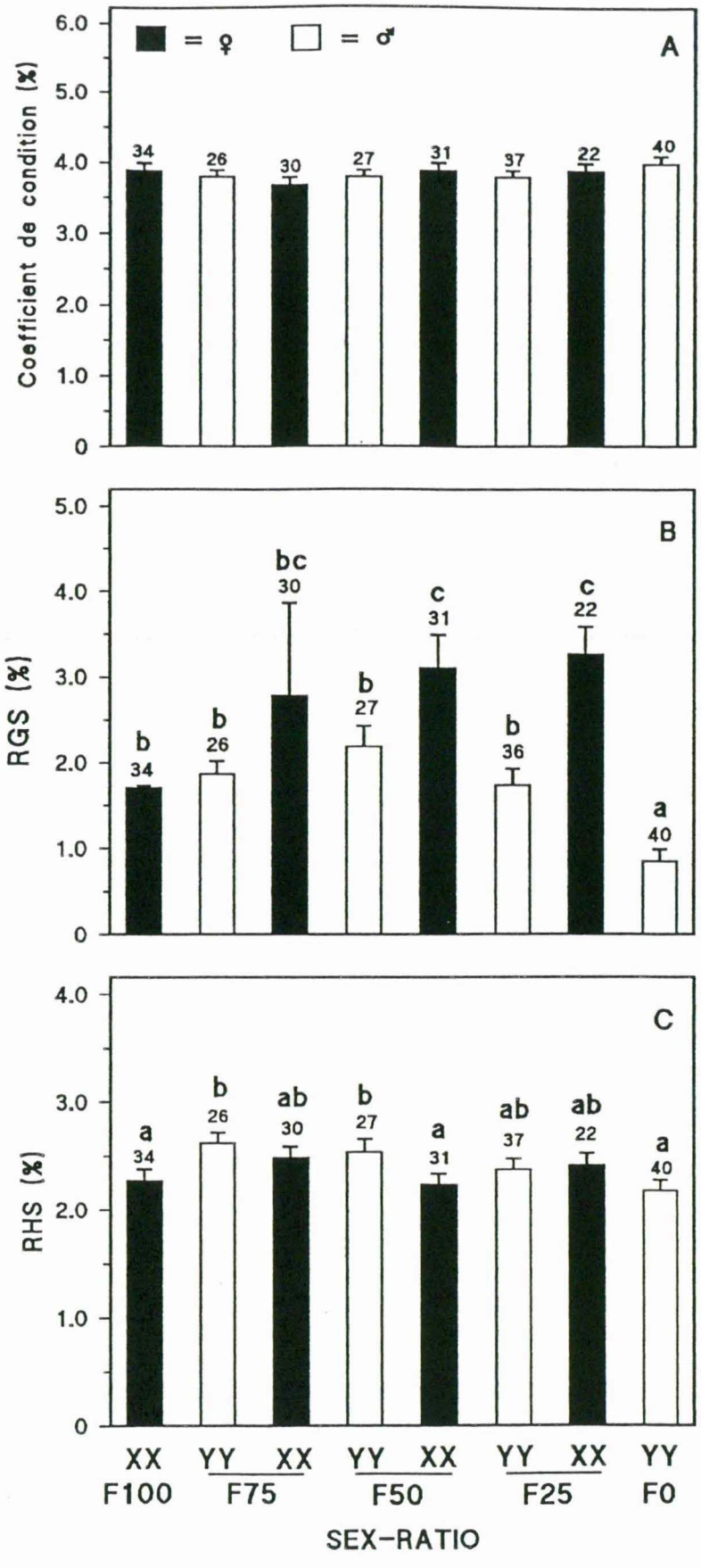


Figure 46 : Coefficient de condition (A), rapport gonado-somatique (B) et rapport hépato-somatique (C) chez des mâles (18 g) et des femelles (18 g) à la fin de l'expérience (140 jours PF) en fonction du sex-ratio du groupe. Moyenne ± SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

Le coefficient de condition est très homogène dans tous les groupes quel que soit le sex-ratio (figure 46A). Aucune différence significative n'est observée entre les mâles et les femelles.

Les RGS sont significativement différents entre les deux sexes, les femelles ayant les RGS les plus élevés, sauf dans le groupe F100 (figure 46B). Les RGS les plus élevés sont trouvés dans les groupes où chaque sexe montre la plus forte croissance en fin d'expérience (groupe F50 pour les mâles et F25 pour les femelles).

Chez les mâles, le RHS décroît avec l'augmentation du pourcentage de mâles dans le groupe (figure 46C). Chez les femelles, il n'y a pas de différence significative entre les différents groupes.

4. DISCUSSION

4.1. Contraintes méthodologiques et limites des interprétations

Plusieurs biais ont été introduits lors de la mise en place et au cours de l'expérience (cf. tableau XVIII).

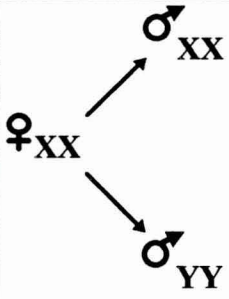
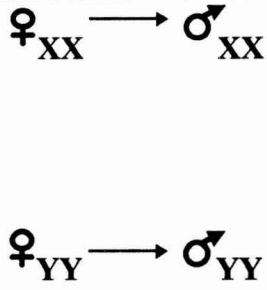
L'objectif de la fécondation artificielle était d'obtenir deux cohortes ayant au moins en commun un parent afin de réduire au maximum les effets parentaux.

L'utilisation des mâles YY à la place des XY pour la constitution des différents sex-ratios rend difficile les analyses sur les performances de croissance. En effet, les individus de génotype YY en groupe monosexe possèdent des performances de croissance plus faibles que celles des mâles XY également en groupe monosexe (voir analyse chapitre VI). Les différences de croissance observées dans la présente expérience entre les mâles et les femelles pourraient donc être liées davantage au génotype YY qu'aux interactions sociales.

De plus le mélange des deux cohortes est réalisé à 2 mois d'âge. Les effets observés dans les différents groupes pourraient plus provenir d'interactions sociales entre cohortes qu'entre mâles et femelles selon le sex-ratio. Le mélange tardif des deux cohortes a cependant permis de marquer un des lots (les mâles) par section de la nageoire pelvienne, et donc de suivre la croissance de chaque sexe avant l'apparition des caractères sexuels.

L'absence de données pendant les premières phases de la croissance ne permet pas de conclure sur l'origine des différences de croissance observés à partir de 74 jours PF. Les différences observées en effet à cette date peuvent être le reflet de différences de poids initiaux à 11 jours PF liées à l'origine parentale.

Tableau XVIII : Récapitulatifs des biais expérimentaux observés lors de la mise en place et au cours de l'expérience sur l'étude de l'influence des facteurs génétiques.

Protocole prévu	Protocole réalisé	Conséquences
 **Croisements**	 **Croisements**	* Production d'individus ayant des patrimoines génétiques complètement différents : les effets observés pourraient être liés à des effets parentaux et non aux conditions d'expérimentation. * utilisation de mâles YY plutôt que des mâles classiques XY : possibles effets liés au génotype YY
Mélange des deux cohortes à 11 jours PF	Mélange des 2 cohortes à 60 jours PF	Introduction possible d'interactions sociales entre cohortes liées à leur origine génétique
Pesée des individus toutes les deux semaines dès 11 jours PF	1ère pêche de contrôle réalisée à 74 jours PF	* Aucune information sur les premières phases de la croissance. * Aucune donnée sur les quantités d'aliment par rapport à la table de rationnement utilisée au cours des précédentes expériences

Les trois expériences prises en compte dans cette étude des interactions sociales ont été réalisées dans des conditions différentes (tableau XIX), notamment d'élevage et d'alimentation. Elles ont été effectuées sur des souches différentes. Les animaux de l'expérience IV ont été nourris manuellement et les quantités distribuées sont certainement inférieures à celles des autres expériences, bien que le taux utilisé soit le même que dans l'expérience II, ce qui permet une première analyse de l'influence de la compétition alimentaire. Les mélanges des cohortes ont été réalisés à des stades différents, toutefois cette différence permet une analyse de l'influence du stade de mélange sur l'intensité de ces interactions.

4. 2. Influence des interactions sociales sur le comportement alimentaire

D'après les résultats de l'expérience III, les profils d'activité alimentaire, en condition d'alimentation volontaire, ne sont pas significativement différents entre les groupes F100, F50 et F0. Cependant, les animaux du groupe F0 et les individus du groupe F50 tendent à déplacer une partie de leur consommation diurne vers une consommation nocturne. Dans les groupes F0, les individus dominés pourraient, en effet, compenser la baisse de prise alimentaire diurne liée à l'existence d'interactions sociales de type hiérarchique par une activité nocturne. Ceci semble diminuer fortement les compétitions alimentaires et se traduit par de meilleures performances de croissance que dans l'expérience II et plus encore dans l'expérience IV. Toutefois, seule l'analyse des comportements alimentaires individuels dans ces deux dernières expériences aurait permis de vérifier cette hypothèse.

Chez les groupes F50, contrairement aux groupes F0 où toutes les demandes sont entièrement consommées, le déplacement de l'activité alimentaire pendant la phase nocturne a entraîné des pertes d'aliments, particulièrement dans la dernière semaine de l'expérience. De plus, les quantités d'aliment consommées sont légèrement supérieures dans les groupes F50 par rapport aux lots F100 et F0, et la croissance légèrement plus faible. L'existence d'interactions sociales d'une part entre les mâles (comportement territorial) et d'autre part entre mâles et femelles, pourrait se traduire par une augmentation d'activité et donc une dépense énergétique plus importante dans ces groupes comparés aux lots F100 et F0. L'influence des interactions sociales sur la prise alimentaire des mâles et des femelles a été observée chez d'autres espèces de téléostéens (Magnuson, 1962; Saclauso, 1985). Des études réalisées en milieu naturel ont montré que les poissons dominants dans un groupe avaient une influence considérable sur l'alimentation des dominés, qui sont souvent exclus des meilleures zones d'alimentation (par

Tableau XIX : Récapitulatif des principaux résultats des expériences II, III et IV.

Expériences	Origine des animaux	Age des mélanges	Conditions d'élevage	Alimentation	Période de suivi		Sex-ratio (% femelle)	Croissance des mâles	Croissance des femelles	Différentiel de croissance mâle/femelle (% w femelle)	Facteurs probables en jeu
					Age jours PF	Poids (g)					
II	Souche Bouaké	11 jours PF	bac, eau d'étang 19 - 33°C	nourrisseur à tapis, phase diurne	11 à 120	0,04 à 50	100 75 50	49,23 **50,28**	**37,77** 36,99 36,70	33 37	* effet du sex-ratio * compétition possible entre cohortes
III	Souche Bouaké		bac, eau récyclée 27°C	distributeur à la demande, sur 24 heures		10 à 70	100 50 0	59,38 **70,09**	**42,78** 40,06	64 (100 et 0) 48	* compétition alimentaire limitée par le mode de distribution * effet interactions sociales * effet du sex-ratio
IV	Souche Egypte-UCS	2 mois	hapas, eau étang 26-29°C	distribution manuelle 3 fois par jour	74 à 140	3 à 25	100 75 50 25 0	19,24 **25,14** 20,22 20,06	18,01 17,54 19,28 **22,80**	11 (100 et 0) 9 30 -11	* compétition alimentaire plus forte * effet cohorte fort, compétition possible * effet du sex-ratio

Différentiel de croissance mâle/femelle = (Poids mâle - Poids femelle) x 100) / poids femelle
% W femelle = pourcentage du poids de la femelle
Les chiffres en gras désignent, au sein de chaque expérience, les lots où la croissance des mâles ou des femelles est la plus énevée

force ou à travers une incapacité à concourir; Yamagishi *et al.*, 1974). Cependant, le groupe des dominés n'est pas exclusivement constitué de femelles.

Nous observons dans l'expérience III un retard de croissance des mâles et des femelles du groupe F50 respectivement d'environ 21 et 9% par rapport aux groupes F0 et F100, ce qui fortifie l'hypothèse d'une influence des interactions sociales sur les performances de croissance. Ces interactions sociales peuvent être exacerbées par des conditions d'alimentation ou d'élevage défavorables, qui pénaliseraient plus les femelles et accentueraient les baisses de leurs performances de croissance. Les travaux de Jobling (1983) montrent que l'influence des interactions sociales peut être modifiée par une altération de la fréquence d'alimentation. Il pourrait en conséquence se développer au sein de ces groupes une compétition plus importante pour l'accès à l'alimentation.

4.3. Influence des interactions sociales liées au sex-ratio sur la croissance

L'analyse des performances de croissance au cours de l'expérience II, réalisée à Bouaké, révèle une tendance à une meilleure croissance des animaux, mâles comme femelles, du groupe F50 par rapport aux animaux du groupe F75. Une différence de même amplitude est observée pour les deux niveaux d'alimentation utilisés, ce qui suggère qu'elle n'est pas directement liée à une restriction alimentaire. Les résultats de l'expérience IV, révèlent également une meilleure croissance des mâles comme des femelles pour un sex-ratio équilibré (F50) qu'avec un sex-ratio fortement dévié en faveur des femelles (F75). Toutefois, la croissance différentielle est plus marquée dans le groupe F50 au cours des expériences II et IV. C'est aussi le seul groupe où les RHS sont significativement différents entre les mâles et les femelles au cours de l'expérience IV. Les RGS des mâles et des femelles sont également parmi les plus élevés. La comparaison des deux groupe F75 et F50 est intéressante car elle révèle une disjonction entre la croissance et la maturation sexuelle. En effet, dans le groupe F50 la différence de croissance entre les mâles et les femelles est faible (9%) alors qu'il est de 30% du poids corporel en faveur des mâles. Or les RGS sont identiques respectivement entre les mâles et les femelles des deux groupes. La maturation sexuelle n'est pas donc pas le seul élément déterminant dans l'expression de la croissance différentielle liée au sexe.

Les différences de croissance, constatées au cours de ces deux expériences (II et IV), pourraient être liées à l'existence d'interactions sociales différentes dans les 2 groupes F50 et F75. Les travaux de Volpato *et al.* (1989) suggèrent l'existence d'une telle différence, mais leurs analyses, réalisées sur un très faible nombre d'individus (3 à 5), ont uniquement porté sur

la comparaison de croissance des mâles et des femelles au sein d'un même groupe. Nos travaux montrent donc, pour la première fois, que le déséquilibre du sex-ratio dans un groupe, peut affecter négativement, à travers les interactions sociales, la croissance de l'ensemble des individus.

L'hypothèse d'une influence des interactions sociales sur la croissance est confortée par la meilleure croissance des groupes F0 et F100 par rapport aux groupes F50 au cours de l'expérience III. Toutefois, nos résultats ne fournissent pas d'indication sur la nature de ces interactions.

La formation de la hiérarchie et du statut social sont généralement sous le contrôle de certains paramètres physiologiques comme le taux de production ou le niveau circulant de certaines hormones, notamment les stéroïdes sexuels et plus particulièrement la 11-cétotestostérone. Or on trouve de plus forts niveaux de cette hormone chez les mâles du groupe F50, ce qui suggère un comportement d'agressivité plus important de ceux-ci par rapport aux mâles du groupe F0. Dans les groupes F50, des comportements liés à la reproduction peuvent également participer aux interactions sociales. Les femelles peuvent subir, en plus des interactions entre elles, l'influence des mâles pour la reproduction.

Les mâles peuvent établir une compétition territoriale plus importante dans les groupes F50 particulièrement s'ils sont peu nombreux, et avoir, en période de reproduction, une agressivité plus importante liée à un développement du comportement reproducteur (fabrication et défense du nid, comportement de « cour » auprès des femelles).

En conséquence, la croissance aussi bien des mâles que des femelles pourrait être améliorée par un contrôle des interactions sociales à travers, par exemple, une modification du sex-ratio des lots.

4.4. Influence des interactions sociales sur la croissance différentielle liée au sexe

Au cours de l'expérience IV, une différence de croissance significative entre les mâles et les femelles dans les groupes F0, F75 et F100 est observée à 74 jours PF alors qu'aucune différence n'est observée dans les groupes F25 et F50. La différence de croissance liée au sexe apparaît ensuite dans tous les groupes à 102 jours PF. Compte tenu des mêmes origines parentales des femelles des différents groupes et également des mâles, ces résultats suggèrent que l'apparition de la différence de croissance entre les mâles et les femelles peut être influencée par le sex-ratio du groupe, à travers des effets des interactions sociales.

Dans le groupe F25 de l'expérience IV, contrairement aux autres sex-ratios, on observe une différence de croissance significative en faveur des femelles. Cette meilleure croissance des femelles n'est pas un artefact puisqu'elle se maintient et augmente même en fin d'expérience. C'est la première fois qu'une différence de croissance significative en faveur des femelles est observée chez cette espèce. Les femelles qui maturent très tardivement, peuvent avoir des croissances équivalentes à celles des mâles (Bolivar *et al.*, 1993). Ceci n'est pas le cas dans notre expérience (IV), puisque les femelles de ce groupe ont des RGS plus élevés que dans les autres groupes, ce qui suggère un état de maturité plus avancé par rapport aux autres femelles.

Cette différence de croissance en faveur des femelles pourrait peut être s'expliquer par l'influence des interactions sociales. On peut supposer que compte tenu de leur proportion très élevée dans ce groupe, les mâles interagiraient plus fortement entre eux pour maintenir leur statut social (forte agressivité caractérisée par une activité de chasse intensive, hiérarchie sociale plus marquée), ce qui entraînerait pour eux des dépenses énergétiques plus importantes. Une légère diminution du rapport hépato-somatique est observée avec l'augmentation du pourcentage de mâles dans les lots, ce qui suggère une augmentation du nombre d'individus sous-alimentés ou stressés, c'est-à-dire dominés. Il a été en effet montré dans de nombreuses espèces qu'un jeûne prolongé entraîne une diminution très significative du RHS (Black et Love, 1989; Fauconneau, données non publiées). Des travaux récents (Mair, comm. personnelle) confirment la mauvaise croissance des mâles YY par rapport aux mâles classiques XY.

Dans les autres groupes mixtes, F50, F75 (toujours de l'expérience IV), la différence de croissance en faveur des mâles pourrait résulter de la structure sociale de ces groupes, caractérisée par la domination des mâles sur les femelles. Cependant, cette influence des interactions sociales sur la croissance semble ne pas être exclusivement liée au sexe. Une hétérogénéité importante des taux de croissance chez les mâles est observée. Ces résultats sont en accord avec les travaux réalisés par Volpato *et al.* (1989) qui montrent que les individus dominants d'un groupe peuvent être aussi bien des mâles que des femelles.

5. CONCLUSION

Le tilapia étant une espèce sensible aux interactions sociales, la modification du sex-ratio d'un groupe, peut constituer un moyen de contrôle de l'intensité de ces interactions sociales.

Par ailleurs, le mélange de cohortes d'origine génétique ou de structure sociale différentes, semble exacerber ces interactions sociales, d'où l'importance de procéder au mélange des cohortes à des stades très précoces.

Les interactions sociales semblent jouer un rôle important dans l'installation des différences de croissance entre les individus et notamment entre les mâles et les femelles au sein d'un groupe. Elles pourraient donc constituer un autre élément du déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe chez *Oreochromis niloticus*.

CHAPITRE VII
ANALYSE DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE EN RELATION AVEC LES FACTEURS GENETIQUES

1. INTRODUCTION

La croissance des poissons est un processus complexe directement dépendant des apports d'origine alimentaire, mais elle peut être influencée par plusieurs facteurs notamment sexuels, comportementaux et environnementaux. L'analyse de l'effet de certains de ces facteurs, réalisée au cours des expériences III et IV, révèle leur implication possible dans le déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe chez *Oreochromis niloticus*.

L'apparition de la différence de croissance entre les mâles et les femelles ne semble pas être la seule conséquence d'une reproduction fonctionnelle car il apparaît avant cette période chez *Oreochromis niloticus*. Par ailleurs, la différence de croissance entre les deux sexes apparaît même s'ils sont isolés en groupes monosexes et nourris *ad libitum*. Chez *Sarotherodon melanotheron* (incubateur buccal mâle), la croissance chez les mâles est même accrue lorsqu'ils passent d'un élevage mixte, donc d'une situation de reproduction potentielle, à un élevage monosexe (absence de reproduction), alors que celle des femelle n'est pas du tout affecté par le type d'élevage (Legendre, 1986). Ceci suggère que la différence de croissance entre les mâles et les femelles chez le tilapia pourrait être dépendante de gènes liés au déterminisme du sexe mais non obligatoirement impliqués dans la sexualité.

L'étude des performances de croissance des néomâles (XX chez *Oreochromis niloticus*) pourrait permettre d'analyser cet effet génétique. Si les femelles inversées en mâles, par des traitements androgéniques, ont une croissance équivalente à celle des mâles génotypiques non traités (Hanson *et al*, 1983; Baroiller et Toguyéni, 1995; Mair *et al.*, 1995), les travaux réalisés par Hanson *et al.* (1983) montrent cependant que la croissance de ces néomâles est inférieure à celle des mâles génotypiques traités aux androgènes dans les mêmes conditions.

Les objectifs de cette étude sont d'analyser l'influence du génotype sur la croissance des mâles à travers une comparaison des performances de croissance respectives de descendances monosexes obtenues soit par croisement génétique, soit par inversion hormonale du sexe. Certains résultats, discutés dans ce chapitre, ont été présentés dans le chapitre V.

Tableau XX : Composition des différents groupes utilisés au cours de l'expérimentation (cf. Figure 2 pour la production des génotypes YY).

Groupes	Croisements		Traitement	Cohortes
	Géniteur mâle	Géniteur femelle		
YY_{100}	♂ YY	♀ YY		100% mâles YY
XY_{100}	♂ YY	♀ XX		100% mâles XY
mXX_{100}	♂ XX	♀ XX	inversé en mâles par la 17α-MT	100% mâles XX
fXX_{100}	♂ XX	♀ XX		100% femelles XX
$[XY_{50}, XX_{50}]$	♂ XY	♀ XX		50% mâles XY 50% femelles XX

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL (expérience V)

2.1. Les poissons

La souche utilisée, Egypte-UCS, est celle décrite dans le chapitre précédent. Quatre couples de géniteurs ont été utilisés pour la production de cohortes monosexes mâles ou femelles. Les cohortes monosexes mâles sont produites par croisement (tableau XX):

* d'un mâle de génotype YY avec une femelle du même génotype; groupe YY_{100} (YY désignant le génotype et 100 le pourcentage de ce génotype dans le groupe)
* d'un mâle YY avec une femelle de génotype classique XX; groupe XY_{100}
* d'un mâle de génotype XX avec une femelle XX; groupe $X\ X_{100}$

Une partie des alevins issus de ce croisement est ensuite inversée en mâles par un traitement hormonal à la 17α-méthyltestostérone (Baroiller et Toguyéni, 1995) : groupe mXX_{100} (m = mâle).

L'autre partie des alevins (non traités et donc 100% femelle) est conservée comme témoin, groupe fXX_{100}.

Un groupe mixte classique (50% de mâles XY et 50% de femelles XX) issu d'un croisement entre un mâle de génotype XY et une femelle XX, est également produit pour servir de témoin; groupe [XY_{50} , XX_{50}]

2.2. Conditions d'élevage et de prélèvements

Après une fécondation naturelle, les oeufs sont récupérés et incubés artificiellement dans des bouteilles McDonald (Rana, 1986) pendant 11 jours. Les alevins de chaque cohorte sont répartis en deux lots de 100 individus et transférés dans des hapas installés dans un étang en terre. La température de l'eau de l'étang, alimenté à partir d'un forage, est en moyenne de 26,3°C le matin et de 29,4°C l'après-midi. Les animaux sont nourris à la main trois fois par jour (le matin, à midi et l'après-midi) à un taux journalier correspondant à l'*ad libitum* (voir tableau X, niveau d'alimentation haut).

La première pesée est réalisée à 74 jours PF sur une trentaine d'individus des 2 lots de chaque groupe. La deuxième, effectuée un mois après, est réalisée sur l'ensemble des individus de chaque lot. Les animaux d'un des deux réplicats de chaque groupe sont ensuite pesés individuellement tous les 15 jours.

Tableau XXI : Taux de survie et sex-ratio (en pourcentage) dans les différents groupes (200 individus par groupe).

Groupes	Taux de survie (%)	Sex-ratio (% de mâles)
YY_{100}	96,5	100
XY_{100} (mâles XY)	91,5	92
mXX_{100} (mâles XX)	98	100
fXX_{100} (monosexe femelle)	80	17
$[XY_{50}, XX_{50}]$ cohorte mixte	91	77

Après 140 jours d'élevage, l'ensemble des animaux a été pesé individuellement. Des prélèvements de sang, du foie et des gonades (voir protocole de prélèvement dans le chapitre I) sont réalisés sur une trentaine d'individus par lot.

Les gonades et le foie sont pesés individuellement. Les paramètres suivants sont calculés sur l'ensemble des individus prélevés à la fin de l'expérience: coefficient de condition et RGS.

3. RESULTATS

Les taux de survie sont relativement forts dans l'ensemble des groupes (tableau XXI), sauf dans le groupe fXX_{100} qui présente un taux de mortalité de 20%. Les pourcentages de mâles dans les différents groupes monosexes mâles sont voisins de 100%. Par contre un sex-ratio très déséquilibré en faveur des mâles (77% contre 23% pour les femelles) est observé dans le lot $[XY_{50}, XX_{50}]$, issu du croisement entre un mâle XY et une femelle XX. Un pourcentage non négligeable de mâles (17%) est détecté dans le groupe fXX_{100}. Dans les résultats donnés pour le groupe (en fin d'expérience après sexage), seules les femelles sont prises en compte.

L'analyse des poids corporels lors des deux premières pêches de contrôle, révèle une meilleure croissance des groupes YY_{100} et XY_{100} par rapport aux groupes mXX_{100} et fXX_{100} (figure 47). A 102 jours PF, la meilleure croissance est observée chez les XY_{100} et le groupe $[XY_{50}, XX_{50}]$, et la plus faible chez les fXX_{100}. Les meilleurs taux de croissance sont observés chez les individus du groupe $[XY_{50}, XX_{50}]$ et les mXX_{100} qui présentent à cet âge des poids corporels moyens respectivement similaires à ceux des individus des groupes XY_{100} et YY_{100}.

L'analyse des performances de croissance en fin d'expérience (figure 48A) révèle une meilleure croissance des mâles de génotype XY du groupe $[XY_{50}, XX_{50}]$ et XY_{100}. La plus faible croissance parmi les lots mâles, est observée chez les individus du groupe YY_{100}, qui ont des croissances comparables à celles des femelles du groupe $[XY_{50}, XX_{50}]$. Les femelles du lot $[XY_{50}, XX_{50}]$ ont une croissance supérieure à celle du lot fXX_{100}.

La croissance en longueur est équivalente entre les individus du groupe YY_{100} et les fXX_{100}. Celle des XY_{100} et mXX_{100} (figure 48B) n'est pas significativement différente des croissances en longueur des mâles du groupe $[XY_{50}, XX_{50}]$, mais dépasse significativement celle des autres groupes.

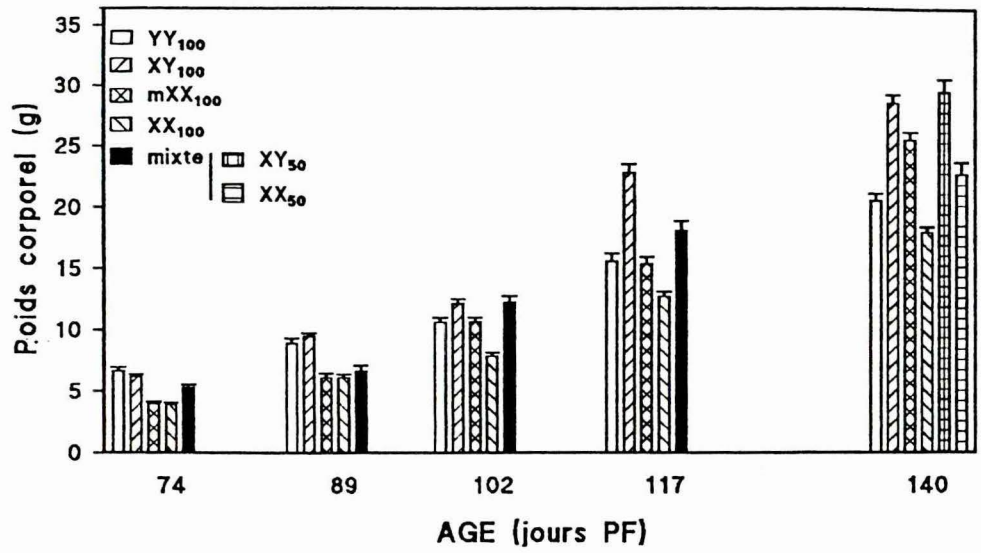


Figure 47 : Evolution du poids corporel des mâles et des femelles au cours de l'expérience en fonction du génotype du groupe. Moyenne ± SEM;

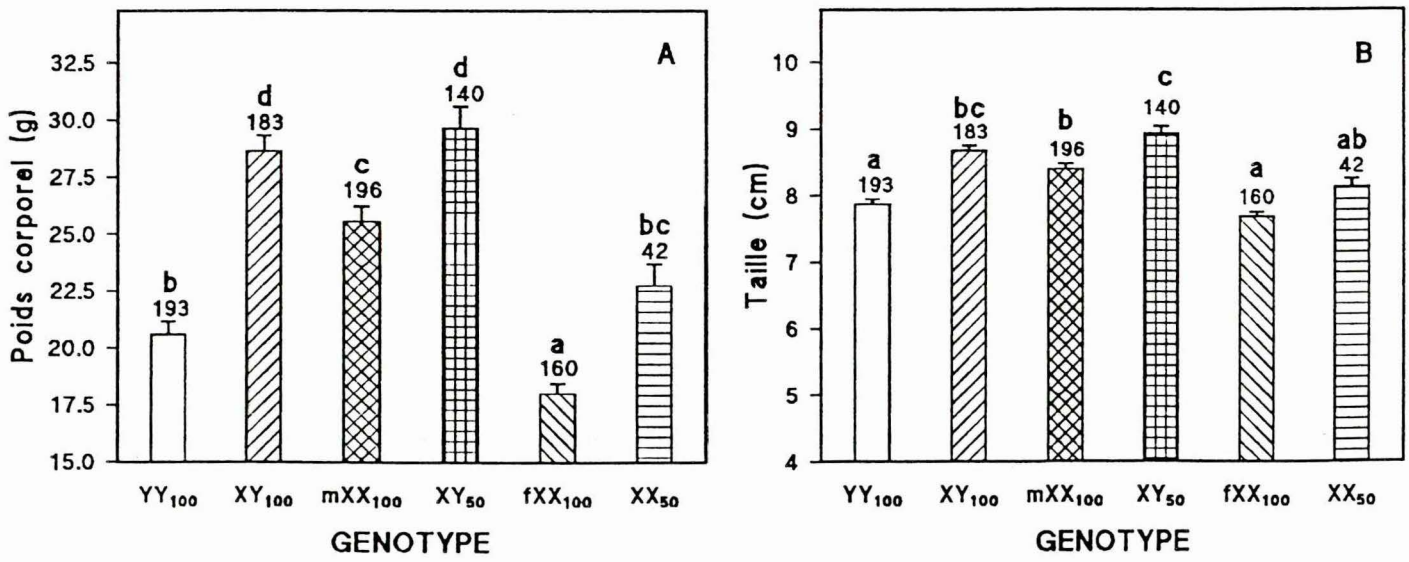


Figure 48 : Poids corporel (A) et longueur standard (B) des mâles et des femelles des différents groupes en fonction du génotype à la fin de l'expérience. n = nombre d'individus. Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

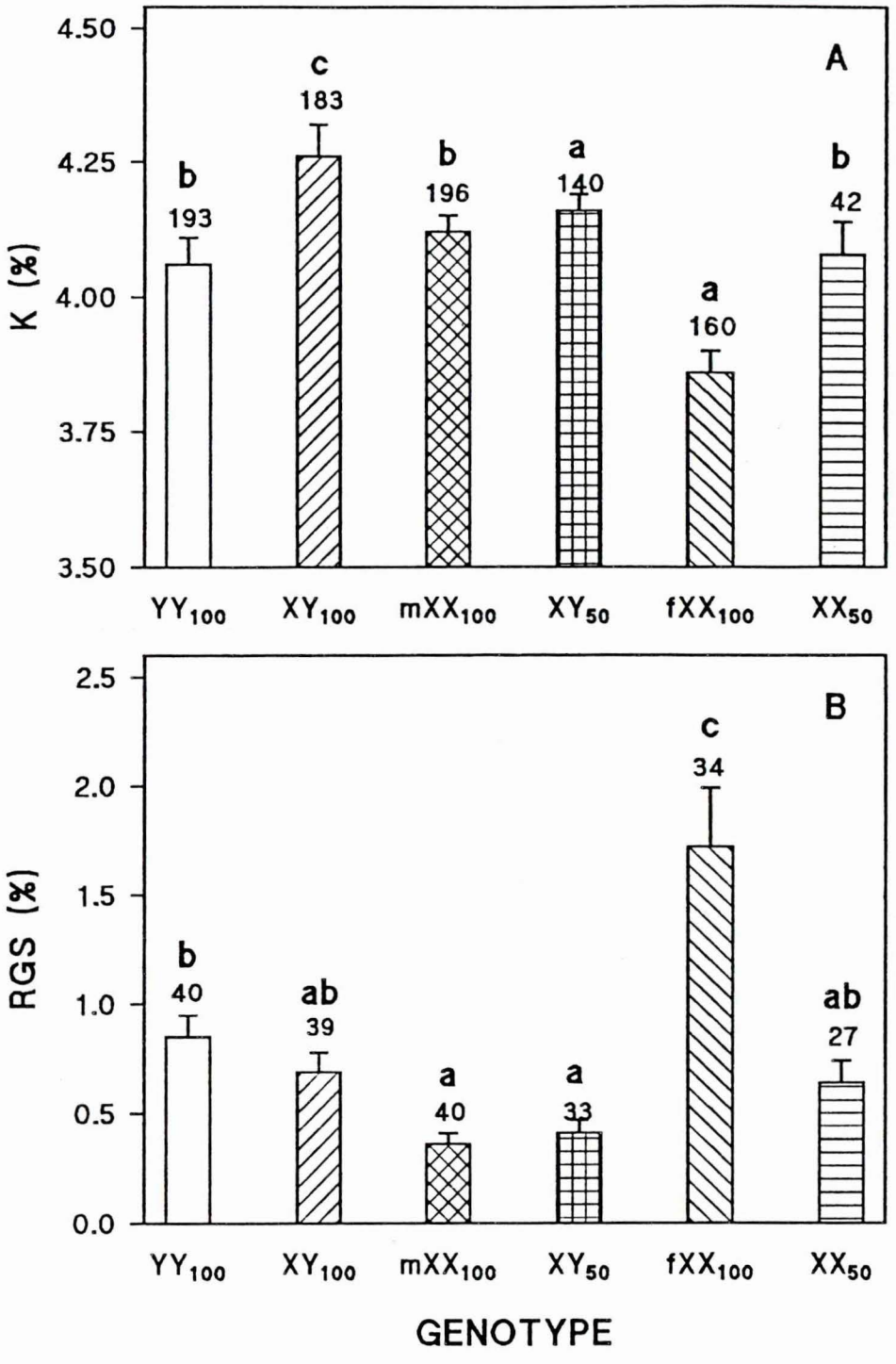


Figure 49 : Coefficient de condition (A), rapport gonado-somatique (B) chez des mâles (18 g) et des femelles (18 g) à la fin de l'expérience en fonction du sex-ratio du groupe. Moyenne ± SEM; n = nombre d'individus. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

Le coefficient de condition le plus élevé est observé chez les XY_{100} et le plus faible chez les individus du groupe fXX_{100} (figure 49A). Il est similaire chez les YY_{100}, les mXX_{100} et les femelles du groupe [XY_{50} , XX_{50}].

Le rapport gonado-somatique le plus élevé est obtenu chez les individus du lot fXX_{100}; il est largement supérieur à celui des femelles du groupe [XY_{50} , XX_{50}]. Chez les mâles, les plus forts RGS sont observés chez les individus YY_{100}, et les plus faibles pour les XY_{50} et mXX_{100}, les XY_{100} présentant des RGS intermédiaires (figure 49B).

L'analyse des hormones thyroïdiennes révèle une grande variabilité entre les différents groupes de mâles (figure 50). Les plus forts niveaux de T4 (figure 50A) sont observés chez les mXX_{100} (3,1 ng/ml) et les plus faibles chez les mâles XY_{50} (1,7 ng/ml). Chez les femelles, ce sont les animaux du groupe fXX_{100} qui ont les plus faibles niveaux (2,0 ng/ml). Chez les femelles XX_{50}, les niveaux de T4 (3,1 ng/ml) sont 2 fois supérieurs à ceux des mâles (1,7 ng/ml) du même groupe (XY_{50}).

Les plus forts niveaux de T3 (figure 50B) sont retrouvés chez les femelles XX_{50} (1,0 ng/ml), qui ont des niveaux équivalents à ceux des XY_{100} (1,0 ng/ml) et significativement supérieurs ($p<0,05$) à ceux des autres mâles. Exception faite des XY_{100}, les taux circulants de T3 sont très faibles chez les mâles (environ 0,7 ng/ml).

4. DISCUSSION

4.1. Contraintes et limites des analyses

Comme lors de l'expérience IV, la présente étude qui s'est déroulée dans les mêmes structures et pendant la même période, a également été l'objet d'un certain nombre de biais expérimentaux (tableau XXII). Le protocole initialement proposé (fécondation individuelle par du sperme de mâles de génotype différent) n'a pu être mis en place par l'équipe chargée de l'expérience (Philippines). Ce protocole visait à obtenir des alevins ayant en commun au moins un des parents dans le but de réduire au maximum les effets parentaux. Les différentes cohortes ont été produites par des couples différents.

Rappelons également un autre biais lié à l'absence de pesée initiale dans tous les lots qui limite les interprétations des résultats obtenus sur les performances de croissance, compte tenu de différences possibles de poids initial entre autre liées à l'origine parentale des cohortes.

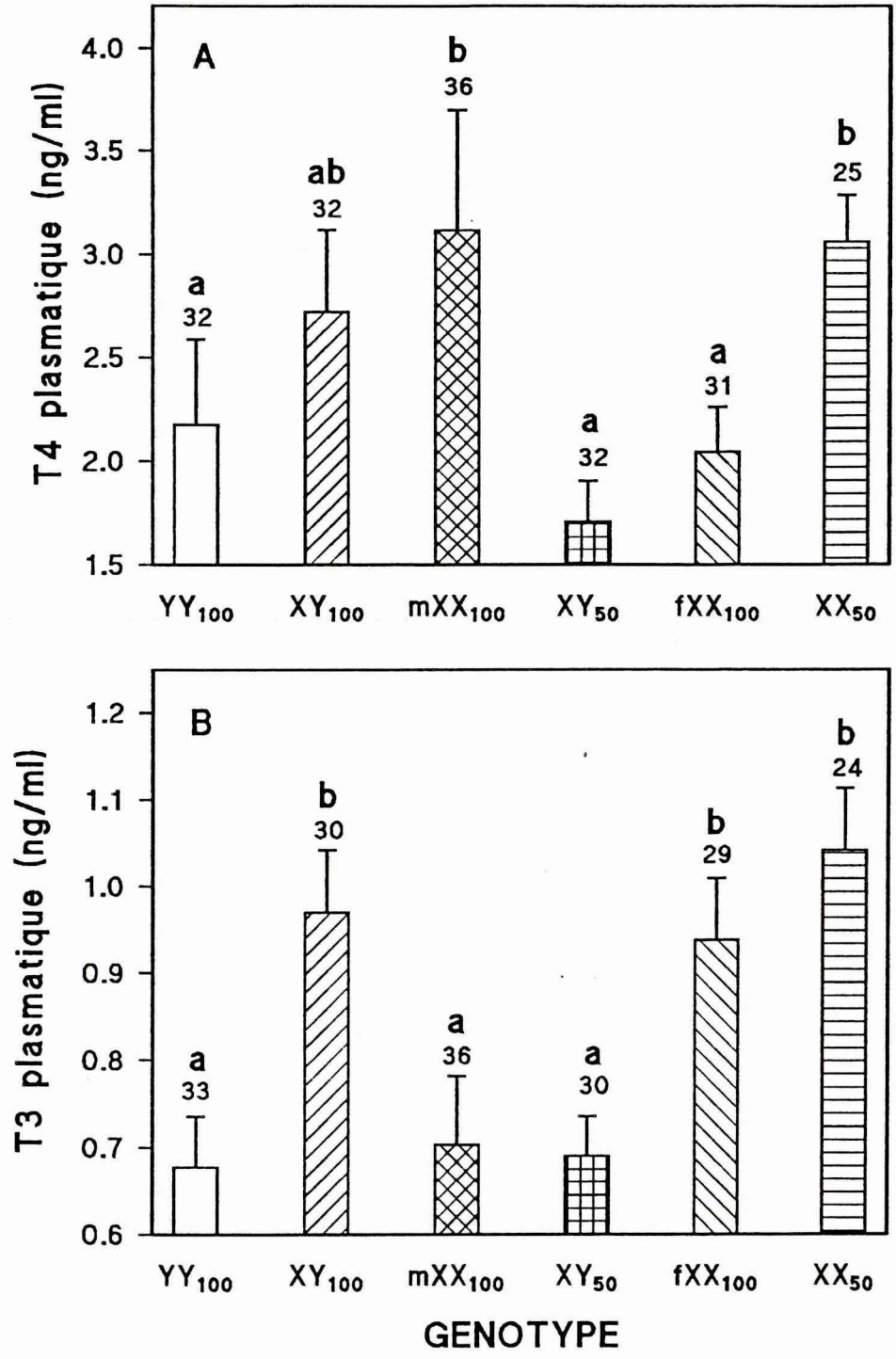


Figure 50 : Niveaux plasmatiques de T4 (A) et de T3 (B) des mâles et des femelles des différents groupes, en fonction du génotype à la fin de l'expérience. n = nombre d'individus. Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

Tableau XXII : Récapitulatifs des biais expérimentaux observés lors de la mise en place et au cours de l'expérience sur l'étude de l'influence des facteurs génétiques.

<table>
<tr><th colspan="3">Protocole prévu</th><th>Protocole réalisé</th><th>Conséquences</th></tr>
<tr><th colspan="2">Croisements</th><th>Descendances</th><th></th><th></th></tr>
<tr><td rowspan="3">♀XX</td><td>♂XX</td><td>100%♀XX</td><td rowspan="4">Chaque descendance a été réalisée avec un couple de géniteurs différents</td><td rowspan="4">Production d'individus ayant des patrimoines génétiques complètement différents : les effets observés pourraient être liés à des effets parentaux et non aux conditions d'expérimentation.</td></tr>
<tr><td>♂XY</td><td>50% ♂XY
50% ♀XX</td></tr>
<tr><td rowspan="2">♂YY</td><td>100%♂XY</td></tr>
<tr><td>♀YY</td><td>♂
100% YY</td></tr>
</table>

NB: la descendance monosexe femelle XX a été inversée en mâle par un traitement à la 17α-méthyltestostérone

Le sex-ratio très déséquilibré du groupe [XY_{50} , XX_{50}] (77% de mâles/23% de femelles) et le pourcentage élevé de mâles (17%) dans le groupe fXX_{100} limitent également les interprétations des croissances observées dans ces groupes. Les résultats du chapitre V montrent en effet que le sex-ratio d'un groupe, à travers les interactions sociales, peut avoir une influence non négligeable sur les performances de croissance des individus du groupe.

4.2. Les performances de croissance des différents groupes

L'analyse de l'évolution des poids corporels moyens des différents groupes révèle une mauvaise croissance générale, comparativement aux données des expériences précédentes (I, II, III). Ces faibles croissances sont probablement liées aux conditions d'élevage, notamment d'alimentation. Au cours des précédentes expériences, les animaux étaient nourris en continu durant toute la photophase à l'aide de distributeurs à tapis, ce qui permettait une meilleure répartition de la ration alimentaire. Ce mode d'alimentation a été validé par l'étude du comportement alimentaire (voir chapitre III).

Les mâles YY_{100} voient leur vitesse de croissance dépassée par celle des autres groupes au cours de l'expérience. Cette mauvaise croissance d'individus de ce génotype a également été observée récemment au cours d'autres travaux (Mair, comm. personnelles). Par ailleurs, les individus de ce groupe ont le RGS le plus élevé parmi les individus mâles. Les faibles croissances enregistrées dans ce groupe pourraient provenir d'une maturation sexuelle plus précoce que chez les autres mâles.

La croissance des mXX_{100} est, à 74 jours PF, la plus faible des groupes mâles, et est équivalente à celle des femelles du lot [XY_{50} , XX_{50}]. Cette faible croissance des mXX_{100} est en contradiction avec la littérature. En effet, la plupart des travaux d'inversion hormonale par les androgènes, notamment la 17α-méthyltestostérone montrent une meilleure croissance des néomâles par rapport aux individus des lots témoins (cf. tableau IV). Elle a également été observée au cours d'autres travaux réalisés sur la même souche (Mair *et al.*, 1995) et pourrait être liée à l'origine génétique des individus de ce groupe. Les animaux de ce groupe rattrapent ensuite en partie leur retard de croissance, qui reste néanmoins inférieure à celle des mâles du lot [XY_{50} , XX_{50}] et des XY_{100}. Les RGS des individus de ce lot mXX_{100} sont les plus faibles en fin d'expérience, ce qui suggère que le retard de croissance n'est pas lié à une maturation sexuelle précoce.

L'analyse des performances de croissance des femelles XX_{50} et du lot fXX_{100} est difficile compte tenu des déviations observées dans le sex-ratio. Le lot [XY_{50} , XX_{50}] est composé pour trois quarts de mâles. Les bonnes croissances de ce groupe, en particulier des femelles, pourraient être liées au nombre élevé de mâles comme nous l'avons observé dans l'expérience IV. La croissance des mâles est d'ailleurs équivalente à celle des XY_{100} en fin d'expérience, alors que de récents travaux suggéraient une meilleure croissance des individus XY_{100} (Mair *et al.*, 1995). Les bonnes performances de croissance des femelles du groupe [XY_{50} , XX_{50}] sont en accord avec les résultats de l'expérience IV et s'expliqueraient par l'existence d'interactions sociales qui leur sont favorables.

Les animaux du lot fXX_{100} ont les croissances les plus faibles durant toute l'expérience. L'analyse de leur croissance est également rendue difficile compte tenu du pourcentage non négligeable de mâles au sein du lot. La présence de ces mâles dans cette cohorte théoriquement 100% femelles est liée à la complexité du déterminisme du sexe chez le tilapia (Baroiller, 1995). Ces femelles ont par ailleurs un RGS, 2 à 3 fois plus élevé que dans les autres groupes. Leur faible croissance pourrait s'expliquer par une orientation plus importante de l'énergie métabolique vers le développement des ovaires.

Les données sur les hormones thyroïdiennes sont très variables d'un groupe à l'autre. Contrairement aux résultats de l'expérience III, aucune relation n'est observée avec la croissance. Les taux de T3 les plus faibles sont obtenus chez les mâles du lot [XY_{50} , XX_{50}] et les plus forts chez les femelles du même lot et les individus des lots XY_{100} et fXX_{100}. De plus les niveaux de T3 sont très inférieurs à ceux de T4. Ces résultats sont en contradiction avec les données de la littérature qui montrent des niveaux de T3 significativement plus élevés chez les mâles, et des taux de T4 toujours plus faibles que ceux de T3 (Mol *et al.*, 1994; Toguyéni *et al.*, 1996a, b). Ces différences de statut thyroïdien sont peut-être à relier aux conditions d'élevage, qui ont pu induire des perturbations dans le métabolisme de ces hormones. Elles pourraient être aussi d'ordre génétique. En effet au cours de l'expérience III, les animaux étaient tous issus d'une même fécondation contrairement à celle-ci où les différents groupes sont issus de parents complètement différents.

L'analyse des coefficients de condition révèle que les mâles du lot [XY_{50} , XX_{50}] et les individus du lot fXX_{100} sont relativement les plus légers pour une même taille que les individus des autres groupes. Ce coefficient qui traduit également l'état d'engraissement des animaux (Pinder et Eales, 1969; Herbinger et Friars, 1991) indique que ces animaux sont ceux qui ont probablement le moins de dépôt lipidique.

4.3. Croissance des mâles et des femelles en relation avec le génotype

L'effet du génotype est difficile à analyser compte tenu des mauvaises performances de croissance de l'ensemble des groupes, les différences observées pouvant n'être que le reflet de l'influence d'autres facteurs (nutritionnel, environnemental, etc.). De plus, les différents groupes sont issus de couples complètement différents, ce qui peut impliquer l'existence d'effets parental.

La faible croissance des YY_{100} pourrait être liée à la nature même de ces individus, car ce génotype n'existe pas naturellement chez le tilapia. Ces animaux pourraient présenter des perturbations importantes de leur métabolisme général et de leur performances de croissance liées à l'absence du chromosome sexuel femelle. En effet, les descendances des mâles de ce génotype, issus d'un croisement avec une femelle normale XX, ont des performances de croissance équivalentes à celles des mâles issus d'un croisement normal (mâle XY par femelle XX). Ces résultats semblent indiquer que la meilleure performance de croissance des mâles par rapport aux femelles n'est pas uniquement liée au phénotype mâle et à l'environnement endocrinien qu'il implique, mais qu'elle dépend aussi de déterminants génétiques non strictement liés à l'expression phénotypique de la sexualité, ceci n'excluant pas des modulations par des facteurs externes.

Par ailleurs, l'analyse de la croissance des groupes F0 et F100 de l'expérience III montrent des capacités intrinsèques de transformation d'aliment ingéré et de rétention des nutriments plus importantes chez les mâles que chez les femelles. Ces meilleures performances des mâles, outre ses bases génétiques, pourraient être en partie liées aux effets anaboliques des androgènes et/ou des hormones thyroïdiennes comme le suggéraient de précédants travaux (Donaldson *et al.*, 1979). Les résultats montrent, par ailleurs, que même en l'absence de reproduction et d'interactions sociales avec les mâles (élevage en sexes séparés), et en situation d'alimentation à volonté, les femelles ont une croissance plus faible que les mâles. Chez *Sarotherodon melanotheron* les mâles, lorsqu'ils sont en présence des femelles (élevage mixte) et assurent donc l'incubation buccale, ont une croissance plus faible que les femelles. Leur croissance est équivalente ou supérieure à celle des femelles dès qu'ils sont élevés en groupe monosexe (Legendre, 1986). Or chez *Oreochromis niloticus*, la croissance des femelles est toujours inférieure à celle des mâles, qu'elles soient élevées seules ou avec des mâles.

5. CONCLUSION

La croissance différentielle, de par sa nature, suggère l'existence de facteurs génétiques. Les différents résultats obtenus plaident en faveur d'un rôle déterminant du génotype XY (par rapport aux génotypes XX ou YY) dans l'avantage de croissance, quelque soit le phénotype sexuel. Il n'est pas exclu cependant que l'expression optimale de ce génotype, en terme de croissance, nécessite un phénotype sexuel mâle, impliquant, en particulier un rapport androgènes/oestrogènes faible.

Par ailleurs, d'un point de vue pratique, les résultats de la présente expérience suggèrent que la production de mâles YY n'est intéressante que s'ils sont utilisés comme géniteurs pour la production de cohortes monosexes mâles de génotype classique XY.

CHAPITRE VIII
RECHERCHE DE RELAIS ENDOCRINIENS DE LA CROISSANCE DIFFERENTIELLE LIEE AU SEXE

1. INTRODUCTION

La première partie de ce travail a permis de caractériser la différence de croissance liée au sexe, sa période d'apparition et d'analyser sa modulation par des facteurs comportementaux (alimentaire et social) et génétiques. Cette seconde partie de notre travail est consacrée à la recherche des facteurs endocriniens qui participent au contrôle de cette croissance différentielle mais aussi les mécanismes d'actions de ce ou ces relais hormonaux.

D'une manière générale, le taux de croissance spécifique est souvent fortement corrélé aux niveaux circulants des hormones thyroïdiennes et/ou des hormones stéroïdiennes chez les téléostéens (Eales et Shostak, 1985; McCormick et Saunders, 1990). Ce type de relation est par contre plus difficile à mettre en évidence pour l'hormone de croissance. Des interactions entre ces différentes hormones ont également été montrées (Hunt et Eales, 1979a et b; Fagerlund *et al.*, 1980; Olivereau *et al.*, 1981; Chakraborti et Bhattacharya, 1984; Leatherland, 1985; Cyr *et al.*, 1988). Il est donc possible que ces hormones soient à l'origine de la différence de croissance entre les mâles et les femelles chez le tilapia.

Nous avons donc analysé, au cours de l'expérience VI, les hormones qui sont directement corrélées avec le taux de croissance. Différents taux de croissance ont été obtenus avec 4 niveaux d'alimentation et nous avons estimé les corrélations globales avec les taux circulants des stéroïdes sexuels spécifiques de chaque sexe (la 11-KT et l'E2-17β), des hormones thyroïdiennes (T4 et T3) et de l'hormone de croissance (GH). Ces analyses ont été réalisées indépendamment sur chaque sexe.

Les résultats de cette expérience (expérience VI) nous ont conduit à tester l'hypothèse d'une implication indirecte des stéroïdes sexuels dans la différence de croissance entre les mâles et les femelles.

Nous avons cherché à préciser dans l'expérience VII le rôle des relations entre les stéroïdes sexuels et les hormones thyroïdiennes sur la croissance des mâles et des femelles chez le tilapia. Chez les salmonidés et chez l'anguille, une supplémentation en androgène, particulièrement la méthyltestostérone entraîne une augmentation significative des niveaux de T3 (MacLatchy et Eales, 1988) alors qu'une supplémentation à l'oestradiol-17β diminue très significativement les niveaux (Olivereau *et al.*, 1981; Leatherland, 1985). Nous avons donc analysé la croissance de mâles et de femelles gonadectomisés et supplémentés en androgène ou en oestrogène, et les relations potentielles avec les niveaux circulants de T3.

Deux autres expériences (VIII et IX) complémentaires ont ensuite permis de tester plus spécifiquement l'implication de l'oestradiol-17β dans la faible croissance des femelles et dans les activités enzymatiques des désiodinases pour la production de T3. Il a été mis en évidence chez l'anguille une la diminution des niveaux de T3 chez les animaux traités à l'oestradiol-17β et cette diminution serait liée à une inhibition des activités des désiodinases responsables de la conversion extrathyroïdale de T4 en T3 (Olivereau *et al.*, 1981; Cyr *et al.*, 1988).

Nous avons testé cette hypothèse en administrant à des femelles et des mâles de l'ATD ou du tamoxifène. L'ATD (compétiteur de l'androsténedione) est un puissant inhibiteur de l'aromatase qui contrôle la production des oestrogènes. Le Tamoxifène ou ICI 46,474 est un antioestrogène qui agit par compétition avec l'oestradiol-17β sur ses récepteurs cytoplasmiques. Comme il se lie aux récepteurs à l'E2-17β, il peut posséder toutefois de faibles effets oestrogéniques (Harper et Walpole, 1967). Ces traitements ont été appliqués dans un premier temps à plus court terme, uniquement sur des femelles (expérience VIII) et dans un second temps, à long terme sur des femelles et sur des mâles (expérience IX).

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

2.1. Expérience VI

2.1.1. Les poissons

Les animaux utilisés au cours de cette expérience proviennent du stock d'*Oreochromis niloticus* (souche Bouaké) maintenus dans les installations expérimentales du laboratoire de Physiologie des Poissons à Rennes. 200 poissons sexuellement matures (100 mâles et 100 femelles) issus tous d'une même fécondation sont répartis en quatre lots de 50 individus (25 mâles et 25 femelles). Le poids corporel moyen est de 92,2 ± 4,1 g pour les mâles et de 73,2 ± 3,3 g pour les femelles.

2.1.2. Conditions d'élevage et de prélèvements

Lors de la mise en lot, tous les poissons sont pesés et marqués individuellement à l'aide de marques spaghetti (Floy-tag). Les différents lots sont élevés séparément, dans des bacs plastiques (1 x 1 x 0,50 m), en circuit fermé, à une température moyenne de 27°C et une

Tableau XXIII : Intitulés des différents groupes avec les traitements réalisés au cours de l'expérience VII

Groupes	**Gonadectomisés**	**Supplémentés**	**Significations des abréviations**
« Tém »			témoin
« Sham »	non mais opéré		témoin opéré
« Adré »	x	adrénostérone	implanté adrénostérone
« Oest »	x	oestradiol-17β	implanté oestradiol-17β
« Gdx »	x		gonadectomisé

photopériode de 12:12. Un des lots est mis à jeun et les autres nourris à trois différentes rations (1, 2 ou 3% de la biomasse par jour). L'aliment est distribué en continu, pendant toute la photophase, à l'aide de distributeurs à tapis. L'expérience a duré 2 semaines.

A la fin de l'expérience, tous les poissons sont à nouveau pesés individuellement après une mise à jeun de 24 heures et tués. Des prélèvements de sang et d'échantillons de muscle sont ensuite effectués sur chaque individu (voir chapitre I pour le protocole de prélèvement). Pour éviter les problèmes de stress liés à la pêche successive des individus dans les bacs, les prises de sang ont été réalisées très rapidement et simultanément sur l'ensemble des animaux d'un lot, par une dizaine de personnes.

Des dosages de l'hormone de croissance (GH), des stéroïdes sexuels (11-KT et E2-17β) et des hormones thyroïdiennes (T4, T3) sont réalisés sur chaque individu. Les ARN totaux sont analysés sur chaque échantillon par spectrophotométrie d'absorption (voir chapitre I, paragraphe 8) et les protéines totales par la technique au Folin (Lowry *et al.*, 1951; voir chapitre I, paragraphe 8).

2.2. Expérience VII

2.2.1. Les poissons

Les animaux utilisés au cours de cette expérience *(Oreochromis niloticus*, souche Bouaké, installations expérimentales de Rennes) sont tous issus d'une même fécondation. Une partie des individus est castrée selon la technique chirurgicale décrite au chapitre I, à un poids moyen d'environ 20 g. Une partie des animaux gonadectomisés est ensuite supplémentée, à un poids corporel moyen de 62 g pour les mâles et de 57 g pour les femelles (non significativement différent), en «Adré»ostérone (Sigma) précurseur de la 11-cétotestostérone ou en oestradiol-17β (IBF) à une dose de 1 mg/g de poids corporel (tableau XXI) . Les hormone sont administrées en solution dans du beurre de cacao (Coopération Pharmaceutique Française) à raison de 200 µl par poisson. Pour une partie des animaux témoins (non gonadectomisés) la cavité péritonéale est juste ouverte sans prélèvement des gonades (témoin-opérés = «Sham») ni administration de beurre de cacao.

2.2.2. Conditions d'élevage et de prélèvements

Trois semaines après la gonadectomie, les animaux ayant récupéré de cette opération, sont individuellement pesés et marqués à l'aide de transpondeurs magnétiques. Ils sont alors implantés et repartis en 5 lots (tableau XXI) et mis en croissance dans des bacs séparés (t0). Ils sont élevés en circuit fermé, à une température de 27°C et une photopériode de 12L:12N. Ils sont nourris *ad libitum* (cf. Tableau X), pendant toute la photophase, à l'aide de distributeurs à tapis.

A 18 jours post-implant (t18) et à la fin de l'expérience à 81 jours post-implant (t81), une pesée individuelle et un prélèvement de sang sont réalisés sur l'ensemble des animaux des 5 lots. Des prélèvements de foie, de rein, de cerveau, de branchies et de gonades sont également effectués sur tous les animaux à la fin de l'expérience selon les conditions précédemment décrites dans le chapitre I.

Les rapports gonado-somatiques et hépato-somatiques sont calculés pour l'ensemble des animaux selon les formules précédemment décrites.

Des analyses d'hormones stéroïdiennes, la 11-KT et l'E2-17β et thyroïdiennes, la T4 et la T3 sont réalisées sur les trois séries de prélèvements sanguins. Après extraction des fractions microsomales, des dosages de l'activité enzymatique des désiodinases sont réalisés sur le foie, le rein, le cerveau et les branchies.

2.3. Expérience VIII

2.3.1. Les poissons

Les animaux de cette expérience sont issus d'une même fécondation réalisée dans les installations expérimentales à Rennes. 16 femelles de poids moyen 48 g sont pesées et marquées individuellement par des transpondeurs magnétiques et des marques spaghetti (Floy-tag). Un lot de femelle (8) est supplémenté à l'ATD (1,4,6-androstratriène-3,17-dione, Steraloids Inc.),à une dose de 50 µg/g de poids vif, dans des implants de Silastic.

2.3.2. Conditions d'élevage et de prélèvements

Ces femelles marquées, implantées ou non, sont élevées dans le même bassin (1 x 1 x 0,50 m) que 60 autres individus mâles et femelles issus de la même fécondation. Ils sont élevés à une température de 27°C et une photopériode de 12:12. Elles sont nourris *ad libitum* (cf. Tableau X) pendant toute la photophase à l'aide de distributeurs à tapis.

Un suivi de la croissance et des niveaux plasmatiques individuels d'oestradiol-17β et de T3 des femelles marquées est réalisé tous les 14 jours pendant toute la durée de l'expérience avec une pesée et un prélèvement hebdomadaire les deux premières semaines.

2.4. Expérience IX

2.4.1. Les poissons

Les animaux de cette expérience sont issus d'une même fécondation réalisée à la station expérimentale du GAMET à Montpellier. Ils ont été transférés à Rennes à un poids moyen d'environ 20 g et élevés en circuit fermé dans les bacs de 1 x 1 x 0,50 m, jusqu'à environ 55 g. A cette taille, 64 individus (32 mâles et 32 femelles) sont pesés et marqués individuellement par des transpondeurs magnétiques. Le poids corporel moyen, non significativement différent, est respectivement de 62 g pour les mâles et de 57 g pour les femelles. 2 lots de 16 animaux (8 mâles et 8 femelles par lot) sont supplémentés, soit par l'ATD (1,4,6-androstratriène-3,17-dione, Steraloids Inc.), soit par du tamoxifène (trans 1-(p-β-dimthylaminoéthoxyphényl)-1,2-diphénylbut-1-ène ou ICI 46474, Sigma) à une dose de 50 µg/g et 3 µg/g de poids corporel respectivement, dans des implants Silastic. Deux lots de 16 individus (8 mâles et 8 femelles) dont l'un est implanté uniquement avec du Silastic servent de témoins.

2.3.2. Conditions d'élevage et de prélèvements

Tous les animaux sont élevés en circuit fermé, dans un même bassin de 2 x 1 x 0,50 m, à une température de 27°C et une photopériode de 12:12. Ils sont nourris *ad libitum* (cf. Tableau X) pendant toute la photophase à l'aide de distributeurs à tapis. Une pesée individuelle de l'ensemble de chaque animal est réalisée toutes les deux semaines depuis la mise en croissance jusqu'à la fin de l'expérience (85 jours post-implant).

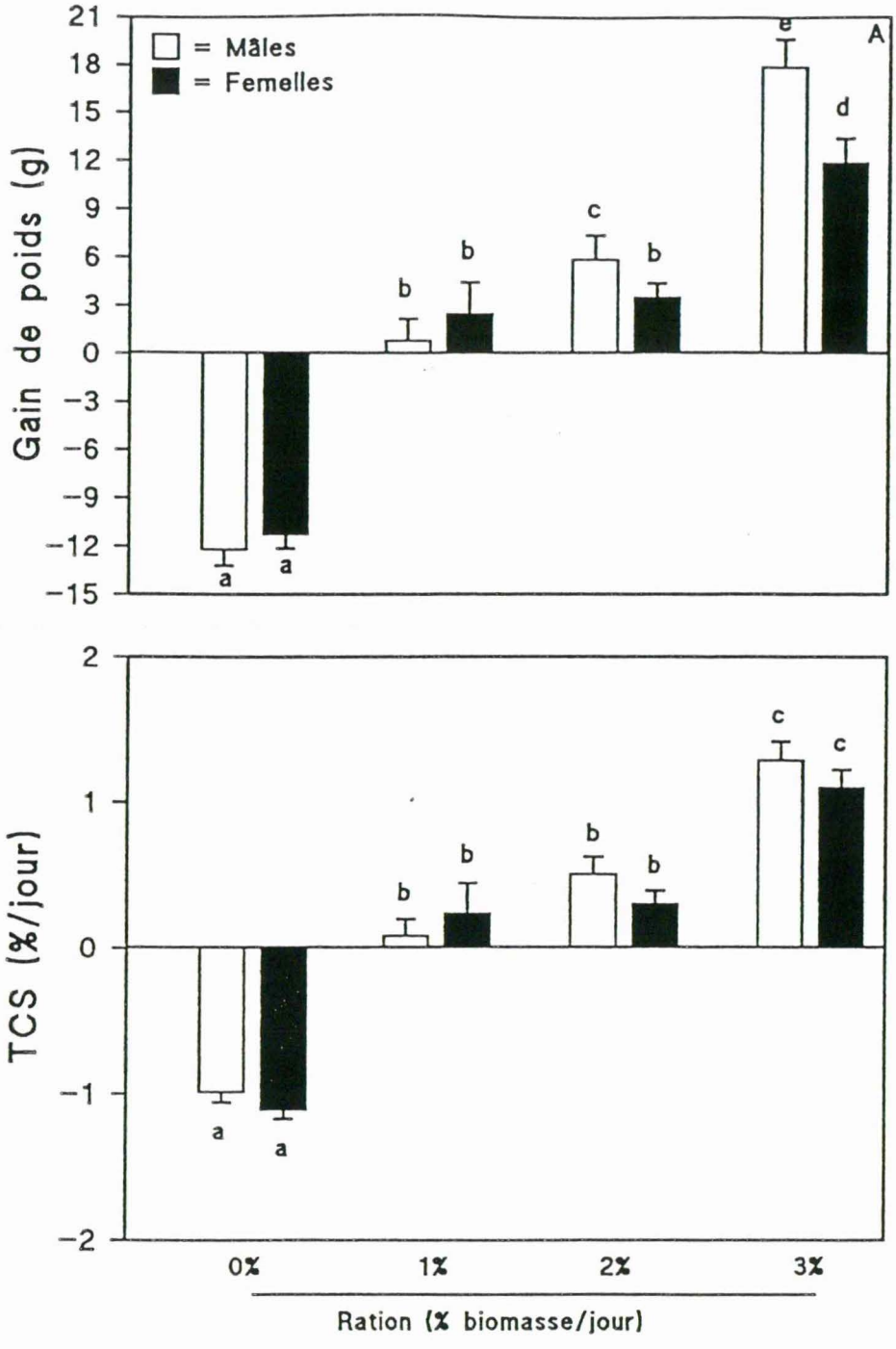


Figure 51 : Gain de poids moyen (A) et taux de croissance spécifique (B) en fonction du sexe et de la ration alimentaire à la fin de l'expérience. Moyenne + SEM. n = 25 individus par sexe et par ration. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont signifivativement différentes ($p<0,05$).

Des prélèvements de sang sont réalisés toutes les deux semaines à partir du 57ème jour jusqu'à la fin de l'expérience sur les femelles supplémentées en ATD et les femelles implantées avec du Silastic. Un dosage de l'oestradiol-17β est réalisé sur chaque échantillon des trois séries de prélèvements.

3. RESULTATS

3.1. Expérience VI

Aucune mortalité n'est observée au cours de l'expérience. L'analyse des performances de croissance révèle une perte de poids chez les animaux mis à jeun, et un gain de poids qui augmente avec la ration alimentaire, chez les animaux nourris (figure 51A). Cette tendance est observée aussi bien chez les mâles que chez les femelles. Des différences significatives ($p<0,001$) de gain de poids absolu sont observées uniquement entre les mâles et les femelles nourris à 2% ou 3%. Le taux de croissance spécifique augmente également avec la ration alimentaire, mais il n'y a pas de différence significative entre les mâles et les femelles pour un même niveau d'alimentation (figure 51B). Cependant, une analyse de variance à deux facteurs (niveau d'alimentation et sexe) sur l'ensemble des individus des différentes rations alimentaires, avec le poids initial comme covariable, révèle une différence significative du taux de croissance entre les deux sexes en faveur des mâles.

L'analyse du rapport ARN/protéines dans le muscle blanc révèle une augmentation de ce rapport avec la ration alimentaire (figure 52), avec toutefois des valeurs faibles pour le lot nourris à 2% du poids vif par rapport à la tendance globale. Aucune différence significative n'est observée entre les mâles et les femelles quelque soit le niveau d'alimentation. Une corrélation positive est observée entre le taux de croissance spécifique (TCS) et le rapport ARN/Protéines, elle est significativement plus forte chez les mâles ($r = 0,76$; $n= 90$; $p<0,001$) que chez les femelles ($r = 0,71$; $n= 106$; $p<0,001$).

Les niveaux plasmatiques de l'hormone de croissance (GH) présentent une forte variabilité interindividuelle particulièrement chez les animaux à jeun. Les niveaux les plus élevés sont observés chez les animaux à jeun, ces niveaux diminuent avec l'augmentation de la ration alimentaire, les plus faibles taux étant observés chez les individus nourris à 2%. On observe une élévation des niveaux de GH chez les animaux nourris à 3% (figure 53) par rapport à ceux nourris à 2%. Aucune différence significative n'est observée entre les mâles et

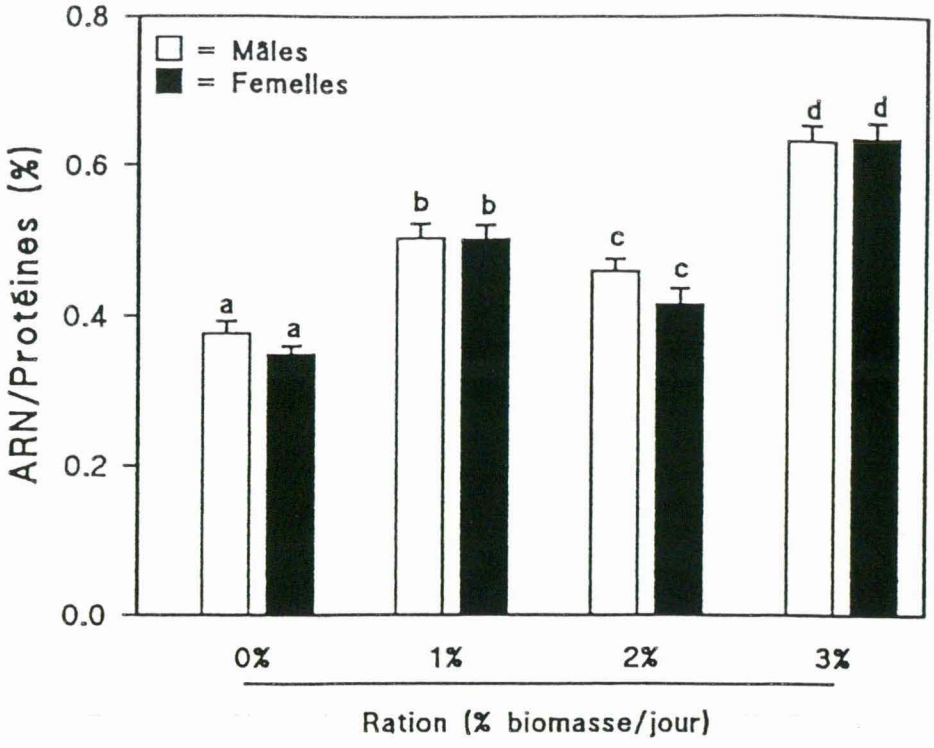


Figure 52 : Rapport ARN/protéines en fonction du sexe et de la ration alimentaire à la fin de l'expérience. Moyenne + SEM. n = 25 individus par sexe et par ration. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont signifivativement différentes ($p<0,05$).

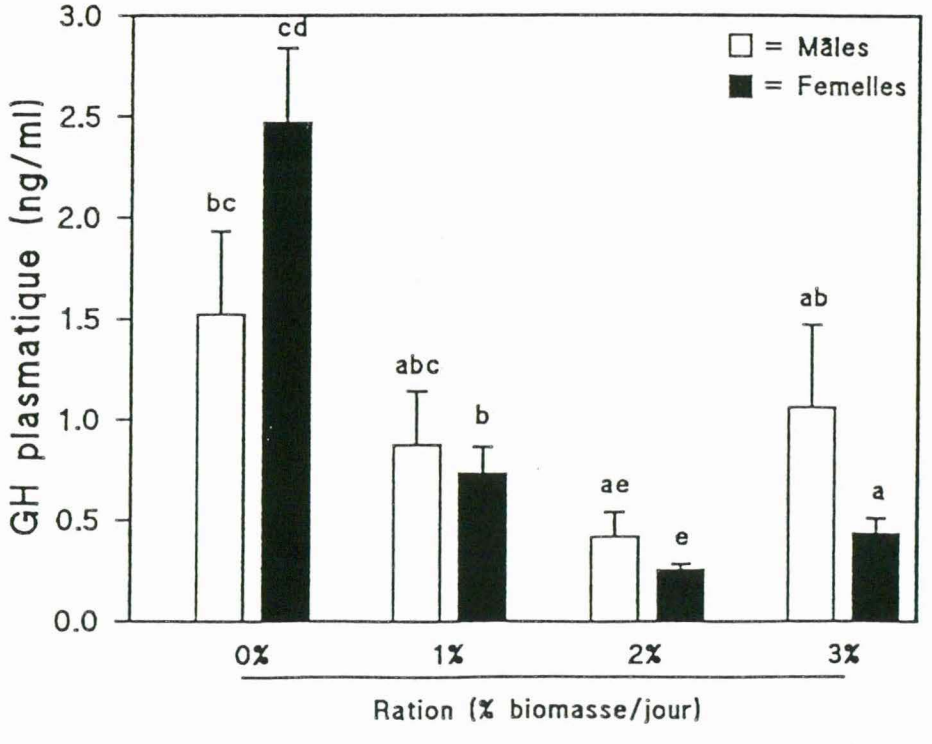


Figure 53 : Niveaux plasmatiques de l'hormone de croissance (GH) en fonction du sexe et de la ration alimentaire à la fin de l'expérience. Moyenne + SEM. n = 25 individus par sexe et par ration. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont signifivativement différentes ($p<0,05$).

les femelles pour une même ration. Par ailleurs, nous n'avons pas observé de corrélation significative entre ces niveaux circulants de GH et le TCS.

Le taux circulant de T4 ne semble pas être affecté par la ration alimentaire, excepté pour les mâles du lot nourri à 3% du poids vif, qui présentent des valeurs significativement plus élevées (figure 54A). Les taux circulants de T3 sont significativement plus forts chez les animaux nourris à 2% ou 3% que chez les individus mis à jeun ou nourris à 1%. Quel que soit le niveau d'alimentation, les mâles ont des niveaux plasmatiques de T3 significativement plus élevés que les femelles (figure 54B). Une corrélation positive, bien que faible, est observée entre la T3 et le TCS. Cette corrélation est plus forte chez les mâles ($r = 0,46$; $n= 90$; $P<0,001$) que chez les femelles ($r = 0,35$; $n= 105$; $p<0,001$). Par ailleurs, une forte corrélation positive ($r = 0,64$) est observée entre le logarithme de la T3 et le logarithme du poids corporel final (figure 55). Le coefficient de pente de la droite de régression, est significativement plus élevé chez les mâles ($b= 1,31$) que chez les femelles ($b= 0,87$).

Il n'y a pas de relation claire entre la ration alimentaire et les niveaux circulants de 11-KT et d'E2-17β. Les teneurs en 11-KT sont significativement plus élevées chez les mâles que chez les femelles (figure 56A) alors que les taux d'E2-17β (56B), sont plus élevés chez les femelles que chez les mâles, toutefois les différences ne sont significatives que chez les animaux à jeun ou nourris à 2 ou 3%.

Les taux circulants de 11-KT augmentent avec le taux d'alimentation chez les mâles. Chez les femelles, par contre, le taux de 11-KT est plus faible chez les animaux à jeun, élevé chez les animaux nourris à 1 et 2% du poids vif.

Les taux circulants d'E2-17β sont faibles chez les animaux à jeun ou nourris à 1%, élevés chez les individus nourris à 2% et de nouveau faibles chez les animaux nourris à 3% du poids vif.

Une faible corrélation positive est observée entre la 11-KT et la T3 aussi bien chez les mâles ($r = 0,35$; $n= 82$, $p<0,01$) que chez les femelles ($r = 0,28$; $n= 89$; $p<0,01$).

3.2. Expérience VII

La technique de gonadectomie chirurgicale que nous avons mis au point a permis d'obtenir une ablation complète ou quasi complète des gonades. Aucune mortalité ni effets secondaires (mauvaise croissance, malformation) n'ont été observés durant toute la phase de cicatrisation et de récupération (3 semaines). Bien que les rapports gonado-somatiques soient variables d'un traitement à l'autre, les individus gonadectomisés (Gdx) ont, d'une manière

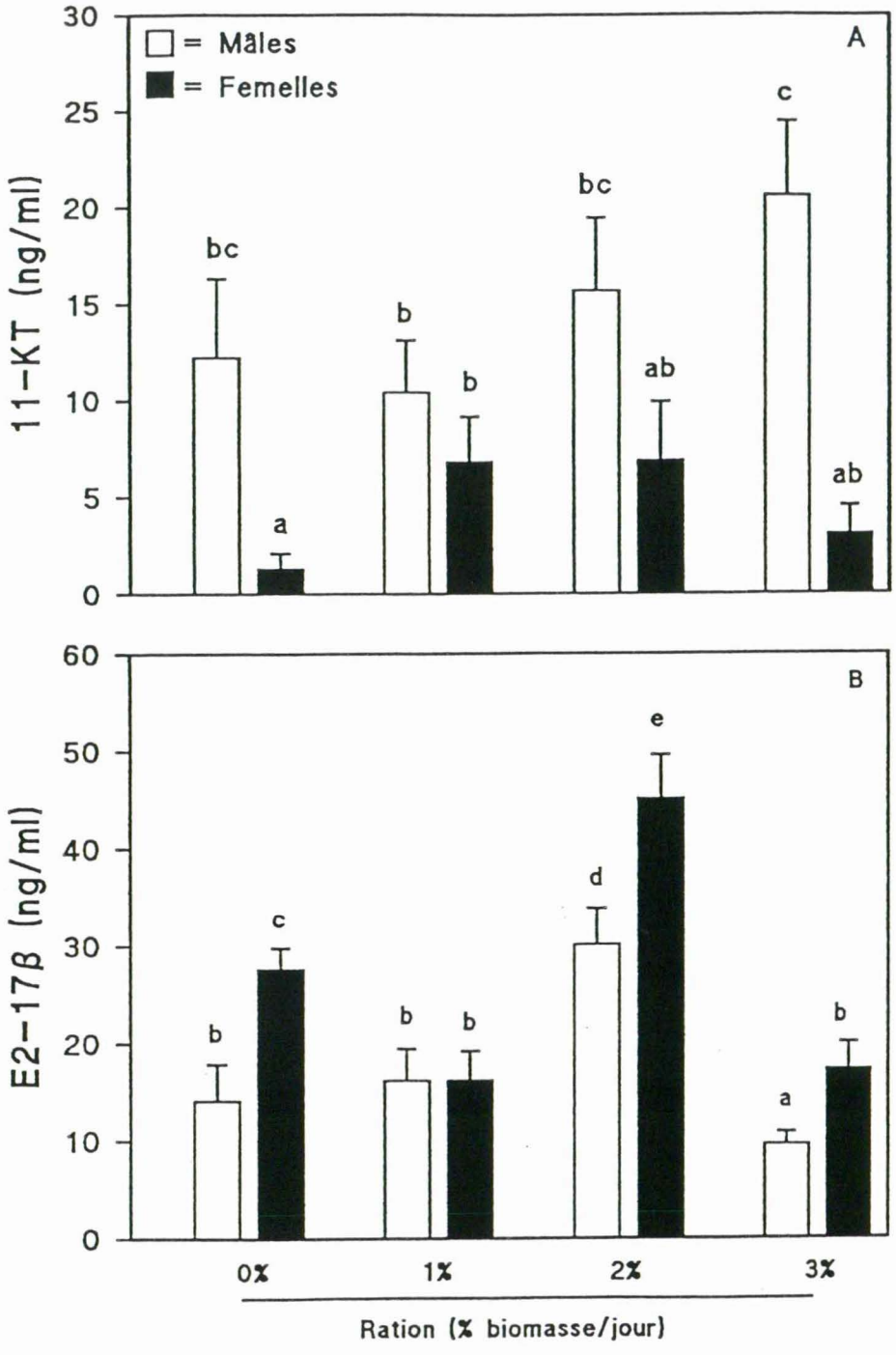


Figure 56 : Niveaux plasmatiques de 11-KT (A) et de E2-17β (B) en fonction du sexe et de la ration alimentaire à la fin de l'expérience. Moyenne + SEM. n = 25 individus par sexe et par ration. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont signifivativement différentes ($p<0,05$).

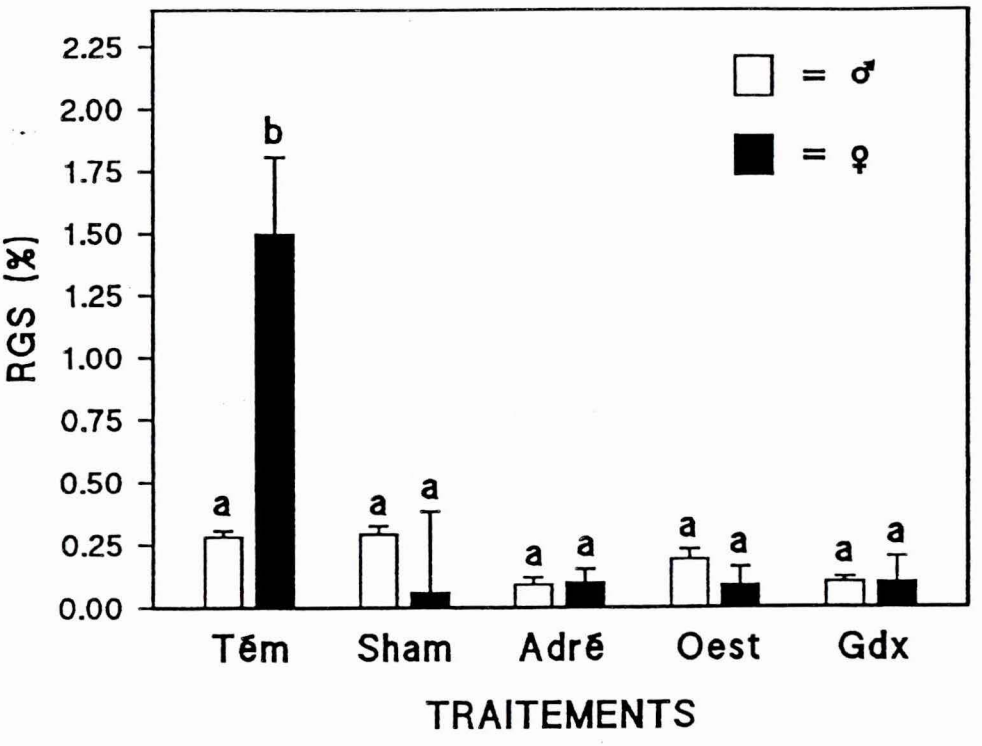


Figure 57 : Rapports gonado-somatiques à la fin de l'expérience. n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

générale, les plus faibles RGS (figure 57). Nous avons cependant observé chez certains individus des morceaux de gonades alors que chez d'autres, aucun fragment n'a été trouvé. Les RGS les plus élevés sont observés chez les femelles du groupe « Tém » et les plus faibles chez les Gdx mâles et femelles.

3.2.1. Performances de croissance

L'analyse des poids corporels, 18 jours après l'administration des hormones par implant, révèle des différences de croissance entre les traitements. Les croissances les plus élevées sont observées, tous sexes confondus, chez les « Sham» et les plus faibles chez les individus du groupe Oest (figure 58B). On observe par ailleurs des différences de croissance significatives entre les mâles et les femelles dans tous les groupes, excepté le groupe « Gdx ». Ces différences de croissance entre mâles et femelles sont plus marquées dans les groupes « Tém », et «Sham» (Tableau XXIII). Par ailleurs, les mâles du groupe « Oest » ont le taux de croissance le plus faible de tous les mâles.

En fin d'expérience, les poids corporels moyens sont assez homogènes, aussi bien entre les mâles qu'entre les femelles, des différents groupes (figure 58C). Les plus faibles croissances sont observées chez les animaux du groupe « Oest » pour les mâles et chez les «Sham» pour les femelles. Par ailleurs, les différences de croissance entre les mâles et les femelles sont significatives ($p<0,01$) dans tous les groupes, excepté le groupe « Oest ».

3.2.2. Statut endocrinien

3.2.2.1. Les stéroïdes sexuels

Dix-huit jours après implantation, des niveaux de 11-KT très significativement ($p<0,001$) supérieurs, à tous les autres groupes, sont observés chez les animaux du groupe «Adré» (figure 59A). A la fin de l'expérience, l'analyse des taux circulants, réalisée chez les animaux des deux sexes, révèle des niveaux significativement plus élevés chez les mâles que chez les femelles, sauf chez les animaux des groupes «Adré» et « Oest » (figure 59B). Les taux de 11-KT chez les femelles du groupe «Adré» sont équivalents ou supérieurs à ceux des mâles de tous les groupes, excepté le lot « Tém »..

Les taux d'E2-17β, 18 jours après implantation, sont très significativement ($p<0,001$) élevés chez les femelles du groupe « Oest » (figure 60A). Dans les autres groupes, les niveaux sont très faibles en particulier chez les femelles des groupes « Gdx » et « Adré ». En fin

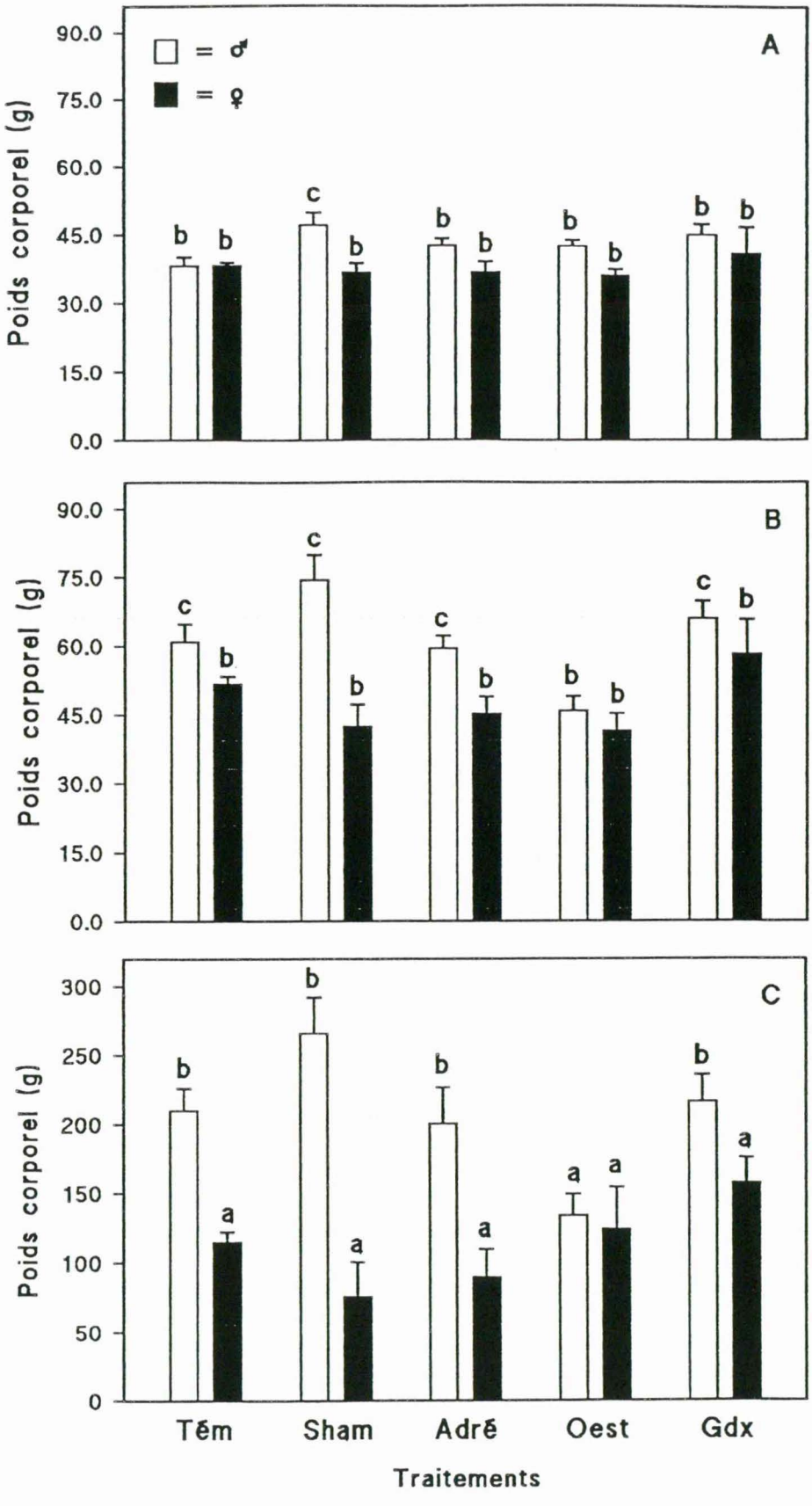


Figure 58 : Poids corporels moyens à t0 (A), à t18 (B) et à la fin de l'expérience, t81 (C). n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

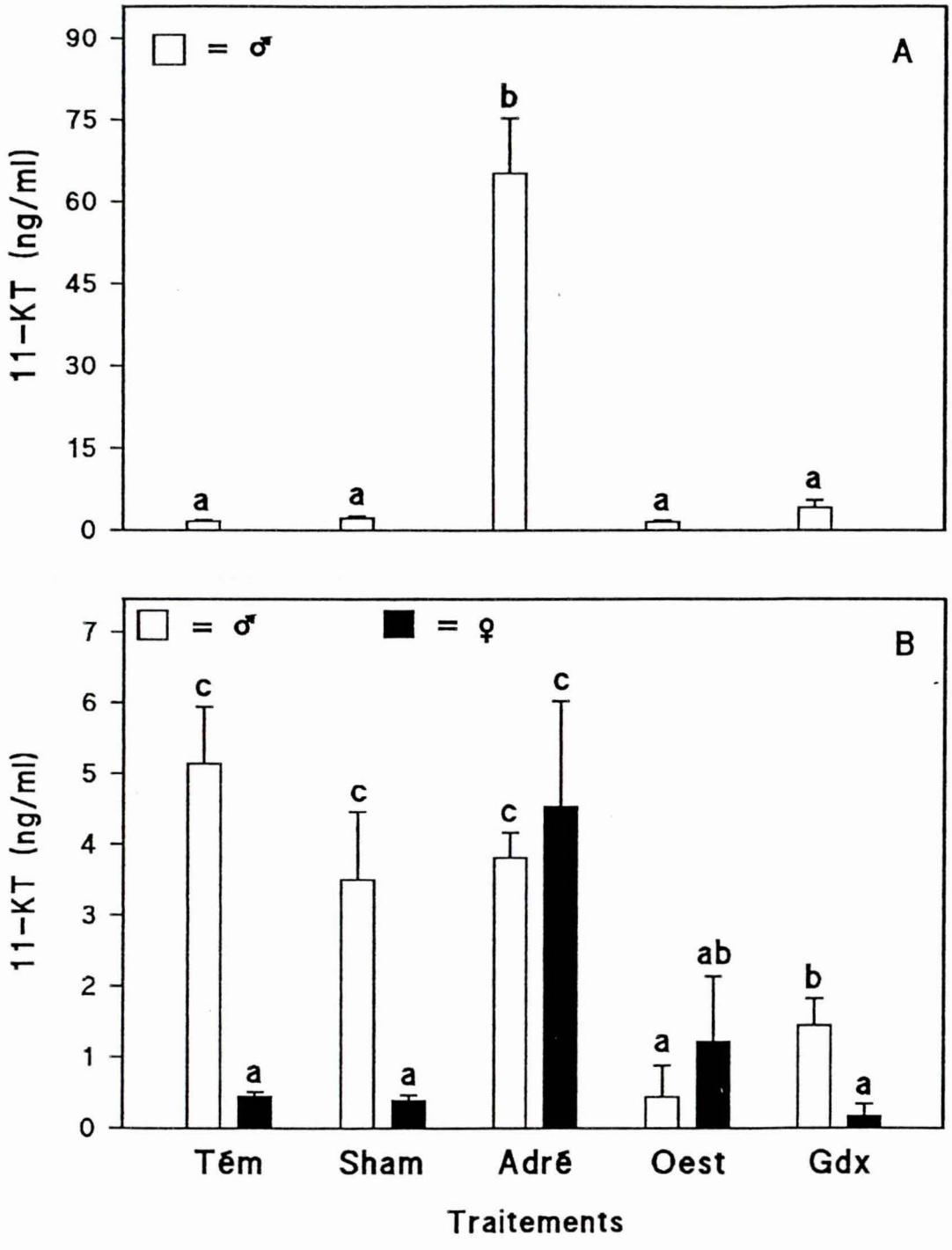


Figure 59 : Taux plasmatiques de 11-KT à t18 (A) et à la fin de l'expérience, t81 (B). n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

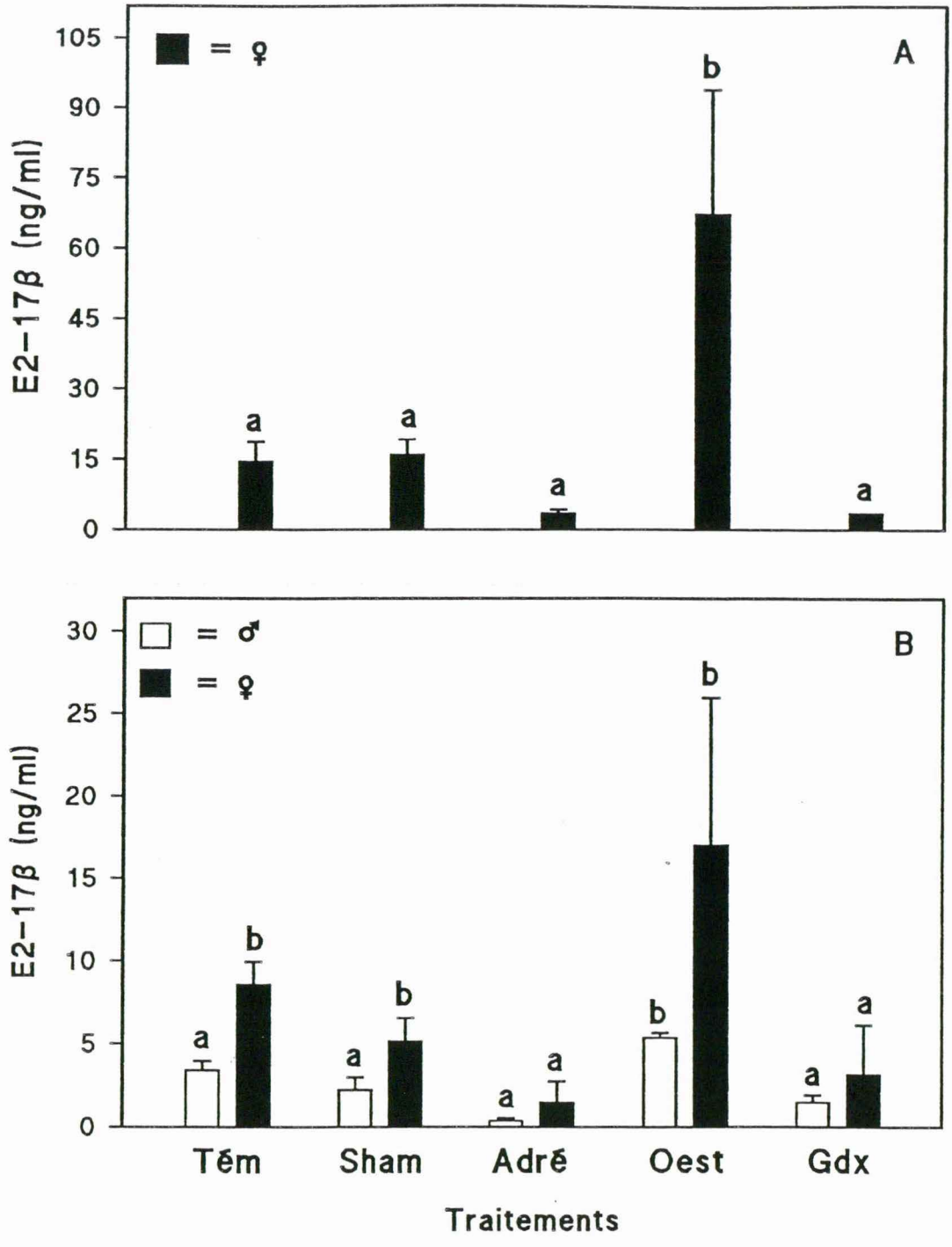


Figure 60 : Taux plasmatiques de E2-17β à t18 (A) et à la fin de l'expérience, t81 (B). n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

d'expérience, les niveaux d'oestradiol-17β les plus élevés sont obtenus chez les individus du groupe « Oest », femelles comme mâles, et les plus faibles chez les individus du groupe «Adré» (figure 60B). On note par ailleurs une très forte diminution à la fin de l'expérience des niveaux chez les femelles du groupe « Oest » par rapport aux taux observés à 18 jours après la pose de l'implant, bien que ce groupe ait des valeurs toujours supérieures aux autres groupes.

3.2.2.2. Les hormones thyroïdiennes

Dix-huit jours après implantation, les niveaux circulants de T4 sont équivalents entre les différents groupes, excepté le lot « Gdx » (figure 61A). Les plus faibles taux sont observés chez les animaux des groupes « Tém » et «Sham». Aucune différence significative n'est observée entre les mâles et les femelles au sein des différents groupes. Cependant, une tendance à de plus forts niveaux chez les femelles que chez les mâles est observée chez les « Gdx » qui les taux les plus élevés. En fin d'expérience, les niveaux plasmatiques sont assez homogènes entre les différents groupes excepté les individus du lot « Adré » qui ont des niveaux très élevés (figure 61B). Les taux circulants chez les mâles du lot « Sham » sont significativement supérieurs ($p<0,01$) à ceux des femelles du même lot.

L'analyse des niveaux de T3, 18 jours après implantation, révèle une certaine homogénéité des niveaux exception faite du groupe « Oest » (figure 62A). Les individus de ce dernier groupe ont des niveaux significativement plus faibles que dans les autres lots. Dans la plupart des groupes, les niveaux sont significativement plus importants chez les mâles que chez les femelles. Contrairement à la T4, les niveaux de T3 en fin d'expérience sont assez homogènes, surtout chez les mâles (figure 62B). Comme à 18 jours après implantation, les plus faibles taux parmi les mâles sont observés en fin d'expérience chez les individus du groupe « Oest ».

3.2.3. Les désiodinases

L'analyse de l'activité des désiodinases, en fin d'expérience, révèle une grande variabilité inter et intra-groupes. Dans le rein, les niveaux d'activité de la désiodinase du noyau externe, ORD I (Outer Ring Deiodinase, type I) peuvent être scindés en deux groupes. Un premier groupe composé des lots « Tém », «Sham» et «Adré», présente des niveaux d'activité significativement plus élevés que ceux du second groupe (« Oest », « Gdx »). La plus faible activité est observée chez les mâles « Gdx » et la plus forte chez les mâles du groupe «Adré» (figure 63A). Ces derniers ont, par ailleurs des niveaux d'activité significativement ($p<0,05$)

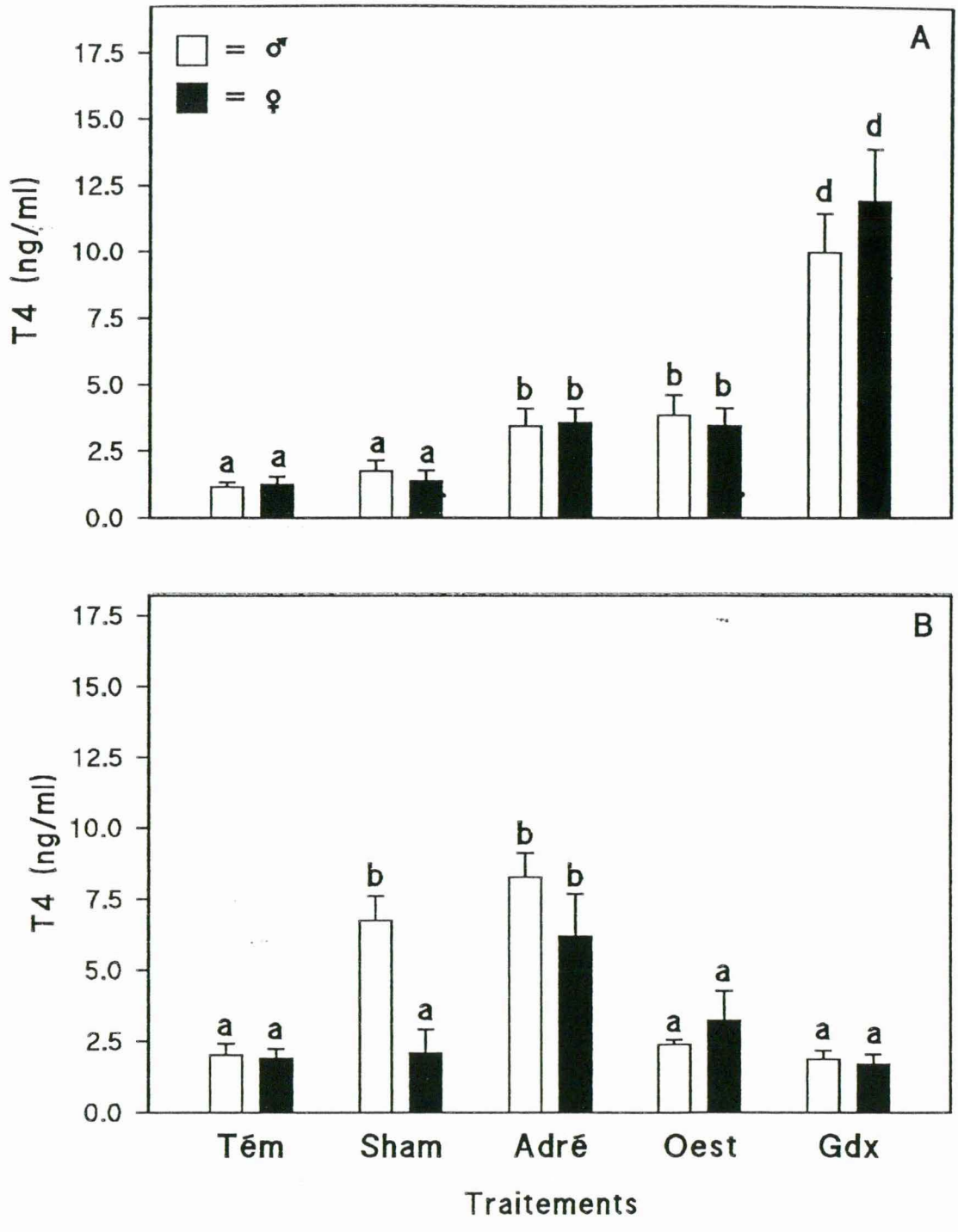


Figure 61 : Taux plasmatiques de T4 à t18 (A) et à la fin de l'expérience, t81 (B). n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

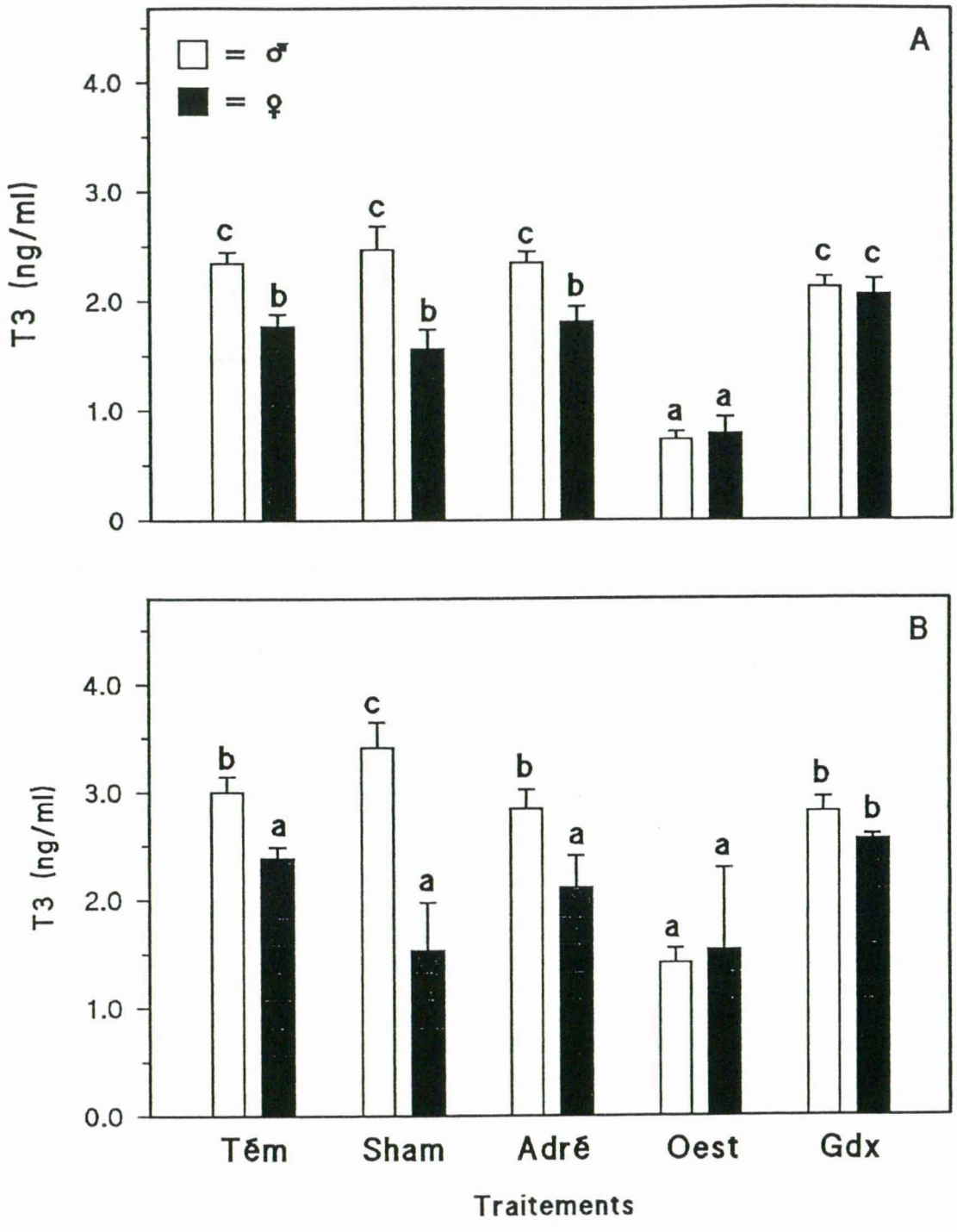


Figure 62 : Taux plasmatiques de T3 à t18 (A) et à la fin de l'expérience, t81 (B). n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

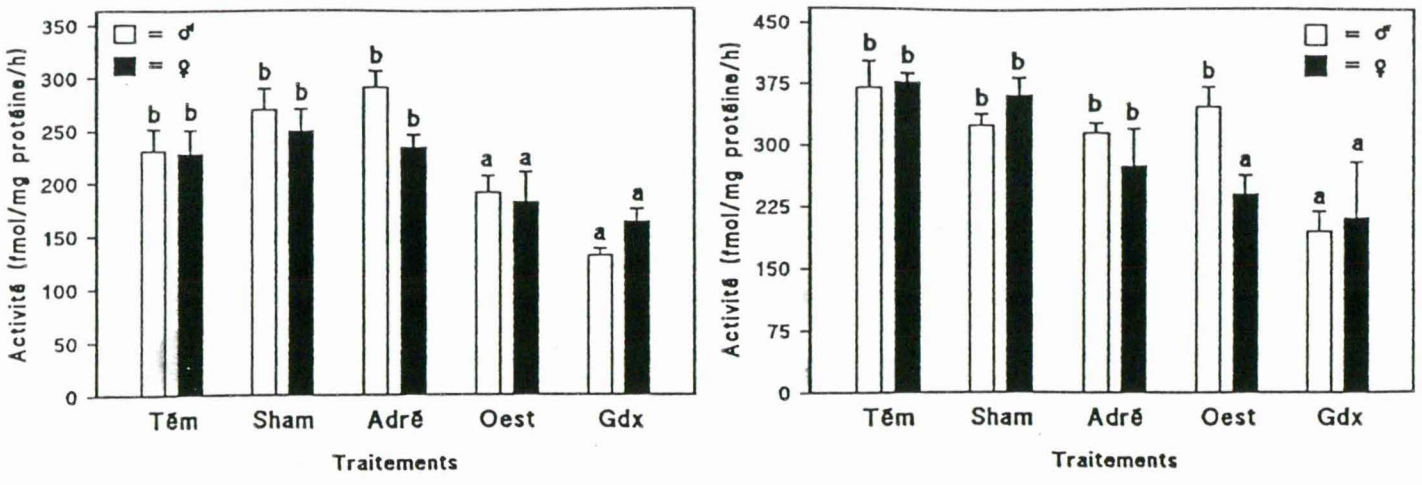


Figure 63 : Activités moyennes de l'ORD I dans le rein (A) et de l'ORD II dans le foie (B) chez des mâles (200 g) et des femelles (120 g) à la fin de l'expérience. n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

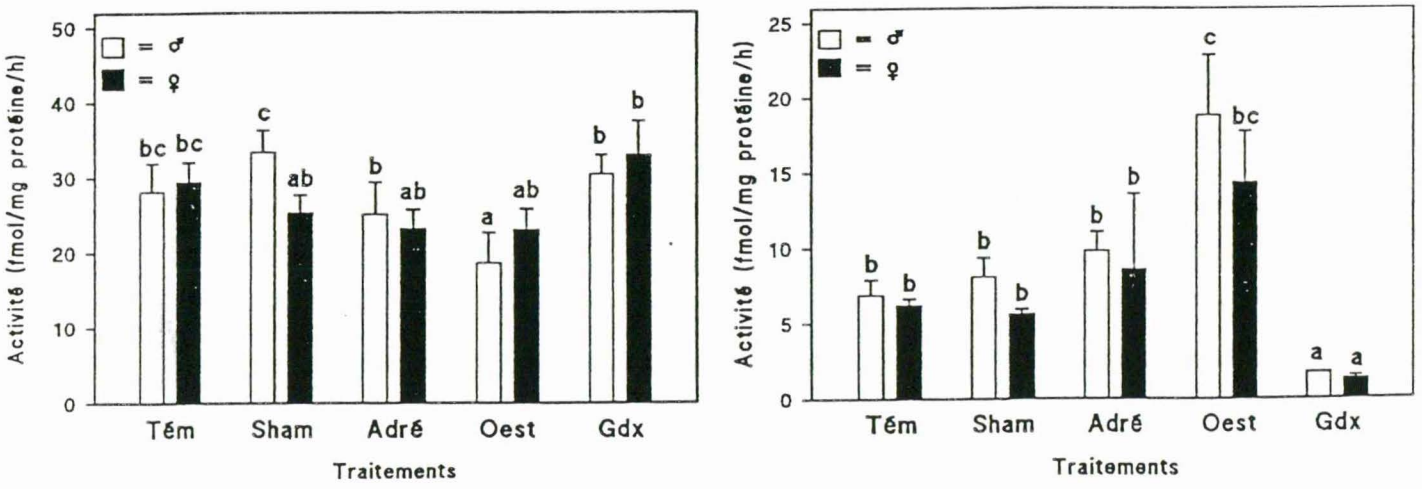


Figure 64 : Activités moyennes de l'IRD III dans le cerveau (A) et dans les branchies (B) chez des mâles (200 g) et des femelles (120 g) à la fin de l'expérience. n = 20 individus par traitement (10 poissons par sexe). Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

supérieurs à ceux des femelles. Aucune différence significative n'est observée entre les mâles et les femelles.

L'activité de l'ORD II dans le foie est homogène entre les différents groupes, excepté le lot « Gdx » (figure 63B). Les plus faibles activités sont observées chez les « Gdx ». L'activité de cette enzyme est plus élevée chez les mâles du lot « Oest » que chez les mâles du lot «Adré», mais les différences ne sont pas significatives.

L'activité de la désiodinase du noyau interne, IRD III (Inner Ring Deiodinase, type III) dans le cerveau varie très peu avec le type de traitement. Elle est pratiquement identique entre les mâles et les femelles sauf chez les «Sham» et les individus du groupe «Adré» (figure 64A). A l'inverse des «Sham» où l'activité est significativement plus élevée chez les mâles par rapport aux femelles, elle est significativement plus faible chez les mâles du groupe « Oest ». Par ailleurs, l'activité de cette enzyme dans les branchies est très élevée chez les animaux, mâles comme femelles, du lot « Oest » et très faible chez les « Gdx » (figure 64B). Elle est assez homogène entre les autres traitements.

3.3. Expérience VIII

Une différence de croissance, bien que non significative, est observée en faveur des femelles ATD dès 14 jours après implantation (figure 65). Cette différence de croissance devient significative dès 28 jours après implantation et à la fin de l'expérience, les femelles ATD présentent un poids corporel moyen très significativement ($p<0,01$) supérieur à celui des femelles témoin. L'analyse des taux de croissance spécifique révèle une différence significative ($P<0,05$) à la fin de l'expérience (figure 66).

Aucune différence significative n'est observée entre ces 2 lots de femelles pour les RGS (2,01 et 1,89 respectivement pour les ATD et les témoins). On observe, toutefois, une grande variabilité interindividuelle du RGS particulièrement chez les femelles implantées à l'ATD.

L'analyse des niveaux d'oestradiol-17β révèle une diminution d'environ 75% par rapport au taux initial dès le 7ème jour après implantation (figure 67A). Ces niveaux remontent ensuite très rapidement pour atteindre des taux non significativement différents de ceux des femelles témoins, 28 jours après implantation. Les taux de cette hormone sont restés assez stables chez les femelles témoins, avec toutefois une légère diminution à la fin de l'expérience. Par contre, les taux de T3 ne sont significativement différents qu'à la fin de l'expérience, les femelles traitées à l'ATD ayant les plus forts niveaux (figure 67B).

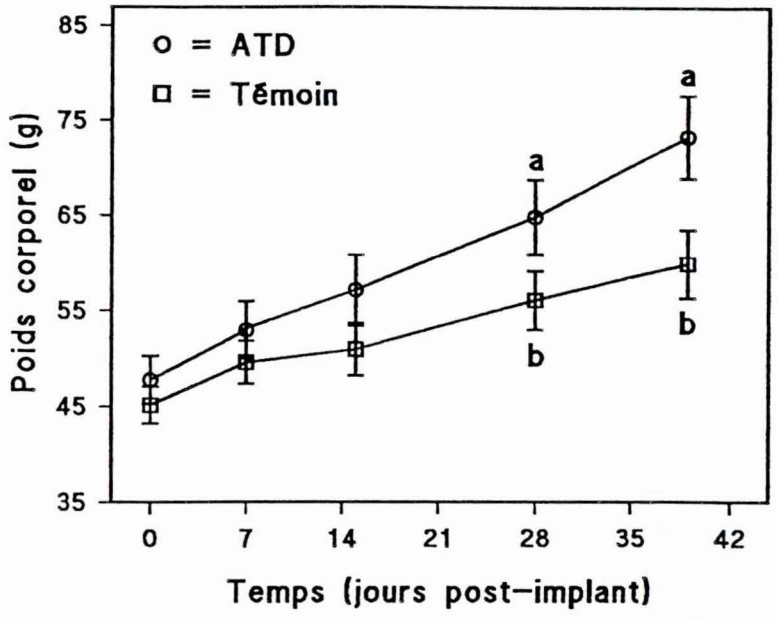


Figure 65 : Evolution du poids corporel des femelles témoins et des femelles implantées à l'ATD au cours de l'expérience. n = 8 individus par sexe et par traitement. Moyenne ± SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

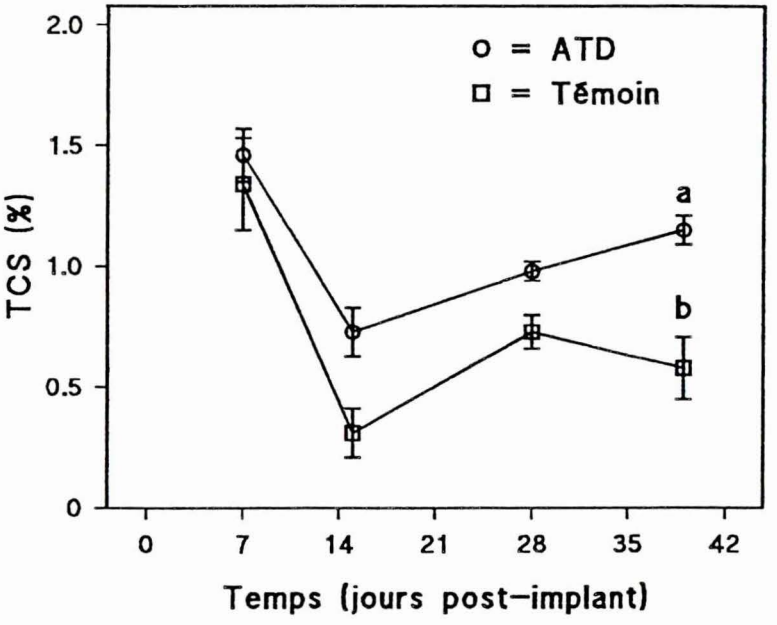


Figure 66 : Evolution du taux de croissance spécifique chez les femelles témoins et les femelles implantées à l'ATD au cours de l'expérience. n = 8 individus par sexe et par traitement. Moyenne ± SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

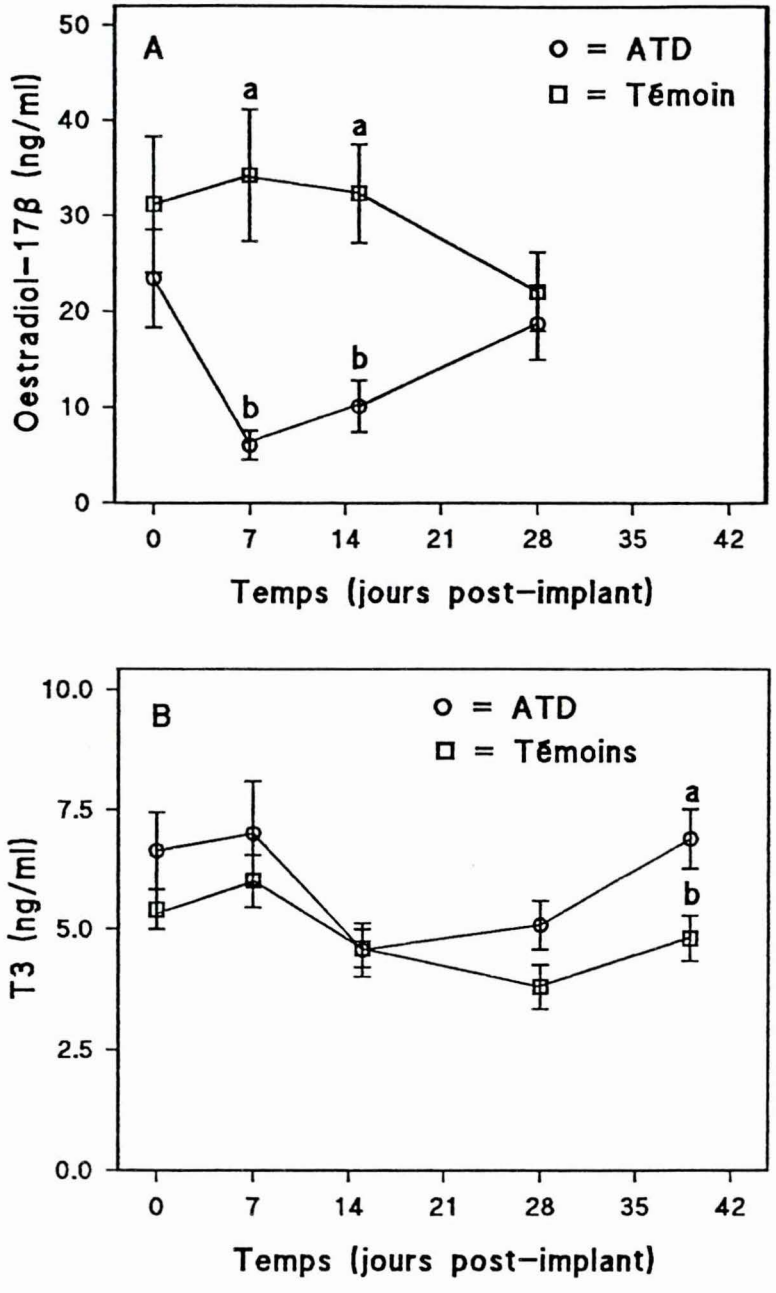


Figure 67 : Evolution du taux d'E2-17β (A) et de T3 (B) chez les femelles témoins et les femelles implantées à l'ATD au cours de l'expérience. n = 8 individus par sexe et par traitement. Moyenne ± SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

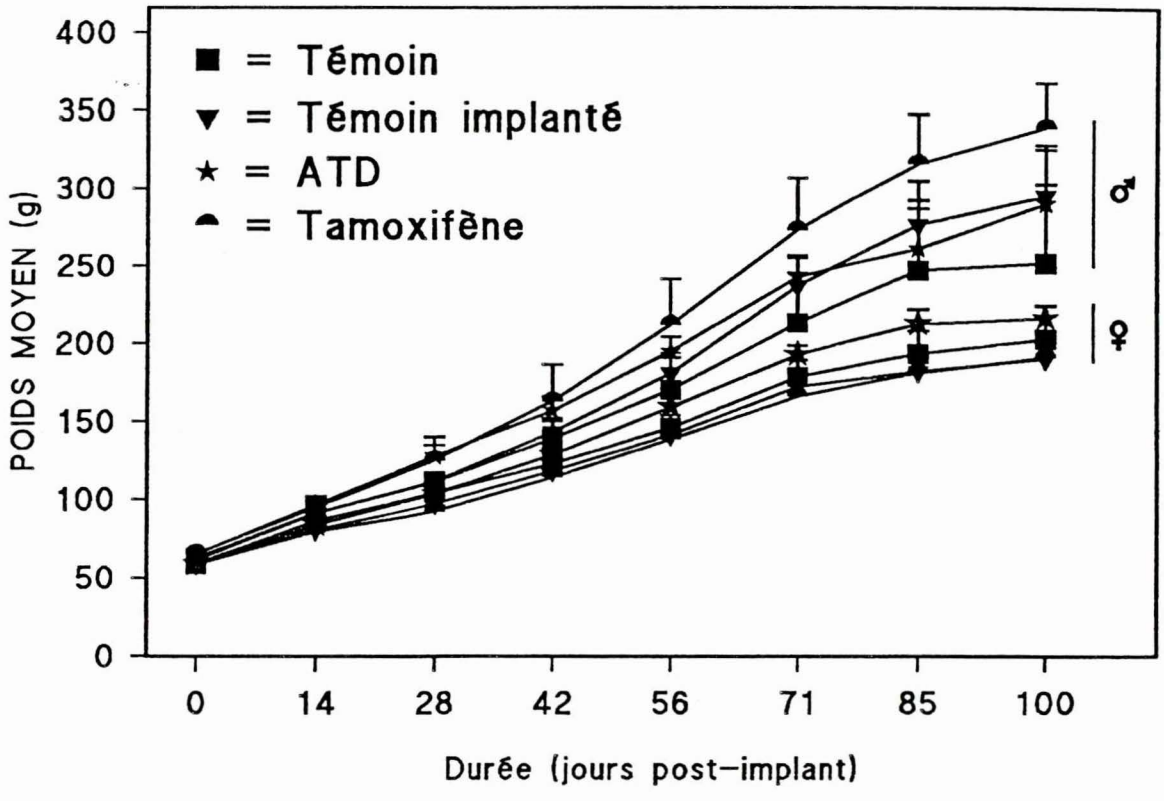


Figure 68 : Evolution du poids corporel des mâles et des femelles en fonction du traitement au cours de l'expérience. n = 8 individus par sexe et par traitement. Moyenne + SEM.

3.4. Expérience IX

Aucune mortalité n'est observée au cours de l'expérience. L'analyse des performances de croissance montre une certaine homogénéité de croissance au sein des différents lots mâles comme femelles (figure 68). On observe, cependant parmi les lots femelles, une légère tendance à une meilleure croissance des femelles ATD alors que chez les mâles, cette tendance concerne les individus implantés avec du tamoxifène qui présentent cette même caractéristique. Ces différences ne sont toutefois pas significatives. L'analyse des poids corporels finaux révèle des différences significatives entre les mâles et les femelles d'un même traitement, sauf chez les témoins.

Les rapports gonado-somatiques sont très significativement ($p<0,01$) plus élevés chez les femelles que chez les mâles (figure 69A). Exceptés les mâles implantés à l'ATD, ce rapport est assez homogène d'une part entre les femelles, et d'autre part entre les mâles. Le rapport hépato-somatique est également plus élevé chez les femelles que chez les mâles, avec cette fois une tendance à un plus fort rapport chez les mâles implantés tamoxifène (figure 69B). On observe, cependant, de fortes variabilités entre les individus d'un même traitement.

L'analyse des taux circulants d'E2-17β chez les femelles ATD et implantées Silastic, ne révèle pas de différence significative (figure 70). Ces niveaux diminuent ensuite très significativement 2 semaines après pour se stabiliser à des taux 3 fois inférieurs à ceux observés 57 jours après implantation. Aucune corrélation significative n'est observée entre le poids corporel et les niveaux plasmatiques d'oestradiol-17β à la fin de l'expérience.

5. DISCUSSION

5.1. Relais endocriniens potentiels de la croissance différentielle liée au sexe

Les résultats de la première expérience montrent qu'il est possible d'induire différents taux de croissance, sur une courte période de 2 semaines, chez des individus d'une même fécondation en les rationnant. Cette donnée constitue un avantage chez le tilapia car elle permet d'analyser plus spécifiquement les relations entre la croissance et les niveaux circulants des hormones sur une période bien précise.

Les modifications du taux de croissance spécifique (TCS) induites par l'accroissement de la ration alimentaire sont associées à des différences significatives des niveaux circulants des hormones analysées. Les modifications les plus importantes concernent les niveaux circulants

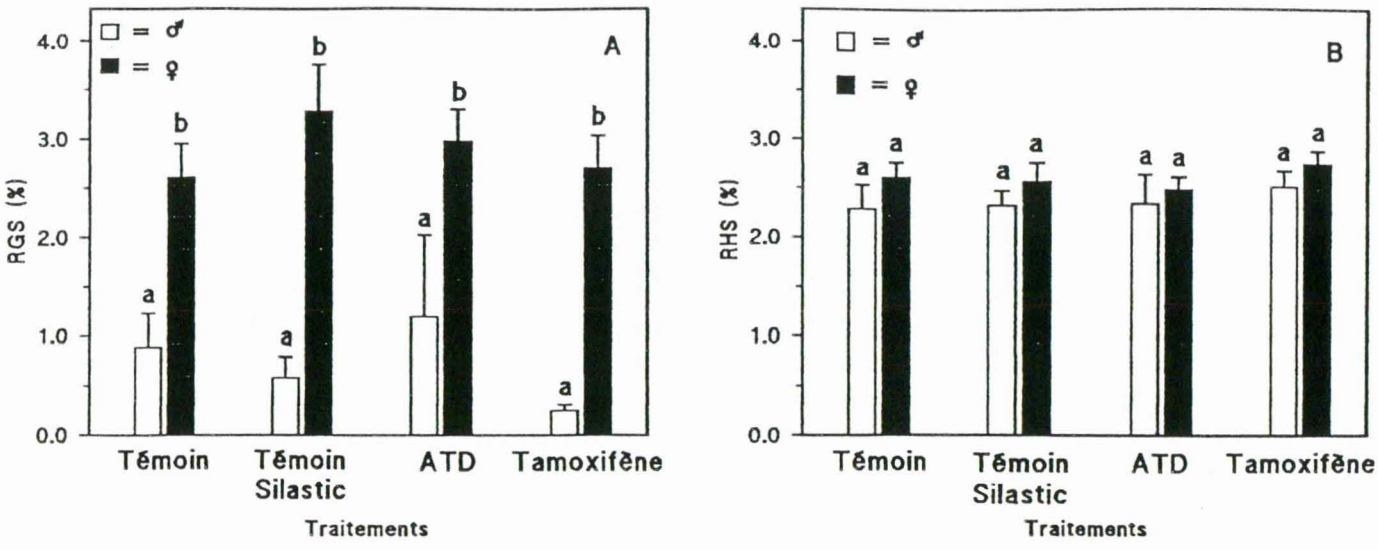


Figure 69 : Rapports gonado-somatiques (A) et hépato-somatique (B) des mâles (250 g) et des femelles (200 g) en fonction du traitement au cours de l'expérience. n = 8 individus par sexe et par traitement. Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

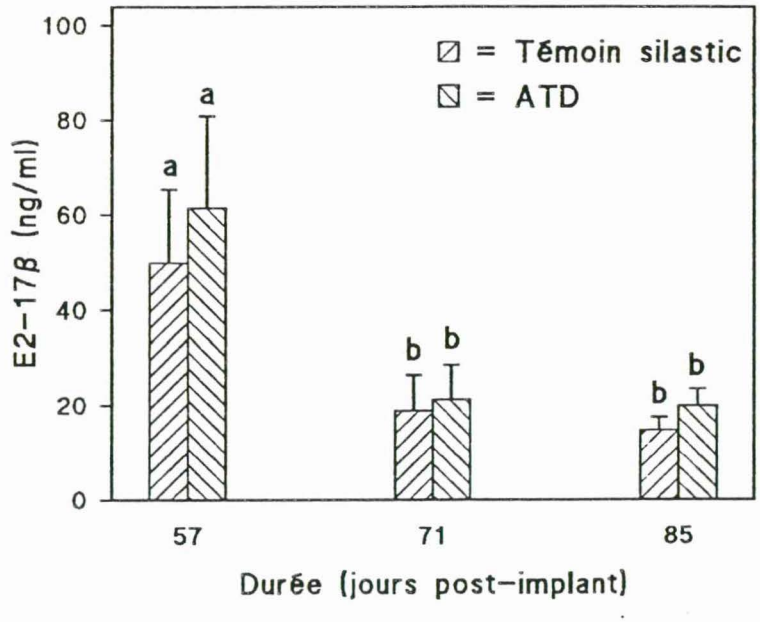


Figure 70 : Evolution des niveaux plasmatiques de E2-17β chez les femelles témoins implantées au Silastic et les femelles implantées à l'ATD au cours de l'expérience. n = 8 individus par sexe et par traitement. Moyenne + SEM. Les moyennes repérées par des lettres différentes sont significativement différentes ($p<0,05$).

de la GH, qui présentent une variation bimodale en relation avec la ration alimentaire. De forts niveaux de GH sont observés chez les animaux restreints et à jeun. Ils résulteraient d'une décroissance de la réceptivité des récepteurs hépatiques à cette hormone, comme cela a été montré chez le saumon coho. Cette baisse de la réceptivité entraînerait une diminution de la sécrétion de somatomédine et une suppression du rétrocontrôle négatif de celle-ci sur la sécrétion de GH, ce qui entraînerait des taux élevés de GH circulant (Le Bail *et al.*, 1991b). Il existe donc une relation inverse entre le taux circulant de GH et le taux de croissance chez les animaux restreints et les animaux nourris. On observe cependant une remontée des niveaux chez les animaux nourris à 3% par rapport à ceux nourris à 2%. Ceci suggère que le taux circulant de GH peut être relié dans une certaine mesure au taux de croissance lorsque la croissance est significative. Cette relation entre la GH et le taux de croissance est souvent difficile à mettre en évidence chez les poissons à cause de la variation des niveaux de GH au cours du nycthémère liée à la pulsatilité de la sécrétion (Le Bail *et al.*, 1991a). De plus, la GH n'a pas d'effet direct sur la croissance somatique, mais induit la formation d'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1, somatomédine) qui agit directement au niveau tissulaire (Peter et Marchant, 1995). Compte tenu du rétrocontrôle négatif des IGFs sur la sécrétion de GH mentionné précédement, les taux circulants de GH sont souvent faibles. La mise en évidence d'une relation même faible chez le tilapia constitue donc un résultat intéressant.

Aucune différence significative de niveau circulant de GH n'est observée entre les mâles et les femelles, comme cela a été montré chez les mammifères (Blake *et al.*, 1984) et les oiseaux (Bacon *et al.*, 1989). Chez le rat en effet, le taux de synthèse par hypophyse (Burek et Frohman, 1970; MacLeod *et al.*, 1969) et la quantité de GH dans l'hypophyse (Birge *et al.*, 1967; Sinha *et al.*, 1979), de même que l'amplitude des pulsations (Eden, 1979; Jansson *et al.*, 1984) sont significativement plus importants chez le mâle que chez la femelle. Toutefois, nous pouvons observer certaines tendances entre mâles et femelles. Les taux de GH des mâles à jeun sont plus faibles que ceux des femelles alors que le taux de GH des mâles nourris à 2 et 3% sont plus élevés que ceux des femelles des mêmes lots. Ces données suggèrent que la GH est probablement impliquée dans le différentiel de croissance entre les mâles et les femelles chez le tilapia. Toutefois, comme la relation GH et croissance, la relation GH et croissance différentielle est faible et difficile à étudier, et seules des approches *in vitro* dont nous ne disposons pas chez le tilapia permettraient d'approfondir le mode d'action de la GH.

Le statut des hormones stéroïdiennes des animaux à jeun est caractéristique de chaque sexe (11-KT élevée chez les mâles et E2-17β élevée chez les femelles) et équivalent à celui des animaux correctement nourris. Il est couramment observé en élevage que les tilapias, soumis à des restrictions alimentaires s'engagent dans la maturation sexuelle même si les individus sont de très faible taille (phénomène de nanisme; Lowe-Mc-Connell, 1982). Le taux de rationnement (1% du poids vif) qui correspond à une ration de maintien (TCS proche de zéro) semble altérer le statut stéroïdien, les taux de 11-KT et d'E2-17β étant équilibrés dans les deux sexes. Ces résultats pourraient s'expliquer par rapport à l'orientation préférentielle de l'énergie métabolique vers la fonction de reproduction. Même si la fonction de reproduction est prioritaire, il pourrait y avoir un coût minimal d'utilisation des nutriments qui diminuerait alors l'énergie disponible pour la reproduction. Seules les femelles sont affectées par ce taux de rationnement intermédiaire qui se traduit par une augmentation de leurs taux circulants de 11-KT et une baisse de leurs taux circulants d'E2-17β. Le statut stéroïdien est rétabli chez les poissons nourris à 2% du poids vif. Les concentrations plasmatiques de 11-KT chez les mâles ont des valeurs, selon le taux d'alimentation, très différentes de celles des femelles. Elles sont faibles chez les femelles à jeun, augmentent pour les taux 1 et 2%, puis faibles pour le taux de 3% du poids vif. Il existe donc peut être une faible relation, chez les mâles nourris, entre la 11-KT, la T4 et la croissance. Dans de nombreuses espèces, les androgènes ont des effets positifs sur la croissance (Donaldson *et al.*, 1979; Higgs *et al.*, 1982) à travers une stimulation de la prise et/ou de la transformation alimentaire, mais aussi d'interactions synergiques avec d'autres hormones (Donaldson *et al.*, 1979). Toutefois, le taux de 11-KT circulant est également associé à la croissance des mâles. L'augmentation du taux circulants de 11-KT et de T4 en fonction du taux d'alimentation peut aussi induire une agressivité et une activité croissante des mâles. Quel que soit la ration alimentaire et le taux de croissance, les niveaux plasmatiques des stéroïdes sexuels sont significativement différents entre les mâles et les femelles. Ceci suggère que ces hormones sont probablement impliquées dans le déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe, mais semblent ne pas intervenir de façon directe car aucune corrélation significative n'est obtenue entre ces hormones et le taux de croissance spécifique.

Les niveaux plasmatiques des hormones thyroïdiennes augmentent avec l'accroissement de la ration alimentaire de manière plus significative pour la T3 que pour la T4. Cette tendance générale a été également observée chez d'autres espèces (Mc-Cormick et Saunders, 1990, Sweeting et Eales, 1992b). Des mécanismes différents peuvent expliquer les différences observées chez les animaux à jeun et chez les individus bien nourris. Les niveaux de T4, mais

pas les niveaux de T3 tendent à être plus élevés chez les individus mis à jeun comparativement à ceux nourris à 1%. Ceci pourrait s'expliquer par une diminution de la conversion extrathyroïdale de la T4 en T3 comme cela a été suggéré chez la truite (Eales, 1988). Les niveaux de T3 sont significativement plus importants chez les animaux nourris à 2 ou 3%, et ceux de T4 significativement plus importants chez les animaux nourris à 3% du poids vif. A ces deux taux d'alimentation, les taux circulants de la T3 sont significativement plus élevés que ceux de la T4, contrairement à ce qui est observé chez les mammifères,. Cette augmentation des niveaux de T3 pourrait être liée à une stimulation de la production au travers d'une augmentation de l'activité des désiodinases comme également suggérée chez la truite (Sweeting et Eales, 1992b).

Les taux plasmatiques de T3 sont significativement différents entre les mâles et les femelles, quel que soit la ration alimentaire alors que les taux de T4 sont seulement significativement différents entre les mâles et les femelles chez les animaux nourris à 3%. Ces différences de niveaux de T3 entre les deux sexes sont en accord avec ceux obtenus chez *Oreochromis aureus* (Mol *et al.*, 1994). La T3 est considérée comme la forme active des hormones thyroïdiennes car elle possède la plus grande affinité avec les récepteurs aux hormones thyroïdiennes (Bres et Eales, 1990; Bres *et al.*, 1990). Les taux plasmatiques de T3 sont fortement corrélés avec le TCS aussi bien chez les mâles que chez les femelles. Toutefois, la relation entre le poids corporel et la T3 est plus forte chez les mâles que chez les femelles, les taux circulants chez les femelles étant simplement liés au poids métabolique ($p = 0,8$; Winberg, 1956) alors que chez les mâles, la production de T3 serait largement supérieure à une simple relation avec le poids corporel. Ceci suggère une régulation différentielle entre les mâles et les femelles des niveaux circulants de cette hormone. En l'absence d'étude similaire chez d'autres poissons, il n'est pas possible d'établir si c'est le statut thyroïdien des femelles qui est déprimé ou celui des mâles qui est stimulé.

Compte tenu du rôle des hormones thyroïdiennes dans le contrôle de la croissance, cette différence de statut endocrinien entre les mâles et les femelles est en faveur de leur implication centrale dans la croissance différentielle. Ces résultats montrent également que la T3 est plus impliquée dans la croissance des mâles que celle des femelles chez le tilapia.

Le statut des stéroïdes sexuels étant très différent entre les mâles et les femelles, l'existence d'une relation avec le statut thyroïdien peut être recherché. Des travaux antérieurs chez l'omble chevalier ont montré en effet une augmentation des niveaux de T3 à travers des effets directs de la testostérone sur l'activité de la 5'monodésiodinase (MacLatchy et Eales,

Tableau XXIV : Récapitulatif des variations du différentiel de croissance entre mâle et femelle au cours de l'expérimentation VII et les facteurs endocriniens probables en jeu.

Groupes	Croissance mâle	Croissance femelle	Différentiel de croissance (% poids femelle)	Différentiel lié à (/ Tém)	Facteurs probables des différences
«Oest »	181	124	46	↘ mâle	E2-17β2 ↗ mâle T3 ↘ mâle + femelle
« Tém »	209	115	82		
« Adré »	208	90	131	↘ femelle	11-KT ↗ femelle
« Gdx »	216	158	37	↗ mâle ↗ femelle	
« Sham »	265	115	130	↗ mâle ↘ femelle	stress et cortisol

1988). Nous observons une corrélation significative entre la 11-KT et les hormones thyroïdiennes, et en particulier la T3. Cette relation est plus forte chez les mâles que chez les femelles. Les androgènes pourraient donc stimuler la production de T3 chez les mâles de tilapia, à travers l'activité de la 5'monodésiodinase. L'oestradiol-17β peut également agir négativement sur l'activité de cette enzyme (Cyr *et al.*, 1988). Dans notre expérience, aucune donnée ne permet pour le moment de supposer une telle action, puisqu'aucune corrélation n'est observée entre l'E2-17β et les niveaux circulants des hormones thyroïdiennes.

Les résultats de cette expérience suggèrent donc, que parmi les hormones analysées, la T3 qui est impliquée dans le contrôle de la croissance somatique, pourrait être un facteur de la différence de croissance entre les mâles et les femelles. En outre, les stéroïdes sexuels pourraient être impliqués dans le contrôle du métabolisme des hormones thyroïdiennes.

4.2. Relations entre les hormones thyroïdiennes et les stéroïdes sexuels : impacts sur la croissance différentielle entre les mâles et les femelles (tableau XXIII)

Les gonadectomies visent à obtenir des mâles et des femelles ayant un statut stéroïdien aussi bas que possible. Après l'opération, les animaux sont élevés pendant 3 semaines pour permettre une élimination des stéroïdes résiduels et une cicatrisation, mais aussi pour vérifier la reprise d'alimentation et dissiper le stress lié à l'opération, avant le début de l'expérience. Le suivi des niveaux plasmatiques de 11-KT chez les mâles et d'E2-17β chez les femelles (faute de quantité suffisante de plasma, les deux stéroïdes ne pouvaient être analysés simultanément pour chaque sexe), montre des taux très variables entre les lots, surtout chez les mâles. L'observation macroscopique des gonades à la fin de l'expérience a révélé une régénération de celles-ci chez certains individus. Des stéroïdes ont pu être synthétisés à partir de ces fragments régénérés. Des ovocytes ont même été observés chez certaines femelles qui possédaient une seule gonade de taille équivalente à la moitié d'un ovaire classique.

L'analyse du statut hormonal à la fin de cette période fait apparaître des profils très similaires de 11-KT et de T4 chez les mâles. Le déséquilibre endocrinien induit par la gonadectomie a peut être permis de mettre en évidence de façon nette ce type de relation. La croissance des différents lots n'étant pas différente, il est probable que, comme pour l'expérience précédente, ces taux reflètent des différences d'agressivité des individus des différents lots.

Dix-huit jours après implantation, seuls les mâles traités à l'adrenostérone et les femelles à l'E2-17β ont des niveaux très significativement élevés respectivement en 11-KT et en oestradiol-17β, ce qui montre que les implants de beurre de cacao ont bien relargué les stéroïdes. Les implants à l'adrenostérone, précurseur de la 11-KT, ont effectivement permis d'obtenir des taux très importants de ce stéroïde aussi bien chez les mâles que chez les femelles. De la même manière, les individus mâles et femelles du groupe « Oest » présentent de forts taux d'oestradiol-17β. Toutefois, la supplémentation par un stéroïde semble inhiber le statut du stéroïde spécifique de l'autre sexe (11-KT chez les mâles et E2-17β chez les femelles). L'analyse des relations entre les hormones thyroïdiennes et les stéroïdes sexuels, et leurs influence sur la croissance somatique peut toutefois être effectuée.

Les niveaux plasmatiques de T4 ne sont pas directement affectés par les différents traitements de supplémentation et de gonadectomie. Toutefois les niveaux observés 18 jours après la pose des implants semblent suggérer, par rapport aux vrais témoins et aux «Sham», un effet de la gonadectomie sur la sécrétion de T4. Les effets de fortes supplémentation en adrénostérone et en oestrogène diminuent la sécrétion de T4 par rapport aux individus gonadectomisés. Ceci pourrait impliquer un contrôle répressif non spécifique des stéroïdes sur la sécrétion de T4. Il est toutefois contradictoire avec d'autres effets potentiels stimulateurs. Le traitement à l'adrénostérone prolongé semble également stimuler la fonction thyroïdienne, ce qui va dans le sens des relations entre la 11-KT et la T4 observées après la gonadectomie. Si les taux de T4 reflètent le fonctionnement de la glande thyroïde, cette expérience montre qu'elle est particulièrement sensible à de nombreux facteurs : effets répressifs de la concentration d'hormones stéroïdiennes. Très peu de différences sont observés entre les niveaux de T4 chez les mâles et chez les femelles.

Les taux circulants de T3 sont significativement différents selon le sexe des individus et selon le traitement. Dix huit jours après implantation, on observe déjà des différences significatives entre les mâles et les femelles des lots « Tém », «Sham» et « Adré ». Cette même tendance est observée à la fin de l'expérience avec des différences entre mâles et femelles encore plus significatives dans pratiquement tous les lots. Ces résultats sont en accord avec ceux de la précédente expérience mais aussi avec les travaux réalisés chez d'autres espèces qui montrent des niveaux significativement plus élevés de T3 chez les mâles (Mol *et al.*, 1994).

A 18 jours post-implant, des taux de T3 significativement plus faibles sont observés chez les individus mâles et femelles implantés à l'oestradiol-17β par rapport aux autres lots. En fin d'expérience, les individus, surtout mâles du lot traité à l'oestradiol-17β ont les plus faibles

niveaux de T3. Ces résultats suggèrent que les niveaux circulants de T3 peuvent être négativement influencés par l'oestradiol-17β. Aucun effet de l'adrenostérone sur les taux circulants de T4 n'est observé.

Les différences de niveaux circulants de T3 induites par la supplémentation en E2-17β sont en concordance avec les faibles performances de croissance de ce lot.

Plusieurs mécanismes sont proposés pour expliquer ces différences de niveaux de T3 entre mâles et femelles, et leur contrôle par l'oestradiol-17β. Il est bien établi chez les téléostéens, comme chez d'autres classes de vertébrés, qu'une faible proportion de la quantité totale de T3 circulante provient directement de la synthèse par la glande thyroïde. La quasi totalité de cette hormone proviendrait de la 5'monodésiodination par les tissus périphériques, mécanisme par lequel la T4, précurseur relativement inactif, est convertie en T3, forme biologiquement active des hormones thyroïdiennes (Eales, 1985; Leatherland, 1988; Kühn, 1990) par l'action d'enzymes spécifiques (ORD I et II). Cependant, la T3 n'est pas le seul produit du métabolisme des hormones thyroïdiennes car elle peut être à son tour transformée en T2 par d'autres enzymes, agissant essentiellement sur le noyau thyrosyl (IRD; Eales et Brown, 1993). Les niveaux circulants de la T3 résultent donc de l'équilibre entre ces deux systèmes enzymatiques qui assurent sa production et sa dégradation.

Nous avons analysé l'activité de l'ORD dans le foie et le rein. Des travaux ont, en effet, montré que chez le tilapia, contrairement aux mammifères, aux oiseaux, aux salmonidés et aux anguilles (Chopra *et al.*, 1978; Leatherland, 1981; Leonard et Visser, 1986; De Luze *et al.*, 1989; Eales, 1990; Kühn, 1990), l'activité enzymatique de désiodination de la T4 en T3 est nettement plus importante dans le rein que dans le foie (Byamungu *et al.*, 1992). Les activités de l'ORD dans le rein comme dans le foie sont affectées par les traitements, les activités des 2 enzymes étant plus élevées dans les lots « Tém », «Sham» et « Adré » que dans les autres lots (sauf les mâles du lot « Oest »). Les différences d'activités ne semblent pas être associées directement à des différences de niveaux de T3 et même à des différences de niveaux de T4 sauf peut être celui observé à 18 jours post-traitement, ce qui pourrait être associé à un mécanisme d'induction de ces enzymes par les niveaux de T4. Il n'existe pas de différence d'activité entre les mâles et les femelles, sauf dans le lot « Oest » qui se caractérise par des taux de T3 et de T4 équivalents dans les deux sexes. L'activité de ces enzymes de production de la T3 n'est donc pas limitante et n'est pas directement en relation avec les niveaux plasmatiques des stéroïdes sexuels comme cela a été montré chez d'autres espèces (Olivereau, *et al.*, 1981; Leatherland, 1985; Cyr *et al.*, 1988; Mac Latchy et Eales, 1988).

Nous avons analysé l'activité de l'IRD dans les branchies et dans le cerveau. Les activités les plus élevées de cette enzyme sont observées dans les branchies des poissons du lot « Oest ». Si l'on excepte le lot « Gdx », le profil selon les lots, de l'activité de cette enzyme dans les branchies est inverse de celui des taux de T3 circulants. Il peut être proposé que cette enzyme responsable de la dégradation de la T3 en T2 est régulée par l'E2-17β et participe au contrôle du taux circulant de T3. Cette activité n'est toutefois pas plus élevée chez les femelles que chez les mâles des lots témoins présentant un statut stéroïdien spécifique du sexe. La régulation par l'E2-17β de l'activité de cette enzyme serait donc complexe.

L'activité de la même enzyme dans le cerveau présente un profil selon les lots inverse de celui observé dans les branchies. Il reflète celui du taux circulant de T3, ce qui indique que cette enzyme est contrôlée par le taux circulant de l'hormone dans certains tissus comme nous l'avons suspecté pour l'ORD avec les niveaux de T4. Il peut s'agir dans le cas du cerveau d'un mécanisme d'épargne de la T3 dont la signification n'est pas évidente.

Ces résultats, en accord avec les précédentes données (expérience VI) suggèrent que le différentiel de croissance entre les mâles et les femelles pourrait être lié au statut stéroïdien spécifique des femelles caractérisé par de forts taux d'E2-17β. Cette hypothèse est confortée par la forte diminution de la croissance des mâles supplémentés à l'oestradiol-17β, mais aussi par l'augmentation de la croissance des femelles ovariectomisées qui ont de faibles taux d'E2-17β. Ces résultats montrent que le rôle des stéroïdes sexuels dans la croissance chez les poissons est très complexe et ne peut être généralisé. En effet, une inhibition de la croissance des femelles ovariectomisées et une stimulation par l'oestradiol-17β ont été montrées chez la perche (Malison *et al.*, 1985). Chez le tilapia, l'inhibition la croissance pourrait passer par une diminution du taux circulant de T3. Cette modulation des niveaux de T3 pourrait se faire principalement par une stimulation de la dégradation de T3 (augmentation de l'activité de la T3-IRD dans les branchies), plus que par une inhibition de l'activité de la T4-ORD dans le foie comme cela a été montré chez d'autres espèces (Olivereau *et al.*, 1981; Cyr *et al.*, 1988).

Aucun effet direct de la 11-KT, ni sur la croissance, ni sur les taux circulants de T3 n'a pu être mis en évidence. Toutefois, une relation faible entre la 11-KT et la T4 pourrait exister, ce qui correspondrait à la relation classique entre les androgènes et les hormones thyroïdiennes, observée chez d'autres espèces (Leatherland, 1985; MacLatchy et Eales, 1988). Cette absence de stimulation de la croissance des animaux du lot « Adré », qui ont pourtant eu de forts niveaux de 11-KT confortent l'hypothèse d'un différentiel de croissance lié plus à une faible croissance des femelles.

La différence de croissance entre les mâles et les femelles, serait donc plus liée à un effet inhibiteur des oestrogènes sur la T3 chez les femelles qu'à un effet stimulateur des androgènes. Toutefois, une interaction entre ces deux processus (production des hormones thyroïdiennes, dégradation de la T3) pourrait participer à la différence de croissance liée au sexe.

4.3. Rôles potentiels de l'oestradiol-17β dans la croissance différentielle liée au sexe

Si la différence de croissance entre les mâles et les femelles est liée à l'influence des oestrogènes, une inhibition de la synthèse de l'oestradiol-17β devrait permettre d'accroître la croissance des femelles. Nous avons donc suivi, à court et à long terme, dans les expériences VIII et IX les performances de croissance de femelles implantées à l'ATD comparées des femelles témoins afin donc de déterminer l'importance et le rôle de l'E2-17β sur la croissance somatique.

Les résultats obtenus montrent très clairement, d'une part que l'implant Silastic relargue rapidement l'ATD, (7 à 21 jours), et d'autre part que l'ATD inhibe effectivement la synthèse d'oestradiol-17β à court terme. Les effets de l'ATD observés dès 7 jours après implantation sont beaucoup plus précoces que chez la truite où les plus faibles taux d'E2-17β sont observés à 21 jours après implantation, pour des doses, type et volume d'implants identiques, ce qui indique un relarguage très rapide par l'implant. On observe par ailleurs une remontée très rapide des niveaux d'E2-17β qui deviennent identiques à ceux des témoins dès 28 jours après implantation, soit 7 jours après l'arrêt du relargage alors que chez la truite, des différences significatives sont encore observés dans les deux mois suivant l'implantation (Fostier, données non publiées). Les analyses éffectuées plus tardivement au cours de l'expérience IX montrent effectivement que l'ATD n'a plus d'effet sur des niveaux circulants d' oestradiol-17β, 57 jours après implantation. Les femelles, à la fin de cette expérience ont des RGS équivalentes à ceux des femelles non traitées. La cinétique de relarguage très rapide l'ATD et son effet transitoire sur l'E2-17β pourraient être liés à la température d'élevage du tilapia (27°C) qui est beaucoup plus élevée que celle de la truite (10-15°C). Les résultats montrent par ailleurs que le tamoxifène n'a pas d'effet à long terme sur les niveaux circulants d'oestradiol-17β.

La diminution des taux circulants d'oestradiol-17β est associée, à court mais pas à long terme (expérience IX) à une amélioration des performances de croissance chez les femelles implantées à l'ATD dès 15 jours après implantation. Cette différence de croissance entre les femelles implantées à l'ATD et les témoins augmentent et devient significative à 28 jours après implantation. Aucun effet n'est observé à long terme. Ces résultats suggèrent que l'inhibition de la synthèse de l'oestradiol-17β peut entraîner une augmentation de la croissance des femelles. Ceci est en accord avec les résultats de l'expérience VII, qui montraient une diminution de la croissance chez les animaux supplémentés à l'E2-17β. Par contre, les taux circulants de T3 ne sont significativement différents entre les femelles implantées à l'ATD et les témoins qu'à 39 jours après implantation (3 semaines après la chute des niveaux d'oestradiol-17β), ce qui va à l'encontre de l'effet négatif de l'oestradiol-17β sur les niveaux de de T3 suggéré dans l'expérience VII. L'absence de relation claire entre les niveaux de T3 et l'E2-17β au cours de cette expérience pourrait être liée à la remontée très rapide des niveaux d'oestradiol-17β, ce qui signifierait que l 'action de l'E2-17β sur les niveaux de T3 nécessite une modification prolongée des taux circulants, ou que la visualisation de cet effet n'est pas immédiat. Toutefois, comme dans l'expérience III et VII, les niveaux de T3 sont bien liés au poids corporel et au taux de croissance, et la liaison est plus forte chez les femelles implantées à l 'ATD que chez les témoins. Cependant, l'évolution des taux circulants de T3 semble tardive (28 jours post-implant) par rapport à l'évolution de la croissance (14 jours post-implant). Le relais par la T3 de l'action négative de l'oestradiol-17β sur la croissance n'est donc pas un relais simple. La T3 pourrait n'être qu'un simple témoin secondaire des différences de croissance.

5. CONCLUSION

La supplémentation en oestradiol-17β chez les mâles se traduit par une baisse de croissance alors que l'inhibition de la synthèse de l'oestradiol-17β chez les femelles se traduit par une augmentation de la croissance. Par contre l'élevation des niveaux de 11-KT chez les femelles ovariectomisées (par implant adrénostérone) ne stimule pas la croissance. L'effet anabolisant des androgènes serait donc mineurs, sauf s'i existe des récepteurs spécifiques chez les mâles. Cependant, nous n'avons pas observé d'effet non plus chez les mâles par rapport aux gonadectomisés. Ces résultats suggèrent une régulation négative de la croissance des femelles

par l'oestradiol-17β. Ceci pourrait révéler un autre mécanisme du déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe chez le tilapia. On pourrait imaginer une diminution de la croissance des femelles liée à une augmentation des taux circulants d'oestradiol-17β après la sexualisation et au moment de l'initiation de la maturation sexuelle. Il est également probable que le rapport 11-KT/E2-17β régule cette action de l'oestradiol-17β sur la T3 plus que le niveau absolu de l'E2-17β.

Le taux circulant de T3 est significativement corrélé avec le taux de croissance dans les deux sexes, et est plus précisément lié au poids métabolique chez les femelles et au poids corporel chez les mâles. Dans l'ensemble des expériences (III, VII, IX), le taux de T3 circulant est significativement plus élevé chez les mâles que chez les femelles. L'E2-17β semble stimuler sa dégradation chez les femelles et chez les mâles à travers un accroissement de l'activité de la T3-IRD dans les branchies. Le statut des hormones thyroïdiennes et plus spécifiquement de la T3 est différent entre les mâles et les femelles, et pourrait être en relation avec les effets de l'oestradiol-17β sur la croissance. L'oestradiol-17β et la T3 pourraient donc constituer un des relais endocriniens de la différence de croissance liée au sexe chez *Oreochromis niloticus*. Les hormones thyroïdiennes, même si elles n'agissent pas directement, constituent un bon témoin de la différence de croissance liée au sexe, permettant d'étudier sa mise en place et les facteurs extrinsèques et intrinsèques qui la contrôlent.

DISCUSSION GENERALE

1. Biologie et physiologie du tilapia

Cette étude sur la croissance différentielle liée au sexe et son déterminisme chez *Oreochromis niloticus* nous a d'abord permis d'acquérir un certain nombre d'informations de base sur la biologie et la physiologie générale du tilapia.

Dans le domaine du comportement, nous avons mis en évidence une sensibilité du tilapia aux facteurs sociaux qui modulent fortement sa croissance. Nous avons également montré que le tilapia est une espèce dont la prise alimentaire est préférentiellement diurne, avec deux pics d'activité en début et fin de photophase. Il a des capacités à s'alimenter pendant la phase nocturne, contrairement à la truite ou le poisson chat européen qui s'alimente exclusivement le jour ou la nuit (Boujard, 1995; Boujard et Leatherland, 1992b). Le développement de cette alimentation nocture est à relier aux interactions sociales qui excluraient une partie des individus du groupe de l'alimentation diurne.

Le rapport ARN/protéines dans le muscle et le taux de synthèse des protéines dans les écailles peuvent être utilisés comme indices de la croissance instantanée du tilapia. Toutefois, le premier évolue moins rapidement que le second avec de faibles variations de croissance, induites par exemple par des variations du taux de rationnement à court terme. Par ailleurs, l'analyse de la structure du muscle squelettique montre, pour la première fois chez un téléostéen, qu'il n'y a pas de séparation anatomique entre les fibres périphériques et les fibres profondes. Cette caractéristique peut être reliée à la locomotion du tilapia. De plus, l'hyperplasie du muscle semble être la composante principale de la croissance du tilapia, au moins jusqu'à 200-250 g, comme cela est observé dans d'autres espèces comme la truite où l'hyperplasie est majoritaire chez des individus de taille inférieure à 20 cm (Weatherley *et al.*, 1980a).

L'étude endocrinienne révèle une évolution bimodale très nette des niveaux circulants de GH en fonction du taux de rationnements croissants. Cette relation, également observée chez la daurade et la truite (Kaushik *et al.*, données non publiées) mais rarement mise en évidence chez les autres téléostéens, suggère que le tilapia pourrait être un bon modèle pour l'étude de l'endocrinologie de la croissance. Toutefois, les mises au point de dosages fiables d'IGF et des récepteurs à la GH doivent être achevées au préalable.

Nous avons réalisé au cours de ce travail un suivi chronologique des evolutions endocriniennes du tilapia (hormone de croissance, stéroïdes sexuels) pendant toute la phase précédant l'apparition de la différence de croissance liée au sexe (de 2 à 45 g). Cette étude

révèle une diminution, dans une première phase, de la charge hypophysaire en GH, et des niveaux circulants de la majorité des hormones suivie d'une remontée de ces niveaux. Ces profils endocriniens indiquent une réduction momentanée des synthèses hormonales après l'ontogénèse gonadique et la différenciation sexuelle. Une étude du système thyroïdien (T4, T3 et les enzymes de leur métabolisme) confirment la sensibilité de ce complexe à l'équilibre endocrinien (GH, stéroïdes sexuels.

Enfin, nous montrons que malgré l'existence possible de reproductions précoces chez le tilapia, la maturation sexuelle chez cette espèce est très étroitement dépendante du taux de rationnement. Nous avons également pu caractériser les hormones sexuelles spécifiques de chaque sexe. Les analyses de la vitellogénine ont révélé la présence de faibles taux circulants chez les mâles. Ceci pourrait être lié à la présence de phyto-oestrogènes ou d'autres molécules à effets oestrogéniques dans l'aliment extrudé comme cela a été suggéré chez d'autres espèces comme l'esturgeon, *Acipenser baeri* (Pelissero *et al.*, 1991). En effet, nous n'avons pas trouvé de trace de vitellogénine chez les mâles de tilapia pêchés en milieu naturel.

2. Mise en place de méthodologies pour l'étude de la différence de croissance

Ce travail de caractérisation et d'acquisition de connaissances sur le déterminisme physiologique de la croissance différentielle liée au sexe chez *Oreochromis niloticus* nécessitait la mise en place d'un certain nombre de méthodes et de techniques.

2.1. Le sexage des animaux

Bien qu'il existe un dimorphisme sexuel de la papille uro-génitale, il est très difficile de sexer de manière fiable des individus de poids corporel inférieur à 30 g à partir de la seule observation macroscopique de la papille. Les analyses sur de jeunes animaux avant et lors de l'apparition de la différence de croissance liée au sexe ne sont en effet possibles que si le sexage est effectué *a posteriori* par observation macroscopique et microscopique des gonades.

Sur des animaux plus âgés, le sexage par l'observation de la papille uro-génitale est fiable en général, toutefois les individus issus de certains croisements peuvent présenter un dimorphisme discret de la papille. Nous avons donc mis au point, sur des individus adultes, une méthode basée sur la conformation externe qui permet de discriminer les mâles et les femelles. L'efficacité de cette méthode sur les stades précoces mériterait maintenant d'être explorée.

2.2. Détection de l'apparition de la différence de croissance

L'étude de la mise en place de la différence de croissance liée au sexe ne pouvait être faite par le suivi très précoce d'individus marqués dont le sexe aurait été validé *a posteriori*. Il est impossible de marquer individuellement les animaux avant une dizaine de grammes de poids corporel par les techniques actuelles de marquage (Floy-tag, marques magnétiques, polymères). La mise au point d'une méthodologie de suivi de la croissance des mâles et des femelles, a donc été nécessaire. Cette méthodologie doit être non stressante pour les poissons pour éviter toute interaction du stress sur les performances de croissance et le statut endocrinien (Pickering, 1990; Aupérin, 1994).

Une première méthode de suivi de la croissance des mâles et des femelles depuis les stades précoces a consisté à abattre de façon régulière les individus échantillonnés dans des bacs différents à chaque stade et à les sexer par la technique du squash gonadique (Guerrero et Shelton, 1974). Cette technique a permis d'obtenir des données séquentielles précises sur chaque sexe. Elle nécessite un grand nombre d'infrastructures et d'individus issus d'une même ponte ou, au moins, de même âge, ce qui est souvent difficile compte tenu de la reproduction asynchrone des tilapias.

Une deuxième méthode de statistique descriptive a été utilisée avec succès. Elle a consisté à rechercher l'apparition d'une bimodalité dans la distribution des poids corporels individuels d'un groupe donné. Dès l'apparition d'une bimodalité dans un lot, les individus de ce lot ont été abattus et la bimodalité validée par les différences de poids corporel entre les mâles et les femelles.

2.3. Contrôle du sex-ratio

La maîtrise des techniques d'inversion hormonale du sexe nous a permis d'obtenir des cohortes monosexes femelles, et par mélange avec une cohorte mixte de constituer des groupes d'alevins de sex-ratios allant de 100% à 50% de femelles. La mise à disposition de mâles YY à travers une collaboration avec le FAC/CLSU et l'UCS, nous a permis d'obtenir des groupes de sex-ratios complémentaires (jusqu'à 100% de mâles).

2.4. Méthodologie de la physiologie endocrinienne

Au delà des techniques de supplémentations classiques par implants pour l'étude du mode d'action des hormones, nous avons pu mettre en oeuvre avec succès une gonadectomie chirurgicale des individus. L'utilisation d'inhibiteurs enzymatiques du métabolisme stéroïdien nous a permis par ailleurs de déprimer la synthèse des oestrogènes.

3. Apparition de la croissance différentielle liée au sexe

Le différentiel de croissance entre les mâles et les femelles est inexistant chez les individus de 2 g, taille à laquelle nous avons effectué les premières analyses. C'est donc un phénomène qui s'exprime plus tardivement. Les « squash » gonadiques réalisés au moment où la croissance différentielle apparait, montrent que les gonades sont différenciées aussi bien chez les mâles que chez les femelles. L'expression de la croissance différentielle liée au sexe semble donc ne pas être strictement liée à l'ontogenèse gonadique. Toutefois ces résultats ne permettent pas de conclure sur la période de la mise en place de son déterminisme physiologique.

Dans certaines de nos conditions d'élevage, à la station piscicole de l'IDESSA en Côte d'Ivoire et sur la souche « Bouaké », la différence de croissance liée au sexe apparaît autour de 25-30 g, devenant significative autour de 35 g pour les femelles et 45-50 g pour les mâles. Comparativement aux données de Bolivar *et al.* (1993) et Palada-de-Vera et Eknath (1993), elle apparaît beaucoup plus tardivement dans nos conditions. Ces auteurs ont en effet observé une différence entre les mâles et les femelles à 10 g de poids corporel. Toutefois, les poissons au cours de leurs travaux présentaient des croissances relativement faibles dans l'ensemble. Cette apparition précoce de la croissance différentielle liée au sexe au cours de ces expériences pourrait donc être lié au phénomène de « nanisme » qui entraîne une orientation préférentielle de l'énergie métabolique vers la reproduction. Chez les tilapias, il a effectivement été montré que la croissance et la taille de première maturité sexuelle sont directement dépendantes des conditions d'élevage et particulièrement d'alimentation (Loya et Fishelson, 1969; Hyder, 1970; Fryer et Iles, 1972). En outre, en milieu naturel, l'abondance de ressources favorise une stratégie de maturation sexuelle tardive et/ou une réduction des investissements dans la reproduction (Roff, 1982; Stearns et Grandall, 1984; Calow, 1985). La période d'apparition du différentiel de croissance entre les mâles et les femelles, observée dans nos conditions

d'élevage, serait donc plus proche des caractéristiques écophysiologiques de cette espèce.

Enfin, nos travaux démontrent que l'apparition du différentiel de croissance entre les mâles et les femelles, n'est pas directement liée à la reproduction contrairement à ce qui est observé chez d'autres espèces. Chez la plie *Pleuronectes platessa*, la différence de croissance en faveur des femelles semble être liée à une différence de stratégie de reproduction (Roff, 1982). Chez cette espèce, les mâles atteignent la maturité sexuelle avant les femelles et orientent une plus grande partie de l'énergie destinée à la croissance somatique vers la reproduction. Par ailleurs, des travaux montrent que la différence de croissance, chez les espèces où il existe un différentiel lié au sexe, n'est pas seulement liée à la différence d'allocation de l'énergie vers la reproduction, mais est également dépendante de la quantité d'énergie accumulée au cours de l'année (Craig, 1977; Foltz et Norden, 1977; Diana et Mac Kay, 1979; Rijnsdorp et Ibelings, 1989). Chez la perche, *Perca flavescens*, autre espèce présentant une meilleure croissance des femelles par rapport aux mâles, la mise en place de la croissance différentielle coincide avec le début de la vitellogenèse et de la spermatogenèse (Schott *et al.*, 1978). Dans le cadre de notre expérience, les analyses macroscopiques des gonades, les analyses de stéroïdes sexuels, notamment l'oestradiol-17β, et celles de la vitellogenine suggèrent que la croissance différentielle apparaît avant la maturité sexuelle. En effet, les plus forts niveaux d'E2-17β, mesurés dans notre travail lors de la mise en place de la croissance différentielle (1,5 ng/ml), principale hormone induisant la synthèse de la VTG chez *Oreochromis niloticus* (Yaron *et al.*, 1977), sont relativement faibles par rapport à ceux trouvés chez des femelles matures (5 à 25 ng/ml; Tacon, 1995). De plus, les taux circulants de VTG les plus élevés varient autour de 4,5 µg/ml alors qu'ils sont de l'ordre de 20 mg/ml chez les femelles matures (Tacon, 1995). Puisque la croissance différentielle apparaît avant la maturation sexuelle, nous en concluons donc qu'elle n'est pas directement lié à une orientation plus importante chez les femelles de l'énergie métabolique vers la reproduction comme le suggéraient certains travaux. La reproduction ne ferait qu'accentuer un processus déjà engagé, comme nous l'avons observé dans certaines de nos expériences.

La mise en place de la différence de croissance entre les mâles et les femelles ne peut pas non plus s'expliquer uniquement par le jeûne lié à l'incubation buccale des oeufs qui est observée beaucoup plus tardivement. Il a d'ailleurs été montré que certaines espèces à incubation buccale continuent de s 'alimenter bien qu'à faible taux pendant l'incubation (Yanagisawa et Sato, 1990; Yanagisawa et Ochi, 1991). De plus, cette différence de croissance existe même chez les espèces où l'incubation des oeufs est réalisée par le mâle (Legendre,

1986). L'incubation buccale est relativement peu coûteuse en énergie et les femelles utiliseraient les réserves accumulées avant la reproduction pour compenser les dépenses d'énergie occasionnées par cette incubation (Mrowka et Schierwater, 1988). Enfin, la femelle de tilapia est capable d'ingérer jusqu'à 40% de son poids corporel d'aliment dans les 48 heures qui suivent la fin de l'incubation (Macintosh et Little, 1995). Nous concluons donc, que la différence de croissance entre les mâles et les femelles chez *Oreochromis niloticus* n'est pas liée essentiellement au comportement d'incubation buccale des oeufs, sans toutefois exclure une contribution partielle à son maintien chez l'adulte.

4. Facteurs impliqués dans le déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe

Les résultats obtenus au cours de ce travail montrent que le déterminisme de la croissance différentielle liée au sexe chez *Oreochromis niloticus* est complexe et plurifactoriel. Son expression évolue avec l'âge de l'animal et en fonction du milieu où il vit.

4.1. L'alimentation

4.1.1. Influence de la disponibilité alimentaire

La nature des facteurs en jeu dans la croissance en général et la croissance différentielle liée au sexe en particulier peut varier selon les conditions d'alimentation (qualité et quantité). Plusieurs cas de figures peuvent être proposés.

1) Lorsque les poissons sont dans une situation de restriction alimentaire, l'énergie disponible, apportée par l'aliment, est utilisée prioritairement pour couvrir les besoins d'entretien, aux dépends de la reproduction. Cette situation est caractérisée par des taux de croissance nuls, observés par exemple au cours de l'expérience VI chez les animaux mis à jeun ou nourris à 1% de leur poids corporel, et une exacerbation des compétitions alimentaires. Les animaux maintenus dans ces conditions, expriment mal tout leur potentiel génétique de croissance. Ces individus se caractérisent généralement par un statut physiologique très particulier. Une augmentation des niveaux plasmatiques de la GH, liée à une diminution de la réceptivité des récepteurs, est observée (cf. expérience VI). Des niveaux de T4 élevés et de T3 faibles sont également trouvés (expérience VI) et correspondent à la situation décrite chez le poulet (Darras *et al.*, 1995). Les taux circulants des stéroïdes sexuels sont relativement faibles, et parfois même très peu différents entre les deux sexes.

2) Lorsque l'énergie apportée augmente et permet de couvrir les besoins d'entretien, le faible surplus serait affecté en priorité à la reproduction. La compétition alimentaire demeure forte dans cette situation. Toutefois, une reprise de la croissance, bien que faible, est observée. Les animaux de l'expérience VI, nourris à 2% de leur poids corporel pourraient se trouver dans cette situation. Cette reprise de la croissance est caractérisée par des taux circulants de GH très faibles et une augmentation très importante des niveaux circulants de T3 particulièrement chez les mâles. Un accroissement très significatif des taux circulants des stéroïdes sexuels est observé, ce qui conforte l'hypothèse d'une orientation prioritaire du surplus d'énergie vers la reproduction plus que vers la croissance. Avec des taux plus élevés de nourrissage (3%), la croissance différentielle pourrait apparaître un peu plus tardivement que précédemment et expliquerait les résultats obtenus par Bolivar *et al.* (1993) et Palada-de-Vera et Ecknath (1993), compte tenu de la faible croissance observée au cours de ces travaux. L'expression de la croissance différentielle liée aux hormones sexuelles est plus forte chez les animaux maintenus dans ces conditions.

3) Lorsque l'aliment est apporté en excès, le surplus d'énergie est affecté à la croissance et à la reproduction. Cette situation est caractérisée par des compétitions alimentaires très faibles, toutefois on assiste à l'apparition d'autres types d'interactions sociales, territoriale et/ou hiérarchique. Une forte expression du potentiel génétique des animaux placés dans ces conditions est observée. La croissance différentielle liée au sexe apparaît beaucoup plus tardivement que dans les deux précédents cas, et son expression est très fortement liée aux hormones sexuelles. Les animaux des expériences I, II et III pourraient se trouver dans cette situation, ce qui expliquerait l'apparition du différentiel de croissance seulement à partir d'une trentaine de grammes. Les animaux placés dans ces conditions adopteraient une stratégie de maturation sexuelle tardive (Roff, 1982). On observe une forte différence de croissance entre les mâles et les femelles dans ces groupes.

4.1.2 Comportement alimentaire

L'utilisation d'un système d'alimentation à la demande a permis d'étudier la consommation volontaire chez le tilapia. Contrairement aux précédents travaux, s'appuyant sur des études de supplémentations ou d'inversions hormonales du sexe, qui suggéraient une stimulation de l'appétit chez les mâles de différentes espèces (Fagerlund *et al.*, 1979; Ufodike et Madu, 1986; Arul, 1986; Varadaraj et Pandian, 1988), nos résultats montrent que le différentiel de croissance chez *Oreochromis niloticus* n'est pas lié à une différence de prise

alimentaire en faveur des mâles. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus chez le poisson chat africain (*Clarias gariepinius*) qui présente également une croissance différentielle liée au sexe en faveur des mâles (Henken *et al.*, 1987). La différence de croissance entre les mâles et les femelles résulte en fait de meilleurs indices de conversion de l'aliment ingéré chez les mâles comparés aux femelles, information tout à fait originale. Ces différences d'efficacité d'utilisation des nutriments sont associées à des différences de croissance musculaire des mâles et des femelles, qui pourraient résulter d'une croissance hyperplasique plus importante des mâles. Ce mécanisme a été observé dans d'autres espèces ayant une différence de croissance liée au sexe (Calvo, 1989). Les différences de conformation entre mâles et femelles se rapportent autant à des caractères sexuels secondaires qu'à des différences associées au différentiel de croissance.

4.2. Relais endocrinien

La meilleure performance des mâles pourrait être liée au contrôle des hormones stéroïdiennes et thyroïdiennes comme cela a été montré chez d'autres espèces. En effet, les androgènes et les hormones thyroïdiennes particulièrement la T3, stimulent la croissance à travers une amélioration des performances métaboliques et digestives (Higgs *et al.*, 1977; Donaldson *et al.*, 1979). Dans nos conditions, seuls les taux circulants d'hormone thyroïdienne et surtout de T3 semblent associés aux meilleurs indices de conversion alimentaire des mâles. Toutefois, nous avons observé une corrélation positive, bien que faible, entre les niveaux plasmatiques de 11-KT et de T3, aussi bien chez les mâles que chez les femelles, ce qui indique qu'une action stimulatrice des androgènes sur la production de T3 n'est pas à exclure. En effet, chez les salmonidés par exemple, les stéroïdes anabolisants comme la méthyltestostérone activent la glande thyroïde, l'interrénale et le pancréas chez les poissons (Sage et Bromage, 1970; Higgs *et al.*, 1977). Ces données semblent indiquer que la croissance différentielle pourrait être liée plus à un mécanisme de stimulation de la croissance des mâles qu'à une inhibition de celle des femelles. Toutefois chez les animaux supplémentés à l'adrenostérone, un précurseur de la 11-KT, aucune augmentation significative, ni de la croissance ni des taux circulants de T3, n'a été observée. Seules des relations faibles entre la 11-KT et la T4 permettent de suspecter que les stéroïdes sexuels peuvent stimuler la fonction thyroïdienne.

La supplémentation en oestradiol-17β chez les femelles et chez les mâles diminuent très significativement la croissance. Ces faibles taux de croissance sont associés à une forte diminution des niveaux de T3 particulièrement chez les mâles. Parallèlement, les analyses

enzymatiques révèlent une dégradation plus importante de la T3 dans les branchies des poissons supplémentés à l'E2-17β. De plus, l'inhibition de la synthèse de l'oestradiol-17β conduit à un accroissement des performances de croissance chez les femelles. Ces résultats suggèrent que le différentiel de croissance serait également lié à une faible croissance des femelles. La comparaison de nos résultats avec ceux obtenus chez la perche (Malison *et al.*, 1985), montre que, selon le sexe présentant la meilleure croissance, les mécanismes impliqués dans le déterminisme de la croissance différentielle, divergent complètement. Chez la perche, les déplétions en oestradiol-17β par la gonadectomie, entraînent une diminution de la croissance des femelles tandis que la castration stimule celle des mâles en éliminant la production de testostérone. Chez le tilapia, l'E2-17β, en relation avec le contrôle de la désiodination de la T3, serait un candidat potentiel du relais endocrinien, mais à travers une inhibition de la croissance. De nombreux travaux ont en effet montré que la T3 pouvait stimuler la croissance musculaire au niveau cellulaire à travers un accroissement de la quantité d'ARN (ARN messager et ARN ribosomique) et de la synthèse des protéines (Matty *et al.*, 1982), mais aussi à travers une stimulation de la synthèse et de l'action de facteurs de croissance. Chez les mammifères, elle stimulerait notamment la transcription du gène et la traduction de l'ARN messager, de même que l'accumulation de la GH (Martial *et al.*, 1977; Evans *et al.*, 1982), mais aussi la synthèse et l'action de l'IGF-I (Barret et Tixier-Vidal, 1985). Toutefois, si la T3 est un bon témoin de la différence de croissance liée au sexe, son action directe dans ce différentiel de croissance reste à analyser. Nous pouvons également signaler que le statut de l'axe somatotrope (GH circulante) semble différent entre les mâles et les femelles. Même si la différence est faible, elle peut être le témoin d'autres relais endocriniens que ceux que nous avons mis en évidence.

4.3. Facteurs sociaux et facteurs génétiques

Nos travaux montrent également que le différentiel de croissance lié au sexe chez le tilapia peut être modulé par différents facteurs extrinsèques et intrinsèques. Ainsi, une diminution significative de la croissance des mâles est observée dans les groupes mixtes par rapport aux groupes monosexes mâles. Par contre la croissance des femelles est moins affectée par la composition des lots dans lesquels elles se trouvent. Cette diminution de la croissance des mâles en groupes mixtes pourrait s'expliquer par leur comportement territorial, qui entraînerait des dépenses énergétiques plus importantes. Les plus forts niveaux de 11-KT, hormone impliquée dans le comportement social, sont observés chez les mâles des groupes

mixtes. Nos résultats montrent clairement que la croissance des mâles peut être inhibée par l'influence des interactions sociales. D'autres résultats obtenus sur des individus élevés en hapa (alimentation manuelle) révèlent une influence plus importante des interactions sociales, testées par enrichissement progressif d'un groupe monosexe femelle par un groupe monosexe mâle, aussi bien sur la croissance des femelles que des mâles. Cette influence négative des interactions sociales a également été observée chez d'autres espèces, mais entre individus de grande et de petite taille (Noakes et Leatherland, 1977; Ejike et Schrek, 1980; Fagerlund *et al.*, 1981). Nos résultats suggèrent donc que les interactions sociales constituent un élément important dans le déterminisme de la croissance différentielle entre les mâles et les femelles chez *Oreochromis niloticus* .

S'il y a un différentiel de croissance lié au sexe, et dans la mesure où il existe des déterminants génétiques dans la sexualisation, il existe logiquement des déterminants génétiques à la différence de croissance (ceux déterminants le sexe). Par contre l'expression plus ou moins forte du différentiel de croissance en fonction des origines génétiques montre que, outre les gènes strictement impliqués dans la différenciation sexuelle, d'autres gènes pourraient moduler cette croissance différentielle.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES DE RECHERCHE

L'étude de la croissance différentielle liée au sexe chez *Oreochromis niloticus* a permis de montrer que son déterminisme est plurifactoriel. La différence de croissance entre mâle et femelle est en effet modulée par des facteurs intrinsèques comme l'âge et le génotype, et par des facteurs sociaux et environnementaux au travers de la compétition pour l'alimentation.

Nos résultats montrent que la différence de croissance entre les mâles et les femelles est inexistante pendant les phases précoces, pendant l'ontogenèse gonadique. Elle est observée, dans les conditions d'élevage de la station de Bouaké, chez les individus de 35g de poids moyen pour les femelles et 45-50 g pour les mâles. Nos résultats montrent également qu'elle apparaît bien avant la maturation sexuelle. Contrairement à certaines hypothèses, elle n'est pas la conséquence de la maturation sexuelle et du comportement d'incubation buccale des oeufs et des alevins, même si ces paramètres peuvent contribuer par la suite à une augmentation de son intensité. Il serait donc intéressant d'étudier plus spécifiquement deux espèces, l'une possédant une différence de croissance très marquée comme l'espèce étudiée dans ce travail, *Oreochromis niloticus*, et l'autre une différence peu marquée comme l'*Oreochromis macrochir*. Cette étude permettra également d'approfondir le rôle des facteurs génétiques liés ou non au sexe sur la différence de croissance entre les mâles et les femelles. Les facteurs génétiques semblent participer de manière non négligeable à la variabilité de l'intensité de la différence de croissance.

Les conditions d'alimentation volontaire ont révélé un rythme circadien de consommation, et se traduisent par une amélioration des indices de consommation et des taux de croissance dans les deux sexes. Nos résultats suggèrent qu'une plus grande efficacité et d'utilisation des nutriments ingérés, plus qu'une stimulation de l'appétit des mâles, pourrait être un des mécanismes impliqués dans le déterminisme de la croissance différentielle. Il serait donc intéressant d'analyser la consommation et l'efficacité alimentaire individuelle de chaque sexe isolé ou au sein d'un groupe. D'un point de vue appliqué, il serait intéressant d'expérimenter sur les horaires préférentiels d'alimentation, mis en évidence au cours de cette étude, dans les conditions d'élevage en étang avec une distribution manuelle de l'aliment.

Nos résultats montrent l'existence au sein des groupes monosexes et plus dans les groupes mixtes, d'interactions sociales interindividuelles qui affectent négativement la croissance aussi bien des mâles que des femelles. Une étude plus spécifique des stratégies comportementales transversales et individuelles (alimentaire, agressivité, reproducteur), en groupe mixte ou isolé, à l'aide de techniques de télémétrie (revue de Baras et Lagardère, 1995)

permettrait de préciser l'influence des facteurs sociaux sur la croissance pondérale. En effet, si l'importance des interactions sociales dans la genèse et le maintien de la variabilité de croissance au sein des populations de poissons est connue (Chevassus, 1982), leurs effets sur la mise en place d'une différence de croissance et son maintien n'ont pas fait l'objet de nombreuses études.

Nos résultats suggèrent également une sensibilité du tilapia au mélange de cohortes d'origine différente, qui se traduit par une augmentation des interactions interindividuelles. Nous avons mis au point, au cours de ce travail, des techniques de marquage très précoces (strontium, polymères) qui permettraient l'étude de ces interactions sociales par des mélanges à différents de cohortes d'origine parentale différente.

Une implication de la GH dans la différence de croissance entre les mâles et les femelles peut être suspectée mais sa démonstration n'est pas évidente. L'absence d'un dosage spécifique d'IGF-I n'a pas permis d'analyser la contribution de la GH au travers des IGF au contrôle de la croissance et particulièrement du différentiel de croissance lié au sexe. La mise au point d'un dosage radiorécepteur spécifique et fiable de la GH permettra également de mieux appréhender son rôle éventuel dans la différence de croissance.

Les stéroïdes sexuels principalement l'oestradiol-17β (E2-17β) et les hormones thyroïdiennes en particulier la triiodothyronine (T3) apparaissent être les hormones potentielles du relais endocrinien impliqué dans le déterminisme de la croissance différentielle entre les mâles et les femelles.

Nous avons suspecté une relation faible entre les taux circulants de 11-cétotestostérone (11-KT) et la tétraiodothyronine (T4) circulante. Une recherche de l'action de la 11-KT sur la sécrétion des hormones thyroïdiennes pourrait être envisagée. Toutefois, l'implication de l'E2-17β au travers de la T3 est clairement démontrée.

La supplémentation en oestradiol-17β entraîne une inhibition de la croissance des mâles et femelles alors que l'inhibition de la synthèse d'E2-17β chez les femelles se traduit par une stimulation de la croissance. Cette sensibilité de la croissance du tilapia à l'oestradiol-17β rend le modèle intéressant pour des études éco-toxicologiques liées aux composés oestrogéniques. Par ailleurs, la T3 est la seule hormone, en dehors des stéroïdes sexuels spécifiques de chaque sexe, qui présente des différences significatives entre les mâles et les femelles. L'inhibition de la production extrathyroïdale et/ou une stimulation de la dégradation de T3 par l'oestradiol-17β chez les femelles semble être à l'origine de cette différence. Des supplémentations en T3 et en T4 devront être réalisées afin approfondir le rôle et le mécanisme

d'action de la T3, notamment à travers la recherche des récepteurs de la T3 au niveau des tissus cibles tel que le muscle. Une exploration des actions directes possibles des différentes hormones étudiées sur la synthèse musculaire devrait être envisagée, notamment par des études *in vitro*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADELMAN, I. R. (1977). Effect of bovine growth hormone on growth of carp (*Cyprinus carpio*) and the influences of temperature and photoperiod. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 34: 509-515.

ALLEE, W.C., GREENBERG, B., ROSENTHAL, G.M. and FRANK, P. (1948). Some effects of social organization on growth in the green sunfish, *Lepomis cyanellus*. *J. Exp. Zool.* 108: 1-19.

ANTHOUARD, M., PIONNIER, E. and KIRSCH, R. (1986). Behavioural adaptation of *Silurus glanis* (Pisces, Cyprinformes, Siluridae), in an instrumental conditioning situation. *Actes Colloque SFECA. Univ. Reims edition*. pp. 72-75.

ARRIGNON, J. (1969). L'élevage de *Tilapia mossambica* comme animal de laboratoire. *Verh. Int. Ver. Theor. Angew Limod.*, 17: 650-661.

ARUL, V. (1986). Effect of ethylestrenol on growth and food utilization in *Channa striatus*. *Proc. Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)*, 95: 51-57.

AUPERIN, B. (1994). Implication de la prolactine et de l'hormone de croissance dans l'adaptation du tilapia *Oreochromis niloticus* à une modification du milieu d'élevage : changement de salinité ou stress de confinement. *Thèse de doctorat, Univ. Rennes I.* pp. 155.

BACON, W. L., VASILATOS-YOUNKEN, R., NESTOR, K. E., ANDERSEN, B. J. and LONG, D. W. (1989). Pulsatile patterns of plasma growth hormone in turkeys: Effects of growth rate, age, and sex. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 75: 417-426.

BALARIN, J.D. (1979). Tilapia : a guide to their biology and culture in Africa.. *University of Stirling, Stirling*. 173 pages.

BARAS, E. and LAGARDERE, J.P. (1995). Fish telemetry in aquaculture: review and perspectives. Aquaculture International. 3: 77-102.

BAROILLER, J.F. (1988). Etude corrélée de l'apparition des critères morphologiques de différenciation de la gonade et de ses potentialités stéroïdogènes chez *Oreochromis niloticus* . *Thèse dr., Univ. Pierre-et-Marie-Curie ,Paris*. pp. 89.

BAROILLER, J.F. (1995). Significant proportions of unexpected males in the majority of progenies from single pair matings with sibling sex-reversed males of *Oreochromis niloticus*. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly

(eds) The Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41. *Sous presse.*

BAROILLER, J.F and TOGUYENI, A. (1995). Comparative effects of a natural androgen, 11β-hydroxyandrostenedione and a synthetic androgen, 17α-methyltestosterone on the sex-ratios of *Oreochromis niloticus*, In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds) The Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conf. Proc. 41. *Sous presse.*

BAROILLER, J.F., FOSTIER, A. and JALABERT, B. (1988). Precocious steroidogenesis in the gonads of *Oreochromis niloticus* during and after sexual differentiation. In: Reproduction in fish. Basic and Applied aspects in endocrinology and genetics, Y. Zohar and B. Breton (eds)., *Les Colloques de l'INRA*, 44: 137-141.

BAROILLER, J.F., CHOURROUT, D., FOSTIER, A. and JALABERT, B. (1995a). Temperature and sex chromosomes govern sex-ratios of mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus. J. Exp. Zool.*, 273: 216-223.

BAROILLER, J.F., DESPREZ, D., TOGUYENI, A., MELARD, C., HOAREAU, M.C., BOSC, P. (1995b). Production of male monosex populations in four tilapia species, *Oreochromis niloticus, Oreochromis aureus, Sarotherodon melanotheron* and the red tilapia « Red Florida » with a natural steroid, 11β-hydroxyandrostenedione (11βOHΔ4). *Aquaculture, Sous presse.*

BAROILLER, J. F., CLOTA, F. and GERAZ, E. (1996). Temperature sex determination in two tilapia, *Oreochromis niloticus* and the red tilapia (Red Florida strain): effect of high or low temperature. *In*: Goetz, F.W. and Thomas, P. (eds.). Proceedings of the Fifth International Symposium on Reproduction Physiology of Fish. U.S.A., 158-160.

BARR, W. A. (1965). The endocrine physiology of fishes. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 3: 257-298.

BARRET, A. and TIXIER-VIDAL, A. (1985). Triiodothyronine stimulates the production of insulin-like growth factor (IGF) by fetal hypothalamus cells cultured in serum-free medium. *Dev. Brain Res.*, 21: 319-321.

BARRINGTON, E. J. W. (1975). The endocrine glands of pharynx. *In*: Barrington, E.J.W. (ed.). An introduction to General and Comparative Endocrinology. Oxford Univ. Press (Clarendon). London and New York, 147-184.

BAYNES, S. M. and SCOTT, A. P. (1985). Seasonal variations in parameters of milt production and plasma concentration of sex steroids of male rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 57: 150-160.

BIRGE, C. A., PEAKE, G. T., MARIZ, I. K. and DAUGHADAY, W. H. (1967). Radioimmunoassay of growth hormone in the rat pituitary gland: effects of age, sex and hormonale state. *Endocrinology*, 81: 195-204.

BJORKLUND, R. G. (1965). The effect of thyroid hormones on the growth hormone of goldfish, *Carassius auratus* (L). Trans. Ill. State Acad. Sci., 58: 64-68.

BLAKE, C. A., DADA, M. O., OLSON, D. R. and CAMPBELL, G. T. (1984). A sex difference in the gonadal control of growth hormone secretion in rats. *Neuroendocrinol.*, 6: 305-310.

BLACK, D. and LOVE, R.M. (1985). The sequential mobilisation and restoration of energy reserves in tissues of Atlantic cod during starvation and refeeding. *J. Comp. Physiol. B.*, 156: 469-479.

BOLIVAR, R. B., EKNATH, A. E., BOLIVAR, H. L. and ABELLA, T. A. (1993). Growth and reproduction of individually tagged Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) of different strains. *Aquaculture*, 111: 159-169.

BONDARI, K.(1982). Interaction of sex and culture conditions on growth, survival and quality traits of blue tilapia. *Growth*.46: 238-246.

BOUJARD, T. (1995). Diel rhythms of feeding activity in the european catfish, *Silurus glanis*. *Physiol. Behav.* 58: *In press*.

BOUJARD, T., KEITH, P. and LUQUET, P. (1990). Diel cycle in *Hoplosternum littorale* (Teleostei): evidence for synchronization of locomotor, air breathing and feeding activity by circadian alternation of light and dark. *J. Fish Biol.* 36: 133-140.

BOUJARD, T., DUGY, X., GENNER, D., GOSSAND, C. and GRIG, G. (1992). Description of a molecular, low cost, eater meter for study of feeding behavior and food preferences in fish. *Physiol. Behav.* 52: 1101-1106.

BOUJARD, T. and LEATHERLAND, J.F. (1992a). Circadian rhythms and feeding time in fishes. *Env. Biol. Fish.* 35: 109-131.

BOUJARD, T. and LEATHERLAND, J.F. (1992b). Demand-feeding behaviour and diel pattern of feeding activity in *Oncorhynchus mykiss* held under different photoperiod regimes. *J. Fish. Biol.* 40: 535-544.

BOUJARD, T., GELINEAU, A. and CORRAZE, G. (1995). Time of a single daily meal influences growth performance in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*. 26: 341-349.

BRADLEY, T. J. and GRIZZLE, J. M. (1989). Vitellogenin induction by estradiol in Channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 73: 28-39.

BRES, O. and EALES, J. G. (1990). Saturable triiodothyronine-binding sites in pituitary nuclei of salmonid teleost fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 77: 23-28.

BRES, O., CYR, D. G. and EALES, J. G. (1990). Factors influencing the affinity and capacity of T3-binding sites in hepatic nuclei of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Exp. Zool.*, 254: 63-71.

BRETON, B. and SAMBRONI, E. (1996). Steroid activation of the brain-pituitary complex gonadotropic function in the triploid rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 101: 155-164.

BROWN, M. E. (1946). The growth of brown trout (*Salmo trutta* Linn.). I. Factors influencing the growth of trout fry. *J. Exp. Biol.*, 22: 118-129.

BRUTON, M.N., and BOLT, R.E. (1975). Aspects of the biology of *Tilapia mossambica Peters* (Pisces : Cichlidae) in L. Sibaya S. Africa. *J. Fish. Biol.* 6: 701-715.

BULOW, F.J. (1987). RNA:DNA ratios as indicators of growth in fish: a review, in Age and Growth of fish, (eds R.C Summerfelt and G.E. Hall), Iowa State University Press, Ames. pp. 45-64.

BUREK, C. L. and FROHMAN, L. A. (1970). Growth hormone synthesis by rat pituitaries *in vitro*: effect of sex and age. *Endocrinology*, 86: 1361-1367.

BUSACKER, G.P., ADELMAN, I.R, and GOOLISH, E.M. (1990). Growth in Methods for fish Biology. In C.B. Schreck and P.B. Moyle (eds). American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. pp. 363-387.

BUTLER-BROWNE, G.S., HERLICOVIEZ, D. and WHALEN, R.G. (1984). Effects of hypothyroidism on myosin isoenzyme transitions in developing rat muscle. *FEBS Lett.*, 166: 71-75.

BYAMUNGU, N., COREILLIE, S. MOL, K., DARRAS, V. and KÜHN, E.R. (1990). Stimulation of thyroid function by several pituitary hormones results in an increase in plasma thyroxine and reverse triiodothyronine in Tilapia (*Tilapia niloticus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 80: 33-40.

BYAMUNGU, N., MOL, K. and KUHN, E. R. (1991). Somatostatin increases plasma T3 concentrations in *Tilapia nilotica* in the presence of increased plasma T4 levels. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 82: 401-406.

BYAMUNGU, N., MOL, K. and KUHN, E. R. (1992). Evidence for the kidney as an important source of 5'-monodeiodination activity and stimulation by somatostatin in *Oreochromis niloticus* L. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 88: 199-208.

CALOW, P. (1985). Adaptative aspects of energy allocation. *In*: Tyler, P. and Calow, P. (eds). Fish Energetics. Croom Helm. London, pp. 13-31.

CALVO, J. (1989). Sexual differences in the increase of white muscle fibres in Argentine hake, *Merluccius hubbsi*, from the San Matias Gulf (Argentina). *J. Fish Biol.*, 35: 207-214.

CHAKRABORTI, P. and BHATTACHARYA, S. (1984). Plasma thyroxine levels in freshwater perch: influence of season, gonadotropins, and gonadal hormones. *Gen. Comp Endocrinol.* 53: 179-186.

CHEN, F.Y. (1969). Preliminary studies on the sex-determining mechanism of *Tilapia mossambica* Peters *and T.hornorum* Trewavas. *Verh. Int. Ver. Their. Angew. imnol.* 17: 718-724.

CHERVINSKI, J. (1965). Sexual dimorphism in tilapia. *Nature*, 208: 703.

CHERVINSKI, J. (1983). Sexual dimorphism in tilapias. *Aquaculture*, 35: 171-172.

CHERVINSKI, J. and ROTHBARD, S. (1982). An aid in manually sexing Tilapia. *Aquaculture*. 26: 389.

CHEVASSUS, B. (1982). Facteurs génétiques et sociaux influençant la croissance chez les poissons. *Oceanis*, 8: 579-598.

CHOPRA, I. J., SOLOMON, D. H., CHOPRA, U., WU, S. Y., FISHER, D. A. and NAKAMURA, Y. (1978). Pathways of metabolism of thyroid hormones. *Recent Prog. Horm. Res.*, 34: 521-567.

CLARKE, W. C. (1976). Effect of prolactin and growth hormone on growth, lipid content and seawater adaptation in juvenile sockeye salmon. Reg. Conf. Comp. Endocrinol., Oregon State Univ. Corvallis. Abstr. No. 38.

CLARKE, W.C, FARMER, S.W. and HARTWELL, K.M. (1977). Effect of teleost pituitary growth hormone on growth of *Tilapia mossambica* and on growth and seawater adaptation of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 33: 174-178.

COHEN, C. and JOSEPH, D. (1959). Changes in body composition attendant upon force-feeding. *Am. J. Physiol.*, 196: 965-968.

COHEN, C., JOSEPH D., BELL, L. and OLER, A. (1963). Feeding frequency and protein metabolism. *Am. J. Physiol.*, 205: 153-157.

CRAIG, J. F. (1977). The body composition of adult perch, *Perca fluviatilis* in Windermere, with reference to seasonal changes and reproduction. *J. Anim. Ecol.*, 46: 617-632.

CROCKFORD, T., JOHNSTON, I. A. and MCANDREW, B. J. (1995). Functionally significant allelic variation in myosin light chain composition in a tropical cichlid. *J. Exp. Biol.*, 198: 2501-2508.

CYR, D.G., MACLATCHY, D.L. and EALES, J.G. (1988). The influence of short-term 17ß-estradiol treatment on plasma T3 levels and *in vitro* Hepatic T4 5'-monodeiodinase activity in immature rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp Endocrinol.* 69: 431-438.

DARLING, D. S., DICKHOFF, W. W. and GORBMAN, A. (1982). Comparison of thyroid hormone binding to hepatic nuclei of the rat and a teleost (*Oncorhynchus kisutch*). *Endocrinology*, 111: 1936-1943.

DARRAS, V.M., COKELAERE, M., DEWIL, E., ARNOUTS, S., DECUYPERE, E. and KÜHN, E. R. (1995). Partial food restriction increases hepatic Inner Ring Deiodinating activity in the chicken and rat. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 100: 334-338.

DAUGHADAY, M. H., HERINGTON, A. C. and PHILLIPS, L. S. (1975). The regulation of growth by endocrines. *Ann. Rev. Physiol.*, 37: 211-244.

DE LUZE, A., LELOUP, J., PAPKOFF, H., KIKUYAMA, S. and KAWAUCHI, H. (1989). Effects of vertebrate prolactin and growth hormones on thyroxine 5'-monodeiodination

in the eel (*Anguilla anguilla*): A potential bioassay for growth hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 73: 186-193.

DESPREZ, D, MELARD, C. and PHILIPPART, J.C. (1995). Production of a high percentage of male offspring with 17α-ethylnestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. II. Comparative reproductive biology of females and F2 pseudofemales and large-scale production of male progeny. Aquaculture, 130: 35-41.

DIANA, J. S. and MACKAY, W. C. (1979). Timing and magnitude of energy deposition and loss in the body, liver and gonads of northern pike (*Esox lucius*). *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 36: 481-487.

DONALDSON, E.M and McBRIDE, J.R. (1967). The effects of hypophysectomy in the rainbow trout *Salmo gairdnerii* (Rich.) with special reference to the pituitary-interrenal axis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 9: 93-101.

DONALDSON, E.M., FAGERLUND, U.H.M., HIGGS, D.A. and MCBRIDE, J.R. (1979). Hormonal enhancement of growth. *In* : « Fish Physiology » (W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds.), Vol.VIII. pp. 455-597.

DOUIRIN, C. (1992). Contribution à l'étude de la qualité de la truite fario (*Salmo trutta*): effet de la sélection génétique et de la stérilité. Rapport E.N.S.F.A. (option zootechnie). Rennes. 36 p.

EALES, J. G. (1977a). Use of thyroxine- and triiodothyronine-specific antibodies to study thyroxine kinetics in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 32: 89-98.

EALES, J. G. (1977b). *In vivo* determination of thyroxine deiodination rate in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 33: 541-546.

EALES, J. G. (1985). The peripheral metabolism of thyroid hormones and regulation of thyroidal status in poikilotherms. *Can. J. Zool.*, 63: 1217-1231.

EALES, J.G. (1988). The influence of nutritional state on thyroid function in various vertebrates. *Amer. Zool.*, 28: 351-362.

EALES, J. G. (1990). Thyroid function in poikilotherms. *In*: Epple,A., C.G. Scanes, and M.H. Stetson (eds). Progress in Comparative Endocrinology. Wiley-Liss. New York, pp. 415-420.

EALES, J. G. and BROWN, S. B. (1993). Measurement and regulation of thyroidal status in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, 3: 299-347.

EALES, J. G. and MACLATCHY, D. L. (1989). The relationship between T3 production and energy balance in salmonids and other teleosts. *Fish Physiol. Biochem.*, 7: 289-293.

EALES, J.G. and SHOSTACK, S. (1985). Correlations between food ration, somatic growth parameters and thyroid function in arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *Comp. Biochem. Physiol.* 80A: 553-558.

EDEN, S. (1979). Age- and sex-related differences in episodic growth hormone secretion in the rat. *Endocrinology*, 105: 555-560.

EJIKE, C. and SCHRECK, C.B. (1980). Stress and social hierarchy rank in coho salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 109: 423-426.

EVANS, R. M., BIRNBERG, N. C. and ROSENFELD, M. G. (1982). Glucocorticoid and thyroid hormones transcriptionally regulate growth hormone gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79: 7659-7663.

EYESON, K. N. (1983). Stunting and reproduction in pond-reared *Sarotherodon melanotheron*. *Aquaculture*, 31: 257-267.

FAGERLUND, U.H.M and McBRIDE, J.R. (1975). Growth increments and some flesh and growth characteristics of juvenile coho salmo receiving diets supplemented with 17α-methyltestosterone. *J.Fish.Biol.* 7: 305-314.

FAGERLUND, U.H.M., HIGGS, D.A. and Mc BRIDE, J.R., (1978). Influence of feeding a diet containing 17α-methyltestosterone or testosterone at two ration levels on growth, appetite and food conversion efficiency of underyearling coho salmo (*Oncorhynchus kisutch*). Tenth European Inland Fish; advisory Commiss. Symp., 24 : 1-13.

FAGERLUND, U.H.M., HIGGS, D.A. and McBRIDE, J.R. (1979). Influence of feeding a diet containing 17α-methyltestosterone or testosterone at two ration levels on growth, appetite and food conversion efficiency of underyearling coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*). From Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, 20-23 june, 1978. I: 221-230.

FAGERLUND, U.H.M., HIGGS, D.A., McBRIDE, J.R., PLOTNIKOFF, M.D. and DOSANJH, B.S. (1980). The potential for using the anabolic hormones 17α-

methyltestosterone and (or) 3,5,3'-triodo-L-thyroxine in the fresh water rearing of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and the effects on subsequent sea water performance. *Can .J. Zool.* 58: 1424-1432.

FAGERLUND, U.H.M., McBRIDE, J.R., and STONE, E.T. (1981). Stress-related effects of hatchery rearing density on coho salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 110: 644-649.

FAUCONNEAU, B. et LUQUET, P. (1984). Influence de la fréquence de distribution des protéines sur la croissance et l'efficacité alimentaire chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.). *Ann. Zootech.*, 33: 245-254.

FAUCONNEAU, B., AGUIRRE, P. and BLANC, J. M. (1990). Protein synthesis in different tissues of mature rainbow trout (*Salmo gairdneri R*). Influence of triploid. *Comp. Biochem. Physiol.*, 97: 345-352.

FAUCONNEAU, B., ALAMI-DURANTE, H., LAROCHE, M., MARCEL, J. and VALLOT, D. (1995). Growth and meat quality relations in carp. *Aquaculture*. 129: 265-297.

FENDERSON, O. C. and CARPENTER, M. R. (1971). Effects of crowding on the behavior of juvenile hatchery and wild landlocked Atlantic salmon, (*Salmo salar* L). *Anim. Behav.*, 19: 439-447.

FERNANDES, M. O. and VOLPATO, G. L. (1993). Heterogeneous growth in the Nile Tilapia: social stress and carbohydrate metabolism. *Physiol. Behav.*, 54: 319-323.

FISHELSON, L., (1966). Cichlidae of the genus *Tilapia* in Israel. *Bamidgeh*. 18: 67-80.

FOLTZ, J. W. and NORDEN, C. R. (1977). Seasonal changes in food consumption and energy content of smelt *(Osmerus mordax*) in Lake Michigan. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 106: 230-234.

FOSTIER, A. and JALABERT, B. (1986). Steroidogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) at various preovulatory stages: changes in plasma hormone levels and *in vivo* and *in vitro* responses of the ovary to salmon gonadotropin. *Fish Physiol. Biochem.*, 2: 87-99.

FOSTIER, A., JALABERT, B., BILLARD, R., BRETON, B. and ZOHAR, Y. (1983). The gonadal steroids. In "Fish Physiology" (W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds.),Vol.9A, pp 277-372. Academic Press, New York.

FOSTIER, A., BILLARD, R., BRETON, B., LEGENDRE, M. and MARLOT, S. (1982). Plasma 11-oxotestosterone and gonadotropin during the beginning of spermiation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Gen. Comp. Endocrinol.* 46: 428-434.

FRYER, J.N. (1979). A radioreceptor assay for purified teleost growth hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 39: 123-130.

FRYER, G. and ILES, T.D. (1972). The cichlid fishes of the great lakes of Africa. T.F.H. Publ., Neptune City, N.J., 641 p.

GAMBKE, B., LYONS, G.E., HASELGROVE, J., KELLY, A.M., and RUBINSTEIN, N.A. (1983). Thyroidal and neural control of myosin transitions during development of rat fast and slow muscles. *FEBS Lett.*, 156: 335-339.

GARDAHAUT, M.F., FONTAINE-PERUS, J., ROUAUD, T., BANDMAN, E. and FERRAND, R. (1992). Developmental modulation of myosin expression by thyroid hormone in avian skeletal muscle. *Development,* 115: 1121-1131.

GOMEZ, J. M., BOUJARD, T., FOSTIER, A. and LE BAIL, P. Y. (1996). Characterization of growth hormone nycthemeral plasma profiles in catheterized rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Zool.*, 274: 000-000.

GOOLISH, E. M. and ADELMAN, I. R. (1983). 14C-glycine uptake by fish scales: refinement of a growth index and effects of a protein-synthesis inhibitor. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112: 647-652.

GRAYTON, B.D. and BEAMISH, F.W.H. (1977). Effects of feeding frequency on food intake, growth and body composition of rainbow trout *(Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 11: 159-172.

GREENLAND, D.C. and GILL, R.L. (1979). Multiple daily feedings with automatic feeders improve growth and feed conversion rates of channel catfish. *Prog. Fish Cult.* 41: 151-153.

GROSS, W.L., FROMM, P.O. and ROELOFS, E.W. (1963). Relationships between thyroid and growth in green sun fish, *Lepomis cyanellus* (Rafinesque). *Trans. Am. Fish. Soc.* 92: 401-408.

GUERRERO, R.D. (1975). Use of androgens for the production of all male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Trans. Am. Fish. Soc.* 104: 342-348.

GUERRERO, R. D. (1976). Culture of male *Tilapia mossambica* produced through artificial sex-reversal. FAO Tech. Conf. Aquacult. FIR: AQ/76/E/5.

GUERRERO, R.D. (1982). Control of tilapia reproduction . In "The Biology and Culture of Tilapias".(R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-Mc Connell, eds.), pp.309-316. ICLARM, Manila, Philippines.

GUERRERO, R. D. and SHELTON, W. L. (1974). An aceto-carmine squash method for sexing juvenile fishes. *Prog. Fish. Cult.*, 36: 56.

GUILLOU, A. and De La NOÜE, J. (1987). Use strontium as a nutritional marker for farm-reared brook trout. *Prog. Fish-Cult.* 49: 34-39.

HALL, T.R. and CHADWICK, A. (1976). Effects of growth hormone inhibiting factor (somatostatin) on the release of growth hormone and prolactin from pituitaries of the domestic fowl *in vitro*. *J. Endocrinol.* 68: 163-164.

HALL, T., HARVEY, S. and SCANES, C. (1986). Control of growth hormone secretion in the vertebrates: a comparative survey. *Comp. Biochem. Physiol.*, 84A: 231-253.

HANSON, T.R., SMITHERMAN, R.O., SHELTON, W.L. and DUNHAM, R.A. (1983). Growth comparison of monosex tilapia produced by separation of sex, hybridization and sex reversal . In "Proceedings of the international Symposium on tilapia in Aquaculture"(Fishelson L. and Z. Yaron, eds) Tel Aviv University, Tel Aviv, pp.570-579.

HARPER, M.J.K. and WALPOLE, A.L. (1967). A new derivative of triphenylethylene: effect on implantation and mode of action in rats. *J. Reprod. Fert.* 13: 101-119.

HENKEN, A. M., BOON, J. B., CATTEL, B. C. and LOBEE, H. W. J. (1987). Differences in Growth Rate and Feed Utilization between Male and Female African Catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquaculture*, 63: 221-232.

HERBINGER, C. M. and FRIARS, G. W. (1991). Correlation between condition factor and total lipid content in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aqu. Fish. Manag.*, 22: 527-529.

HICKLING, C.F.(1960). The Malacca tilapia hybrids. *J. Genet*, 57: 1-10

HICKLING, C.F.(1968). Fish hybridization . *FAO Fish. Rep.*, 44: 1-11.

HIGGS, D. A. and EALES, J. G. (1977). Influence of food deprivation on radioiodothyronine and radioidide kinetics in yearling brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill) with a consideration of the extent of L-thyroxine conversion to 3,5,3'-triiodo-L-thyronine. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 32: 29-40.

HIGGS, D. A., DONALDSON, E. M., DYE, H. M. and MCBRIDE, J. R. (1975). A preliminary investigation of the effect of bovine growth hormone on growth and muscle composition of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 27: 240-253.

HIGGS, D.A., FAGERLUNG, U.H.M., McBRIDE, J.R., DYE, H.M. and DONALDSON, E.M. (1977). Influence of combinations of bovine growth hormone, 17α-methyltestosterone and L-thyroxine on growth of yearling Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Can. J. Zool.*, 55: 1048-1056.

HIGGS, D.A., FAGERLUNG, U.H.M., EALES, J.G. and McBRIDE, J.R. (1982). Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture . *Comp. Biochem. Physiol.* 73B: 143-176.

HO, S. M. (1991). Vitellogenesis. *In*: Pang and Schreibman (eds.). Fundamentals and biomedical inplications. Academic Press. San Diego, pp. 91-125.

HO, K. Y., EVANS, W. S., BLIZZARD, R. M., VELDHUIS, J. D., MERRIAM, G. R., SAMOJLIK, E., and FURLANETTO, R. (1987). Effects of sex and age on the 24-hour profile of growth hormone secretion in man: Importance of endogenous estradiol concentrations. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 64: 51.

HOGENDOORN, H. (1981). Controlled propagation of the African catfish, *Clarias lazera* (C.& V.). IV. Effect of feeding regime in fingerling culture. *Aquaculture,* 24: 123-131.

HOULIHAN, D.F. (1991). Protein turn-over in ectotherms and its relationship to energetics. In Advances in Comp. Env. Physiol. Vol 7, (ed R. Gilles), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, PP. 1-43.

HUET, M., (1972). Cultivation of tilapias and other african cichlids, in text book of fish culture - Breeding and cultivation of fish, Fishing News (Books) L.T.D. West Byfleet: pp.192- 199.

HUNT, D.W.C. and EALES, J.C. (1979a). Iodine balance in rainbow trout , *Salmo gairdneri* and effects of testosterone propionate . *J. Fish. Res. Bd. Can.* 36: 282-285.

HUNT, D.W.C. and EALES, J.C. (1979b). The influence of testosterone propionate on thyroid function of immature rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson* . *Gen. Comp. Endocrinol.* 37: 115-121.

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

HUNTER, G. A. and DONALDSON, E. M. (1983). Hormonal sex control and its application to fish culture. *In*: Hoar, W.S., Randall, D.J. and Donaldson E.M. (eds.). Academic Press. New York, 223-303.

HURIAUX, F. and FOCANT, B. (1985). Electrophoretic and immunological study of myosin light chains from freshwater teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 82B: 737-743.

HYDER, M., (1970). Gonadal and reproductive patterns in *Tilapia leucostica* (Teleostei : Cichlidae) in an equatorial lake : lake Naïvasha (Kenya). *J. Zool.* 162 : 179-195.

JALABERT, B., KAMMACHER, P. and LESSENT, P. (1971). Déterminisme du sexe chez les hybrides entre *Tilapia macrochir* et *Tilapia nilotica*. Etude du sex-ratio dans les recroisements des hybrides de première génération par les espèces parentes. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 11: 155-165.

JALABERT, B., FOSTIER, A. et BRETON, B. (1982). Contrôle endocrinien de la croissance chez les poissons téléostéens : données majeures et applications. *Oceanis*, 8: 493-609.

JANSSON, J., EKBERG, S., ISAKSSON, O. G. P. and EDEN, S. (1984). Influence of gonadal steroids on age- and sex-related secretory patterns of growth hormone in the rat. *Endocrinology*, 114: 1287-1294.

JOBLING, M. (1982). Some observations on the effects of feeding frequency on the food intake and growth of plaice, *Pleuronectes platessa*. *J. Fish Biol.*, 20: 431-444.

JOBLING, M. (1983). Effect of feeding frequency on food intake and growth of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *J. Fish Biol.*, 23: 177-185.

JOBLING, M. (1985). Physiological and social constraints on growth of fish with special reference to arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *Aquaculture*, 44: 83-90.

JOBLING, M. and WANDSVIK, A. (1983). Effect of social interactions on growth rates and conversion efficiency of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. *J. Fish Biol.*, 22: 577-584.

JOHNSTON, I. A. (1982). Physiology of muscle in hatchery raised fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B: 105-124.

KADRI, S., METCALFE, N.B., HUNTINGFORD, F.A., and THORPE, J.E. (1991). Daily feeding rhythms in atlantic salmon sea cages. *Aquaculture*. 92: 219-224.

KATZ, Y., ABRAHAM, M. and ECKSTEIN, B. (1976). Effects of adrenosterone on gonadal and body growth in *Tilapia nilotica* (Teleostei, Cichlidae). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 29: 414-418.

KERDCHUEN, M. et LEGENDRE, M. (1991). Influence de la fréquence et de la période de nourrissage sur la croissance et l'efficacité alimentaire d'un silure africain *Heterobranchus longifilis* (Teleostei, Claridae). *Aquat. Living Resour.* 4: 241-248.

KIESSLING, A., STOREBAKKEN, T., ASGARD, T. and KIESSLING, K. H. (1991). Changes in the structure and function of the epaxial muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to ration and age. I. Growth dynamics. *Aquaculture*, 93: 335-356.

KOEBELE, B.P. (1985). Growth and the size hierarchy effect: an experimental assessment of three proposed mechanisms; activity differences, disproportional food acquisition, physiological stress. *Env. Biol. Fishes.* 12: 181-188.

KÜHN, E. R. (1990). Hormonal control of peripheral monodeiodination in vertebrates. *In*: Epple,A., C.G. Scanes, and M.H. Stetson (eds.). Progress in Comparative Endocrinology. Wiley-Liss. New York, 421-426.

LAEMMLI, U. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)*, 227: 680-684.

LAHAV, E. (1993). Use of sex-reversed females to produce all-male tilapia (*Oreochromis aureus*) fry. *Bamidgeh*, 45: 131-136.

LAM, T.J. (1980). Thyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon (Tilapia) mossambicus* Ruppell. *Aquaculture.* 21: 287-291.

LAM, T. J. and SHARMA, R. (1985). Effects of salinity and thyroxine on larvae survival, growth and development in the carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 44: 201-212.

LAROCHE, G., WOODALL, A.N., JOHNSON, C. L. and HALVER, J.E. (1966). Thyroid function in the rainbow trout (*Salmon gairdnerii* Rich.). II. Effects of thyroidectomy on the development of young fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 6: 249-266.

LAZARD, J. (1980). Le développement de la pisciculture intensive en Côte d'Ivoire . Exemple de la ferme piscicole pilote de Natio-Kobadara (Korhogo). *Notes et documents sur la pêche et pisciculture.* 21: 1-44.

LAZARD, J. (1984). L'élevage du Tilapia en Afrique. Données techniques sur sa pisciculture en étang. *Bois et Forêts des tropiques*, 206: 33-50.

LAZARD, J. (1990). Transfert de poissons et développement de la production piscicole. Exemple de 3 pays d'Afrique Subsaharienne. *Rev. Hydrobiol. Trop.*, 23: 251-265.

LAZARD, J., LECOMTE, Y., STOMAL, B. and WEIGEL, J. Y. (1991). (eds). Pisciculture en Afrique subsaharienne. Situations et projets dans les pays francophones, propositions d'actions. Rapport d'étude, Ministère de la Coop. et Dévelop. Paris. 155 p.

LAZARD, J. et OSWALD, M. (1995). Association silure africain-tilapia : polyculture ou contrôle de la reproduction? *Aquat. Living Resour.*, 8: 455-463.

LEATHERLAND, J. F. (1981). Conversion of L-thyroxine to triiodo-Lthyronine in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) liver and kidney homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.*, B 69: 311-314.

LEATHERLAND, J.F. (1985). Effects of 17ß-estradiol and methyl-testosterone on the activity of the thyroid gland in rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson. Gen. Comp. Endocrinol.* 60: 343-352.

LEATHERLAND, J. F. (1988). Endocrine factors affecting thyroid economy of teleost fish. *Am. Zool.*, 28: 319-328.

LEATHERLAND, J.F. (1994). Reflections on the thyroidology of fishes: from molecules to humankind. *Guelph Ichthyol. Rev.*, 2: 1-67.

LE BAIL, P. Y. (1981). Identification du sexe en fonction de l'état de maturité chez les poissons. Thèse de Docteur Ingénieur, ENSA Rennes. 53p.

LE BAIL, P.Y. (1988). Growth-reproduction interactions in Salmonids. Reproduction in fish. Basic and applied aspects in endocrinology and genetics. Tel-Aviv, Israel, 10-12 nov. *Les colloques de l'INRA*, 44: 91-108.

LE BAIL, P.Y., SUMPTER, J.P., CARRAGHER, J.F., MOUROT, B., NIU, P.D. WEIL, C. (1991a). Development and validation of highly sensitive radioimmunoassay for chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Growth hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 83: 75-85.

LE BAIL, P.Y., PEREZ-SANCHEZ, J., YAO, K. and MAISSE, G. (1991b). Effect of GH treatment on salmonid growth : study of the variability of response. In Coastal and Estuarine Studies;"Aquaculture: fundamental and applied reseach". 43: 173-197.

LEFRANC, E. (1992a). Mise au point d'un outil pour la saisie de la conformation de poissons vivants. Relation avec l 'aptitude à la transformation. Rapport S.Y.S.A.A.F.

LEFRANC, E. (1992b). E.C.P. : outil destiné à l'étude de la conformation de poissons vivants. Rapport DESS Info. appliquée aux sciences expérim. Univ. Paul Sabatier Toulouse.

LE GAC, F., BLAISE, O., FOSTIER, A., LE BAIL, P-Y., LOIR, M., MOUROT, B. and WEIL, C. (1993). Growth hormone (GH) and reproduction: a review. *Fish Physiol. Biochem.*, 11: 219-232.

LEGENDRE, M. (1986). Influence de la densité , de l'élevage mono-sexe et de l'alimentation sur la croissance de *Tilapia guineensis* et de *Sarotherodon melanotheron* élevés en cage-enclos en lagune Ebrié (Côte d'Ivoire). *Rev. Hydrobiol. trop.*, 19: 19-29.

LEONARD, J. L. and VISSER, T. J. (1986). Biochemistry of deiodination. *In*: G. Hennemann (eds). Thyroid Metabolism. Dekker. New York/Basel, pp. 189-229.

LEVEILLE, G.A. and HANSON, R.W. (1965a). Influence of periodicity of eating on adipose tissue metabolism in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 43: 857-868.

LEVEILLE, G.A. and HANSON, R.W. (1965b). Influence of periodicity of eating in chicken. *Am. J. Physiol.*, 209: 71-78.

LI, H. W. and BROCKSEN, R. W. (1977). Approaches to the analysis of energetic costs of intraspecific competition for space by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.*, 11: 329-341.

LISSITZKY, S. (1990). Thyroid hormones.*In:* Baulieu, E.M. and Kelly, P.A. (eds) Hormones from molecules to disease. Chapman and Hall, London. pp. 341-383.

LITTLE, D. C. (1989). An evaluation of strategies for production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry suitable for hormonal treatment. PhD thesis. Institute of Aquaculture.

LOWE-MC CONNELL, R.H., (1959). Breeding behaviour patterns and ecological differences between Tilapia species and their signifiance for evolution within the genus *Tilapia* (Pisces : Ciclidae). *Pro. Zool. Soc. London*, 132: 1-30.

LOWE-MC CONNELL, R. H. (1982). Tilapias in fish communities. *In*: R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnell (eds). The Biology and Culture of Tilapias. International Center for Living Aquatic Resources Management. Iclarm, Manila, Philippines, 83-113.

LOWRY, O.H., ROSEBOROUGH, N.J., FARR A.L. and RANDALL R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275.

LOYA, L. and FISHELSON, L., (1969). Ecology of fish breeding in brackish water ponds near the Dead Sea (Israel). *J. Fish. Biol.* 1: 261-278.

LUQUET, P., RENOU, P. et KAUSHIK, S.J. (1981). Influence du nombre de repas journaliers et du jeûne hebdomadaire sur la croissance chez la truite arc-en-ciel. *Ann. Zootech.*, 30: 411-424.

MACINTOSH, D. J. and LITTLE, D. C. (1995). Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *In*: Bromage, N.R. and Roberts, R.J. (eds). Broodstock management and egg and larval quality. Institute of Aquaculture, Blackwell Science. Cambridge, 277-320.

MACLATCHY, D. L. and EALES, J. G. (1988). Short- term treatment with testosterone increases plasma 3,5,3'-triiodo-L-thyronine and hepatic L-thyroxine 5'-monodeiodinase levels in arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 71: 10-16.

MACLEOD, R. M., ABAD, A. and EIDSON, L. L. (1969). *In vivo* effect of sex hormones on the *in vitro* synthesis of prolactin and growth hormone in normal and pituitary tumor-bearing rats. *Endocrinology*, 84: 1475-1483.

MAGID, A. and BABIKER, M. M. (1975). Oxygen consumption and respiratory behaviour of three Nile fishes. *Hydrobiologia*, 46: 359-367.

MAGNUSON, J.J. (1962). An analysis of aggressive behaviour, growth, and competition for food and space in medaka, *Oryzias latipes* (Pisces, Cyprinodontidae). *Can. J. Zool.* 40: 313-363.

MAIR, G. C., ABUCAY, J. S., BEARDMORE, J. A. and SKIBINSKI, D. O. F. (1995). Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from YY-males in *Oreochromis niloticus* L.: On station comparisons with mixed sex and sex reversed male populations. *Aquaculture*, 137: 313-322.

MAITRE, J. L., MERCIER, L., DOLO, L. and VALOTAIRE, Y. (1985). Caractérisation de récepteurs spécifiques à l'oestradiol, induction de la vitllogénine et de son mRNA dans le foie de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii*). *Biochimie*, 67: 215-225.

MALISON, J. A., BEST, C. D., KAYES, T. B. and AMUNDSON, C. H. (1985). Hormonal growth promotion and evidence for size-related difference in response to estradiol-17b in yellow perch *(Perca flavescens)*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 42: 1627-1633.

MARCHANT, T.A., CHANG, J.P., NAHORNIAK, C.S. and PETER, R.E. (1989). Evidence that gonadotropin-releasing hormone also functions as a growth hormone-releasing factor in the goldfish. *Endocrinology*, 124: 2509-2518.

MAREK, M. (1975). Revision of supplementary feeding tables for pondfish. *Bamidgeh*, 27: 57-64.

MARKERT, J. R., HIGGS, D. A., DYE, H. M. and MACQUARRIE, D. W. (1977). Influence of bovine growth hormone on growth rate, appetite and food conversion of yearling coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed two diets of different composition. *Can. J. Zool.*, 55: 74-83.

MARTIAL, J. A., BAXTER, J. D., GOODMAN, H. R. and SEEBURG, P. H. (1977). Regulation of growth hormone messenger RNA by thyroid and glucocorticoid hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74: 1816-1820.

MARTINEZ, I., OLSEN, L., JANMOT, C. and d'ALBIS, A. (1989). Myosin isoforms in mackerel (*Scomber scombrus*) red and white muscles. *FEBS*, 252: 69-72.

MARTINEZ, I., OFSTAD, R. and OLSEN, L. (1990). Intraspecific myosin light chain polymorphism in the white muscle of herring (*Clupea harengus harengus*, L.). *FEBS*, 265: 23-26.

MATTY, A.J. and CHEEMA, I.R. (1978). The effect of some steroid hormones on the growth and protein metabolism of rainbow trout. *Aquaculture*, 14:163-178.

MATTY, A.J and LONE, K.P. (1979). The effect of androgenic steroids as dietary additives on growth of carp (*Cyprinus carpio*). *Proc.World Maricult.Soc.*,10: 735-745.

MATTY, A.J. and LONE, K.P. (1985). Hormonal control of protein deposition. Nutrition and Feeding in Fish. (Cowey C.B., Mackie A.M. and Bell J.G. (eds)). Academic Press. pp. 147-167.

MATTY, A. J., CHAUDHRY, M. A. and KHALID, P. L. (1982). The effect of thyroid hormones and temperature on protein and nucleic acid contents of liver and muscle of *Sarotherodon mossambica*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 47: 497-507.

McBAY, L.G. (1961). THe biology of *Tilapia nilotica* (Linnaeus). Pro. Ann. Conf. South-East Assoc. Game Fish Comm. 15: 208-218.

McCANN, S.M., FAWCETT, C.P. and KRULICH, L. (1974). Hypothalamic hypophysial releasing and inhibiting hormones. In "Endocrine Physiology" (S.M. McCann, ed.). MTP Int. Rev. Sci. Physiol. Ser. 1, Vol. 5. Butterworth, London.

McCORMICK, D.L. and SAUNDERS, R.L. (1990). Influence of ration level and salinity on circulating thyroid hormones in juvenile atlantic salmon (*Salmo salar*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 78: 224-230.

MELARD, C. (1986). Recherches sur la biologie d'*Oreochromis (Tilapia) niloticus* L.(Pisces : Cichlidae) en élevage expérimental :reproduction, croissance, bioénergétique - *Cahiers d'éthologie appliquée*. 6(3) : 1-224.

MELARD, C (1995). Production of a high percentage of male offspring with 17α-ethylnylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. I. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales. *Aquaculture*, 130: 25-34.

MELARD, C. et PHILIPPART, J.C. (1981). La production de tilapia de consommation dans les rejets industriels de l'eau chaude en Belgique. *Cahiers d'Ethologie appliquée. 1(suppl.2):* 7-122.

MELARD, C., DUCARME, C. et LASSERRE, J. (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

MEUNIER, F. (1972). Marquages simples et marquages multiples du tissu osseux de quelques téléostéens par des substances fluorescentes. *C. R. Acad. Sci.*, 275: 1685-1688.

MEUNIER, F. (1974). La technique de marquage vital des tissus squelettiques des poissons. *Bull. Fr. Pisc.*, 255S: 51-57.

MEYER-BURGDORFF, K.H., OSMAN, M.F., and GÜNTHER, K.D. (1989). Energy metabolism in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 79: 283-291.

MIRES, D. (1977). Theoretical and practical aspects of the production of all-male Tilapia hybrids. *Bamidgeh*, 29: 94-101.

MOL, K., KAPTEIN, E., DARRAS, V. M., DE GREEF, W. J., KUHN, E. R. and VISSER, T. J. (1993). Different thyroid hormone-deiodinating enzymes in tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver and kidney. *FEBS Letters*, 321: 140-144.

MOL, K., BYAMUNGU, N., CUISSET, B., YARON, Z., OFIR, M., MELARD, C., CASTELLI, M. and KÜHN, E.R. (1994). Hormonal profile of growing male and female diploids and triploids of the blue tilapia, *Oreochromis aureus*, reared in intensive culture. *Fish Physiol. Biochem.* 13: 209-218.

MOREAU, J., (1979). Biologie et évolution des peuplements de Cichlidés (Pisces) introduits dans les lacs malgaches d'altitude. Thèse Doct. Etat, I.N.P. Toulouse. 38-345

MOREAU, G. et BARBEAU, C. (1979). Différenciation de populations anadromes et dulcicoles de grands corégones (*Coregonus clupeaformis*) par la composition minérale de leurs écailles. *J. Fish. Res. Board Can.*, 36: 1439-1444.

MROWKA, W. and SCHIERWATER, B. (1988). Energy expenditure for mouthbrooding in a cichlid fish. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 22: 161-164.

NACARIO, J.F. (1983). The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus L. (Tilapia nilotica)*. *Aquaculture*. 34: 73-83.

NAGOSHI, M. (1967). Experiments on the effects of size hierarchy upon the growth of guppy (*Lebistes reticulatus*). *J. Fac. Fish. Prefect. Univ. Mie* 7: 169-189.

NAKAMURA, N. and KASAHARA, S. (1955). A study on the phenomenon of the tobi koi or shoot carp. I: On the earliest stage at which the shoot carp appears. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 21: 73-76.

NAKAMURA, M. and NAGAHAMA, Y. (1989). Differentiation and development of Leydig cells, and changes of testosterone levels during testicular differentiation in tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish. Physiol. Biochem.* 7: 211-219.

NAZAR, D. S., PERSSON, G., OLIN, T., WATERS, S. and VON DER DECKEN, A. (1991). Sarcoplasmic and myofibrillar proteins in white trunk muscle of salmon (*Salmo salar*) after estradiol treatment. *Comp. Biochem. Physiol.*, 98: 109-114.

NG, T. B. and IDLER, D. R. (1983). Yolk formation and differentiation in teleost fishes. *In*: Hoar, W.S., Randall, D.J. and Donaldson E.M. (eds). Academic Press. New York, 373-404.

NG, T.B., LEUNG, T.C. and WOO, N.Y.S. (1991). Insulin-like growth factor-I like immunoreactivity in the serum and tissues of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Biochem. Inter.*, 24: 359-368.

NOAKES, D.L.G. and LEATHERLAND, J.F. (1977). Social dominance and interrenal cell activity in rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Pisces, Salmonidae). *Env. Biol. Fish.*, 2: 131-136.

NOESKE-HALLIN, T.A., SPIELER, R.E., PARKER, N.C. and SUTTLE, M.A. (1985). Feeding time differencially affects fattening and growth of channel catfish. *J. Nutr.* 115: 1228-1232.

NORRIS, D.O. (1969). Depression of growth following radiothyrectomy of larval chinook salmon and steel-head trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 98: 104-106.

NUNEZ RODRIGUEZ, J., KAH, O., GEFFARD, M. and LE MENN, F. (1989). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for sole (*Solea vulgaris*) vitellogenin. *Comp. Biochem. Physiol.*, 92: 741-746.

OCHIAI, Y., KOBAYASHI, T., WATABE, S. and HASHIMOTO, K. (1990). Mapping of fish myosin light chain by two dimensional gel electrophoresis. *Comp. Biochem. Physiol.*, 95B: 341-345.

OLIN, T. and VON DER DECKEN, A. (1987). Estrogen treatment and its implication on vitellogenin and myosin synthesis in salmon (*Salmo salar*). *Physiol. Zool.*, 60: 346-351.

OLIN, T., WESTMAN, A. and VON DER DECKEN, A. (1989). Time-and temperature-dependent appearance of vitellogenin in Golgi vesicles and serum after estrogen treatment of salmon (*Salmo salar*). *J. Exp. Zool.*, 249: 213-220.

OLIVEIRA, R.F. and ALMADA, V.C. (1995). Sexual dimorphism and allometry of external morphology in *Oreochromis mossambicus*. *J. Fish Biol.* 46: 1055-1064.

OLIVEREAU, M., LELOUP, J. DE LUZE, A. et OLIVEREAU, J. (1981). Effet de l'oestradiol sur l'axe hypophyso-thyroïdien de l'anguille. *Gen. Comp. Endocrinol.* 43: 352-363.

OPHEL, I. L. and JUDD, J. M. (1967). Skeletal distribution of strontium and calcium and strontium/calcium ratios in several species of fish. *In*: Lenihan, J.M.A., Loutil, J.F. and Martin, J.H. (eds). Strontium metabolism. Proceedings of the International Symposium on some aspects of strontium metabolism. Academic Press. London and New York, .

OTTAWAY, E. M. (1978). Rhythmic growth activity in fish scales. *J. Fish Biol.*, 12: 615-623.

OTTAWAY, E. M. and SIMKISS, K. (1977). A method for assessing factors influencing "false check" formation in fish scales. *J. Fish Biol.*, 11: 681-687.

OTTAWAY, E. M. and SIMKISS, K. (1979). A comparison of traditional and novel ways of estimating growth rates from scales of natural populations of young bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Mar. Biol. Ass.UK*, 59: 49-59.

OWUSU-FRIMPONG, M., (1987). Breeding behavioural pattern of the lake fish *Tilapia discolour Gunther* (Teleostei, Cichlidae) in captivity. *J. Fish Biol.* 30: 1-5.

OWUSU-FRIMPONG, M., NIJJHAR, B., (1981). Induced sex reversal in *Tilapia nilotica* (Cichlidae) with methyltestosterone. *Hydrobiologia*, 78: 157-160.

PALADA-de VERA, M.S. and EKNATH, A.E. (1993). Predictability of individual growth rates in tilapia. *Aquaculture*, 111: 147-158.

PANDIAN, T. J. and VARADARAJ, K. (1987). Techniques to regulate sex ratio and breeding in Tilapia. *Curr. Sci.*, 56: 337-343.

PELISSERO, C., LE MEN, F. and KAUSHICK, S. (1991). Estrogenic effect of dietary soya bean meal on vitellogenesis in cultured siberian sturgeon *Acipenser baeri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 83: 447-457.

PERRONE, M., and ZARET, T.M., (1979). Parental care patterns of fishes. *Amer. Nat.* 113: 351-361.

PETER, R. E. (1973). Neuroendocrinology of teleosts. *Am. Zool.*, 13: 743-755.

PETER, R. E. and MARCHANT, T. A. (1995). The endocrinology of growth of carp and related species. *Aquaculture*, 129: 299-321.

PEYON, P., BALOCHE, S. and BURZAWA-GERARD, E. (1996). Potentiating effect of growth hormone on vitellogenin synthesis induced by 17β-estradiol in primary culture of female silver eel (Anguilla anguilla L.) hepatocytes. *Gen. Comp. Endocrinol.* 102: 263-273.

PHILIPPART, J.C. et MELARD, C. (1987). La production de tilapias en eau chaude industrielle en Belgique. Situation actuelle du projet, perspectives de développement en pisciculture solaire et transfert de la technologie. *Cahiers d'Ethologie appliquée*. 7: 107-134.

PHILIPPART, J.C., and RUWET, J.C., (1982). Ecology and distribution of Tilapias. In "the biology and culture of Tilapias". (R.S.V. Pullin, and Lowe-Mc connell, eds), Iclarm, Manila, Philippines.pp. 15-59.

PICKERING, A. D. (1990). Stress and the suppression of somatic growth in teleost fish. *In*: Epple, A., Scanes, C.G. and Stetson, M.H. (eds). Progress in Comparative Endocrinology. Wiley-Liss, New York. NY, 473-479.

PICKFORD, G. E. (1953a). A study of the hypophysectomized male killifish, *Fundulus heteroclitus* (Linn.). *Bull. Bingham Oceanogr. Collect.*, 14: 5-41.

PICKFORD, G. E. (1953b). The response of hypophysectomized male *Fundulus* to injections of purified beef growth hormone. *Bull. Bingham Oceanogr. Collect.*, 14: 46-68.

PICKFORD, G.E. (1957). The growth hormone. In "The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes" (G.E Pickford and J.W. Atz, eds.). N.Y. Zool. Soc. New York. 613 p.

PICKFORD, G.E. and THOMPSON, E.F. (1948). The effect of purified mammalian growth hormone on the killifish (*Fundulus heteroclitus* L.). *J. Exp. Zool.* 109: 367-383.

PINDER, L. J. and EALES, J. G. (1969). Seasonal buoyancy changes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr and smolt. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 26: 2093-2100.

POSTEL-VINAY, M.C. (1989). Récepteurs de l'hormone de croissance. *Annales d'endocrinologie (Paris).* 50: 404-408.

PRUGININ, Y. (1967). Culture of carp and tilapia hybrids in Uganda . *FAO Fish. Rep.*, 44: 223-229.

RANA, K. J. (1986). An evaluation of two types of containers for artificial incubation of *Oreochromis* eggs. *Aqu. Fish. Manag.*, 17: 139-145.

RICORDEL, M.J., SMAL, J. and LE BAIL, P-Y. (1995). Application of a recombinant cichlid growth hormone radioimmunoassay to mesure native GH in tilapia (*Oreochromis niloticus*) bred at different temperatures. *Aquat. Living Resour.* 8: 153-160.

RIJNSDORP, A. D. and IBELINGS, B. (1989). Sexual dimorphism in the energetics of reproduction and growth of North Sea plaice, *Pleuronectes platessa* L. *J. Fish Biol.*, 35: 401-415.

ROFF, D. A. (1982). Reproductive strategies in flatfish: a first synthesis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39: 1686-1698.

ROGNON, X. (1993). Diversité génétique et relations phylogénétiques chez les tilapias (Pisces: *Cichlidae*): comparaison des données du polymorphisme enzymatique et mitochondrial. Thèse de Doctorat. Univ. Paris XI Orsay. 175 p.

ROTHBARD, S., (1979). Observations on the reproductive behaviour of *Tilapia zillii* and several *Sarotherodon spp.* under aquarium conditions. *Bamidgeh.* 31: 35-43.

ROTHBARD, S., MOAV, B., and YARON, Z. (1987). Changes in steroid concentrations during sexual ontogenesis in Tilapia . *Aquaculture* , 61: 59-74.

RUWET, J.C., (1962). La reproduction des *Tilapia macrochir (Blgr)* et *Tilapia melanopleura (Dum.)* au lac de barrage de la Lufira (Haut Katanga). *Rev. Zool. Bot. Afr.* 66: 244-271.

RUWET, .J.C., VOSS, J., HANON, L. et MICHA, J.C. (1976). Biologie et écologie du Tilapia. In "Symposium on aquaculture in Africa"; *FAO/CIFA Tech. Pap.* 4(Suppl.1) pp. 332-364.

RUWET, J.C., PHILIPPART, J.C., MELARD, C., et BISCHOPS, D., (1983). Scénario et commentaire du film "Etude et culture des Tilapias: Histoire d'une domestication". *Cahiers d'Ethologie appliquée.* 3: 115-130.

SACLAUSO, C.A. (1985). Interaction of growth with social behaviour in *Tilapia zillii* raised in three different temperatures. *J. Fish Biol.*, 26: 331-337.

SAGE, M. and BROMAGE, N.R. (1970). Interaction of the TSH and thyroid cells with the gonadotropic cells and gonads in poecilid fishes. *Gen. Comp. Endocrinol.* 14: 137-140.

SAILLANT, E. (1994). Sexage précoce et inversion du sexe chez le bar (*Dicentrarchus labrax*) en conditions d'élevage intensif. Rapport DAA, spécialisation halieutique, ENSA. Rennes. 31p.

SAMUELS, H.H., STANDLEY, F. and CASANOVA, J. (1979). Relationship of receptor affinity to the modulation of thyroid hormone nuclear receptor levels and growth hormone nuclear synthesis by L-triiodothyronine and iodothyronine analogous in cultured GH 1 cells. *J. Clin. Invert.* 63: 1229-1240.

SCHOTT, E.F., KAYES, T.B. and CALBERT, H.E. (1978). Comparative growth of male *versus* female yellow perch fingerlings under controlled environmental conditions.*In* R.L. Kendall (ed). Selected coolwater fishes of North America. Am. Fish. Soc. Washingtown, D.C. pp. 181-186.

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.

SCOTT-THOMAS, D.A.F., BALLANTYNE, J.S. and LEATHERLAND, J.F. (1992). Interactive effects of high stocking density and triiodothyronine-administration on aspects of the *in ivvo* intermediary metabolism and *in vitro* hepatic response to catecholamine and pancreatic hormone stimulation in brook charr, *Salvelinus fontinalis*. *J. Exp. Biol.*, 263: 68-82.

SESHAIYA, R. V., AMBUJABAI, P. and KALYANI, M. (1963). Amino acid composition of Icthylepedin from fish scales. Aspects of Protein Structure Proceedings Symposium Madras (ed). 343-349 p.

SHELL, E.W., (1967). Relationship between rate of growth and rate of conversion in feeding trials with two species of tilapia, *Tilapia mossambica Peters* and *Tilapia nilotica Linnaeus*. *FAO. Fish. Rep.* 44: 411-415.

SHELTON, W.L., HOPKINS, K.D. and JENSEN, G.L. (1978). Use of hormones to produce monosex tilapia for aquaculture. In: Culture of Exotic Fishes Symposium Proceedings. Fish culture section. (Smitherman, R.O. and Grover, W.L., eds.). Am. Fish. Soc. Auburn University, Auburn, AL. pp. 10-33.

SHERIDAN, M.A. (1986). Effects of thyroxin, cortisol, growth hormone, and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 64: 220-238.

SINHA, Y. N., WICKES, M. A., SALOCKS, C. B. and VANDERLAAN, W. P. (1979). Gonadal regulation of prolactin and growth hormone secretion in the mouse. *Biol. Reprod.*, 21: 473-481.

SMITH, M. A. K. (1986). Measurement of scale protein synthesis as an index of specific growth rate in *Oreochromis niloticus* (L) and *Labeo dussemerii* (Valenciennes). *Physiol. Zool.*, 59: 514-522.

STEARNS, S. C. and GRANDALL, R. E. (1984). Plasticity for age and size at sexual maturity: a life history response to unavoidable stress. *In*: Potts, G.W. and Wootton, R.J. (eds). Fish Reproduction: Strategies and Tactics. Academic Press. London, pp.13-33.

STEVENSON, J.A.F., FELEKI, F., SZLAVKO, A. and BEATON, J.R. (1964). Food restriction and lipogenesis in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 116: 178-182.

STICKLAND, N. C. (1983). Growth and development of muscle fibres in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Anat.*, 137: 323-333.

STRANGE, C.D. and KENNEDY, G.J.A. (1984). Fluorescent pigment marking of cyprinids. *Fish. Mgmt.* 15, N°2.

SUMPTER, J.P. (1992). Control of growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 92: 299-320.

SWEETING, R. M. and EALES, J. G. (1992a). HPLC analysis of *in vitro* hepatic deiodination products of thyroid hormones in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 85: 367-375.

SWEETING, R. M. and EALES, J. G. (1992b). Thyroxine 5'-monodeiodinase activity in microsomes from isolated hepatocytes of rainbow trout: effects of growth hormone and 3,5,3'-triiodo-L-thyronine. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 88: 169-177.

TACON, P. (1995). Contrôle de la reproduction chez la femelle tilapia *Oreochromis niloticus* (Poissons, Cichlidés): interactions entre les phénomènes de comportement parental et l'ovogénèse, et rôle des facteurs endocriniens. Thèse de Doctorat. Univ. Rennes I. 107 p.

TAKASHIMA, F., HIBIYA, P., VAN-NGAN P., AIDA, K. (1972). Endocrinological studies on lipid metabolism in rainbow trout . 2-Effects of sex steroids , thyroid powder and adrenocorticotropin on plasma lipid content . *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 38: 43-49.

TEMMING, A. and HAMMER, C. (1994). Sex specific food consumption of dab (*Limanda limanda* L.) based on 24h fishery. *Arch. Fish. Mar. Res.*, 42: 123-136.

TOGUYENI, A., BAROILLER, J. F., FOSTIER, A., LE BAIL, P. Y., KUHN, E. R., MOL, K. A., and FAUCONNEAU, B. (1996a). Consequences of food restriction on short-term 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., and BAROILLER, J. F. (1996b). Feeding behaviour and feed utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus:* effect of sex-ratio and relationship with the endocrine status. *Soumis à Physiol. Behav.*

TREWAVAS, E. (1982). Tilapias: taxonomy and speciation. *In*: Pullin, R.S.V. and Lowe-McConnell, R.H. (eds.). The biology and culture of tilapias. ICLARM Conference

Proceedings 7, International Center of Aquatic Living Resources. Manila, Philippines, 3-13.

TREWAVAS, E. (1983). Tilapia fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* et *Danikilia*. British Museum (Natural History). London. 583 p.

TURNER, G.F. (1986) Territory dynamics and cost of reproduction in a captive population of the colonial nesting mouth-brooder *Oreochromis mossambicus* (Peter). *J. Fish. Biol.*, 29: 573-587.

UFODIKE, E.B.C. and MADU, C.T. (1986). Effects of methyltestosterone on food utilization and growth of *Sarotherodon niloticus* fry. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 52: 1919-1922.

VAN DER KRAAK, G. J. and EALES, J. G. (1980). Saturable 3,5,3'-triiodo-L-thyronine-binding sites in liver nuclei of rainbow trout (*Salmo gairdnerii* Richardson). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 42: 437-448.

VAN RAAMSDONK, W., VAN DER VEER, L., VEEKEN, K., TEKTONNIE, T. and DE JAGER, S. (1982). Fiber type differentiation in fish. *Mol. Physiol.*, 2: 31-47.

VARADARAJ, K. and PANDIAN, T.J. (1988). Food consumption and growth efficiency of normal and phenotypic male *Oreochromis mossambicus*. In R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. Maclean (eds). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculutre. ICLARM, Manille. Conference Proccdings 15, pp. 429-432

VOLPATO, G. L., DE ALMEIDA FRIOLI, P. M. and DE PADUA CARRIERI, M. (1989). Heterogeneous growth in fishes: some new datas in the nile tilapia *Oreochromis niloticus* and a general view about the causal mechanisms. *Bol. Fisiol. Anim., S. Paulo*, 13: 7-22.

WATABE, S., OCHIAI, Y. and HASHIMOTO, K. (1982). Identification of 5,5'-Dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) and alkali chains of piscine myosin. *Bull. J. Soc. Sci. Fish.*, 48: 827-832..

WATERS, S. and VON DER DECKEN, A. (1989). Characterization of liver chromatin proteins after induction of vitellogenin synthesis in salmon (*Salmo salar*). *Int. J. Biochem.*, 21: 383-389.

WEATHERLEY, A. H. and GILL, H. S. (1987). The biology of fish growth. Academic Press. London. 443 p.

WEATHERLEY, A. H., GILL, H. S. and ROGERS, S. C. (1979). Growth dynamics of muscle fibres, dry weight, and condition in relation to somatic growth rate in yearling rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Zool.*, 57: 2385-2392.

WEATHERLEY, A. H., GILL, H. S. and ROGERS, S. C. (1980a). Growth dynamics of mosaic muscle fibres in fingerling rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in relation to somatic growth rate. *Can. J. Zool.*, 58: 1535-1541.

WEATHERLEY, A. H., GILL, H. S. and ROGERS, S. C. (1980b). The relationship between mosaic muscle fibres and size in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.*, 17: 603-610.

WEE, K. L. and TUAN, N. A. (1988). Effects of dietary protein level on growth and reproduction of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *In*: R.S.V. Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J.L. MacLean (eds). The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture. ICLARM Conference Proceedings. Manila, Philippines, 401-410.

WHALEN, R.G., TOUTANT, M. BUTLER-BROWNE, G.S. and WATKINS, S.C. (1985). Hereditary pituitary dwarfism in mice affects skeletal and cardiac myosin isozyme transitions differently. *J. Cell Biol.*, 101: 603-609.

WIEGAND, M.D and PETER, R.E. (1980). Effects of sex steroids on plasma lipids in the goldfish, *Carassius auratus*. Can. J. Zool., 85: 967-972.

WINBERG, G. G. (1956). Rate of metabolism and food requirements of fishes. *Fish. Res. Bd Can. (translation serie)*, 194: 253.

YAMADA, B.S. and MULLIGAN, T.J. (1982). Strontium marking of hatchery reared coho salmon, *Oncorhynchus kisutch, Walbaum*, identification of adults. *J.Fish. Biol.* 20:5-9

YAMADA, B.S., MULLIGAN, T.J. and FAIRCHILD, S.J. (1979). Strontium marking of hatchery reared coho salmon (*Oncorhynchus kisutch, Walbaum*). *J. Fish. Biol.* 14: 267-275.

YAMAGISHI, H. (1962). Growth relation in some experimental populations of rainbow trout fry, *Salmo gairdneri* Richardson, with special reference to social relations among individuals. *Jap. J. Ecol.*, 12: 43-53.

YAMAGISHI, H., MARUYAMA, T. and MASHIKO, K. (1974). Social relation in a small experimental population of *Odontobutis obscurus* (Temminck and Schlegel) as related to individual growth and food intake. *Oecologia (Berlin)*. 17: 187-202.

YAMAZAKI, F. (1976). Applications of hormones in fish culture. *Fish. Res. Bd. Can.* 33: 948-958.

YANAGISAWA, Y. and OCHI, N. (1991). Food intake by mouthbrooding females of *Cyphotilapia frontosa* (*Cichlidae)* to feed both themselves and their young. *Env. Biol. Fish.*, 30: 353-358.

YANAGISAWA, Y. and SATO,T.(1990). Active browsing by mouthbreeding females of *Tropheus duboisi* and *Tropheus moori* (*Cichlidae*) to feed the young and/or themselves. *Env. Biol. Fish.*, 27: 43-50.

YAO, K., NIU, P.D, LE GAC, F. and LE BAIL, P.Y. (1991). Presence of specific growth hormone binding sites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues: characterization of the hepatic receptor. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 81: 72-82.

YARON, Z., TERTAKIN-SHIMONY, A., SHAMAN, Y. and SALZER, H. (1977). Occurence and biological activity of estradiol-17β in the intact and ovariectomized *Tilapia aurea* (Cichlidae, Teleostei). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 33: 45-52.

YU, T.C., SINNHUBER, R.O and HENDRICKS, J.D. (1979). Effects of steroid hormones on the growth of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, 16: 351-359.

ZABARY, M. (1984). Contribution à l'étude du polymorphisme de la myosine du muscle squelettique chez les animaux de boucherie. Thèse, Université de Clermond II. pp. 95.

The different sex related growth in tilapia (Pisces: Cichlidae), *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)
Involvement of genetic, feeding, behaviour factors and assessment of an endocrine relay

Aboubacar TOGUYENI

In tilapias the precocious sexual maturity and sexual growth dimorphism constitute the main problems of the aquaculture of these species.
The aims of this study were to characterise this difference in growth performance between males and females of *Oreochromis niloticus* and to determine the potential physiological factors involved in it.
The difference in growth related to sex appears around 25-30 g and becomes significant around 35 g for females and 45-50 g for males. This difference in growth between males and females occurs after the onset of gonad ontogenesis, and before sexual maturity. Thus, this is not the consequence neither of the vitellogenesis nor of the mouth incubation of eggs and fry by the females.
It is also not due to a greater food intake of males as suggested previously. Besides, significant differences in food conversion were found between males and females and were associated with significant differences in steroid (11 ketotestosterone, 11KT and 17ß-estradiol, 17ß-E) and thyroid hormone (triiodothyronine,T3 particularly) status. The involvement of these differences in hormonal status in the apparition and maintenance of different growths between males and females has been analysed experimentally by modifying directly or indirectly the hormone environment (feeding ration, castration, hormone supplements or deficiencies). A significant decrease of plasma levels of T3 was observed after 17ß-E2 supplementation in males as in females. Furthermore, a significant increase of these two parameters was obtained when 17ß-estradiol synthesis was experimentaly inhibited in females. These results suggest that, on the one hand the different growths between males and females was related to a growth inhibition in females rather than a stimulation in the males, and on the other hand 17ß-estradiol in connection with the control of T3 metabolism could be the potential candidates for the endocrine relay of the sexual dimorphism in growth in *Oreochromis niloticus*.
It was also found that tilapia is very sensitive to the effects of social interactions, that strongly influences the growth differences between males and females. Finally, we stressed upon the involvement of genes bound to the sexual genotype (especially XY in comparison to YY and XX) independently of the sexual phenotype. The involvement of a genetic component is also strongly suspected.

Key words: Tilapia, different sex related growth, GH, steroid and thyroid hormones, muscle, social interactions, feeding behaviour.

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

Aboubacar TOGUYENI

Chez les tilapias, la maîtrise de la maturité sexuelle précoce et de la croissance différentielle liée au sexe est essentielle pour la rentabilité des élevages de cette espèce tropicale.
L'objectif de ce travail est de caractériser les composantes de cette différence de croissance entre les mâles et les femelles chez *Oreochromis niloticus*, d'en préciser la période d'apparition, et de rechercher les facteurs physiologiques potentiellement impliqués dans le déterminisme du différentiel de croissance lié au sexe.
Les résultats obtenus montrent que la différence de croissance apparaît vers 25-30 g et devient significative vers 35 g pour les femelles et 45-50 g pour les mâles de la souche ivoirienne (souche « Bouaké »). L'apparition de cette différence de croissance n'est pas strictement liée à l'ontogenèse gonadique, ni à la reproduction. Elle apparaît après la différenciation sexuelle et avant la maturité sexuelle. Elle n'est donc pas la conséquence de la vitellogenèse, ni de l'incubation buccale des œufs et des alevins.
Elle n'est également pas liée à une consommation alimentaire plus importante chez les mâles que chez les femelles. Des différences significatives entre les mâles et les femelles sont observées dans les capacités de transformation de l'aliment ingéré, et sont associées à des différences significatives de statut des hormones stéroïdiennes (11-cétotestostérone (11-KT) et œstradiol-17ß (E2-17ß)) et thyroïdiennes, principalement la triiodothyronine (T3). L'implication de ces différences de statut hormonal, dans la mise en place et le maintien de la différence de croissance entre les mâles et les femelles, a pu être décomposée expérimentalement en modifiant directement ou indirectement l'environnement endocrinien (ration alimentaire, castration, supplémentation et déplétion hormonale).
Une diminution significative de la croissance, associée à une diminution également significative des taux circulants de T3, est observée lors des supplémentations en E2-17ß après gonadectomie, aussi bien chez les mâles que chez les femelles. Par ailleurs, une augmentation significative de ces deux paramètres est observée lorsque la synthèse de l'E2-17ß est inhibée expérimentalement chez les femelles. Ces différents résultats suggèrent d'une part que la différence de croissance entre les mâles et les femelles serait liée à une faible inhibition de la croissance des femelles plus qu'à une stimulation de celle des mâles, et d'autre part que l'E2-17ß en relation avec le contrôle du métabolisme de la T3, seraient les candidats potentiels du relais endocrinien.
Les résultats montrent également que le tilapia est très sensible à l'influence des interactions sociales, qui modulent très fortement la différence de croissance entre les mâles et les femelles. Par ailleurs, l'implication d'une composante génétique liée au génotype mais indépendante du phénotype sexuel est fortement suspectée ; le génotype XY étant supérieur aux génotypes YY et XX.

Mots-clés : Tilapia, différence de croissance, GH, hormones thyroïdiennes, stéroïdes sexuels, muscle, interactions sociales, comportement alimentaire.