

INFLUENCE DE LA TEMPERATURE SUR LA DIFFERENCIATION SEXUELLE DES GONADES
CHEZ LA TORTUE LUTH (*DERMOCHELYS CORIACEA*);
ETUDE EN INCUBATION ARTIFICIELLE ET NATURELLE

Frédérique RIMBLOT⁽¹⁾, Jacques FRETEY⁽¹⁾, Jean LESCURE⁽¹⁾ et Claude PIEAU⁽²⁾

RESUME

La différenciation sexuelle de la Tortue Luth est sensible à la température d'incubation des oeufs : au-dessous de 29° C, les gonades se différencient en testicules chez tous les individus; au-dessus de 30° C, les gonades présentent, à l'éclosion, plusieurs indices de féminisation et peuvent être considérées comme des ovaires potentiels. La température critique se situe donc entre 29 et 30° C comme chez les autres espèces de tortues marines (*Caretta caretta*, *Chelonia mydas*) déjà étudiées. Des nouveau-nées furent prélevées à l'émergence de nids naturels en Guyane française. 10 % présentaient un phénotype mâle, 20 % un phénotype femelle potentiel et 70 % un phénotype intermédiaire. L'enregistrement de la température du sable à 60 cm de profondeur, juste à côté d'un nid, montra que pendant la période thermosensible présumée, la température oscilla entre 29 et 30° C. Ces résultats doivent être pris en considération pour maîtriser le phénotype sexuel des nouveau-nées dans les écloséries de tortues marines.

ABSTRACT

Sexual differentiation of the marine leatherback turtle is sensitive to temperature. Incubation of eggs below 29° C results in 100 % males, whereas incubation above 30° C results in 100 % potential females at hatching. Therefore, the threshold temperature lies between 29 and 30° C as has been found for other marine turtles (*Caretta caretta*, *Chelonia mydas*). Among hatchlings from natural nests in French Guiana, 10 % were males, 20 % were potential females and 70 % had an intermediate phenotype. The sand temperature at 60 cm of depth, near one nest, was recorded and was found to vary between 29 and 30° C during the presumed thermosensitive period. These results will be useful to marine turtle hatcheries which seek to manipulate sex ratios among their neonates.

MOTS-CLES : Tortues marines, différenciation sexuelle, température, écloséries.

KEY WORDS : Marine turtles, sexual differentiation, temperature, hatcheries.

(1) Laboratoire de Zoologie (Reptiles et Amphibiens), Muséum National d'Histoire Naturelle, 25 rue Cuvier, 75005 PARIS.

(2) Laboratoire de Biochimie du Développement, Institut Jacques Monod, C.N.R.S. et Université Paris 7, 2 place Jussieu, 75251 PARIS Cedex 05.

INTRODUCTION

L'influence de la température sur la différenciation sexuelle des gonades a été démontrée chez de nombreux Reptiles : deux Lézards (Charnier, 1966; Wagner in Bull, 1980), un Crocodile (Ferguson and Joanen, 1982) et une vingtaine d'espèces de Tortues (Pieau, 1972; revue de Bull, 1980). En ce qui concerne les Tortues, d'une façon générale, les oeufs incubés à des températures élevées (30-33° C) donnent naissance à 100 % de femelles, tandis que les oeufs incubés à des températures basses (23-27° C) donnent naissance à 100 % de mâles. Pour chaque espèce, il existe une température intermédiaire (appelée température critique ou température seuil) à laquelle, à partir d'oeufs d'une même ponte, des mâles, des femelles et aussi, quelquefois, des intersexués peuvent être obtenus (Pieau, 1976). La détermination de cette température est particulièrement importante dans le cas des Tortues marines car, dans un but de protection ou d'élevage, leurs oeufs sont mis à incuber artificiellement dans des boîtes en polystyrène placées sur les plages de ponte ou dans des écloséries. La température à l'intérieur des boîtes est souvent inférieure à la température des nids; il peut donc en résulter un surnombre de mâles à l'éclosion (Mrosovsky and Yntema, 1980).

Parmi les sept espèces de Tortues marines, trois ont été étudiées jusqu'à présent et se sont révélées thermosensibles. Il s'agit de : *Caretta caretta* (Yntema and Mrosovsky, 1980), *Chelonia mydas* (Miller and Limpus, 1980; Mrosovsky, 1982; Wood and Wood, 1982; Morreale et al., 1982) et *Lepidochelys olivacea* (Morreale et al., 1982). Nous apportons ici quelques données sur la Tortue Luth (*Dermochelys coriacea*). Cette espèce nidifie en zone tropicale et Pritchard (1982) estime à 115.000 la population mondiale de femelles matures. La Guyane française possède le site de nidification le plus important de l'Atlantique. Au cours d'une même saison (de mars à juillet), plusieurs milliers de femelles viennent déposer leurs oeufs dans le sable des plages, à raison de 80 à 120 oeufs par ponte. Une éclosérie d'oeufs de Tortues marines a été créée en 1981, à l'initiative de l'un de nous, sur une de ces plages, au lieu dit "les Hattes". Une grande partie des oeufs et la totalité des nouveau-nées utilisées pour notre travail ont été prélevés sur ce site; de plus, des oeufs ont été prélevés au Surinam (collaboration avec le Professeur Mrosovsky de l'Université de Toronto). Nous avons examiné les effets de la température sur la différenciation sexuelle des gonades, d'une part, chez des nouveau-nées issues d'oeufs incubés artificiellement au laboratoire, à diverses températures constantes et, d'autre part, chez des nouveau-nées provenant de nids naturels.

RESULTATS

1°) Incubation artificielle

Ce travail a été effectué en collaboration avec le Professeur Mrosovsky. Il a fait l'objet d'un article original qui a été soumis pour publication.

Mentionnons ici que des oeufs de Tortue Luth ont été incubés à huit températures constantes, comprises entre 27 et 32° C. Le phénotype sexuel de 72 nouveau-nées et de 11 embryons proches du terme a été déterminé à partir de l'examen macroscopique de l'appareil génital (avant et après fixation) et de la structure histologique des gonades et des canaux de Müller.

Aux températures inférieures ou égales à 28,75° C, tous les individus présentent un phénotype mâle. Les gonades, relativement grosses, creusées de sillons transversaux, possèdent une médulla dense, composée de nombreux cordons épithéliaux et un épithélium de surface aminci. Les canaux de Müller sont, généralement, en cours de dégénérescence et présentent un diamètre irrégulier.

Aux températures supérieures ou égales à 29,75° C, chez tous les individus, les gonades sont fines et les canaux de Müller sont complets et de diamètre régulier. La médulla gonadique est très réduite par rapport à celle des testicules. Elle est aussi constituée par des cordons épithéliaux, mais ceux-ci sont beaucoup moins nombreux que les cordons testiculaires. De plus, certains cordons se transforment en lacunes (par acquisition d'une lumière et aplatissement de l'épithélium) et l'épithélium germinatif est épaissi, pseudostratifié. Ces caractères témoignent d'un début de différenciation ovarienne. Cependant, les cellules germinales sont relativement peu nombreuses dans l'épithélium germinatif et ne sont pas entrées en prophase méiotique. Il n'y a donc pas encore de véritable cortex ovarien. Aussi avons-nous considéré ces gonades comme des ovaires potentiels, une évolution mâle postnatale restant toutefois possible. Ces résultats sont schématisés sur la figure 1. Ils montrent que chez la Tortue Luth, la température critique pour la différenciation sexuelle gonadique doit se situer entre 29 et 30° C.

2°) Incubation naturelle

Pour cette étude des nouveau-nées ont été capturées à l'émergence, sur la plage des Hattes, en 1981 et 1983.

En 1981, 91 individus ont été prélevés à la sortie de 10 nids, à raison de 8 à 10 par nid, pendant les périodes du 14 au 21 juin (6 nids) et du 15 au 24 juillet (4 nids).

En 1983, 178 individus ont été prélevés : 88 à l'émergence de 4 nids (respectivement 20, 20, 8 et 40) entre le 15 et le 24 juin et 90 à l'émergence de 3 nids (30 par nid) entre le 9 et le 17 août. Les animaux ont tous été sacrifiés, disséqués et fixés (dans le liquide de Bouin) sur place, dans les 4 jours qui ont suivi leur capture. Au laboratoire, l'examen macroscopique de l'appareil génital des 91 nouveau-nées sacrifiées en 1981 et des 88 nouveau-nées sacrifiées en juin 1983 a été actuellement réalisé. Dans quelques cas, il a été complété par une étude histologique des gonades et des canaux de Müller.

Les résultats sont comparables dans les deux séries :

a) Près de 10 % des individus présentent un phénotype mâle caractéristique (Fig. 2a). Les gonades ont la même forme et la même structure histologique que les testicules obtenus en incubation artificielle, aux températures inférieures ou égales à 28,75° C; cependant, des lambeaux de l'épithélium germinatif peuvent persister. Les canaux de Müller sont fins mais de diamètre assez régulier, montrant seulement un début de dégénérescence dans les cellules conjonctives qui les entourent.

b) 20 % possèdent un appareil génital semblable à celui des individus qui se sont développés aux températures supérieures ou égales à 29,75° C : les gonades sont minces et les canaux de Müller sont complets, sensiblement plus larges que chez les mâles phénotypiques; on peut considérer ces animaux comme des femelles potentielles (Fig. 2c).

c) Chez la majorité des individus (70 %), les gonades ont une forme et des dimensions intermédiaires aux deux types précédemment décrits et les canaux de Müller sont complets et de diamètre régulier (Fig. 2b). L'étude histologique des gonades révèle une médulla dense, moins développée que celle des testicules mais possédant également de nombreux cordons épithéliaux; certains de ces cordons commencent à se creuser d'une lumière et à former des lacunes; l'épithélium germinatif est plus ou moins épaissi, mais comme chez les femelles potentielles, les cellules germinales y sont relativement peu nombreuses et ne montrent pas d'image de prophase méiotique. Malgré quelques indices de féminisation, ces gonades gar-

dent des potentialités testiculaires et on ne peut préjuger de leur évolution ultérieure.

Si on compare la structure des gonades de *Dermochelys coriacea* à celle qui a été décrite, à l'éclosion, chez d'autres espèces de Tortue (*Emys orbicularis*, Pieau, 1974; *Chelydra serpentina*, Yntema, 1981; *Caretta caretta*, Yntema and Mrosovsky, 1980; *Chelonia mydas*, Miller and Limpus, 1980), il apparaît clairement que chez *Dermochelys coriacea*, la différenciation sexuelle gonadique est moins avancée. Il est donc probable que la période thermosensible soit plus tardive. On peut ainsi estimer que cette période a dû se situer au mois de mai pour les tortues nées en juin et au mois de juin pour les tortues nées en juillet. Un enregistrement de la température du sable a été effectué à 60 cm de profondeur, juste à côté d'un nid, de la fin du mois d'avril au début du mois de juillet 1983. Il montre que pendant les mois de mai et de juin, la température a été stable, oscillant seulement entre 29 et 30° C. Or, d'après nos résultats en incubation artificielle, la température critique se situe précisément entre ces températures. Cette observation permet d'expliquer que dans les nids, un fort pourcentage d'individus présente un phénotype sexuel intermédiaire entre le phénotype mâle et ce que nous avons défini comme phénotype femelle potentiel. Des incubations artificielles au laboratoire, entre 29 et 30° C, seront réalisées pour vérifier cette hypothèse.

DISCUSSION

Notre étude de la différenciation sexuelle des gonades en fonction de la température d'incubation des oeufs chez la Tortue Luth apporte des données présentant un intérêt fondamental et appliqué.

Du point de vue fondamental, l'originalité de cette espèce réside dans la structure des gonades à l'éclosion. La différenciation histologique gonadique est en effet nettement moins avancée que chez les autres espèces de tortues : dans les testicules, les cordons épithéliaux médullaires sont relativement minces; les ovaires ne sont pas encore différenciés, quelques caractères (formation de lacunes médullaires, épaissement de l'épithélium germinatif) indiquent cependant le début de la féminisation des gonades. Le caractère le plus frappant est la réduction du nombre de cordons épithéliaux et, par conséquent, du volume de la médulla au fur et à mesure que la température s'élève : très volumineuse au-dessous de 29° C, la médulla est plus ou moins réduite chez la majorité des individus issus d'oeufs incubés entre 29 et 30° C (cas des nids naturels) et toujours très réduite au-dessus de 30° C (en incubation artificielle). Ce phénomène témoigne d'une inhibition de la prolifération des cordons qui est proportionnelle à l'élévation de la température. Il est probable que le développement du cortex ovarien requiert cette action inhibitrice de la température. Nous ignorons tout des mécanismes de cette action. Un des points d'impact possible de la température est la synthèse d'enzymes impliquées dans la stéroïdogénèse (Pieau, 1974; Pieau et al., 1982). Des études sur la synthèse d'hormones stéroïdes (dosages radioimmunologiques, voies de synthèse) et sur les synthèses protéiques (électrophorèse bidimensionnelle) dans les gonades embryonnaires ont été entreprises chez la Tortue aquatique indigène, *Emys orbicularis*. A priori, la Tortue Luth fournit un modèle beaucoup plus favorable pour ces études, car les embryons et les nouveau-nées sont beaucoup plus gros (le poids est environ 8 fois plus élevé à l'éclosion) et permettent des investigations sur un seul individu.

Du point de vue appliqué, l'influence de la température sur la différenciation sexuelle des gonades des tortues marines doit être prise en considération dans les incubations artificielles en éclosérie visant à produire des nouveau-nées, soit pour les élever, soit pour renforcer les populations naturelles. Pour toutes les espèces étudiées jusqu'à présent, la température critique est sensiblement la

même. Elle se situe entre 29 et 30° C. Qu'il s'agisse de protection ou d'élevage, il est préférable de produire plus de femelles que de mâles, donc d'incuber les oeufs à des températures égales ou légèrement supérieures à 30° C. Or, la température à l'intérieur des boîtes en polystyrène utilisées pour l'incubation artificielle des oeufs était, jusqu'à présent, généralement inférieure à la température critique et aboutissait probablement à une forte déviation du *sex ratio* en faveur des mâles (Mrosovsky, 1982). Il est donc nécessaire d'aménager les écloseries en vue d'obtenir une régulation de la température au voisinage de 30° C. Un tel aménagement est en cours à l'écloserie des Hattes, en Guyane française; il est fondé sur l'utilisation de capteurs solaires. En plus de la température, toutes les autres conditions (qualité du substrat, humidité, aération...) sont aussi examinées afin d'améliorer l'incubation artificielle des oeufs et d'obtenir, au moindre coût, le maximum d'éclosion. Ce travail porte sur les trois espèces de Tortues marines qui pondent sur les plages guyanaises : *Dermochelys coriacea*, *Lepidochelys olivacea* et *Chelonia mydas*. Il est complété par une étude éco-éthologique de la reproduction et devrait permettre une protection plus efficace de ces espèces tout en établissant, au niveau de la phase éclosion, les bases scientifiques nécessaires à la mise en oeuvre éventuelle d'élevages; cela, en tenant compte de la réglementation internationale concernant les espèces menacées (Convention de Washington sur le commerce international des espèces menacées d'extinction).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mme S. Renous qui nous a aidés pour l'incubation artificielle des oeufs au laboratoire et MM. J.M. Bretnacher et D. Williams pour leur collaboration technique, en particulier pour leur contribution à l'aménagement de l'écloserie et à l'amélioration des conditions d'incubation des oeufs en Guyane française. Le financement de ce travail a été assuré par le CNEXO et le C.N.R.S. dans le cadre de l'ATP "Bases biologiques de l'aquaculture", contrat n° 82/2780.

-
- Bull J.J., 1980 - Sex determination in reptiles. Quart. Rev. Biol., 55, p. 3-21.
- Charnier M., 1966 - Action de la température sur la sex-ratio chez l'embryon d'*Agama agama* (Agamidae, Lacertilien). C.R. Soc. Biol. Paris, 160, p. 620-622.
- Ferguson M.W.J. and Joanen T., 1982 - Temperature of egg incubation determines sex in *Alligator mississippiensis*. Nature, 296, p. 850-853.
- Miller J.D. and Limpus C.J., 1980 - Incubation period and sexual differentiation in the green turtle, *Chelonia mydas* L. .. Proc. Melbourne Herpetological Symposium. C.B. Banks and A.A. Martin eds., p. 66-73.
- Morreale S.J., Ruiz G.J., Spotila J.R. and Standora E.A., 1982 - Temperature-dependent sex determination : current practices threaten conservation of sea-turtles. Science, 216, p. 1245-1247.
- Mrosovsky N., 1982 - Sex ratio bias in hatchling sea-turtles from artificially incubated eggs. Biol. Conserv., 23, p. 309-314.
- Mrosovsky N. and Yntema C.L., 1980 - Temperature dependence of sexual differentiation in sea-turtles : implications for conservation practices. Biol. Conserv., 18, p. 271-280.
- Pieau C., 1972 - Effets de la température sur le développement des glandes génitales chez les embryons de deux Chéloniens, *Emys orbicularis* L. et *Testudo graeca* L. .. C.R. Acad. Sci. Paris, 274, série D, p. 719-722.

- Pieau C., 1974 - Différenciation du sexe en fonction de la température chez les embryons d'*Emys orbicularis* L. (Chélonien); effets des hormones sexuelles. Ann. Embryol. Morphog., 7, p. 365-394.
- Pieau C., 1976 - Données récentes sur la différenciation sexuelle en fonction de la température chez les embryons d'*Emys orbicularis* L. (Chélonien). Bull. Soc. Zool. France, 101, suppl. n° 4, p. 46-53.
- Pieau C., Mignot Th.-M., Dorizzi M. and Guichard A., 1982 - Gonadal steroid levels in the turtle *Emys orbicularis* L. : a preliminary study in embryos, hatchlings, and young as a function of the incubation temperature of eggs. Gen. Compar. Endocrinol., 47, p. 392-398.
- Pritchard P.C.H., 1982 - Nesting of the leatherback turtle, *Dermochelys coriacea* in Pacific Mexico, with a new estimate of the world population status. Copeia, 1982, p. 741-747.
- Wood F.E. and Wood J.R., 1982 - Sex ratios in captive-reared green turtles, *Chelonia mydas*. Copeia, 1982, p. 482-485.
- Yntema C.L., 1981 - Characteristics of gonads and oviducts in hatchlings and young of *Chelydra serpentina* resulting from three incubation temperatures. J. Morph., 167, p. 297-304.
- Yntema C.L. and Mrosovsky N., 1980 - Sexual differentiation in hatchling loggerheads (*Caretta caretta*) incubated at different controlled temperatures. Herpetologica, 36, p. 33-36.

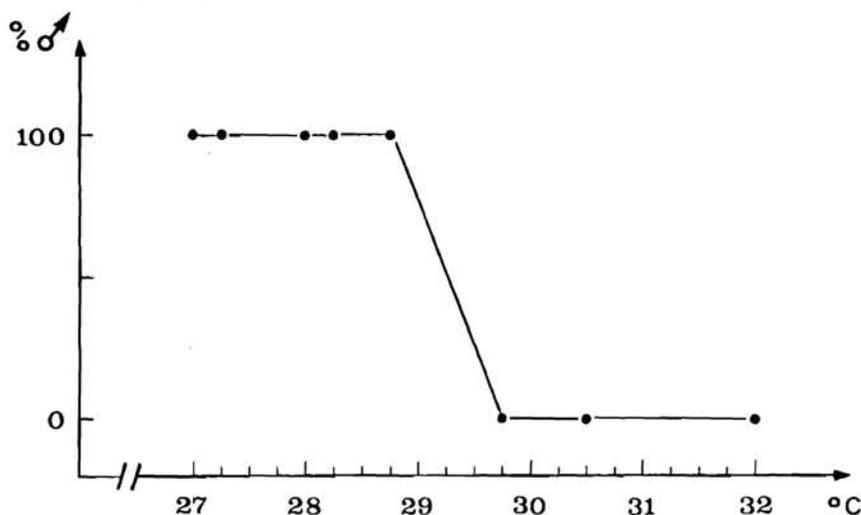


Figure 1 - Pourcentage de mâles en fonction de la température d'incubation des oeufs chez la Tortue Luth, *Dermochelys coriacea*.

Figure 2 - Appareil génital de nouveau-nées de Tortue Luth prélevées à l'éclosion de nids naturels sur la plage des Hattes, en Guyane française.

- Phénotype mâle. Noter la taille des testicules et la présence de sillons transversaux à leur surface. Les canaux de Müller sont minces.
- Phénotype intermédiaire. Les gonades sont sensiblement moins volumineuses et les canaux de Müller sont un peu plus larges que chez les mâles.
- Phénotype femelle potentiel. Les gonades sont fines et légèrement plus longues que les testicules. Les canaux de Müller sont plus larges que chez les mâles.

(G : gonade; C.M. : canal de Müller; MES : mésonéphros; MET : métanéphros).

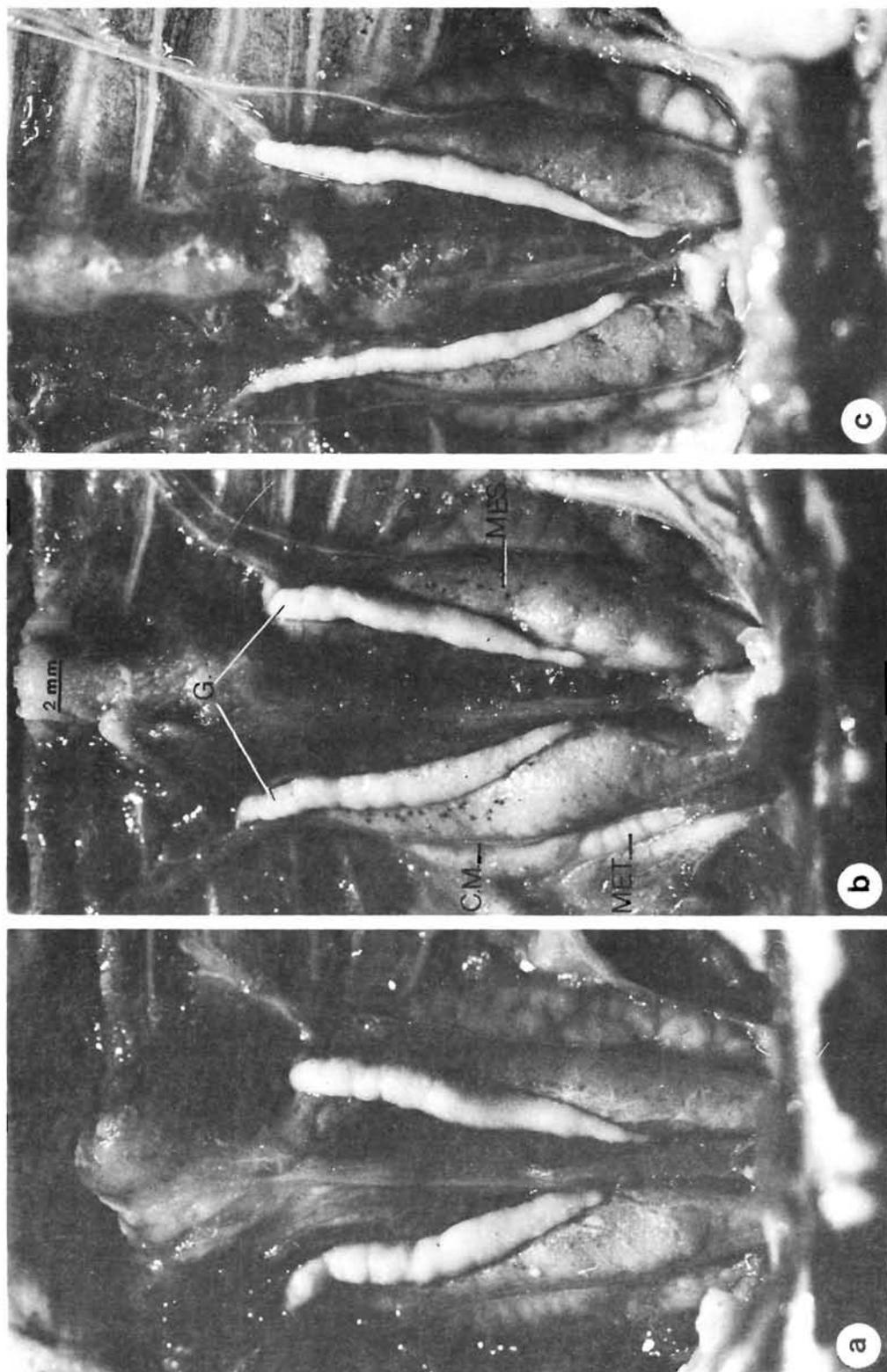


Figure 2