

NOTE TECHNIQUE

IDENTIFICATION DU SEXE ET PRÉLÈVEMENTS D'OVOCYTES SUR TURBOTS (*SCOPHTHALMUS MAXIMUS*) VIVANTS

SEX DETERMINATION AND OVOCYTES SAMPLING ON LIVE TURBOT (*SCOPHTHALMUS MAXIMUS*)

Nicole DEVAUCHELLE

IFREMER - Centre de Brest
B.P. 337, 29273 Brest Cédex

INTRODUCTION

Le turbot, comme l'ensemble des pleuronectiformes, est dépourvu de caractères sexuels secondaires nets. De ce fait, la détermination du sexe représente chez cette espèce, en dehors de la saison de ponte, une opération basée sur le doigté de l'éleveur, qui est difficilement transmissible. Pourtant, les travaux réalisés sur les poissons d'eaux douces montrent que l'identification du sexe contribue largement à bien mener expérimentations, opérations de production intensive ou gestions des populations naturelles (BILLARD, 1983 ; IDLER *et al.*, 1981). Elle est d'autant plus indispensable à une gestion rigoureuse des stocks de juvéniles ou de reproducteurs que le cycle d'élevage est long. Ainsi, chez le turbot, la détermination du sexe des juvéniles permettrait d'opérer un tri précoce des mâles et des femelles. Élevés séparément, ils pourraient être vendus dès que le taux de croissance s'infléchit avec les prémices de la maturation, en général une année plus tôt chez le mâle que chez la femelle (DENIEL, 1981). Le tri mâle-femelle éviterait, d'autre part, les désagréables constats de déséquilibre des sexes de futurs reproducteurs conditionnés à un mode particulier de captivité, entre un à trois ans avant la ponte.

Parmi les méthodes de détermination du sexe entrevues pour le turbot, l'analyse morphométrique, longue et le plus souvent hasardeuse, n'a pas été abordée. De même a été écartée l'utilisation d'un test d'identification immunologique de la vitellogénine ou de stéroïdes utilisés sur des salmonidés (LE BAIL *et al.*, 1981 ; WRIGHT, 1976), ou celle d'analyses biochimiques des protéines du sang (CRAIK *et al.*, 1984) ; ils ne permettraient pas de résoudre à court terme les problèmes d'identification de poissons marins immatures ou en phase de repos sexuel. En développant une autre voie d'approche, ce travail tente de différencier simplement, rapidement et sans léser le poisson, mâles et femelles turbot le plus tôt possible.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

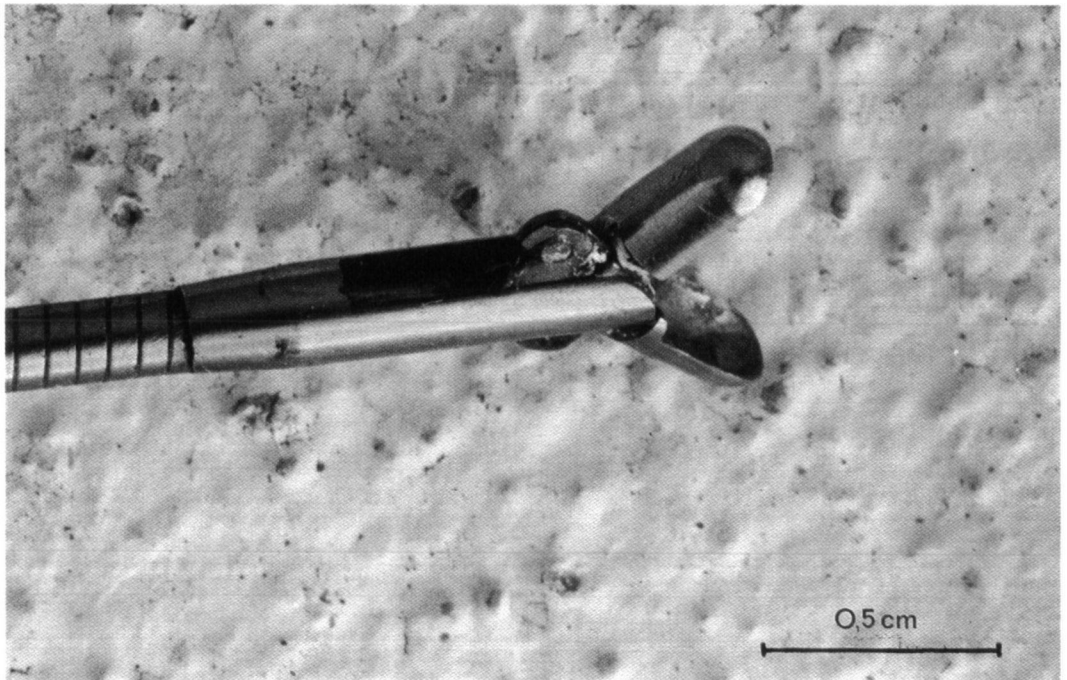
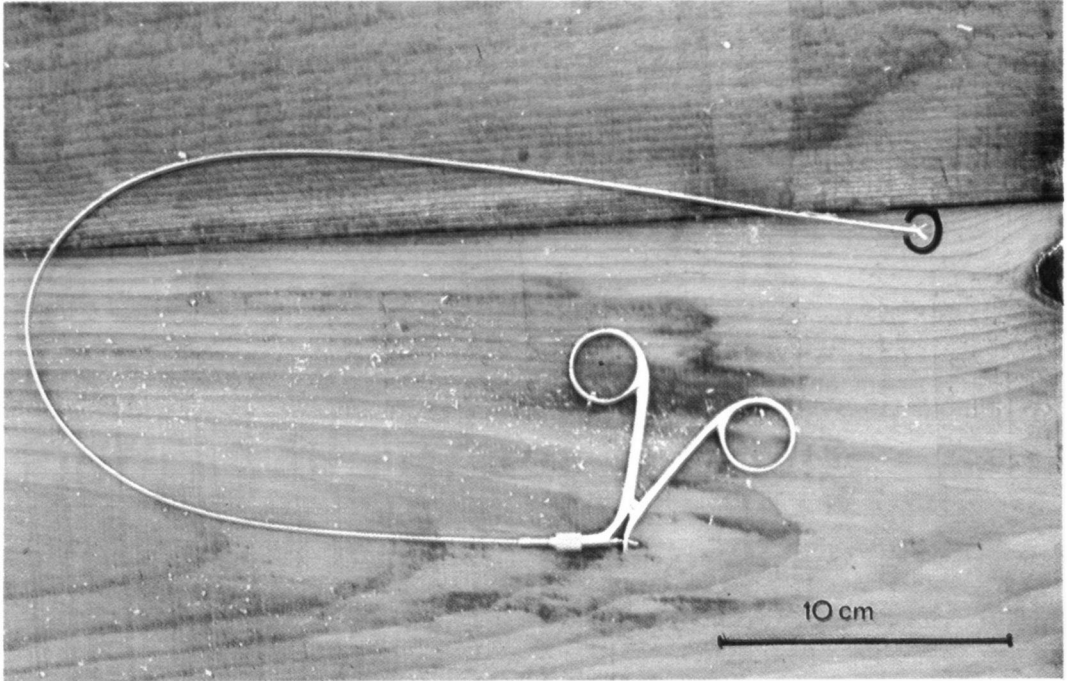
Morphologie

Les caractères sexuels primaires sont mis en place dès l'âge de un mois : les testicules de type lobulaire sont deux lames charnues, blanchâtres, allongées et plaquées à la voûte somatique. Les canaux spermatiques s'unissent au conduit urinaire juste avant une sortie commune dans le milieu extérieur.

Les gonades femelles asymétriques, de couleur jaune orange, s'engagent dans la partie postérieure en doigt de gant de la cavité abdominale. L'ovaire, trapu, est constitué de deux branches de taille comparable chez l'immature ou en période de repos sexuel. A maturité, l'ovaire gauche, plus développé, atteint près de la demi-moitié de la longueur totale du poisson. L'oviducte unique court débouche près de l'orifice anal. En dehors de la saison de ponte, orifices génital et anal sont cachés sous des replis cutanés. Ils sont facilement dévaginables ou même apparents au moment de l'oviposition. Enfin, la répartition des gamètes dans l'ovaire, à un stade donné du développement, est homogène (BARTON, 1981 ; DENIEL, 1981).

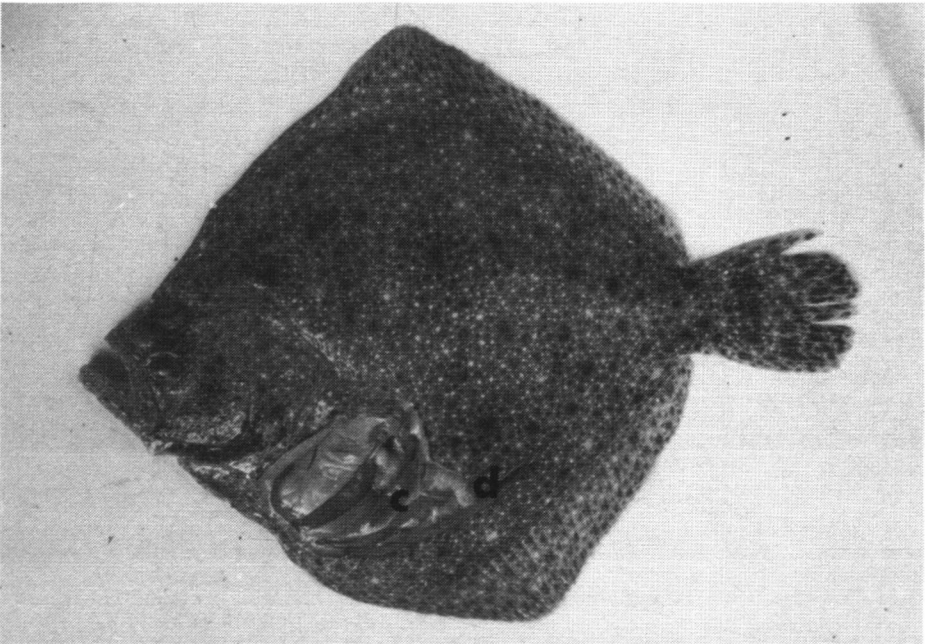
Méthodes de détermination du sexe

Les orifices urinaires dorsal et anal ventral sont facilement reconnaissables. Un premier test a donc consisté en l'introduction près du méat anal d'une pince bronchoscopique (photos 1 et 2) à usage chirurgical devant permettre chez les femelles la reconnaissance de deux conduits (anal et génital), ainsi que le prélèvement de lamelles ovariennes.



Photos 1 et 2 : Pince bronchoscopique. Longueur totale : 60 cm — Détail de la coupelle de prélèvement ($V = 12 \text{ mm}^3$).

Le second test est une simple observation de la face ventrale (côté droit) des poissons dont la face dorsale (côté gauche) est exposée à une source lumineuse forte et concentrée (150 W). Les contours du sac ovarien représentent l'élément d'identification des femelles (photos 3 et 4).



Photos 3 et 4 : Situation des ovaires et des testicules chez le turbot.

♂ et ♀ turbot de 55 et 90 g.

a : cavité abdominale

b : emplacement du testicule dorsal

c : emplacement de l'ovaire dorsal

d : prolongement de la cavité abdominale dans laquelle s'engage l'ovaire.

Avant la détermination du sexe, les poissons sont anesthésiés au phénoxyéthanol (5 ml pour 100 l d'eau de mer). Tous les essais ont été réalisés avant que le gonflement des gonades femelles ne soit apparent, soit environ deux mois avant et un mois après la ponte.

Le contrôle d'efficacité des deux méthodes testées se fait par autopsie, sauf pour les gros géniteurs marqués individuellement à l'azote liquide (photo 5). Dans ce cas, le prélèvement des produits génitaux en période d'oviposition sert de contrôle.

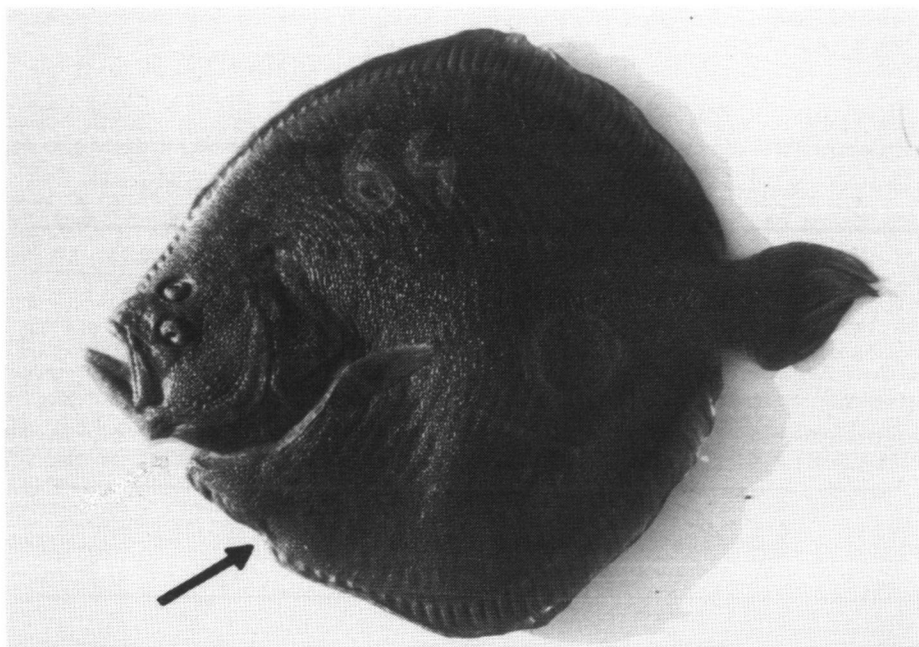


Photo 5 : Turbot marqué à l'azote. Zone d'introduction de la pince bronchoscopique.

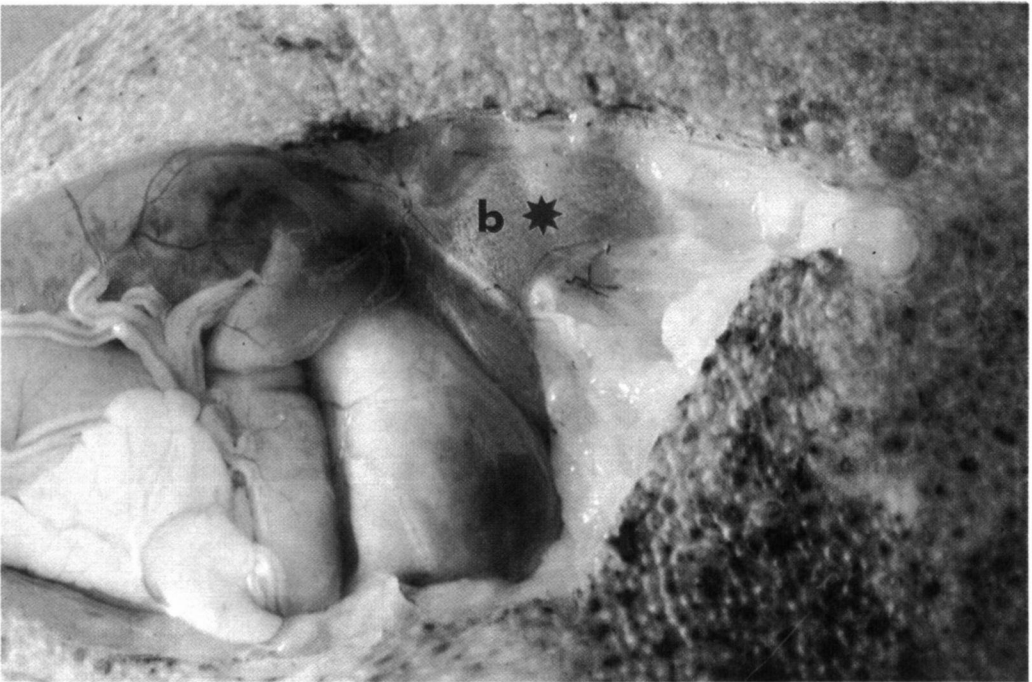
RÉSULTATS (cf. Tableau)

Méthode de DS	Contrôle (C) d'efficacité	Nombre de poissons	\bar{P}_m (g)	Poids extrêmes (g)	N ♀		N ♂	
					DS	C	DS	C
Exploration à la sonde bronchoscopique	autopsie	30	117	60 - 176	10	18	20	12
		54	277	122 - 600	20	22	34	32
		49	1 782	491 - 3080	26	27	23	22
	Observation des gamètes	147	2 980	500 - 6100	53	69	94	78
Observation sous éclairage	autopsie	56	88	30 - 380	25	26	31	30
		50	350	210 - 600	35	35	15	15

Tableau 1 : Les résultats de détermination du sexe (DS) de 386 turbots (30 g < P < 6 100 g) indiquent une sous-estimation du nombre de femelles et une surestimation du nombre de mâles au cours des explorations à la sonde bronchoscopique.

Exploration à la pince bronchoscopique

L'examen des lots par autopsie s'est avéré très délicat chez les jeunes individus (PM = 117 g) dont les orifices sont protégés par des replis cutanés. Néanmoins, les poissons identifiés comme femelles le sont à coup sûr. Par contre, parmi les individus de moins de 300 g reconnus comme mâles, un poisson sur quatre est en réalité femelle. Au-delà de ce poids, le pourcentage d'erreur est inférieur à 5 %, quel que soit l'état d'avancement de la maturation. Le prélèvement de fragments ovariens a permis de définir avec précision le stade de développement ovocytaire (de 20 à 800 μ) sans provoquer d'hémorragie, même chez les plus gros individus. Jamais, conduits génital ou anal n'ont été perforés.



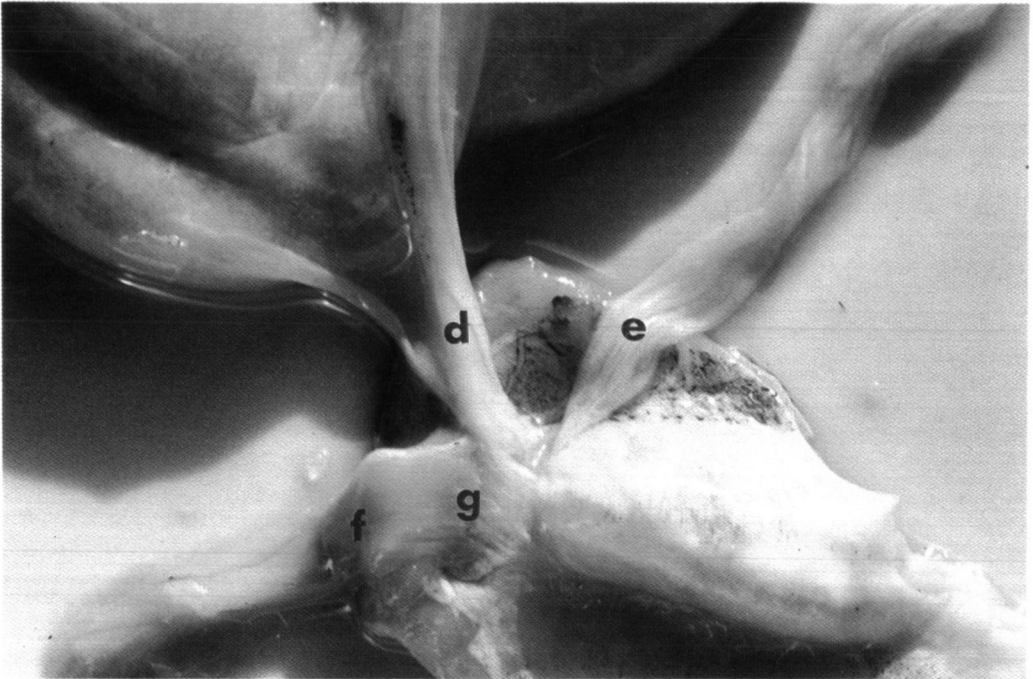
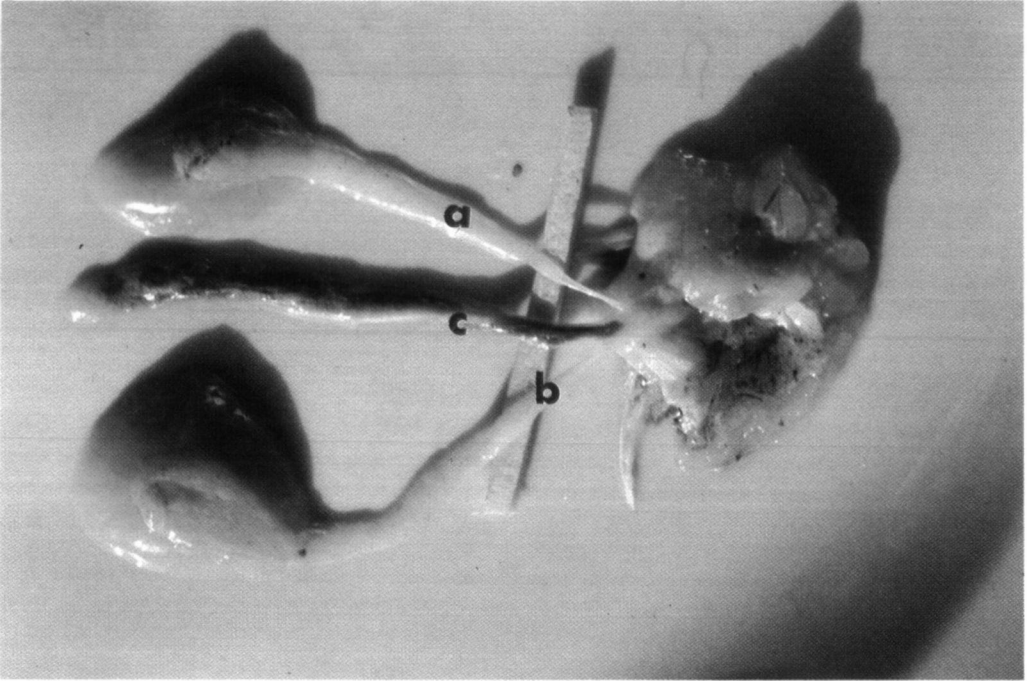
Photos 6 et 7 : Détails du testicule (a) et de l'ovaire (b) chez le turbot.

Contrôle par examen des spermatozoides ou des ovules. Les erreurs de détermination sont observées dans le même sens, 17 % des poissons reconnus comme mâles sont femelles. Mais il faut préciser que dans ce cas les reproducteurs réservés à la production d'œufs naturellement fécondés ont été manipulés avec une plus grande attention : la pince n'a été introduite dans l'ovaire que de 5 cm, au plus, et une dizaine de femelles seulement a subi les prélèvements d'ovocytes. L'impact du test sur la maturation a ainsi pu être évalué comme négligeable ; sur six millions d'ovules émis deux mois après, 4,8 millions se sont normalement développés, à l'issue d'une fécondation naturelle dans le bassin d'élevage. Comparés aux taux de viabilité que nous obtenons généralement sur le turbot (entre 0 et 82 %), ces résultats peuvent être considérés comme excellents.

Détermination du sexe " à la lampe "

Les résultats de ce test appellent moins de commentaires : sur 106 poissons, une seule erreur est enregistrée sur un individu au squelette mal formé. Pour des poissons d'aspect extérieur normal, la méthode de détermination du sexe s'est donc avérée efficace à 100 %. La vitesse de contrôle varie toutefois avec la gamme de poids testée : elle est optimale (1000 poissons/heure environ) entre 50 et 100 g car, d'une part, en-dessous de 50 g la présence d'ovaires est difficile à distinguer et, d'autre part, les poissons dont le poids dépasse 100 g sont manipulables moins rapidement.

CONCLUSION



Photos 8 et 9 : Glandes et conduits génitaux chez la sole. Spermiductes (a et b) et conduit urinaire (c), oviducte (d et e), intestin (f) et méat genito-anal (g). L'agencement des conduits est identique chez le turbot.

Les deux méthodes de détermination du sexe sont parfaitement complémentaires car, de 50 g à 500 g, mâles et femelles de conformation normale sont reconnus par simple éclairage des gonades. Au-delà de cette gamme de poids, biopsie et prélèvements d'ovocytes deviennent performants. Lorsque la répartition des ovocytes dans l'ovaire est homogène, la pince offre l'avantage, par rapport au cathéter, de connaître, sans sacrifier les femelles, leur état de maturité à tout moment de l'année.

D'autre part, contrairement à l'observation directe sous éclairage, cette méthode est directement applicable à d'autres espèces marines dont le diamètre des ovules est inférieur à 1 mm. Par exemple chez la *Sole* (*Soleo vulgaris*) dont l'emplacement des orifices anal, génital et urinaire, est comparable à celui du *Turbot* (Photos 8 et 9), elle a permis de sexer sans erreur 48 soles (12 femelles et 36 mâles) de 380 à 930 g. Chez le *Bar* (*Dicentrarchus labrax*), l'appareil génital organisé différemment débouche entre les orifices anal et urinaire. L'introduction de la pince est aussi aisée que chez le turbot ou la sole, mais la détermination du sexe implique le prélèvement des gamètes : chez le mâle, la pince bute rapidement sur les masses testiculaires et permet, même en dehors de la spermatogenèse, de cueillir les spermatozoïdes contenus dans la lumière du testicule. Le prélèvement de fragments de lames ovariennes identifie une femelle.

Ainsi, cet outil assurerait un suivi individuel de la gamétogenèse chez de nombreuses espèces. Associés à des dosages d'hormones sériques, de tels prélèvements contribueraient à sélectionner les reproducteurs, donc à réaliser une bonne gestion des stocks, ainsi qu'à établir plus rapidement des corrélations entre facteurs extérieurs et production d'œufs de bonne qualité. Pour les pratiquer sur une majorité d'espèces marines ou d'eau douce dont le diamètre des ovules dépasserait de beaucoup 1 mm, une modification du volume de la coupelle de prélèvement peut être envisagée.

Ce travail a été réalisé à la SODAB (Moulin du Carpont - Trédarzec) avec la collaboration de T. NOEL et P. LARMET.

Photos : B. DEVAUCHELLE.

BIBLIOGRAPHIE

- BARTON A.L., 1981. Egg quality of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) kept in captive conditions. Thèse PHD présentée à l'Université de Liverpool, Grande-Bretagne : 129 pp.
- CRAIK J.C.A. et S.M. HARVEY, 1984. A biochemical method for distinguishing between the sexes of fishes by the presence of yolk protein in the blood. *J. Fish. Biol.*, 25 : 293-303.
- BILLARD R., 1983. Sterilization, sex inversion and identification of sex in fish reared in fish farms. *Riv. It. Piscicoltura e Ittiopatologia*. Vol. A XVIII (1) 45-54.
- DENIEL C., 1981. Les poissons plats (Téléostéens, pleuronectiformes) en baie de Douarnenez. Reproduction, croissance et migration des Bothidae, Scophthalmidae, Pleuronectidae et Soleidae. Thèse d'état, UBO, Brest : 476 p.
- IDLER D.R., S.J. HWANG, L.W. CRIM, D. REDDING, 1981. Determination of sexual maturation stages of atlantic salmon (*Salmo salar*) captured at sea. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, Vol. 38, 405-413
- LE BAIL P.Y., G. MAISSE, B. BRETON, 1981. Détection des femelles de salmonidés en vitellogenèse. 1 / Description de la méthode et mise en œuvre pratique. *Bull. Franç. de Pisciculture*, n° 283, 79-88.
- WRIGHT R.S., 1976. Sexing live fish presented at Cons. Int. Expl. Mer, anadromous and catadromous committee. *Demersal Fish*, C.M. 1976/M : 21, 4 p.



Conseil Supérieur de la Pêche
 DIRECTION GÉNÉRALE
 Centre du Paraclat - BP 5 F
 80440 BOVES
 22 35 34 70 - Fax 22 35 34 71