

ACADEMIE DE MONTPELLIER

**Université Montpellier II
Sciences et Techniques du Languedoc**

Ecole Doctorale
Systèmes intégrés en Biologie, Agronomie,
Géosciences, Hydrosociences, Environnement (SIBAGHE)

Mémoire d'Habilitation à Diriger des Recherches



Déterminisme et différenciation du sexe chez les tilapias, poissons tropicaux d'intérêt aquacole

Soutenu le

Par

Jean-François BAROILLER
Chercheur Cirad

Devant le jury composé de :

Nom

Marc Girondot
Françoise Monéger
Jean-Nicolas Volff
Bernard Chevassus-au-Louis
Philippe Jarne
Charles Mélard

Titre

Professeur
DR
Professeur
Inspecteur général de l'Agriculture
Dr
Professeur

Etablissement

Université d'Orsay
Cnrs
ENS Lyon
Inra
Cnrs
Université de Liège

SOMMAIRE

CURRICULUM VITAE	3
Liste des publications.....	6
Chapitres d'ouvrages	9
Communications dans des congrès	9
Encadrement de thèses, participation à des comités ou jurys de thèse/PhD.....	18
Co-encadrement de thèses	18
Participation à des comités de thèse	19
Participation à des jury de thèse/PhD	19
Responsabilités de projets nationaux ou internationaux.....	20
Recherches réalisées.....	21
Avant-propos.....	21
Contexte de l'étude.....	22
a. Le modèle tilapia	21
b. Importance aquacole du contrôle du sexe chez les poissons.....	23
c. Le contrôle du sexe chez le tilapia.....	23
A- Déterminisme du sexe et effet de la température sur le sex-ratio chez les tilapias.....	25
1. Déterminisme du sexe chez les vertébrés non Poissons	25
2. Déterminisme du sexe chez les Poissons	25
a. Déterminisme génétique	25
b. Déterminisme environnemental.....	26
3. Production de génotypes homogamétiques à descendance monosexes	26
4. Effet de la température sur la différenciation du sexe.....	27
5. Recherche de chromosomes sexuels chez <i>O. niloticus</i> & <i>O. aureus</i>	28
B- Différenciation histologique du sexe et mise en place de potentialités stéroïdogènes	29
1. Cinétique de différenciation du sexe chez <i>O. niloticus</i>	29
2. Mise en évidence du rôle possible des stéroïdes dans la différenciation du sexe	29
a. arguments histologiques et cytologiques	29
b. arguments biochimiques.....	30
c. arguments expérimentaux	31
C- Gènes impliqués dans la cascade du déterminisme du sexe chez les poissons et modulation de leur expression par la température	32
1. Chez les téléostéens, le déterminant majeur du sexe n'est pas universel	32
2. Gènes impliqués dans la cascade du déterminisme du sexe chez le tilapia et modulation de leur expression par la température	32
D- Existence d'une thermosensibilité dans les populations naturelles	35
E- Co-existence d'une GSD et d'une TSD chez les tilapias.....	37
Perspectives	40
Références.....	42

Curriculum Vitae

Jean-François BAROILLER
né le 28 Mai 1957 à Nancy, France

CIRAD-EMVT, Campus International de Baillarguet TA 30/A, 34398 Montpellier Cédex 5,
France, Tel: 33.4.67.59.39.51 (dir) / 39.05 (sec) Fax: 33.4.67.59.38.25 E. mail: baroiller@cirad.fr

FORMATION

- 1984-1985 Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) de Physiologie de la Reproduction (Mention B): Evolution durant l'ovogenèse, de la clairance métabolique de l'œstradiol-17 β chez la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri*, estimée par injection simple ou continue.
- 1985-1988 Thèse Université P. et M. Curie en Physiologie de la Reproduction, Paris VI, 1988 (Mention Très honorable, Félicitations du jury): Etude corrélée de l'apparition des critères morphologiques de la différenciation de la gonade et de ses potentialités stéroïdogènes chez *Oreochromis niloticus*.

EXPERIENCE PROFESSIONNELLE

- 1985-1988:** Thèse CIRAD-CTFT à l'INRA (Rennes, Laboratoire de Physiologie des Poissons et Jouy-en-Josas, Laboratoire de Génétique des Poissons) et l'IDESSA (Bouaké, Côte d'Ivoire, Station Piscicole).
- 1988-1992:** Station Piscicole de l'Institut des Savanes (IDESSA), Bouaké, Côte d'Ivoire (Expatriation CDI-Cirad):
Resp. Grpe de recherche Biol. & Amélioration des Espèces d'Intérêt Aquacole
Coordination de projets de recherche :
Projet Européen FED: Domestication/Reproduction de nouvelles espèces
Projet CIRAD-INRA: Différenciation/Déterminisme du sexe chez le tilapia (approches physiologiques, génétiques et environnementales).
- 1992-2002:** Laboratoire de Physiologie des Poissons, INRA-SCRIBE, Rennes, France:
Coordination de projets de recherche :
ATP-Cirad Dimorphisme de croissance chez le tilapia (CIRAD, INRA, ORSTOM, Univ. Leuven-**Belgique**, Univ. College of Swansea-**UK**, FAC-CLSU-**Philippines**; IDESSA-**Côte d'Ivoire**).
Projet Minagri: Déterminisme du sexe et de la coloration chez le tilapia rouge, Ile de La Réunion (**France** : CIRAD, INRA, ARDA; **Belgique** : CERER-Univ. Liège).
Responsable d'un programme sur le déterminisme environnemental du sexe chez le tilapia (**France**: CIRAD, INRA).
Projet Européen FAIR: PL 97-3796, "Basis of sex determination and gonadal sex differentiation for sex control in Aquaculture" (**France**: CIRAD, INRA, France-Turbot-NATA; **Irlande**: Univ. College of Galway; **Allemagne**: Univ. de Wuerzburg; **Italie**: Univ. Pisa).
ATP-Cirad sur l'Hybridation Intergénérique des Tilapias : association et ségrégation de facteurs parentaux zootechniques, enzymatiques et moléculaires chez des hybrides intergénériques; faisabilité du développement d'une souche

résistante par hybridation et sélection génétique (**France**: CIRAD-INRA-IFREMER-IRD, **Belgique**: CEFRA, **Philippines** : BFAR, PCMARD).

Depuis 2002: UPR20 Aquaculture & Gestion des Ressources Aquatiques, CIRAD-Montpellier, France:

Responsable Grpe de recherche "Biologie des Espèces d'Intérêt Aquacole et Amélioration de leurs Performances »,

Coordination de projets de recherche :

Coordinateur Cirad du Projet AGENAE-IFOP (2003-06) sur "l'analyse de la différenciation du sexe, naturelle et induite, chez la truite et le tilapia par des approches de génomique fonctionnelle" (INRA-CIRAD).

Projet AGENAE-IFOP (2003) « utilisation de macro-arrays en conditions hétérologues, pour l'étude du transcriptome dans les gonades de 3 espèces de poissons, la truite, le loup et le tilapia »

Coordinateur du Projet Fishsex ANR-06-GANI-012 (2007-10): Fall and Rise of the sex chromosomes in the tilapia group as a model to understand the variability of sex determination in fish

Coordinateur du Projet Genoscope (2007) BAC end sequencing of tilapia

Coordinateur Cirad du Projet Percimap ANR-07-GANI-005: Construction of a high-density Tilapia RH map

AUTRES RESPONSABILITES:

Membre du Directoire Opérationnel du GIS-AGENAE (Génomique des espèces d'intérêt agronomique, INRA-CIRAD+partenaires privés).

Membre de la Commission Scientifique de l'appel d'offre Genanimal, ANR.

FORMATIONS SUIVIES:

1996 Radioprotection, Rennes

1997 Principales techniques utilisées en biologie moléculaire, INRA-ENSAR, Rennes.

2001 Bio-Informatique, (CIRAD), Institut de Génétique humaine, Montpellier.

2008 Espagnol

MISSIONS:

Dans le cadre de projets/collaborations internationales, d'expertises ou de participation à des enseignements sur la biologie & l'amélioration des espèces d'intérêt aquacole, de nombreuses missions ont été réalisées en Israël et Afrique (Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Kenya, Mauritanie, Niger, Sénégal), Amérique du Nord (USA, Canada) et du Sud (Brésil, Uruguay), Asie (Philippines, Chine, Japon), Europe (Belgique, Italie, Portugal, Espagne, Royaume Uni, Allemagne, Norvège), et DOM (La Réunion).

REVIEWER POUR DES JOURNAUX INTERNATIONAUX

Aquaculture, BMC Genomics, Cybium, Fish Physiol. Biochem., Gen. Comp. Endocrinol, Gene, Heredity, J. Appl. Ichthyol., J. Fish Biol., PLoS ONE, Proc. Biological Sciences, Trends in Genetics.

ORGANISATION DE SYMPOSIUMS – CHAIRMAN EN CONGRES INTERNATIONAUX:

Organisation/Membre de Comité Scientifique :

Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture (ISTA III), Abidjan, Côte d'Ivoire, Novembre 1991.

4^{ème} Atelier sur le Déterminisme et la Différenciation du sexe, Rennes, France, Octobre 1997.

IXème International Symposium on Genetics in Aquaculture, Montpellier, Juin 2006.

Atelier sur le Déterminisme et la Différenciation du sexe, Montpellier, France, Mars 2007.

8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, St Malo, France, June 2007.

Chairman :

session “Sex Determination and Sex Differentiation for Sex Control” du Fifth International Symposium on Tilapia aquaculture, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, Septembre 3-7, 2000.

session “Sex Differentiation and Gametogenesis” du International Symposium on the Molecular Mechanisms of Morphogenesis in the Early Development of Fish. H. Kagawa and H. Ishioka, Eds. National research Institute of Aquaculture, Nansei, Mie, Japan, 28-29 November 2000.

session « Dét. et Diff. du sexe » du IXème International Symposium on Genetics in Aquaculture, Montpellier, Juin 2006.

session « Sex Determination & sex differentiation du VIIIème International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, St Malo, Juin 2007.

session “Sex differentiation in vertebrates” du XXth International Congress of Zoology, Paris - 26-29 August 2008

LANGUES

French & English fluently

ENSEIGNEMENTS

Biologie & Physiologie de la Reproduction des Poissons Tropicaux	Déterminisme & différenciation du sexe chez les poissons; rôle adaptatif du déterminisme environnemental du sexe
Master Productions Animales en Régions chaudes, Univ. MTPL II	
Master EDBI, UMBGF, Réponses Adaptatives des Organismes Aquatiques, Univ. MTPL II	
Master Aquaculture et Gestion des Ressources marines, Univ. Caen	
ISTOM (Agro-Devt International)	
Formation Cadres Africains pour l'APDRAF (Assoc. Piscicul. et Dév. Rural en Afr. Trop. Humide)	

Publications

Publications dans des revues scientifiques de rang A	49
Contributions à des ouvrages	2
Conférences avec comité de lecture	72

PUBLICATIONS

1. **Baroiller, J.F.**, Fostier, A., Zohar, Y., et Marcuzzi, O., 1987. The metabolic clearance rate of estradiol-17 β in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, estimated by both single and constant infusion methods: increase during oocyte maturation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 66: 85-94.
2. **Baroiller, J.F.**, 1988. Etude corrélée de l'apparition des critères morphologiques de la différenciation de la gonade et de ses potentialités stéroïdogènes chez *Oreochromis niloticus*. Thèse Doc. de l'Univ. P. et M. Curie, Paris VI, 89 pp.
3. **Baroiller, J.F.**, Fostier, A. et B. Jalabert, 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 et B. Breton, eds), Les Colloques de l'INRA, 44: 137-141.
4. **Baroiller, J.F.** and Jalabert, B., 1989. Contribution of research in reproductive physiology to the culture of tilapias. *Aquat. Living Resour.* 2: 105-116.
5. **Baroiller, J.F.** et Jalabert, B., 1990. Physiologie de la reproduction des Tilapias: Bilan des connaissances et perspectives de recherche d'intérêt appliqué. In "L'Aquaculture des tilapias du développement à la recherche" (J. Lazard, B. Jalabert et T. Doudet, eds). *Cahiers scientifiques du CTFT*, 10: 39-62.
6. **Baroiller, J.F.**, Chourrout, D., Fostier, A., and Jalabert, B. 1995. Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *J. Exp. Zool.*, 273: 216-223.
7. Guiguen, Y., **Baroiller, J.F.**, Jalabert, B., et A., Fostier., 1996. Le contrôle du sexe phénotypique chez les poissons. *La Pisciculture Française*, 124: 16-19.
8. Toguyeni, A., **Baroiller, J.F.**, Fostier, A., LeBail, P.Y., Mol, K.A., Kühn, E.R., and Fauconneau, B., 1996. Consequences of food restriction on short-term growth variation and on plasma circulating hormones in *Oreochromis niloticus* in relation to sex. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 103: 167-175.
9. **Baroiller, J.F.**, Nakayama, I., Foresti, F. and Chourrout, D., 1996. Sex determination studies in two species of teleost fish, *Oreochromis niloticus* and *Leporinus elongatus*. *Zoological Studies*, 35 (4): 279-285.
10. Toguyeni, A., Fauconneau, B., Boujard, T., Fostier, A., Kühn, E.R., Mol, K.A., and **Baroiller, J.F.**, 1997. Feeding behaviour and feed utilisation in tilapia, *Oreochromis niloticus*: effect of sex-ratio and relationship with the endocrine status. *Physiol. Behav.*, 62: 273-279.
11. Auperin, B., **Baroiller, J.F.**, Ricordel, M.J., Fostier, A. and Prunet, P., 1997. Effect of confinement stress on circulating levels of growth hormone and two prolactins in freshwater adapted-tilapia. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 108: 35-44.
12. **Baroiller, J.F.**, and Clota, F., 1998. Interactions between temperature effects and genotype on *Oreochromis niloticus* sex determination. *J. Exp. Zool.*, 281 : 507 (abstract).
13. **Baroiller, J.F.**, Guiguen, Y., Iseki, K., and Fostier, A., 1998. Physiological role of androgens on gonadal sex differentiation in two teleost fish, *Oncorhynchus mykiss* and *Oreochromis niloticus*. *J. Exp. Zool.*, 281 : 506 (abstract).
14. **Baroiller, J.F.**, 1998. Le Déterminisme Environnemental du Sexe chez les Poissons Gonochoriques. *La Pisciculture Française* , 133: 51-59.
15. **Baroiller, J.F.**, Guiguen, Y., and Fostier., A., 1999. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 55 : 910-931.

16. Guiguen, Y., **Baroiller, J.F.**, Ricordel, M.J., Iseki, K., McMeel, O.M., Martin, S.A.M., and Fostier, A., 1999. Involvement of Estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and a tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Molecular Reproduction and Development*, 54 : 154-162.
17. Tacon, P., **Baroiller, J.F.**, Le Bail, P.Y., Prunet, P., and Jalabert, B., 2000. Effect of egg deprivation on sex steroids, gonadotropin, prolactin, and growth hormone profiles during the reproductive cycle of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *General and Comparative Endocrinology*, 117: 54-65.
18. Jalabert, B., **Baroiller, J.F.**, Breton, B., Fostier, A., LeGac, F., Guiguen, Y., and Monod, G., 2000. Main neuro-endocrine, endocrine and paracrine regulations of fish reproduction, and vulnerability to xenobiotics. *Ecotoxicology*, 9 : 25-40.
19. **Baroiller, J.F.**, and D'Cotta, H., 2001. Environment and sex determination in farmed fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 130(4): 399-409.
20. Bezault, E., Ozouf-Costaz, C., D'Hont, A., Volff, J.N., Rognon, X., and **Baroiller, J.F.**, 2001. Structure and evolution of pure and hybrid genomes of Tilapia. *Chromosome Research* 9 (suppl. 1.), p.30.
21. D'Cotta, H., Guiguen, Y., Govoroun, M.S., McMeel, O. and **Baroiller, J.F.**, 2001a. Aromatase plays a key role during normal and temperature-induced sex differentiation of tilapia *Oreochromis niloticus*, *Mol. Reprod. Dev.* 59: 265-276, 2001.
22. D'Cotta, H., Fostier, A., Guiguen, Y., Govoroun, M., **Baroiller, J.F.**, 2001b. Search for the molecular mechanisms implicated in the thermosensitivity of sex gonadal differentiation of tilapia fish: differential approach and expression of candidate genes. *J. Exp. Zool.*, 290(6): 574-585.
23. Van der Geyten, S., Toguyeni, A., **Baroiller, J.F.**, Fauconneau, B., Fostier, A., Sanders, J. P., Visser, T.J., Kühn, E.R., and Darras, V.M., 2001. Hypothyroidism induces type I iodothyronine deiodinase expression in tilapia liver. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 124: 333-342.
24. Toguyeni, A., Fauconneau, B., Fostier, A., Abucay, J., Mair, G.C., and **Baroiller, J.F.**, 2002. Influence of sexual phenotype and genotype, and sex-ratio on growth performances in tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 207 (3-4): 249-261.
25. Massou, A. M., Panfili, J., Lae, R., **Baroiller, J.F.**, Mikolasek, O., Fontenelle, G., and LeBail, P.Y., 2002. Effects of different food restrictions on somatic and otolith growth in Nile tilapia reared under controlled conditions. *J. Fish Biol.*, 60: 1093-1104.
26. Desprez, D., Geraz, E., Hoareau, M.C., Melard, C., Bosc, P., and **Baroiller, J.F.**, 2003. Production of a high percentage of male offspring with a natural androgen 11 β -hydroxy-androstenedione (11 β OHA₄) in Florida red tilapia. *Aquaculture*, 216: 55-65.
27. Desprez, D., Mélard, C., Hoareau, M.C., Bellemène, Y., Bosc P. and **Baroiller, J.F.**, 2003. Inheritance of sex in two ZZ pseudofemale lines of tilapia *Oreochromis aureus*, *Aquaculture*, 218: 131-140.
28. Massou, A. M., Panfili, J., LeBail, P.Y., Lae, R., Mikolasek, O., Fontenelle, G., and **Baroiller, J.F.**, 2004. Evidence of perturbations induced by reproduction on somatic growth and microincrement deposition in *Oreochromis niloticus* otoliths. *J. Fish Biol.*, 64:1-19.
29. Massou, A. M., LeBail, P.Y., Panfili, J., Lae, R., **Baroiller, J.F.**, Mikolasek, O., Fontenelle, G., and Aupérin, B. 2004. Effects of confinement stress of variable duration on the growth and microincrement deposition in the otoliths of *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). *J. Fish Biol.*, 65:1253-1269.

30. Glasser, F., Mikolajczyk, T., Jalabert, B., **Baroiller, J.-F.** and Breton, B., 2004. Temperature effects along the reproductive axis during spawning induction of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 136: 171–179.
31. Lemarié, G., **Baroiller, J.F.**, Clota, F., Lazard, J., and Dosdat, A. 2004. A simple test to estimate the salinity tolerance of fish with specific application to *O. niloticus* and *S. melanotheron*. *Aquaculture*, 240: 575-587.
32. Shved, N., Berishvili, G., D’Cotta, H., **Baroiller, J-F.**, Eppler, E., Segner, H., and Reinecke, M., 2005. A Survey on the Expression of IGF-I in the Early Developing Bony Fish with Special Emphasis on the Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Ann NY Acad Sci*: 1040: 469-471
33. Desprez, D., Briand, C., Hoareau, M.C., Mélard, C., Bosc, P., and **Baroiller, J.F.**, 2006. Study of sex ratio in progeny of a complex *Oreochromis* hybrid, the Florida red tilapia. *Aquaculture*, 251: 231– 237
34. Berishvili, G., D’Cotta, H., **Baroiller, J.F.**, Segner, H., and Reinecke, M., 2006. Differential expression of IGF-I mRNA and peptide in the male and female gonad during early development of a bony fish, the tilapia *Oreochromis niloticus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 146: 204-210
35. Berishvili, G., Shved, N., Eppler, E., Clota, F., **Baroiller, J-F.**, and Reinecke, M., 2006. Organ-specific expression of IGF-I during early development of bony fish as revealed in the tilapia, *Oreochromis niloticus*, by in situ hybridization and immunohistochemistry: indication for the particular importance of local IGF-I. *Cell Tissue Res.*, 325: 287-301.
36. Cnaani A, Lee B-Y, Ozouf-Costaz C, Bonillo C, **Baroiller JF**, D’Cotta H, Kocher T, 2007. Mapping of sox2 and sox14 in Tilapia (*Oreochromis* spp.) . *Sex Dev.*, 1: 207-210.
37. Bezault E., Clota F., Derivaz M., Chevassus B., and **Baroiller JF.**, 2007. Sex determination and temperature-induced sex differentiation in three natural populations of Nile tilapia adapted to extreme temperature conditions. *Aquaculture*, 272 S1: S3–S16.
38. Lebègue E., Jeu S., Guennoc M., Guiguen Y., **Baroiller J.F.**, Fostier A., and Haffray P., 2007. Genetic and temperature sex determination in the turbot *Scophthalmus maximus*, *Aquaculture*, 272, Supplement 1: S264.
39. Toguyeni A., Thévenon S., Soara E., D’Cotta H., **Baroiller J.F.**, and Rognon X., 2007. Genetic structure of domestic and natural populations of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* in Burkina Faso, West Africa. *Aquaculture*, Volume 272, Supplement 1: S314-S315.
40. Shved, N., Berishvili, G., D’Cotta, H., **Baroiller, J.F.**, Segner, H., Eppler E., and Reinecke, M., 2007. Ethinylestradiol (EE2) differentially interferes with insulin-like growth factor-I (IGF-I) in liver and extrahepatic sites during development of male and female bony fish. *Journal of Endocrinology*, 195: 513-523.
41. Desprez, D, Bosc, P, **Baroiller, JF**, Mélard, C. 2008. Variability in reproductive performance of sex-reversed tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 277: 73–77.
42. Cnaani A, Lee B-Y, Zilberman N, Ozouf-Costaz C, Hulata G, Ron M, D’Hont A, **Baroiller JF**, D’Cotta H, Penman DJ, Tomasino E, Coutanceau J-P, Pepey E, Shirak A., Kocher, TD., 2008. Genetics of sex determination in tilapiine species. *Sexual Development*, 2: 43–54.
43. Moret O., Berishvili G., Shved N., Eppler E., D’Cotta H., **Baroiller JF.**, & Reinecke M., 2008. Insulin-like growth factor I (IGF-I) in the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis during development of male and female tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Cybiurn*, 32(2): 31-33.

44. Ouattara N., Bodinier C., Negre-Sadargues G., Messad S., D'Cotta H., Charmantier G., Panfili J., **Baroiller J.F.** 2008. Changes in gill ionocyte function and structure following transfer from fresh to hypersaline waters in the tilapia *Sarotherodon melanotheron* : [Abstract]. Comparative biochemistry and physiology. Part A, 150 (3): S103. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.cbpa.2008.04.214>.
45. Shved, N, Berishvili, G, **Baroiller, J-F**, Segner, H, and Reinecke, M, 2008. Environmentally relevant concentrations of 17 α -ethinylestradiol (EE2) interfere with the growth hormone (GH)/insulin-like growth factor (IGF)-I system in developing bony fish. *Toxicol. Sci.*, 106(1): 93-102.
46. Tine, M, de Lorgeril J, D'Cotta H, Pepey E, Bonhomme F, **Baroiller JF**, Durand J-D., 2008. Transcriptional responses of the black-chinned tilapia *Sarotherodon melanotheron* to salinity extremes. *Marine Genomics* 1: 37-46.
47. Ozouf-Costaz, C., Coriton, O., D'Cotta, H., Cnaani, A., Coutanceau, J. P., Bonillo, C., Pepey, E., Kocher, T., **Baroiller, J. F.**, 2008. Chromosomal localisation of sex-specific BACs and of selected cDNAs identified by microdissection in two tilapia species, *Oreochromis niloticus* and *Oreochromis aureus*. 18th International Colloquium on Animal Cytogenetics and Gene Mapping (ICACGM, JUN 08-10, 2008 Bucharest, ROMANIA. *Chromosome Research*, 16 (7): 1060-1060. DOI: 10.1007/s10577-008-1922-2
48. **Baroiller JF**, D'Cotta H, Bezault E, Wessels S, and Hoerstgen-Schwark G, 2008. Temperature effects on tilapia sex differentiation. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, In Press. DOI: 10.1016/j.cbpa.2008.11.018.
49. Ouattara N, Bodinier C, Nègre-Sadargues G, D'Cotta H, Messad S, Charmantier G, Panfili J, **Baroiller JF.**, 2009. Changes in gill ionocyte morphology and function following transfer from fresh to hypersaline waters in the tilapia *Sarotherodon melanotheron*. *Aquaculture*, In Press.

CHAPITRE D'OUVRAGE

50. **Baroiller, J.F.**, and Guiguen, Y., 2001. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in gonochoristic fish. In "Genes and Mechanisms in Vertebrate Sex Determination", G. Scherer and M. Schmid, eds., 2001 Birkhäuser Verlag, Basel-Switzerland, 177-201.
51. **Baroiller, J.F.**, and Toguyeni, A., 2004. The Tilapiini tribe: environmental and social aspects of reproduction and growth. in *Fisheries and Aquaculture*, [Ed. Patrick Safran], in *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford ,UK, [<http://www.eolss.net>].

COMMUNICATIONS ORALES

- C1. **Baroiller, J.F.**, 1988 b. Etude des processus morphologiques et endocrinologiques de la différenciation naturelle du sexe chez *Oreochromis niloticus*, appliquée à la production de populations monosexes: intérêts et perspectives. In G.M. Bernacsek and H. Powles (eds). *Aquaculture Systems Research in Africa. Proceedings of a workshop held in Bouaké, Côte d'Ivoire, 14-17 Nov. 1988*. International Development Research Center (IDRC), Ottawa, Canada, pp. 256-266.

- C2. **Baroiller, J.F.**, Clota, F. and Geraz, E. 1995. Temperature sex determination in two tilapias species, *Oreochromis niloticus* and the red tilapia (Red Florida strain): effect of high or low temperatures, 1996. In "Proceedings of the 5th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish". The University of Texas at Austin, Austin, Texas, USA, 2-8 July, 1995, F.W. Goetz and P. Thomas, eds. pp. 158-160.
- C3. **Baroiller, J.F.** and Toguyeni, A., 1996. Comparative effects of a natural steroid, 11 β -hydroxy-androstenedione (11 β -OH-A4) and a synthetic androgen, 17 α -Methyltestosterone (17 α -MT) on sex-ratio in *Oreochromis niloticus*. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds). "Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture". ICLARM Conf. Proc. 41. 11-16 Nov 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. pp. 344-351.
- C4. **Baroiller, J.F.**, 1996. 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). "Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture". ICLARM Conf. Proc. 41. 11-16 Nov 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. pp. 319-327.
- C5. **Baroiller, J.F.**, Fostier, A., Cauty, C. Rognon, X. et Jalabert, B., 1996. Effets de fortes températures d'élevage sur le sexe-ratio de descendance issues de néomâles d'*Oreochromis niloticus*. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds). "Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture". ICLARM Conf. Proc. 41. 11-16 Nov 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire, pp. 270-281.
- C6. **Baroiller, J.F.**, Fostier, A., Cauty, C., Rognon, X. and Jalabert, B., 1996a. Significant effects of high temperatures on sex-ratio of progenies from *Oreochromis niloticus* with sibling sex-reversed males broodstock. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds). "Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture". ICLARM Conf. Proc. 41. 11-16 Nov 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. pp. 333-343.
- C7. **Baroiller, J.F.**, 1996. Mise en évidence de proportions significatives de mâles inattendus dans les descendance individuelles de néomâles d'*Oreochromis niloticus* issus d'une même fratrie. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds). "Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture". ICLARM Conf. Proc. 41. 11-16 Nov 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. pp. 252-260.
- C8. **Baroiller, J.F.** et Toguyeni, A., 1996. Comparaison des effets d'un stéroïde naturel, 11 β -hydroxy-androstenedione (11 β -OH-A4) et d'un androgène de synthèse, 17 α -Methyltestosterone (17 α -MT) sur le sexe-ratio chez *Oreochromis niloticus*. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon Kothias and D. Pauly (eds). "Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture". ICLARM Conf. Proc. 41. 11-16 Nov 1991, Abidjan, Côte d'Ivoire. pp 261-269.
- C9. Alhassane M., Mikolasek, O., Lazard, J., and **Baroiller, J.F.**, 1997. Intensification of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fry production in the african sahel – example of Niger). In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 294-304.
- C10. Aupérin, B., **Baroiller, J.F.**, Ricordel, M.J., Fostier, A., and Prunet, P., 1997. Effect of social interactions and confinement stress on circulating levels of cortisol, growth hormone, and two prolactins in freshwater-adapted Tilapia (*Oreochromis niloticus*). In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 653-661

- C11. **Baroiller, J.F.**, 1997. Modalités des déterminismes du sexe chez les poissons téléostéens. In proceedings of the fourth workshop on Sex Determination and Gonadal Sex Differentiation, Rennes, 9-10 Octobre 1997.
- C12. **Baroiller, J.F.**, Desprez, D., Carteret, Y., Tacon, P., Hoareau, M.C., Mélard, C., and Jalabert, B., 1997. Influence of environmental and social factors on the reproductive efficiency in three tilapia species, *Oreochromis niloticus*, *O. aureus* and the red tilapia (Red Florida strain). In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 238-252.
- C13. Desprez D., Geraz, E., Hoareau, M.C., Mélard, C., Bosc, P., and **Baroiller, J.F.**, 1997. Optimisation of hormonal sex-reversal in red-tilapia ("Red Florida" strain) through the use of a natural androgen. In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 719-728.
- C14. Desprez, D., Briand, C., Hoareau, M.C., Mélard, C., Bosc, P., and **Baroiller, J.F.**, 1997. Sex Determinism in red-tilapia ("Red Florida" strain). In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 760-771.
- C15. Fauconneau, B., Toguyeni A., Fostier, A., LeBail, P.Y., and **Baroiller, J.F.**, 1997. New Insights on feeding and growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*). In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 151-168.
- C16. Toguyeni, A., Fauconneau, B., Fostier, A., Abucay J., Mair, G.C., and **Baroiller, J.F.**, 1997. Influence of genotype and social behaviour on growth performance in tilapia, *O. niloticus*. In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 141-150.
- C17. Toguyeni, A., Fauconneau, B., Mélard, C., Fostier, A., Lazard, J., Barras, E., Kühn, E.R., van der Geyten, S., and **Baroiller, J.F.**, 1997. Sexual dimorphism studies in tilapia using two pure species, *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron* and their inter-generic hybrids (*S. melanotheron* x *O. niloticus* and *S. melanotheron* x *O. niloticus*). In K. Fitzsimmons (eds.), Proceedings of the fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 9-12 November 1997, Orlando, Florida. U.S.A., pp. 200-214.
- C18. **Baroiller, J.F.**, 1998. Le Déterminisme Environnemental du Sexe chez les Poissons Gonochoriques. Pp. 51-. In "Avancées récentes en reproduction et élevage larvaire des espèces aquacoles". Atelier professionnel ENITA-IFREMER. 7-8 Oc. 1998. Palais des Congrès de Bordeaux., 129 p.
- C19. **Baroiller, J.F.**, Clota, F., and D'Cotta, H., 2000. Genetic and Environmental Sex Determination in tilapias: a review. In Tilapia Aquaculture in the 21st century: proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia aquaculture, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 3-7, 2000, p. 81.
- C20. **Baroiller, J.F.**, D'Cotta, H., Toguyeni, A., Clota F., and Fostier, A. 2000. Involvement of gonadal steroids and temperature during the natural and temperature-induced sex differentiation of the tilapia *Oreochromis niloticus*. In Tilapia Aquaculture in the 21st century: proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia aquaculture, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 3-7, 2000, p. 82.

- C21. **Baroiller, J.F.**, D'Cotta, H., Toguyeni, A., Clota F., and Fostier, A. 2000. Involvement of gonadal steroids and temperature during the natural and temperature-induced sex differentiation of the tilapia *Oreochromis niloticus*. In *Tilapia Aquaculture in the 21st century: proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia aquaculture*, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 3-7, 2000, p. 82.
- C22. **Baroiller, J.F.**, Bezaut, E., Bonnet, S., Clota, F., Derivaz, M., D'Hont, A., Fauconneau, B., Lazard, J., Ozouf-Costaz, C., Rognon, X., Toguyeni A., Vergnet, A., 2000. Production of 2 reciprocal intergeneric hybrids between *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron*. In *Tilapia Aquaculture in the 21st century: proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia aquaculture*, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 3-7, 2000, p. 366.
- C23. **Baroiller, J.F.**, and D'Cotta, H., 2000. Environment and sex determination in farmed fish. In *Proceedings of the 4th International conference on aquaculture, fundamental and applied aspects*. R. Gilles, eds. Liège, Belgique, July, 24-28 2000.
- C24. **Baroiller, J.F.**, and D'Cotta, H., 2000. Involvement of Steroids in the natural and temperature-induced sex differentiation in the tilapia, *O. niloticus*. *Proceedings of the international symposium on the molecular mechanisms of morphogenesis in the early development of fish*. H. Kagawa and H. Ishioka, eds. National research Institute of Aquaculture, Nansei, Mie, Japan, 28-29 November 2000, pp. 72.
- C25. D'Cotta, H., Guiguen, Y., Govoroun, M.S., McMeel, O. and **Baroiller, J.F.**, 2000. Aromatase gene expression in temperature-induced gonadal sex differentiation of tilapia *Oreochromis niloticus*. In "Proceedings of the Sixth International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Institute of Marine Research and University of Bergen, Norway, 4-9 Juillet, 1999. (B. Norberg, O.S. Kjesbu, G.L. Taranger, E. Andersson and S.O. Stefansson, eds.), 244-246.
- C26. D'Cotta, H., Fostier, A., Guiguen, Y., Govoroun, M., **Baroiller, J.F.**, 2000. Search for the molecular mechanisms implicated in the thermosensitivity of sex gonadal differentiation of tilapia fish : differential approach and expression of candidate genes. In V.A. Lance and M.H. Bogart, eds: *Proceedings of the Second International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination*, April 10-14, 2000, Honolulu, Hawaii.
- C27. Desprez, D., Mélard, C., Hoareau, M.C. Bosc, P. and **Baroiller, J.F.**, 2000. Heritability of the sex determination in two pseudofemale strains of the tilapia *Oreochromis aureus*. In *Tilapia Aquaculture in the 21st century: proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia aquaculture*, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 3-7, 2000, p. 88.
- C28. Govoroun, M.S., D'Cotta, H., **Baroiller, J.F.**, Ricordel, M.J., McMeel, O., Smith, T., Fostier, A., and Guiguen, Y., 2000. Expression of steroid enzyme genes during natural and steroid-induced gonadal sex differentiation in teleost fish. In V.A. Lance and M.H. Bogart, eds: *Proceedings of the Second International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination*, April 10-14, 2000, Honolulu, Hawaii.
- C29. Toguyeni, A., J.F **Baroiller**, A. Fostier, P.Y. LeBail and B. Fauconneau, 2000. Morphology in two species of tilapia, *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron*, supplemented with or deficient in thyroid hormones. In *Tilapia Aquaculture in the 21st century: proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia aquaculture*, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 3-7, 2000, p. 366.

- C30. Toguyeni, J.F **Baroiller**, B. Fauconneau, P.Y. LeBail, S. Van der Geyten, V. Darras and A. Fostier, 2000. Role of thyroid hormones and estrogens in growth and gonadal development. In *Tilapia Aquaculture in the 21st century: proceedings from the fifth International Symposium on Tilapia aquaculture*, K. Fitzsimmons and J.Carvalho Filho, eds., Rio de Janeiro, RJ, Brazil, September 3-7, 2000, p. 366.
- C31. Gautier, J.-Y., Lefauchaux, B., Foraste, M., Jalabert, B., **Baroiller, J.F.**, 2000. Periodicity and duration of the papillary, sexual and behavioral cycle in the tilapia *Oreochromis niloticus*. In: Fitzsimmons, K., Carvalho Filho, J. (Eds.), *Proceeding from the Fifth International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. Rio de Janeiro, Brazil, p. 48.
- C32. Bezault, E., Ozouf-Costaz, C., D'Hont, A., Volff, J.N., Rognon, X., and **Baroiller, J.F.**, 2001. Structure and evolution of pure and hybrid genomes of Tilapia. *Proceedings of the 14th International Chromosome Conference*. September 4-8, 2001, Department of Human Genetics, Biozentrum, Würzburg, Germany. *Chromosome Research* 9 (suppl. 1.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, p.30.
- C33. Bezault, E., Bonnet, S., Fauconneau, B., Rognon, X., and **Baroiller, J.F.**, 2001. Analyse de la morphologie d'hybrides intergénériques de Tilapia (Cichlidae) entre *Oreochromis niloticus* et *Sarotehrodon melanotheron*. *Proceedings du 2^{ème} Symposium de Morphométrie*, Paris, 8-9 Mars 2001.
- C34. Bezault E, Ozouf-Costaz C, D'Hont A, Rognon X, **Baroiller, JF**, 2001. Contribution of the comparative genomic hybridization to the analysis of the evolution of hybrid genomes of tilapia (Pisces, Cichlidae). *Third European Cytogenetics Conference*, July 7-9, 2001, Paris, France.
- C35. Kühn, E. R., Van der Geyten, S., Toguyeni, A., **Baroiller, J. F.**, and Darras, V. M., 2001. Hepatic activity and expression of deiodinating enzymes in two tilapia species during experimentally induced hypothyroidism. *Proceedings of the 14th International Congress of Comparative Endocrinology*, May 26-30, 2001 Sorrento (Napoli) Italy. R. Pierantoni and R.K. Rastogi, eds. p. 71.
- C36. Van der Geyten S., Toguyeni A., **Baroiller J.-F.**, Fauconneau B., Fostier A., Kühn E.R., Darras V.M., 2001. Type I iodothyronine deiodinase expression is upregulated in the liver of hypothyroid tilapia. *27th Annual meeting of the European Thyroid association*, August 25th-29th, 2001, Warsaw, Poland. *J. Endocrinol. Invest.* 24(6): 208.
- C37. Berishvili G, Shved N, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Reinecke M., 2003. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the early developing gonads of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *65. Jahresversammlung SGAHE/SSAHE*, Lausanne 2003; p14.
- C38. Shved N, Berishvili G, Eppler E, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Segner H, Reinecke M., 2003. Insulin-like growth factor-I (IGF-I): Morphological basis for the study on its involvement in fish growth and its potential interaction with (xeno)estrogens. *65. Jahresversammlung SGAHE/SSAHE*, Lausanne 2003; p30.
- C39. Berishvili G, Shved N, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Reinecke M. Expression of IGF-I during early development in a representative teleost, the tilapia *Oreochromis niloticus*. *5th International Symposium on Fish Endocrinology*, Castellón, Spain, 5-9.09.2004; p138.
- C40. Berishvili G, Shved N, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Segner H, Reinecke M, 2004. Insulin-like growth factor I (IGF-I) gene and peptide expression in early developing gonads of the teleost *Oreochromis niloticus*, the tilapia. *Annal Anat* 186 (Suppl), 82.

- C41. Berishvili G, Shved N, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Segner H, Reinecke M, 2004. IGF-I gene and peptide expression in early developing gonads of the teleost *Oreochromis niloticus*, the tilapia. *Upsala J Med Sci* 56 (Suppl.), 15.
- C42. Shved N, Berishvili G, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Reinecke M., 2004. Morphologic basis of insulin-like growth factor-I (IGF-I) involvement in fish growth and its potential interaction with (xeno)estrogens analysed in the teleost *O. niloticus* as a model species. 99. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft Wien 2004. *Annal Anat* 2004; 186 (Suppl.):167.
- C43. Shved N, Berishvili G, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Reinecke M, 2004. Expression of IGF-I in the early developing tilapia, *Oreochromis niloticus* 66. Jahresversammlung SGAHE/SSAHE, Bern.
- C44. Shved N, Berishvili G, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Segner H, Reinecke M, 2004. Expression of IGF-I in liver and extrahepatic organs, including the gonads, during early ontogeny in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). National Research Project 50 Workshop, Gurten/Bern.
- C45. Shved N, Berishvili G, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Reinecke M. Expression of IGF-I in the early developing tilapia, *Oreochromis niloticus*. 22nd Conference of European Comparative Endocrinologists, Uppsala 2004. *Upsala J Med Sci* 2004; 56 (Suppl.): p91.
- C46. Shved N, Berishvili G, D'Cotta H, **Baroiller J-F**, Eppler E, Reinecke M, 2004. Expression of IGF-I in the early developing tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Upsala J Med Sci* 56 (Suppl.), 91.
- C47. Shved N, Caelers A, Eppler E, Segner H, D' Cotta H, **Baroiller J-F**, Reinecke M, 2004. High doses of estrogen interfere with the IGF-I system in the teleost *Oreochromis niloticus*, the tilapia 5th International Symposium on Fish Endocrinology, Castellón. Spain, Sept. 5-9, 2004, p 214
- C48. Massou, A.M., Panfili, J., LeBail, P.Y., Lae, R., Mikolasek, O., Fontenelle, G., and **Baroiller, J.F.**, 2004. Influence of reproduction on otolith microincrement deposition. The Third International Symposium on Fish Otolith Research and Application, 11-16 July 2004, Townsville, Queensland, Australia.
- C49. **Baroiller JF**, and **D'Cotta H**, 2004. Use of Biotechnology for the Improvement of Tilapia Culture. Proceedings of the International Symposium on Tropical Agriculture and Agro-biotechnology, Dec. 7-9, 2004. National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung, Taiwan, R.O.C., pp. AS 68-1_68-15.
- C50. Mateo, D., Aguilar, R., Campos, W., Katalbas, M.S.F., Sanares, R., Edra, R., Chevassus, B., Lazard, J., Morissens, P., **Baroiller, J.F.**, and Rognon, X., 2004. Salinity tolerance of *Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus* F1 hybrids and their successive backcross. Proceedings of the 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, Philippine International Convention Center, Manila, Philippines September 12-16, 2004, R.B. Bolivar, G.C. Mair & K. Fitzsimmons eds, pp. 426-438.
- C51. Shved N, Caelers A, Eppler E, **D'Cotta H**, **Baroiller JF**, Reinecke M, 2005. The use of the CT method in real-time RT-PCR to investigate the potential interference of (xeno)estrogens with the IGF-I system in a teleost, the Nile tilapia. 100th Annual Meeting Leipzig, Germany, March 11 - 14, 2005, Poster.

- C52. **Baroiller, J.F.**, D’Cotta, H., Bezault, E., Coutanceau, J.P., Ozouf-Costaz, C., Cnaani, A., Kocher, T., Pepey, E., D’Hont, A., Hulata, G., Volff, J.N., Bienvenu, D., and Chevassus, B., 2006. Sex determination and sex differentiation in tilapias. Symposium 2006, Scientific Cooperation in Agriculture between Council of Agriculture (Taiwan, R.O.C.) and Institut National de la Recherche Agronomique (France). Lia, C.W., Shih, B., L., Lee, M.L., Hsu, A.L., and Cheng, Y.S., (eds). Technical Bulletin of Livestock Research Institute, N°103, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan, R.O.C., p. 267-270.
- C53. Berishvili, G, Shved, N, D’Cotta, H. & **Baroiller, J-F.**& Segner, H, Reinecke, M., 2006. Ethynylestradiol (EE2) differentially interferes with the IGF-I & estrogen system in the male & female Teleost *Oreochromis niloticus*, the tilapia. Proceedings of the 23rd Conference of European Comparative Endocrinologists, 29 August – 2 September 2006, Manchester (UK). p. 102.
- C54. **Bezault E**, Balaresque P, Toguyeni A, Fermon Y, Chevassus B, **Baroiller JF** & Rognon X, 2006. Etude de la structure génétique des populations naturelles de tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus*, du niveau macro-géographique au niveau temporel local. In Proceedings of the « Troisièmes rencontres de l’Ichtyologie en France ». Paris, 28-31 mars 2006.
- C55. **Bezault E.**, Balaresque P., Toguyeni A., Fermon Y., Chevassus B., **Baroiller J.F.** & Rognon., X., 2006. Study of the genetic structure of natural populations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: from macro-geographic to temporal scales; 3emes Rencontres de l’Ichtyologie en France - RIF III. Paris (France) 28-31 March 2006.
- C56. Bezault, E., Clota, F., Derivaz, M., Chevassus, B., & **Baroiller, J.F.**, 2006. Comparison of Nile tilapia Sex determination in natural populations and a domestic stock. Proceedings of the IX International Symposium for Genetics in Aquaculture, Montpellier 24-30 June 2006.
- C57. D’Cotta, H., Pepey, E., Tine, M., Ouattara, N., **Baroiller, J.F.**, Bezault, E., Durand, J.D., Bienvenu, D., Bonhomme, F., Charmantier, G., Morissens, P., Poivey, J.P., and Chevassus, B., 2006. Adaptation to extreme salinity variations in tilapias. Symposium 2006, Scientific Cooperation in Agriculture between Council of Agriculture (Taiwan, R.O.C.) and Institut National de la Recherche Agronomique (France). Lia, C.W., Shih, B., L., Lee, M.L., Hsu, A.L., and Cheng, Y.S., (eds). Technical Bulletin of Livestock Research Institute, N°103, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taiwan, R.O.C., p. 275-280.
- C58. Eppler E, Shved N, Berishvili G, **Baroiller J-F**, Reinecke M., 2006. Ethynylestradiol (EE2) differentially interferes with the IGF-I and estrogen system in the male and female teleost *Oreochromis niloticus*, the tilapia. 23rd Conference of Comparative Endocrinologists, Manchester, August.
- C59. Haffray, P., Lebègue, E., Jeu, S., Guennoc, M., Guiguen, Y., **Baroiller, J.F.**, and Fostier, A., 2006. Genetic and Temperature sex determinism in the turbot *Scophthalmus maximus*. Proceedings of the IX International Symposium for Genetics in Aquaculture, Montpellier 24-30 June 2006.
- C60. Ouattara, N., Nègre-Sadargues, G., D’Cotta, H., Panfili, J., **Baroiller, JF.**, & Charmantier, G., 2007. Adaptation to extreme salinity variation in Tilapia. G. In Proceedings of the 3^{èmes} rencontres Ecologie et Comportement. 13-16 mars 2007. Montpellier, France.

- C61. Berishvili G, Moret O, Shved N, Eppler E, D’Cotta H, **Baroiller JF**, Reinecke M., 2007. Insulin-like growth factor I (IGF-I) mRNA and peptide in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis during development of the tilapia, *Oreochromis niloticus*. Oral Comm. Proceedings of the 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, June 3rd-8th, 2007 – Saint-Malo, France.
- C62. D’Cotta H, Pepey E, Pfennig F, Bienvenu D, Gutzeit HO, Volff JN, Wenning M, **Baroiller JF**, 2007. *Sox9a*, *Sox9b* and *Amh* are up-regulated in the gonads during natural and temperature-induced tilapia male differentiation. Oral Comm. Proceedings of the 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, June 3rd-8th, 2007 – Saint-Malo, France.
- C63. Diaf, H., Canonne, M., and **Baroiller, JF.**, 2007. Effects of social interactions on the reproduction of the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*: possible application for breeder management. Proceedings of the 12th International Conference of the Association of Institutions of Tropical Veterinary Medicine, Ed. CIRAD, International Conference of the Association of Institutions of Tropical Veterinary Medicine, 19-22 August 2007, Montpellier, France, p. 301-306.
- C64. Shved N, Eppler E, D’Cotta H, Berishvili G, Segner H, **Baroiller JF**, Reinecke M., 2007. Ethinylestradiol (EE2) differentially interferes with insulin-like growth factor I (IGF-I) in liver and gonads of male and female tilapia. Poster. Proceedings of the 8th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, June 3rd-8th, 2007 – Saint-Malo, France.
- C65. C. Ozouf-Costaz, O. Coriton, H. D’Cotta, A. Cnaani, J. P. Coutanceau, C. Bonillo, E. Pepey, T. Kocher, **J. F. Baroiller**. 2008. Chromosomal localisation of sex-specific BACs and of selected cDNAs identified by microdissection in two tilapia species, *oreochromis niloticus* and *oreochromis aureus*. 18th International Colloquium on Animal Cytogenetics and Gene Mapping. Bucharest, June 8-10, 2008
- C66. **Baroiller JF**, D’Cotta H, Wessels S, Bezault E & Hoerstgen-Schwark G, 2008. Temperature effects on tilapia sex differentiation. Sixth International Symposium on Fish Endocrinology. Calgary, Canada in June 22-26, 2008.
- C67. A Böhne, C Schultheis, D Galiana-Arnoux, C Schmidt, Q Zhou, A Froschauer, Y Selz, C Ozouf-Costaz, B Ségurens, A Couloux, S Bernard-Samain, S Chilmonczyk, F Brunet, **J-F Baroiller**, H D’Cotta, J. Bobe, Y. Guigen, M Schartl and Jean-Nicolas Volff. 2008. Sex determination and sex chromosome evolution in the platyfish *Xiphophorus maculatus*. XXth International Congress of Zoology, Paris - 26-29 August 2008, Communication orale Session 10- Sex differentiation in vertebrates.
- C68. D’Cotta H, Pepey E, Wessels S, Poonlaphdecha S, Reinelt B, Hörstgen-Schwark G, and **Baroiller JF**. 2008. Temperature-induced male differentiation in the Nile tilapia: gonad gene expression using female monosex populations and divergent thermo-sensitive lines. XXth International Congress of Zoology, Paris - 26-29 August 2008, Communication orale Session 10- Sex differentiation in vertebrates.
- C69. Poonlaphdecha S, Pepey E, Coriton O, Coutanceau JP, D’Hont A, Kocher TD, Ozouf C, **Baroiller JF** and D’Cotta H. 2008. Microdissection and DOP-PCR as a way to study the evolution of an old sex chromosome pair using 2 sister-species of tilapia with different sex determination systems, *O. aureus* and *O. niloticus*. XXth International Congress of Zoology, Paris - 26-29 August 2008, Poster Session 10- Sex differentiation in vertebrates.
- C70. Eppler E., Shved N., Berishvili G., Moret O., Kasper R., **Baroiller J-F**, Reinecke M., 2008. Further insights into the IGF system within the bony fish pituitary. Proceedings of the 24th Conference of European Comparative Endocrinologists, Genoa, Italy, September 2-6, 2008. Oral communication.

- C71. Shved N., Berishvili G., **Baroiller J.F.**, Segner H., Reinecke M., 2008. Environmentally relevant concentrations of 17 α -ethynylestradiol (EE2) interferes with the GH/IGF-I system in developing bony fish. Proceedings of the 24th Conference of European Comparative Endocrinologists, Genoa, Italy, September 2-6, 2008. Poster.
- C72. Rakotamanga M, Azzouzi N, Senger F, Guyon R, Hitte C, **Baroiller JF**, D'Cotta H, Ozouf-Costaz C, and Galibert F. A Radiation Hybrid map of the genome of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Comparative Biology Annual meeting: "Genomics and Vertebrate Adaptive Radiation: A Celebration of the First Cichlid Genome." Boston, January 3rd - 7th 2009.

Encadrement de thèse, Participation à des Comités ou des Jurys de thèse/PhD

Co-Encadrement de thèse (implication JFB en % et nbre publications co-signées indiqués entre parenthèse) :

- ✓ Philippe Tacon, 1995. Univ. Rennes I. (co-encadrement à **25%** avec B. Jalabert, INRA-SCRIBE, Rennes; **publication 17**). Contrôle de la reproduction chez la femelle tilapia *Oreochromis niloticus* (Poissons, Cichlidés): interactions entre les phénomènes de comportement parental et l'ovogenèse, et rôle des facteurs endocriniens.
- ✓ Aboubacar Toguyeni, 1996. Université de Rennes I/ENSAR (co-encadrement à **75%** avec B. Fauconneau, INRA-SCRIBE, Rennes ; **publications 8, 10, 23, 24, 41**). La croissance différentielle liée au sexe du Tilapia (Pisces Cichlidae) *Oreochromis niloticus* (Linneus 1758) : contribution des facteurs génétiques, nutritionnels et comportementaux, et recherche d'un relai endocrinien. 158 p.
- ✓ Damien Desprez, 1998. Université de Liège, Belgique (co-encadrement à **75%** avec C. Mélard, Université de Liège ; **publications 26, 27, 33, 39**) : Etude de l'influence du génotype sexuel sur la détermination du sexe, la reproduction et la croissance chez le tilapia, *Oreochromis aureus* (Pisces, Cichlidae) (Steindachner, 1864).
- ✓ Vincent Brioudes, 2000. (encadrement à **25%** avec P. Morissens-Cirad) Aquaculture aux Philippines et Sélection d'une souche hybride de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) à croissance rapide en eau salée (projet Molobicus). Thèse Vétérinaire N-2000-060
- ✓ Aboubacar Malam Massou, 2002. Université de Rennes I/ENSAR (co-encadrement à **75%** avec G. Fontenelle, ENSAR ; **publications 24, 28, 29**). Effets de l'alimentation, du stress et de la reproduction sur les microstructures des otolithes (Sagittae) de *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) en conditions expérimentales. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes. Mention : Halieutique
- ✓ Frédéric Glasser, 2003. Université de Rennes I, (co-encadrement à **25%** avec B. Jalabert ; **publication 30**), 2003. L'influence des facteurs externes sur la reproduction de la carpe herbivore (*Ctenopharyngodon idella*) en zone tropicale : une approche descriptive et expérimentale.
- ✓ Etienne Bezault, 2005. Université d'Orsay (co-encadrement à **75%** avec B. Chevassus-au-Louis, MNHN ; **publications 21, 38 & publications soumises 42, 43**). Etude du système de déterminisme du sexe au sein de populations naturelles de tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus* : Importance des composantes génétiques et environnementales.
- ✓ David Bienvenu, Université de Montpellier II (co-encadrement **75%** avec R. Houlgatte-Responsable de la plate-forme puces ADN Génopôle Ouest-INSERM U533, Faculté Médecine, Nantes), Etude *in silico* de la cascade du déterminisme du sexe chez le tilapia. Soutenance prévue fin 2008.
- ✓ N'Golo Ouattara, Université de Montpellier II (co-encadrement **50%** avec G. Charmantier, Univ. MTPL II, Equipe AEO). Adaptation écophysiological aux conditions d'hypersalinité chez le tilapia *Sarotherodon melanotheron* en Afrique de l'Ouest: réponse des cellules branchiales". (**poster 55**) Soutenance prévue fin 2008.
- ✓ Sheng-Hui Huang, Université de Montpellier II (co-encadrement **50%** avec H. D'Cotta, Cirad-Persyst, UPR₂₀). Integrated study of sex differentiation under natural and temperature-induced conditions in tilapias *Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus* at two levels, the central nervous system and the gonads. Soutenance prévue fin 2009.

6 des 7 allocataires ayant déjà soutenus leur thèse ont obtenu un CDI dans la recherche, l'enseignement ou la production animale/aquacole, et le 7^{ème} est actuellement en post-doc dans un excellent laboratoire à l'étranger.

Participation à des Comités de thèse (autres que thèses encadrées):

- ✓ Eric Saillant, Université de Brest
- ✓ Carole Rougeot, Université de Liège
- ✓ Catherine Nebel, Université de Montpellier II
- ✓ Mbaye Tine, Université de Montpellier II
- ✓ Astrid Böhne, Univ. Lyon
- ✓ Charlotte Bodinier, Université de Montpellier II

Participation à des Jury de thèse (hors thèses encadrées):

- ✓ A. Rani, Université de Stirling, Ecosse
- ✓ J. Abucay, Université de Swansea, Pays de Galles
- ✓ E. Saillant, Brest
- ✓ X. Rognon, Orsay
- ✓ B. Chevassus-au-Louis, Orsay
- ✓ D. Chardard, Nancy
- ✓ S. Vaillant, Paris
- ✓ S. Kuntz, Nancy
- ✓ D. Baron, Rennes
- ✓ C. Rougeot, Liège
- ✓ C. Nebel, Montpellier II
- ✓ Jose Mota-Velasco (avril 2007), Université de Stirling, Ecosse
- ✓ Chia-I Ko (Décembre 2008), Nancy
- ✓ Anwar El jamil (Mai 2009), Orsay

Responsabilité de Projets nationaux & internationaux

1988-1992

Projet GIS-Aquaculture (CIRAD-INRA): Différenciation/Déterminisme du sexe chez le tilapia.

1992-2002

Projet Minagri: Déterminisme du sexe et de la coloration chez le tilapia rouge, Ile de La Réunion (**France** : CIRAD, INRA, ARDA; **Belgique** : CERER-Univ. Liège).

Programme sur le déterminisme environnemental du sexe chez le tilapia (**France**: CIRAD, INRA).

Projet Européen FAIR: PL 97-3796, "Basis of sex determination and gonadal sex differentiation for sex control in Aquaculture" (**France**: CIRAD, INRA, France-Turbot-NATA; **Irlande**: Univ. College of Galway; **Allemagne**: Univ. de Wuerzburg; **Italie**: Univ. Pisa).

2002-2010

Coordinateur Cirad du Projet AGENAE-IFOP (2003-06) sur "l'analyse de la différenciation du sexe, naturelle et induite, chez la truite et le tilapia par des approches de génomique fonctionnelle" (INRA-CIRAD).

Projet AGENAE-IFOP (2003) « utilisation de macro-arrays en conditions hétérologues, pour l'étude du transcriptome dans les gonades de 3 espèces de poissons, la truite, le loup et le tilapia »

Partenaire Français du Projet de séquençage complet du génome de Tilapia par le Broad Institute, Boston, USA (financement NIH)

Coordinateur du Projet Fishsex ANR-06-GANI-012 (2007-10): Fall and Rise of the sex chromosomes in the tilapia group as a model to understand the variability of sex determination in fish

Coordinateur du Projet Genoscope (2007) BAC end sequencing of tilapia

Coordinateur Cirad du Projet Percimap ANR-07-GANI-005: Construction of a high-density Tilapia RH map

Recherches réalisées

Avant propos

Depuis 1985, une grande partie de mon activité de recherche est centrée sur l'étude du déterminisme et de la différenciation du sexe chez un groupe de poissons tropicaux d'intérêt aquacole, les tilapias. Ce travail, réalisé au sein d'un Institut de recherche en Agronomie Tropicale, le Cirad (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement), a pour objectif d'acquérir de meilleures connaissances dans le domaine du déterminisme et de la différenciation du sexe pour permettre un contrôle du sexe, souvent indispensable en aquaculture, par des approches respectueuses du consommateur et de l'environnement.

Trois types d'études ont été réalisés dans ce travail:

- L'étude du déterminisme du sexe et la recherche des chromosomes sexuels chez deux espèces sœurs, *O. niloticus* et *O. aureus*, ainsi que chez un hybride complexe quatre voies (*O. niloticus*, *O. mossambicus*, *O. aureus* & *O. hornorum*), le Red Florida (mutant rouge naturel).
- L'étude de la différenciation du sexe et de ses mécanismes, dans la gonade et le système nerveux central du tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus*
- L'effet de l'environnement, et plus particulièrement de la température, sur le sex-ratio chez le tilapia du Nil, la recherche des mécanismes impliqués dans cette masculinisation par les fortes températures, et la recherche d'une thermosensibilité de la différenciation dans les populations naturelles.

Comme précisé dans mon *curriculum vitae*, j'anime un groupe de recherche sur la « Biologie des espèces d'intérêt aquacole et l'Amélioration de leurs performances », au sein de l'équipe Aquaculture devenu depuis 3 ans, l'UPR « Aquaculture et Gestion des Ressources Aquatiques » du Cirad (Département Persyst). Par une meilleure connaissance de la biologie des espèces et des populations, des mécanismes impliqués dans l'expression de caractères d'intérêt agronomique (de la physiologie classique à la génomique fonctionnelle) et une meilleure valorisation de la diversité des souches domestiques comme naturelles, ce groupe cherche à répondre aux objectifs suivants:

- Identifier des individus/populations d'intérêt, développer des souches d'intérêt, améliorer leurs performances, en réponse à l'évolution des besoins et des contraintes:
 - par des approches classiques: i.e. sélection génétique de la souche Molobicus résistante à la salinité (diversification des milieux d'élevage face aux problèmes croissants d'accessibilité à l'eau douce),
 - par utilisation des outils de la biologie moléculaire et de la génomique : recherche des marqueurs fonctionnels (gènes exprimés) ou « neutres », pour l'amélioration de deux caractères d'intérêt aquacole, le Contrôle du sexe et la Tolérance à la salinité

Dans ce mémoire, seules les recherches sur le déterminisme et la différenciation du sexe appliquées au contrôle du sexe en aquaculture seront décrites. Elles ont été réalisées à travers différents projets rappelés en fin de mémoire, de nombreuses collaborations nationales et internationales, et le co-encadrement d'une dizaine d'allocataires de recherche. La liste de ces allocataires et les publications réalisées pour chaque thèse est fournie en fin de mémoire.

Contexte de l'étude

a. Le modèle tilapia

Les poissons constituent une classe de vertébrés particulièrement intéressante pour l'étude du déterminisme du sexe, puisqu'ils présentent une palette de sexualités allant de l'hermaphrodisme¹ synchrone (avec parfois autofécondation) au gonochorisme² et que leur différenciation du sexe peut être gouvernée par des facteurs génétiques et/ou environnementaux [15, 19, 48]. Cette diversité contraste avec la stabilité des systèmes de déterminisme du sexe existant depuis au moins 100 millions d'années chez les mammifères et les oiseaux (Schartl, 2004). Cette différence est à mettre en parallèle avec l'impressionnante biodiversité des poissons, adaptés à une extraordinaire variété d'habitats aquatiques et de contraintes écologiques [15, 49]: les 25000 espèces de poissons vivants, représentent environ la moitié de tous les vertébrés (Helfman et al. 1997). Plus de 23000 de ces espèces sont des téléostéens, un groupe très prospère apparu, il y a environ 200 millions d'années (Triassique). Considérée comme la branche la plus importante des téléostéens, les 9300 espèces de l'Ordre des Perciformes représentent près du quart de toutes les espèces de vertébrés et dominent les habitats aquatiques (eau douce comme marine) du monde entier. Les Cichlidés, avec environ 1900 espèces distribuées de l'Amérique Centrale et du Sud, l'Afrique et Madagascar jusqu'au Sud de l'Inde (Barlow 2000), illustrent bien la diversité des espèces de l'ordre des Perciformes. Au sein de la famille des Cichlidés, le groupe des tilapias a développé une impressionnante gamme de réponses adaptatives pour faire face à la diversité des habitats écologiques colonisés: eau douce, lagunes, eaux saumâtres/marines ou même milieux hypersalés (jusqu'à 130 ppm), rivières avec des rapides, eaux alcalines ou acides, estuaires ouverts ou fermés, eaux chaudes géothermales, lacs froids volcaniques, lacs profonds ou marécageux, eaux claires ou opaques [49]. A cette impressionnante plasticité vis-à-vis du milieu, s'ajoutent les principales caractéristiques recherchées classiquement pour une espèce d'aquaculture. Il est donc logique que les tilapias constituent aujourd'hui un groupe d'espèces d'intérêt aquacole majeur³. Au sein de ce groupe, l'essentiel de la production repose sur le tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus*, qui est aussi l'un des modèles de laboratoires les mieux renseignés pour les études de génétique, physiologie, endocrinologie et toxicologie. Enfin, très récemment, le projet de séquençage du génome de tilapia porté par le Cichlid Genome Consortium a été retenu par le NIH (USA) et est en cours de réalisation au Broad Institute (USA). La séquence assemblée est attendue pour fin 2009.

Chez le tilapia, comme chez la carpe, la truite, la perche, l'esturgeon, l'anguille et le bar, l'étude du déterminisme du sexe a été très fortement motivée par des considérations aquacoles et économiques. En effet, chez la plupart des espèces d'intérêt, le contrôle du sexe revêt une importance majeure en aquaculture.

¹ Chez une espèce hermaphrodite, l'ensemble ou une partie des individus pourra produire au cours de sa vie, les 2 types de gamètes, ovules et spermatozoïdes, soit de façon simultanée (hermaphrodites synchrones), soit successivement (hermaphrodites successifs).

² Espèces à sexe séparé: tous les individus naissent mâle ou femelle et conservent ce sexe toute leur vie.

³ Avec 2 millions de tonnes/an, les tilapias constituent la seconde production aquacole mondiale après le groupe des carpes, et avant celui des Salmonidés. Les carpes sont essentiellement produites et consommées en Chine, alors que les tilapias sont produits dans une centaine de pays dans le monde et consommés sur tous les continents.

b. Importance aquacole du contrôle du sexe chez les poissons

En dehors de la phase nécessaire de production d'alevins destinés au grossissement, la reproduction des espèces de poisson d'intérêt aquacole, est généralement perçue négativement par les producteurs [7]. Elle implique en effet de profondes modifications physiologiques qui peuvent conduire à:

- une augmentation du taux de mortalité liée à une diminution transitoire de la résistance immunitaire, ou à une augmentation de l'agressivité,
- des retards de croissance, liés au fort coût énergétique de la reproduction (chez certaines espèces de poissons, le poids des gonades matures peut représenter plus de 30% du poids du corps),
- des diminutions de la qualité de la chair, liées aux modifications endocriniennes, et/ou à des arrêts de l'alimentation (saumons en eau douce ou l'incubation buccale des œufs/alevins chez les tilapias).

Le contrôle du sexe [14, 15] permet non seulement d'éviter ces conséquences néfastes de la reproduction, mais aussi:

- d'augmenter le potentiel reproducteur (production d'un grand nombre de femelles par exemple à des fins de repeuplement ou à une production spécifique à un sexe comme le caviar d'esturgeon),
- de gérer le sex-ratio des géniteurs, puisque chez certaines espèces, des déséquilibres de sex-ratios peuvent inhiber la reproduction, chez des espèces gonochoriques (tilapia) comme hermaphrodites (daurade, pagre, mérou, ou le loup tropical),
- d'obtenir des géniteurs plus précoces dans un sexe, chez des espèces hermaphrodites à inversion tardive. Chez le mérou, *Epinephelus tauvina*, en l'absence d'un contrôle du sexe, il est nécessaire de conserver les géniteurs pendant de nombreuses années, pour obtenir des mâles puisque l'inversion naturelle du sexe n'intervient qu'à 11kg,
- de protéger la biodiversité en milieu ouvert: la majorité des « échappements » dans un élevage ayant lieu au stade alevin, l'utilisation de populations monosexes ou stériles permet d'éviter les reproductions et réduit ainsi les échappés,
- de ne conserver que le sexe présentant les meilleures performances zootechniques ou marchandes (dimorphisme de croissance, dichroïsme ornemental...)

c. Le contrôle du sexe chez le tilapia

L'impressionnante capacité d'adaptation des tilapias à des milieux difficiles, leur régime alimentaire à la base microphytophage (algues phytoplanctoniques, cyanobactéries...), mais de fait totalement opportuniste avec une capacité à se nourrir à partir des aliments les moins digestibles (Dabbadie, 1996), de bonnes efficacités de conversion alimentaire, une forte croissance [10], et une reproduction spontanée en élevage expliquent la place importante qu'occupe ce groupe d'espèces dans l'aquaculture mondiale. En effet, si le groupe des carpes domine l'aquaculture mondiale, sa production et sa consommation sont essentiellement Chinoises. Ce sont ensuite le groupe des tilapias puis celui des salmonidés, qui occupent les secondes et troisièmes places, avec respectivement 2,5 millions et 1.850.000 tonnes produites par an (FAO, 2007).

Cependant, en milieu confiné, l'efficacité de reproduction de ce groupe d'espèces, une maturité sexuelle précoce (dès l'âge de quelques mois) et l'existence de fortes interactions sociales affectant fortement la croissance [10, 24] résultent rapidement en une surpopulation et un nanisme des individus [4]. L'utilisation de populations monosexes mâles permet de contrer ces effets néfastes de la reproduction, et de bénéficier des meilleures performances de croissance des mâles [2, 4, 24]. Bien qu'originaires d'Afrique [46, 49], les tilapias sont produits pour l'essentiel en Asie du Sud-Est⁴ et en Amérique latine⁵ mais exportés dans le monde entier, y compris en Europe et aux Etats-Unis⁶. Dans la majorité des cas, les populations monosexes mâles utilisées en aquaculture du tilapia, sont obtenues par un traitement d'inversion hormonale utilisant des stéroïdes artificiels, généralement la 17 α -methyltestostérone [C3, 24, 26, 49]. Or de tels traitements soulèvent des problèmes [4] liés à la mauvaise connaissance de l'élimination des métabolites dans le poisson (sécurité alimentaire), de leur possible incidence sur l'environnement (eau et sédiment) et la biodiversité (possibles effets sur la différenciation du sexe et la gamétogenèse des espèces aquatiques dans le milieu naturel). En effet, les rares études ont été réalisées en suivant la disparition de la radioactivité des alevins pendant et après traitement par de la 17 α -methyltestostérone tritiée incorporée dans l'aliment (Goudie et al., 1986). Sur la base de la décroissance progressive de la radioactivité jusqu'à des niveaux indétectables, elles concluent que le stéroïde artificiel est totalement éliminé de l'alevin, 3 semaines après l'arrêt du traitement. Cependant, l'étude ne démontre en fait que l'élimination des hydrogènes marqués au tritium et pas nécessairement de l'ensemble des métabolites issus de la dégradation de la molécule de 17 α -methyltestostérone radioactive [4]. Or ce stéroïde artificiel est justement utilisé pour sa meilleure efficacité de masculinisation, du fait de la présence d'un radical méthyl qui rend plus difficile sa dégradation. Par ailleurs, une autre étude révèle que plus de 25 métabolites sont produits lors de cette dégradation, et seuls quelques uns d'entre eux ont pu jusqu'alors être identifiés (Cravedi et al, 1989; 1993a & b); on ne peut donc, à ce jour, vérifier leurs présences/absences dans le poisson après l'arrêt du traitement, ni analyser leur éventuelle toxicité pour le consommateur et/ou pour la biodiversité aquatique. Enfin, des travaux récents montrent que la 17 α -methyltestostérone est retrouvée dans le sédiment des étangs de traitement, plus de 3 mois après l'arrêt du traitement et que la proportion d'individus intersexués augmente chez des individus placés dans ces étangs, après la fin du traitement (Contreras-Sánchez et al., 2001). L'ensemble de ces données suggère évidemment de rechercher des approches davantage acceptables pour l'environnement et le consommateur. Chez des espèces comme la truite et la carpe, chez lesquelles le déterminisme du sexe semble essentiellement génétique (XX/XY), un contrôle génétique du sexe permet d'éviter ces problèmes liés à l'utilisation d'hormones [7]. Ces considérations aquacoles ont ainsi généré de nombreuses études chez les tilapias, devenu ainsi l'un des modèles d'analyse du déterminisme et de la différenciation du sexe et de son évolution chez les vertébrés.

⁴ Chine, Philippines, Indonésie, Thaïlande, Taiwan

⁵ Mexique, Brésil

⁶ 100.000 tonnes de filets de tilapia ont été importés aux USA en 2006

A. Déterminisme du sexe et effet de la température sur le sex-ratio chez deux espèces de tilapia, *O. niloticus* et *O. aureus*, ainsi que chez un hybride complexe quatre voies (*O. niloticus*, *O. mossambicus*, *O. aureus* & *O. hornorum*), le Red Florida (mutant rouge naturel)

1. Déterminisme du sexe chez les vertébrés non-poissons

Le déterminisme du sexe désigne l'ensemble des mécanismes qui orientent la différenciation du sexe; la différenciation du sexe représente le développement des gonades indifférenciées en testicules ou en ovaires [15].

Chez la plupart des mammifères, le sexe d'un embryon est déterminé au moment de la fécondation par la présence (mâle) ou l'absence (femelle) du chromosome Y. On parle d'une hétérogamétie mâle XY/XX.

Chez les oiseaux, c'est au contraire le mâle qui est homogamétique (ZZ/ZW). Chez les reptiles, c'est la température d'incubation des œufs qui oriente la différenciation vers le sexe mâle ou femelle chez tous les crocodiles et les tortues marines, et chez beaucoup d'espèces de tortues terrestres et quelques lézards. Toutes les espèces de serpents ont au contraire un déterminisme du sexe strictement génétique à homogamétie mâle. Enfin, chez les lézards et les amphibiens, les 2 types de déterminisme monofactoriel sont rencontrés selon espèces (voir revue de Scharl, 2004).

2. Déterminisme du sexe chez les poissons

Contrairement aux mammifères et aux oiseaux, les poissons présentent une impressionnante diversité de leur sexualité et déterminisme du sexe qui peut être exclusivement génétique, au contraire environnemental ou probablement même cumuler les deux types [14, 15, 19].

a. Déterminisme génétique

Chez les poissons, les systèmes monofactoriels de déterminisme du sexe, avec homogamétie femelle (XX/XY) ou mâle (ZZ/ZW), sont les plus communs, avec parfois des pertes du chromosome Y ou W (systèmes X0 ou Z0 où l'un des sexes possède un chromosome de moins que l'autre sexe) ou des translocations ou fusions avec un autosome (XX/XY₁Y₂ ou X₁X₂/Y). De possibles influences autosomales⁷ sont néanmoins mises en évidence chez un nombre croissant d'espèces considérées comme possédant un déterminisme monofactoriel. Des systèmes plus complexes où des chromosomes sexuels multiples peuvent exister au sein d'une même population d'espèces comme le platyfish, *Xiphophorus maculatus*, chez lequel cohabitent les chromosomes X, W et Y; les génotypes WX, XX et WY conduisent à un phénotype femelle, tandis que les combinaisons XY et YY sont mâles (Scharl, 2004). Enfin, des déterminismes polygéniques où les nombreux facteurs sont distribués sur un plus grand nombre de chromosomes sont aussi décrits chez les poissons (Devlin et Nagahama, 2002 ; Vandeputte et al., 2007).

Des espèces proches d'un point de vue phylogénétique peuvent posséder des mécanismes différents de déterminisme du sexe, reflétant de fréquents passages entre systèmes de déterminisme du sexe au cours de l'évolution (Mank et al. 2006). Ces changements de déterminisme du sexe peuvent être associés avec des événements de spéciation et jouer un rôle dans la biodiversité observée chez les poissons (Volff, 2005).

⁷ Les autosomes sont des chromosomes qui ne portent pas de déterminant majeur du sexe.

b. Déterminisme environnemental

Chez de nombreuses espèces hermaphrodites mais aussi gonochoriques, la différenciation du sexe et le sex-ratio peuvent être très fortement influencés par la température [6] ou d'autres facteurs de l'environnement comme le pH de l'eau voire même par des facteurs sociaux [15, 19, 48].

3. **Production de génotypes homogamétiques à descendance monosexes**

Dans le but d'analyser le déterminisme génétique du sexe, des inversions hormonales nous ont permis de produire des animaux sexuellement inversé (de phénotype contraire à celui attendu d'après le génotype). Ainsi des mâles XX ou néomâles ont été produits par masculinisation hormonale par la 11β -hydroxyandrostenedione puis testage en descendance (voir figure 1) : ces mâles XX croisés avec des femelles classiques XX produisent théoriquement des descendance monosexes femelles ($XX \times XX \rightarrow XX$). De la même manière, nous avons produit des néofemelles XY par féminisation hormonale puis testage en descendance. Ces néofemelles XY produisent 75% de mâles dans leur descendance lors d'un croisement par un mâle classique XY ($XY \times XY \rightarrow XX, 2XY \text{ \& \ } YY$). Les individus YY sont des mâles viables et fertiles [A3]. Ces mâles YY croisés avec des femelles classiques XX produisent théoriquement des descendance monosexes mâles ($YY \times XX \rightarrow XY$).

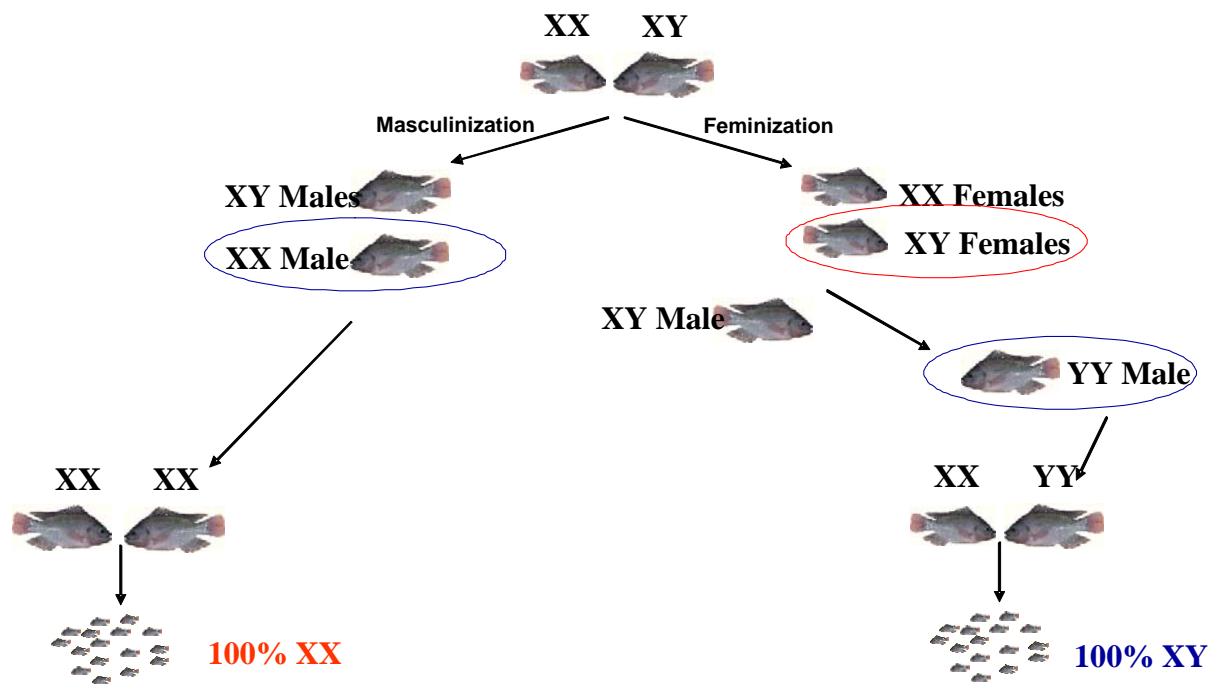


Figure 1 : Production et utilisation de mâles homogamétiques, XX et YY, à descendance respective génétiquement monosex femelle et mâle

De fait, les néomâles XX comme les mâles YY ne donnent pas systématiquement de descendance monosexes lors de croisements avec des géniteurs classiques de sexe opposé [19, C4, C14, C20]. En outre, si les sex-ratios sont répétables pour un même couple, en

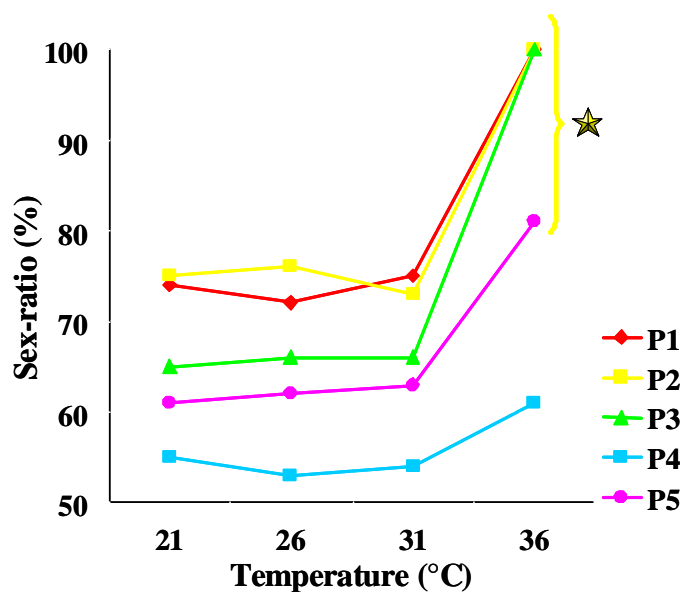
revanche, le changement d'un des géniteurs peut se traduire par une importante déviation du sex-ratio. Ces écarts de sex-ratios par rapport aux attendus d'un modèle monofactoriel suggèrent fortement que des facteurs mineurs (facteurs parentaux) peuvent moduler les sex-ratios. Des croisements selon un schéma dialléle montrent que les 2 parents peuvent apporter des facteurs modulant le sex-ratio. Des influences paternelles comme maternelles sont mises en évidence [19, C4, C14, C20].

Des résultats équivalents peuvent être obtenus chez le tilapia bleu, *Oreochromis aureus*, dont le déterminisme du sexe est proche de celui des oiseaux (mâle homogamétique ZZ et femelle hétérogamétique WZ). Des néofemelles ZZ à descendance génétiquement monosexes femelles ont été obtenues [27]. Pour cette espèce soeur également, un déterminisme du sexe strictement monofactoriel ne peut expliquer toutes les déviations de sex-ratio observées expérimentalement.

Enfin, il en est de même dans le cas d'un hybride complexe, le tilapia rouge, Red Florida [33].

4. Effet de la température sur la différenciation du sexe et le sex-ratio

Une autre hypothèse, non exclusive que nous avons testée, est le possible effet de la température sur la différenciation du sexe. Des descendance ont été divisées en 4, 5 ou 6 lots, et élevées à différentes températures durant leur période « hormono-sensible » (période pendant laquelle les traitements hormonaux doivent être appliqués pour une efficacité maximale. Dans de rares descendance, un court traitement de 10 jours minimum à forte température (supérieure à 32-34°C) résulte en une population monosex mâle. Dans d'autres descendance, au contraire, les fortes températures n'affectent pas le sex-ratio. Enfin, la majorité des descendance se situe entre ces 2 niveaux extrêmes de thermosensibilité de la différenciation (figure 2).



Cet effet de la température correspond à une véritable inversion fonctionnelle du sexe (comme celle induite par un traitement aux androgènes). En effet, des résultats similaires sont obtenus si l'on utilise des descendance génétiquement femelles, ce qui exclut l'hypothèse d'une mortalité sélective. Par ailleurs, le testage en descendance des mâles issus du traitement par la température, révèle l'existence de mâles XX à descendance exclusivement ou très majoritairement femelle. Ces « thermonéomâles » sont des individus génétiquement femelles masculinisés par la température [6, 19, 48].

Figure 2 : Effet de la température sur le sex-ratio chez *O. niloticus*

La encore, la déviation de sex-ratio induite par un même traitement thermique est répétable pour un même couple. Si l'un des géniteurs est changé, la thermosensibilité peut en être fortement affectée. Un croisement di-allèle permet de démontrer des effets paternels et maternels sur la thermosensibilité. Enfin la thermosensibilité est un héritable héritable, et très

récemment, un laboratoire allemand, sur la base de nos résultats a montré qu'elle était sélectionnable. Des lignées divergentes fortement et faiblement sensibles ont été obtenues (Wessels et Hörstgen-Schwark, 2007).

5. Recherche des chromosomes sexuels chez *O. niloticus* et *O. aureus*

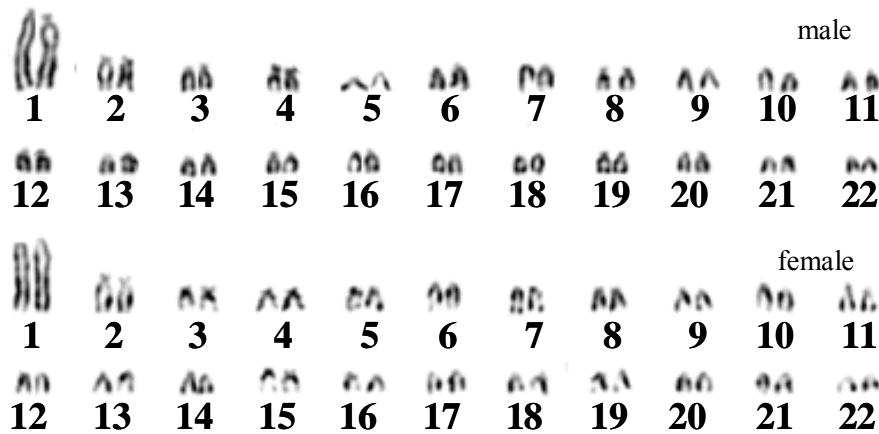


Figure 3 : Caryotype d'*O. niloticus* mâle et femelle.

Chez les tilapias, vingt deux paires de chromosomes sont généralement observées dans le caryotype [20]; cependant, comme chez la plupart des poissons étudiés, les chromosomes sexuels ne sont pas suffisamment différenciés morphologiquement pour être analysés par des techniques simples de cytogénétique et aucun marqueur moléculaire n'existait jusqu'alors.

A partir de la carte génétique d'*O. niloticus*, 2 groupes de liaison fortement liés au sexe ont été identifiés chez le tilapia (Lee et al, 2003 ; Lee et al., 2004). Chez *O. aureus*, LG3, localisé par FISH sur la grande paire de chromosomes contient le déterminant majeur du sexe et LG1, localisé sur une petite paire, peut contenir, chez certaines familles/populations, un déterminant mineur du sexe. Inversement, chez *O. niloticus*, LG3 ne joue plus qu'un rôle mineur dans le déterminisme du sexe, alors que LG1 contient le déterminant majeur. Leurs structures (suppression de recombinaison, accumulation de séquences répétées/rétrotransposons), suggèrent que ce sont respectivement un vieux et un jeune chromosomes sexuels [20, 42].

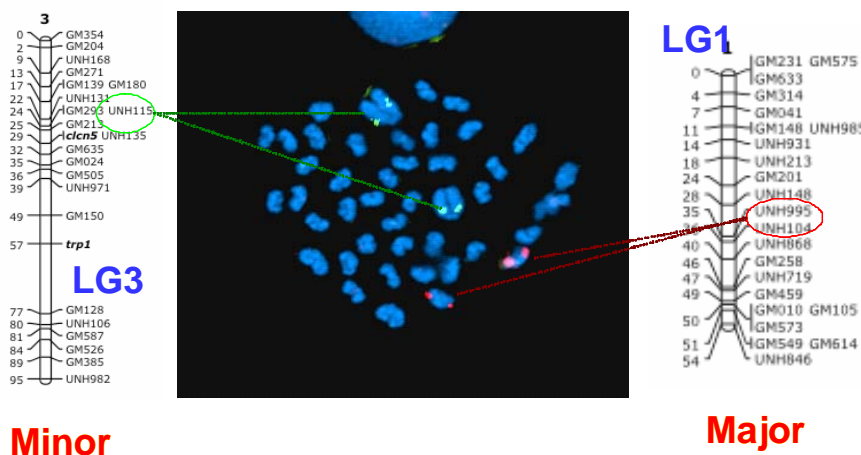


Figure 4 : localisation des chromosomes sexuels d'*O. niloticus* par FISH de BAC spécifique du sexe

Minor

Major

B. Différenciation du sexe et mise en place des potentialités stéroïdogènes dans la gonade du tilapia du Nil, *Oreochromis niloticus*

1. Cinétique de la différenciation du sexe chez *O. niloticus*

Depuis les travaux de Yamamoto (1969) sur une espèce modèle, le médaka, de nombreux travaux avaient démontré la possibilité d'orienter, de manière fonctionnelle, la différenciation des gonades de poissons vers le sexe mâle avec des androgènes et vers le sexe femelle avec des œstrogènes, placés dans l'eau d'élevage ou dans l'aliment. Cependant, cette modification de la différenciation pouvait correspondre à un effet pharmacologique des stéroïdes ; aucune preuve physiologique déterminante ne supportait l'hypothèse selon laquelle les hormones stéroïdes pouvaient être les inducteurs naturels de la différenciation du sexe des gonades. Nos travaux ont tout d'abord précisé, par des approches d'histologie classique, la cinétique de la différenciation du sexe chez le tilapia élevé à la température optimale de 27°C [2, 3, 21].

Tableau 1 : Chronologie de la différenciation histologique du sexe des gonades d'*O. niloticus*

Age jPF et (degrés*jours)	Evénements histologiques	
9-20 (243-540)	Quelques rares cellules germinales dispersées dans du tissu somatique	
20-28 (540-756)	Augmentation progressive du nombre de cellules germinales	Active prolifération des cellules germinales
28-35 (756-945)		Premières prophase de méïoses et début de formation de la cavité ovarienne
35-54 (945-1458)	Active prolifération des cellules germinales	Prévitellogenèse
55-70 (1485-1890)	Début de configuration lobulaire et premières prophase de méïoses	
71-90 (1917-2430)	Spermatogenèse active	
	Mâle	Femelle

jPF = jours post-fécondation ; degrés*jours = nombre de jours x température (un alevin élevé à 27°C pendant ses dix premiers jours de vie aura un âge de $27 \times 10 = 270^\circ.j$)

Sur la base de critères histologiques (nombre de cellules germinales, puis apparition des premières méïoses), deux types de gonades peuvent être observées dès 20-28 jPF. L'apparition d'ovocytes en prévitellogenèse dans les gonades riches en cellules germinales suggère que la différenciation femelle est la plus précoce. La différenciation testiculaire est plus tardive ; l'active prolifération des cellules germinales ne débute que 15 jours après celle observée dans les futurs ovaires. La différenciation testiculaire semble donc caractérisée par une inhibition des multiplications goniales [2, 3, 21].

2. Mise en évidence du rôle possible des stéroïdes dans la différenciation du sexe

a. arguments histologiques et cytologiques:

Des cellules potentiellement stéroïdogènes sont mises en évidence par microscopie électronique (présence de nombreuses mitochondries à crêtes tubulaires

caractéristiques) et histochimie (mise en évidence d'une activité 3 β HSD positive, enzyme clé du métabolisme stéroïdien), avant et pendant la différenciation sexuelle, chez le tilapia [2, 3, 21].

b. arguments biochimiques :

Les potentialités stéroïdogéniques des gonades ont été analysées *in vitro* à partir de 25jPF (début de la différenciation histologique) et jusqu'à 90jPF. Pour cela, des gonades prélevées à différentes périodes de la cinétique ont été incubées *in vitro*, en présence de précurseurs tritiés (Prégnénolone et Androstenedione). Les métabolites extraits des milieux d'incubation ont été extraits puis purifiés pour identification (CCM, HPLC puis cristallisation).

Un schéma préliminaire de la stéroïdogénèse précoce a été proposé [2, 3, 15, 2].

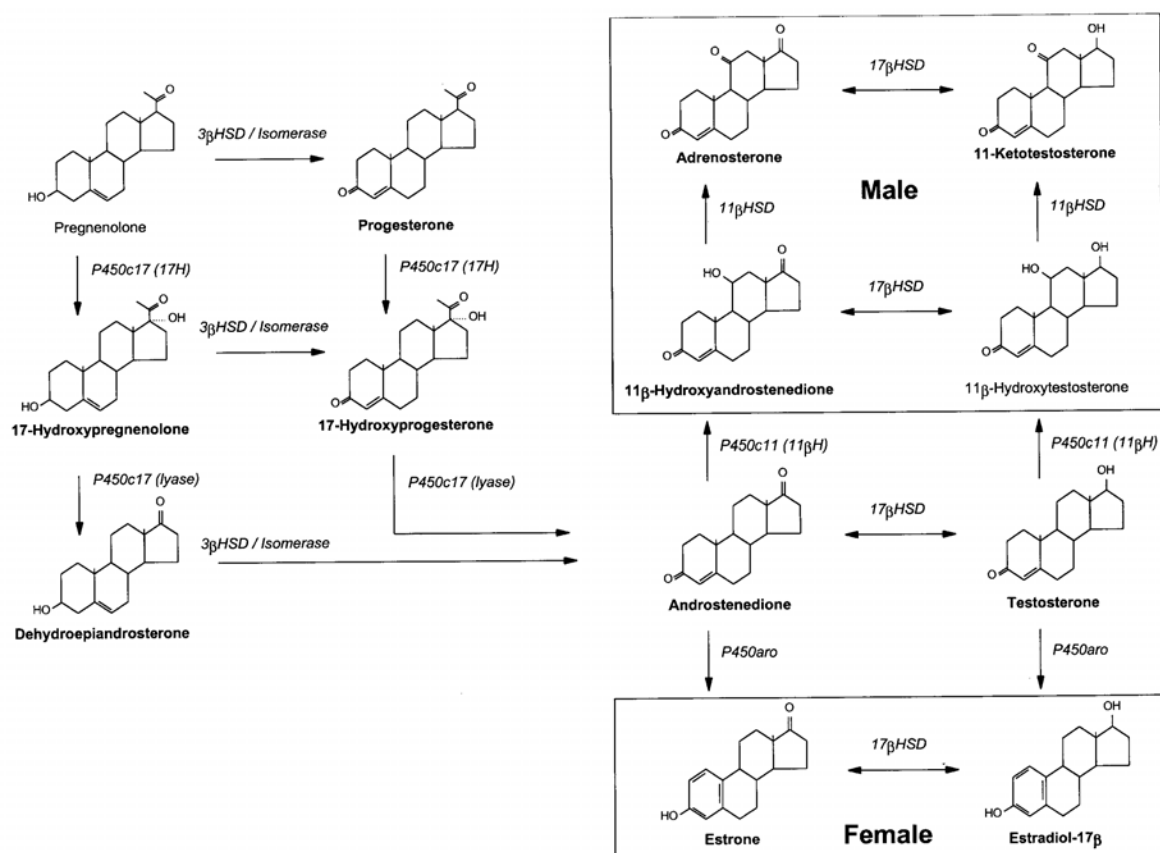


Figure 5 : Schéma de la stéroïdogénèse précoce gonadique durant et après la différenciation sexuelle chez *O. niloticus*

Les différences majeures concernent la production précoce d'œstrogènes dans les futures gonades femelles et d'androgènes 11-oxygénés (les androgènes biologiquement actifs chez les poissons) dans les futurs testicules, et en particulier, la 11 β -hydroxyandrostenedione [2, 3, 15, 21].

Des résultats similaires ont été ensuite obtenus chez la truite [15, 16] puis la carpe, puis chez de nombreuses autres espèces gonochoriques.

A des stades équivalents (18-26 jPF), des dosages radioimmunologiques chez le tilapia, ont confirmé que le niveau d'œstradiol était très faible dans les gonades mâles et 5-10 fois plus élevé dans les gonades femelles.

c. arguments expérimentaux:

Dans les pays d'Asie du Sud-Est producteurs de tilapia, la 17 α -methyltestosterone est classiquement utilisée pour la production directe de populations monosexes mâles destinées à la consommation humaine. La 17 α -methyltestosterone, stéroïde artificiel est utilisée pour son excellente efficacité masculinisante, dûe en particulier à la présence du radical méthyl qui rend plus difficile sa dégradation par le poisson. Nous avons donc comparé l'efficacité masculinisante du stéroïde naturel, la 11 β -hydroxyandrostenedione avec celle de la 17 α -methyltestosterone. Le stéroïde naturel se révèle au moins aussi efficace (sinon plus) que le stéroïde artificiel [C3, 13, 21, 26].

Symétriquement, l'oestradiol-17 β présente une bonne efficacité féminisante chez le tilapia comme chez la truite arc-en-ciel [16, 21].

Inversement, l'ATD, un inhibiteur de l'activité aromatasase (l'aromatasase est l'enzyme spécifique permettant la production des œstrogènes à partir des androgènes), présente chez le tilapia, comme chez la truite, une forte potentialité masculinisante [16, 19, 21]; toutefois, on ne peut exclure un effet androgénique propre.

L'ensemble de ces résultats va dans le sens d'un rôle important de l'aromatasase dans la différenciation femelle [15, 16, 19, 21, C21, C22]; le rôle des androgènes dans la différenciation reste à être précisé [13, 19].

En outre ces résultats ont permis de montrer qu'il est possible de substituer le stéroïde artificiel, 17 α -methyltestosterone, classiquement utilisé en Asie du Sud-Est & Amérique Latine, par un androgène naturel, la 11 β -hydroxyandrostenedione, tout en conservant les mêmes efficacités du traitement [26, C8, C12].

Ce stéroïde naturel a été testé en conditions de production intensive (tableau 2) : en moyenne 99% de mâles sont obtenus avec des doses correspondantes à celles utilisées en traitement classique par la 17 α -methyltestosterone.

Tableau 2 : efficacité masculinisante de la 11 β -hydroxyandrostenedione en conditions intensives de production de tilapia rouge, Red Florida [26, C12]

Results of intensive sex-reversed fry production (50 mg of 11 β OHAA4 kg ⁻¹ during 28 days) in Florida red tilapia							
Group	Density (fry m ⁻²)	SR (%)	Sex ratio (% male)	Group	Density (fry m ⁻²)	SR (%)	Sex ratio (% male)
1	8000	88.2	98.0*	8	9000	96.5	99.2*
	8000	93.8			9000	95.2	
	10,000	97.1			10,000	53.6	
	10,000	78.9			10,000	81.8	
2	8000	72.4	99.4*	9	10,000	93.3	99.6*
	10,000	99.1			10,000	84.6	
	10,000	96.3			11,000	84.5	
	10,000	67.1					
3	8000	76.6	99.6*	10	10,000	92.9	98.6*
	10,000	84.9					
	10,000	91.2					
	10,000	82.8					
4	10,000	92.0	99.4*	11	9000	79.3	99.6*
	11,000	63.7			10,000	85.7	
	10,000	74.5			10,000	97.9	
	11,000	88.6					
5	10,000	85.8	98.6*	12	8000	99.3	97.4*
	10,000	81.6			9000	96.0	
	10,000	95.2					
	10,000	95.2					
6	11,000	76.2	99.6*	13	10,000	90.9	98.4*
	9000	98.9			10,000	96.9	
	9000	89.4			10,000	85.1	
	9000	96.1			9000	84.4	
7	10,000	49.9	99.6*	14	8000	90.6	98.8*
	9000	85.5			9000	84.9	
	9000	96.0			9000	50.1	
	9000	78.9					
Control	10,000	84.4	31.0				
	10,000	82.9					
	10,000	80.8	53.0				
	10,000	91.3					

Tank 200 l/m². Temperature: 27.0 \pm 1.0 °C. SR: survival rate (%) after sex-reversal treatment.
* Significant difference when compared with the mean of the two control groups (χ^2 test; $df=1$; $P < 0.001$).

La 11 β -hydroxyandrostenedione étant un androgène naturel, sera nécessairement mieux éliminée par le poisson pendant et après le traitement, et ces métabolites sont déjà présents dans le milieu naturel.

C. Gènes impliqués dans la cascade du déterminisme du sexe chez les poissons et modulation de leur expression par la température chez le tilapia

1. Chez les téléostéens, le déterminant majeur du sexe n'est pas universel

Chez les mammifères, le déterminant majeur du sexe, *SRY/Sry* a été identifié au début des années 1990. Si l'on excepte le cas du médaka, un poisson modèle, des homologues ou des gènes jouant un rôle équivalent restent à identifier chez les vertébrés non mammaliens.

Chez le médaka, *DMY* (*DM*-domain gene on the Y chromosome) également appelé *dmrt1bY* a été cloné dans la région déterminant le sexe du chromosome Y (Matsuda *et al.*, 2002 ; Nanda *et al.*, 2002). *DMY* correspond à une duplication d'un gène autosomal *Dmrt1* (*dmrt1a*) très conservé dans le règne animal où il joue un rôle important dans la différenciation du sexe, et peut-être dans le déterminisme du sexe chez les oiseaux. La mutation naturelle de ce gène conduit à une féminisation des gonades chez le médaka (Matsuda *et al.*, 2002), et l'injection d'une construction contenant un fragment de *DMY* dans un embryon génétiquement femelle (XX) peut induire une différenciation testiculaire (Matsuda *et al.*, 2007). Bien que des proportions parfois importantes de mâles XX aient été identifiées dans diverses souches de médaka, suggérant qu'un développement testiculaire est possible en l'absence de *dmrt1bY* (Nanda *et al.*, 2003), ce gène est considéré comme le probable déterminant majeur du sexe mâle chez le médaka. Cependant, si l'on excepte une espèce sœur du médaka, *dmrt1bY* n'est retrouvé chez aucune autre espèce de poisson analysée à ce jour. *Dmrt1bY* ne serait donc apparu que pendant l'évolution du genre *Oryzias*, et il n'existe donc pas de déterminant majeur du sexe, universel chez les poissons téléostéens (Volff *et al.*, 2003b).

2. Gènes impliqués dans la cascade du déterminisme du sexe chez le tilapia et modulation de leur expression par la température

Chez les tilapias, le déterminant majeur du sexe n'est pas connu; chez *O. niloticus*, il est localisé sur le groupe de liaison LG1, mais plusieurs autres loci (LG3, LG23) sont probablement aussi impliqués dans le déterminisme du sexe de cette espèce [36, 42, 48]. A côté de cette base génétique forte, des températures extrêmes peuvent orienter la différenciation du sexe, si elles sont appliquées quand les gonades sont encore histologiquement indifférenciées [6, 21, 48]. Après initiation de la différenciation histologique de la gonade, le sexe ne peut plus être modifié par la température [6, 21, 48]. Chez *O. niloticus*, la période critique de la différenciation s'étend de 9 à 15 jpf ([2, 6, 21, 26, C62]; Ijiri *et al.*, 2008): des traitements thermiques ou hormonaux doivent être appliqués dès cette période pour être efficaces, c'est-à-dire avant l'apparition des toutes premières différences spécifiques du sexe, que sont les mitoses goniales dans l'ovaire ([2, 4, 6, 19, 26, C3, C13]; Nakamura *et al.*, 1998; 21; Ijiri *et al.*, 2008).

Bien que le sexe puisse être déterminé par de multiples mécanismes chez les vertébrés, leurs gonades sont très similaires d'un point de vue structurel comme fonctionnel. Les mécanismes sous-jacents ont donc été longtemps considérés comme très similaires. De nombreux gènes de la cascade du déterminisme du sexe ont été identifiés et caractérisés d'abord chez les mammifères, puis leurs orthologues ont été clonés chez des vertébrés non-mammaliens dont les téléostéens. En dépit d'une grande conservation des patrons d'expression pendant le développement gonadique, des différences temporelles comme de localisations cellulaires suggèrent que certains d'entre eux diffèrent quant à leurs rôles ou leur régulation.

Il est connu depuis longtemps que les œstrogènes gonadiques jouent un rôle majeur dans le développement ovarien des vertébrés non mammaliens inférieurs ([15, 16, 19, 21, 48]; Yamamoto, 1969; Nakamura et al., 1998). L'enzyme aromatase (= gène **Cyp19**) catalyse la conversion des androgènes en œstrogènes et en particulier en œstradiol-17 β [15, 21]. L'inhibition de l'aromatase, bloque la production d'œstrogènes et induit une masculinisation fonctionnelle des femelles génétiques en mâles phénotypiques, appelés aussi néomâles ([15, 16, 21]; Kwon et al., 2000). Chez *O. niloticus*, l'expression de Cyp19a (=Cyp19a1a) est importante dans des gonades en différenciation de 19 jours PF de femelles génétiques XX, et très faible dans celles des mâles génétiques XY du même âge ([21]; Kwon et al., 2001; Ijiri et al., 2008). Chez les alevins femelles, cette expression est détectée dès l'âge de 9 jours PF (Ijiri et al., 2008). De fortes températures appliquées pendant la période critique de la différenciation du sexe d'alevins génétiquement femelles induisent une inhibition de l'expression de Cyp19a [21] à 17 jpf [19, 21, 48]. De plus, les niveaux moyens d'expression gonadiques de Cyp19a sont corrélés avec la proportion d'individus XX masculinisés par la température (TM) [19, 21, 48]. Parmi les deux gènes Cyp19 existants chez le tilapia, seule la forme ovarienne Cyp19a présente une expression spécifique du sexe pendant la différenciation (Kwon et al. 2001, Chang et al., 2005). Le promoteur de Cyp19a possède des motifs de liaison pour SF-1/Ad4 BP, WT1-KTS et SRY, qui sont des facteurs clés de la cascade du déterminisme du sexe chez les mammifères. Un facteur déterminant le sexe mâle pourrait se lier au promoteur de Cyp19a, inhibant l'expression de ce gène, diminuant ainsi les niveaux d'œstradiol-17 β et induisant alors la différenciation testiculaire (Chang et al., 2005).

Un bon candidat était le gène Wt1b qui code une protéine contenant des domaines en doigt de zinc permettant sa liaison à l'ADN, impliquée dans le développement testiculaire et qui induit la surexpression de SRY par liaison à l'ADN. Wt1b, comme Cyp19a, sont effectivement localisés sur LG1 chez le tilapia du Nil, à proximité du locus majeur déterminant le sexe mais des études de recombinaison excluent Wt1b du rôle de déterminant majeur du sexe (Lee and Kocher, 2007).

Un acteur en amont de la cascade ovarienne est **FoxL2**, qui code pour un facteur de transcription à domaine *forkhead* impliqué dans le développement et le fonctionnement de l'ovaire chez plusieurs vertébrés. Il présente une expression spécifique de l'ovaire chez les mammifères, la poule et la truite arc-en-ciel (Loffler et al. 2003; Baron et al., 2004). Chez les espèces de tortues à TSD, une expression spécifique du sexe est observée dans les gonades à des températures féminisantes (Loffler et al. 2003). Chez le tilapia, FoxL2 est déjà légèrement plus exprimé à 9 dpf dans les gonades XX que dans les gonades XY mais ces niveaux n'augmentent ensuite de manière linéaire que dans les futurs ovaires (Ijiri et al., 2008). Comme chez d'autres vertébrés, les patrons d'expression de FoxL2 sont fortement corrélés avec ceux de Cyp19a (Ijiri et al., 2008; [48, C68]). Chez les individus XX de tilapia soumis à un traitement thermique masculinisant, l'expression de FoxL2 reste faible comme dans les gonades XY [48, C62, C68]. Des études *in vitro* ont démontré que FoxL2, se lie au promoteur de Cyp19a et active sa transcription (Wang et al., 2007).

SOX9 (SRY-related transcription factor 9), un gène appartenant à la famille des *SOX* (*SRY*-related HMG box), joue un rôle important dans la cascade mâle des vertébrés. Chez les mammifères, la forte expression de Sox9 détectée immédiatement après celle de Sry, en fait une cible possible pour SRY; chez la souris, Sox9 participe à l'activation transcriptionnelle du gène de l'Amh (hormone anti-müllérienne) dans les cellules de Sertoli (Yao and Capel, 2005). Dans les gonades XX and XY de tilapia, les niveaux d'expression de Sox9 sont similaires de 9 à 29 jpf, et deviennent ensuite plus important chez les mâles XY (Ijiri et al., 2008). Au

contraire, nous avons trouvé des niveaux d'expression plus importants de Sox9a et Sox9b dans les gonades XY de 20 à 25 jpf [48, C62, C68]. Les différences entre les 2 études peuvent résulter de l'utilisation de primers plus spécifiques ou des souches différentes d'*O. niloticus*. Chez les individus XX soumis à un traitement masculinisant par la température, l'augmentation du niveau d'expression est déjà évident à 17 jpf pour les deux Sox9s [48, C62, C68]. Sox14, un autre gène appartenant à la famille des *SOX* a été localisé sur LG23 [36] auquel sont associés 2 QTLs liés à des facteurs mineurs impliqués dans le déterminisme du sexe (Shirak et al., 2006).

Un autre acteur de la cascade mâle est le gène de l'Amh, l'hormone anti-müllérienne responsable de la régression des canaux de Müller chez les mâles. L'Amh a été identifiée chez les poissons qui ne possèdent pas de canaux de Müller, et son rôle exact reste pour l'instant à découvrir.

Dans les gonades XX soumises à des traitements thermiques masculinisant, les niveaux d'expression de l'Amh comme de Sox9s augmentent plus tardivement que chez des mâles génétiques XY. La surexpression de l'Amh dans les gonades mâles XY est déjà évidente à partir de 10-15 jpf [48, C62, C68] ou 19 jpf (Ijiri et al., 2008). L'ensemble de ces résultats montre que, chez le tilapia, le niveau d'expression de l'Amh augmente dans les gonades mâles XY avant celui de Sox9a ou Sox9b, comme décrit chez le poulet, l'alligator et la tortue à « oreilles » rouges (Smith and Sinclair, 2004; Western et al., 1999; Shoemaker et al., 2007). Sox9 est considéré comme ayant un rôle dans la formation des tubules testiculaires davantage que dans la détermination ou la différenciation mâle (Ijiri et al., 2008). Au contraire, dans la mesure où l'Amh est surexprimée dans les cellules de soutien (future cellules de Sertoli), elle a probablement un rôle dans la différenciation testiculaire (Ijiri et al., 2008). Il est intéressant de noter que l'Amh a été positionnée sur LG23 auquel est associé un QTL lié au sexe (Shirak et al., 2006).

Entre 8 et 26 jpf, des niveaux élevés de 11-cétotestostérone (11KT, un androgène important chez le tilapia) ont été mesurés chez des mâles XY [19] mais ils ne sont pas considérés comme contrôlant la différenciation mâle. En effet, aucune expression de la 11 β -hydroxylase (Cyp11b2), l'enzyme responsable de la synthèse de 11 β -hydroxytestostérone (un précurseur de la 11KT), n'est observée durant la période critique dans les gonades XX ou XY comme dans des gonades XX soumises à un traitement thermique masculinisant; l'expression de ce gène n'apparaît qu'à 39 jpf quand débutent les mitoses dans le futur testicule ([22]; Ijiri et al., 2008).

Dmrt1 (Doublesex mab3 related transcription factor 1) n'a pour l'instant pas encore été analysé dans les gonades XX d'alevins d'*O. niloticus* traitées par des températures masculinisantes. Par contre, Ijiri et al., (2008) ont détecté, chez des alevins XY de tilapia, son expression précoce spécifiquement dans les gonades mâles, et considèrent Dmrt1 comme l'un des acteurs décisifs pour la différenciation mâle. Or, DMY/Dmrt1bY, le déterminant majeur de la différenciation testiculaire chez le médaka, *Oryzias latipes* résulte d'une duplication de Dmrt1 (Matsuda et al., 2002; Nanda et al., 2002). Par ailleurs, Dmrt1 est exprimé à des stades précoces du développement testiculaire chez le poulet et chez des tortues; par contre, il ne joue pas de rôle dans le déterminisme du sexe chez les mammifères (Yao and Capel, 2005; Shoemaker et al., 2007). Enfin, chez les embryons de tortues à TSD, Dmrt1 est rapidement surexprimé à des températures masculinisantes (Shoemaker et al., 2007).

L'activité aromatasase étant inhibée par la température dans le cerveau d'alevins XX exposés à des températures masculinisantes [21], les profils d'expression de gènes clés de la cascade des

vertébrés ont été analysés simultanément dans le cerveau et les gonades ; à ce jour, tous les gènes de la différenciation gonadique ont aussi été retrouvé exprimé dans le cerveau [48, C62, C68]. De plus, *Sox9b*, *Amh* et *Dax1* présentent, précocement (de 10 à 15 jpf), de plus fortes expressions dans le cerveau d’alevins XY que dans leurs gonades. Aucune différence liée au sexe n’est ensuite observée après cette période. Des cerveaux d’alevins XX à température normale comme traités à une température masculinisante, ne présentent pas de différence durant cette période, sans doute parce que la durée du traitement thermique est encore trop courte à 15 jPF pour déclencher un effet visible.

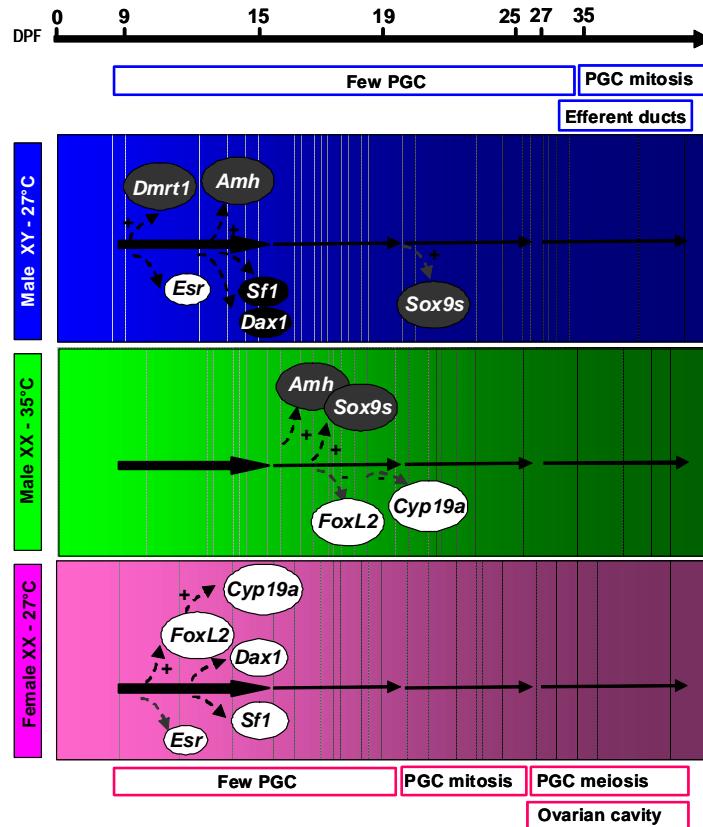


Figure 6: Compilation schématique des patrons d’expressions géniques trouvés dans les gonades d’alevins de tilapia femelles XX (rectangle rouge), mâles XY (rectangle bleu) et XX masculinisés par la température (rectangle vert), pendant des étapes clés de l’ontogenèse gonadique (d’après [48, C62, C68] & Ijiri et al.,2008).

D. Existence d’une thermosensibilité dans les populations naturelles

L’essentiel des études concernant les effets de la température sur la différenciation du sexe a été réalisé sur des stocks domestiques ou de laboratoires. Nous avons cherché à analyser l’existence d’une telle thermosensibilité dans des populations vivant naturellement sous différents régimes thermiques, dont des sources d’eaux chaudes géothermales en Ethiopie [37]. Cinq populations ont donc été étudiées et/ou collectées dans le milieu naturel, et la thermosensibilité de chaque population a été recherchée soit, en procédant à des testages en descendance de géniteurs matures ramenés en France, soit en traitant par la température, des alevins issus de ces géniteurs, soit enfin, en analysant le sex-ratio de nuages d’alevins collectées dans le milieu naturel [37, 48].

Dans toutes les populations analysées, les traitements par la température des descendance de géniteurs collectés ont démontrés leur thermosensibilité [37, 48]. Le testage en descendance

des géniteurs collectés a révélé que, dans au moins 2 populations naturelles, des mâles XX et des femelles XY pouvaient exister [37, 48]. Par ailleurs, le sexage de nuages d'alevins collectés dans le milieu naturel a révélé un nuage monospécifique composé à 98% de femelles [37, 48]. L'hypothèse la plus simple pour expliquer une telle descendance est que son père était un mâle XX. Faute de marqueurs disponibles, les expérimentations ne permettent pour l'instant pas de conclure si ces animaux inversés résultent d'un effet des facteurs génétiques mineurs ou de la température.

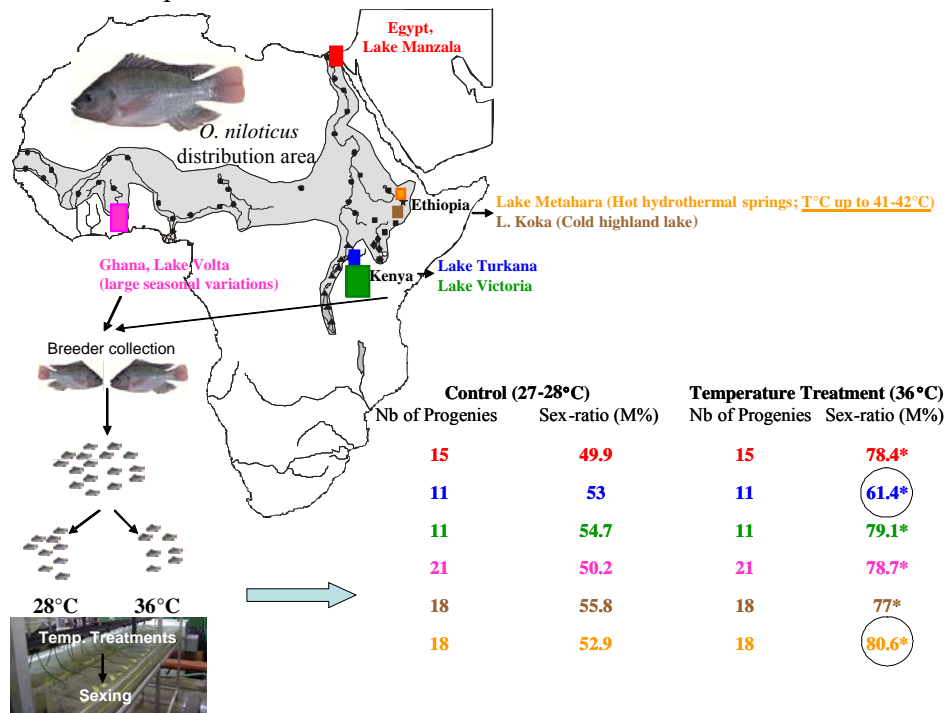


Figure 7 : Distribution géographique d'*Oreochromis niloticus* (en gris), et des six populations sauvages dont le déterminisme du sexe a été analysé: Lac Manzala (Égypte), Rudolph (Kenya), Victoria (Kenya), Volta (Ghana), Koka (Éthiopie) & Metahara (Éthiopie). D'après Altena & Horstgen-Schwark, 2002; Tessema et al., 2006; [37, 48].

Enfin, les suivis thermiques et les observations réalisés en milieu naturel ont confirmé que pendant la période critique de la différenciation (période thermosensible définie en laboratoire), les alevins pouvaient parfaitement être confrontés à des températures de 32-34°C qui se révèlent masculinisantes en laboratoire [37, 48]. En effet, après la reproduction (figure 8), les femelles s'isolent pendant une dizaine de jours pour l'incubation buccale stricte au cours de laquelle les œufs puis les alevins restent dans la bouche des femelles. Au contraire, à partir de 10jPF (début de la période critique), les alevins quittent la bouche maternelle pour aller chercher de la nourriture et se protéger dans les eaux peu profondes en bordure des lacs. Dans ces zones, la température peut atteindre 32-34°C, niveaux à partir desquels des masculinisation sont observées en laboratoire.

Dans le milieu naturel, les alevins sont donc susceptibles d'être exposés durant leur période thermosensible, à une température masculinisante.

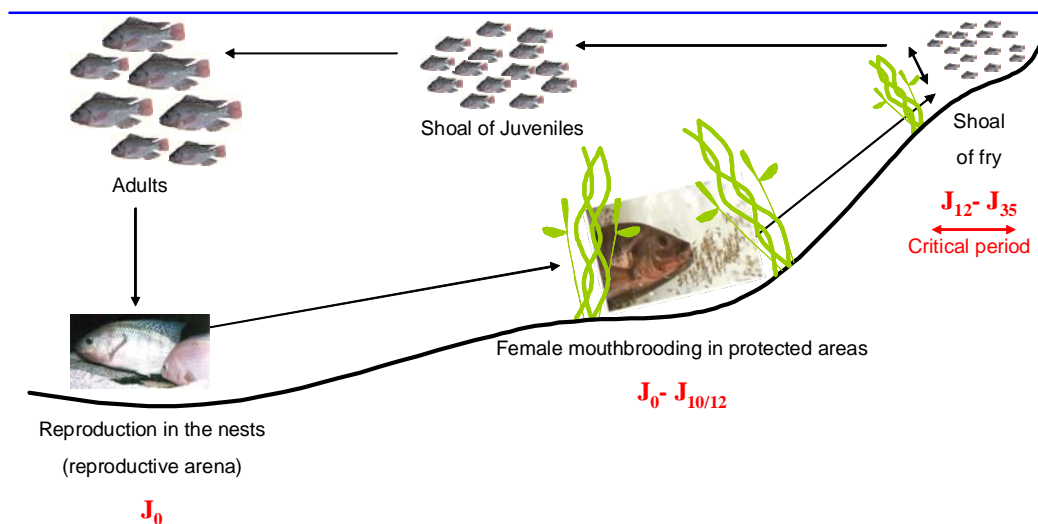


Figure 8 : Localisation spatio-temporelle des différents stades de vie d'*Oreochromis niloticus* dans le milieu naturel

E. Coexistence d'une GSD et d'une TSD chez les tilapias?

Chez les reptiles, la découverte que des sex-ratios peuvent être déterminés par une exposition précoce des œufs ou des embryons à de fortes ou de faibles températures date de 40 ans environ, et concernait un lézard (Charnier 1966) puis surtout une tortue (Pieau 1971, 1972). Presque simultanément, Ohno (1967) démontrait l'existence de chromosomes sexuels hétéromorphes chez plusieurs autres reptiles (plusieurs serpents, des lézards et quelques rares tortues). En conditions naturelles, des discordances entre génotype sexuel et phénotype gonadique (mâle XX, femelle XY, mâle ZW ou femelle ZZ) n'ont jamais été trouvés à ce jour, suggérant que les reptiles ont soit un déterminisme génétique du sexe (GSD) avec des chromosomes sexuels soit une détermination du sexe par la température (TSD). TSD comme GSD étaient alors considérés comme des systèmes distincts, un *continuum* pouvant sans doute exister entre ces 2 types extrêmes de déterminisme avec des formes et mécanismes intermédiaires (Bull, 1980; Sarre et al. 2004; Valenzuela, 2004). Jusqu'à récemment, ces formes de transition n'avaient jamais été décrites (Shine et al., 2002; Sarre et al., 2004). Cependant, comme rapporté très récemment par Bull (2008), l'un des pères de l'hypothèse d'un rôle adaptatif de la TSD (Charnov and Bull, 1977), les preuves empiriques contre la coexistence de TSD et GSD étaient jusqu'alors très limitées. Cela était sans doute dû au nombre limité d'individus analysés en conditions naturelles et parce que le sexe de ces animaux devait être identifié par des techniques invasives sur des juvéniles d'espèces souvent protégées, et ne présentant généralement pas de dimorphisme sexuel externe (Bull, 2008). De ce fait, la fréquence de possible discordance entre le génotype sexuel et le phénotype gonadique n'est donc pas connue chez les reptiles (Bull, 2008).

Cependant, des études récentes dans deux taxons phylogénétiquement distants de lézards, possédant des déterminismes génétiques du sexe avec homogaméties opposées (XX/XY and ZZ/ZW) ont démontré que des températures extrêmes peuvent dépasser la GSD (Shine et al., 2002; Sarre et al., 2004; Quinn et al., 2007; Radder et al., 2008). Chez le scinque, *Bassiana duperreyi*, le sexe est généralement déterminé par la présence ou l'absence d'un chromosome Y (hétérogamétie mâle) et des sex-ratios équilibrés sont observés dans la plupart des nids en milieu naturel.

Cependant, des régimes de températures froides induisent des déviations de sex-ratios en faveur des mâles (Shine et al., 2002). L'utilisation de marqueurs moléculaires spécifiques du

sexe a permis de confirmer l'inversion du sexe de quelques individus XX par de faibles températures (Radder et al., 2008). Un autre cas est celui du lézard dragon barbu, *Pogona vitticeps* qui présente une hétérogamétie femelle (ZW/ZZ) (Ezaz et al., 2005) mais des fortes températures induisent des déviations de sex-ratios en faveur des femelles et des marqueurs moléculaires spécifiques du W ont permis de confirmer l'inversion des individus ZZ par les fortes températures (Quinn et al., 2007). Comme les traitements d'incubation de *B. duperreyi* miment les régimes thermiques enregistrés dans les nids naturels (Radder et al., 2008), il est possible que la masculinisation par les faibles températures puisse exister de manière occasionnelle dans la nature (Bull, 2008).

Ces effets de la température chez des espèces possédant des chromosomes sexuels remettent en cause la théorie d'une stricte dichotomie entre les deux systèmes de déterminisme du sexe et supportent l'hypothèse de l'existence d'un *continuum* entre eux, et la très probable coexistence de TSD et GSD chez les reptiles.

Chez les poissons, une TSD a été d'abord rapportée par Conover et al., (1981) chez la capucette de l'Atlantique, *Menidia menidia*, en se basant sur la classification dichotomique classique des systèmes de déterminisme du sexe des reptiles. De manière surprenante, presque quinze ans se sont écoulés après ce travail fondateur majeur (Conover, 2004), avant la publication d'un effet fort de la température chez une autre espèce de poisson, le tilapia [6] puis le pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Strüßmann et al., 1996). Ces deux papiers suggérant que l'influence de la température sur le sex-ratio pouvait être beaucoup plus répandue chez les poissons que ce que l'on pensait, ont sans doute contribué à favoriser l'émergence des nombreuses études réalisées sur plus de 60 espèces, pour des motivations cognitives ou appliquées ([19]; Ospina-Alvarez and Piferrer, 2008). Dans ce contexte, la plie japonaise, *Paralichthys olivaceus*, et le bar, *Dicentrarchus labrax*, ont rejoint la capucette, les tilapias et le pejerrey, comme modèles majeurs pour l'étude des mécanismes impliqués dans l'effet de la température sur le sexe ratio. Cependant, même pour ces espèces modèles, les connaissances restent très fragmentaires comparées à celles acquises durant les 40 années d'études de la TSD chez les reptiles. L'ensemble des données obtenues sur le déterminisme du sexe chez les tilapias suggère qu'il ressemble à celui du scinque lézard dragon barbu, où les sex-ratios sont gouvernés par les chromosomes sexuels (homogamétie mâle ou femelle) et modifiés par les températures extrêmes rencontrées au moins par certaines familles de ces espèces dans le milieu naturel.

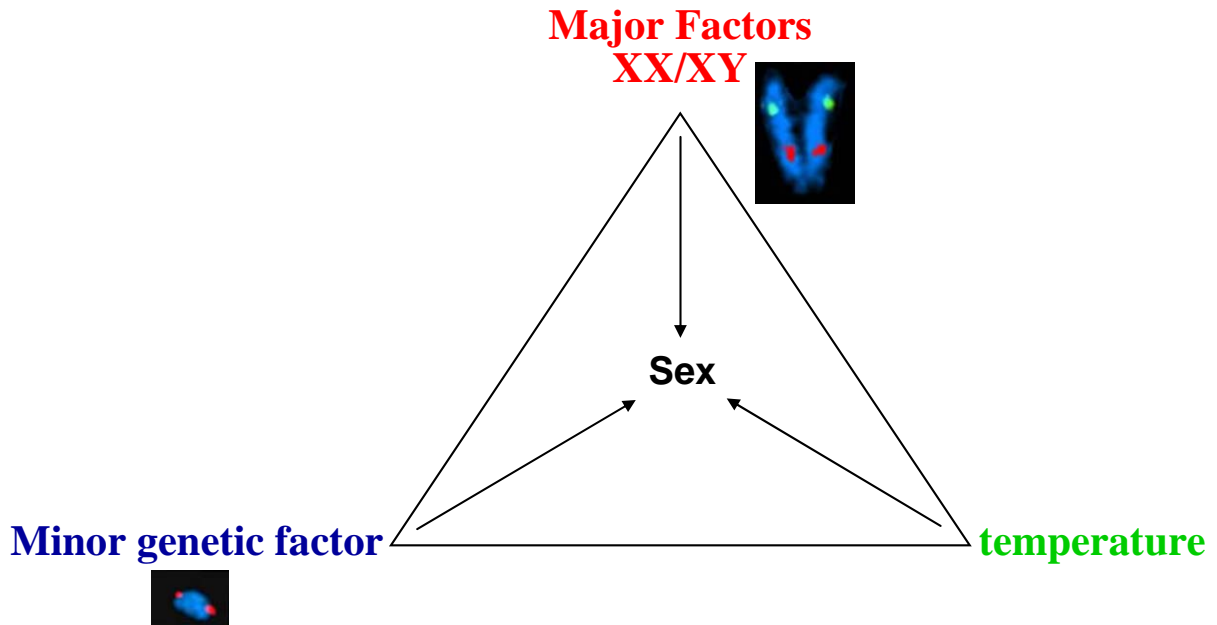
Chez les tilapias, des facteurs génétiques mineurs additionnels interviennent clairement dans le déterminisme du sexe. Dans ce groupe d'espèces, comme chez de nombreux reptiles (Valenzuela 2008), des interactions entre le génome et l'environnement ont été démontrées par la diversité des réponses et leur reproductibilité à des changements de températures. Dans toutes ces espèces, des traitements qui miment les régimes thermiques naturels extrêmes ont démontré leur capacité à inverser le sexe, au moins chez certaines familles. Par ailleurs, nos données récentes [37] suggèrent fortement que chez les tilapias, des mâles XX et des femelles XY peuvent être rencontrées dans le milieu naturel. Comme la viabilité et la fertilité des mâles XX et YY ont été clairement démontrées, leur production dans le milieu naturel ne constitue pas un désavantage pour les populations et pour les espèces. Bull (2008) suggère que chez les deux espèces de lézards, le déterminisme du sexe peut être contrôlé par la TSD à des températures extrêmes (et même avoir un rôle adaptif au moins chez les lézards) et par les chromosomes sexuels à des températures classiques. Nous pensons qu'un système complexe équivalent de déterminisme du sexe peut exister chez les tilapias, supportant également l'hypothèse d'un *continuum* entre TSD et GSD.

Comme le questionne Bull (2008), savoir si la coexistence entre TSD et GSD est un "accident" (une relique peu fréquente) ou possède un rôle adaptatif reste la question essentielle (Warner and Shine, 2008). Pour expliquer la coexistence de chromosomes sexuels

et d'une TSD, les bénéfices des deux systèmes doivent être combinés (Bull, 2008). Chez le tilapia, les chromosomes sexuels portent des gènes utiles (d'intérêt) pour les mâles sur le chromosome Y (par exemple pour la croissance: [24]) qui pourraient favoriser leur rétention. Il reste cependant à comprendre, pourquoi à température extrême, un individu XX pourrait avoir une meilleure valeur sélective comme mâle plutôt que comme femelle. Cela expliquerait pourquoi les effets de la température sont conservés parallèlement au déterminisme génétique du sexe. Nous pensons que le groupe des tilapias constitue un excellent modèle pour répondre à ces questions comme pour mieux comprendre les mécanismes de la détermination et de différenciation du sexe en conditions classiques ou induites par les fortes températures. La séquence complète du génome de tilapia qui sera disponible en 2009 combinée avec les cartes génétiques et physiques actuelles et futures contribueront substantiellement à répondre à la question de comment génétique et environnement se rejoignent pour déterminer le sexe chez les tilapias comme chez d'autres vertébrés.

Perspectives

Chez le tilapia, le déterminisme du sexe est complexe et dépend de 3 types de facteurs, des facteurs génétiques majeurs et mineurs ainsi que des facteurs environnementaux comme la température qui peut fortement biaiser les sex-ratios.



Compte tenu de sa complexité, la compréhension du déterminisme du sexe chez le tilapia nécessite de disposer de marqueurs des différents facteurs impliqués (facteurs génétiques majeurs et mineurs et facteurs de thermosensibilité). L'existence d'espèces à homogamétie mâle (*i.e.* *O. aureus*) ou femelle (*i.e.* *O. niloticus*) au sein d'un même genre de tilapias, permet l'étude de l'évolution du déterminisme du sexe et la différenciation des chromosomes. Enfin, le séquençage en cours du génome complet du tilapia, *O. niloticus*, permet d'envisager des analyses *in silico* de la cascade du déterminisme du sexe.

Marqueurs de chromosomes sexuels :

Les tilapias constituent d'excellents modèles pour l'étude de l'évolution du déterminisme du sexe et la différenciation des chromosomes. Des données récentes suggèrent que ce groupe d'espèces, se trouve à une période charnière de substitution d'une grande paire de chromosomes sexuels ZZ/ZW (*Oreochromis aureus*) par une petite paire, XX/XY (*O. niloticus*) via l'émergence d'un facteur mineur devenant progressivement le nouveau déterminant du sexe. En effet, à partir de la carte génétique d'*O. niloticus*, 2 groupes de liaison fortement liés au sexe ont été identifiés chez le tilapia. Chez *O. aureus*, LG3, localisé par FISH sur la grande paire de chromosomes contient le déterminant majeur du sexe et LG1, localisé sur une petite paire, peut contenir, chez certaines familles/populations, un déterminant mineur du sexe. Inversement, chez *O. niloticus*, LG3 ne joue plus qu'un rôle mineur dans le déterminisme du sexe, alors que LG1 contient le déterminant majeur. Leurs structures (suppression de recombinaison, accumulation de séq. répétées/rétrotransposons), suggèrent que ce sont respectivement un vieux et un jeune chromosomes sexuels. En s'appuyant sur des génotypes sexuels spécifiques (mâles et femelles XX, XY, et YY disponibles chez *O.*

niloticus ; mâles et femelles ZZ, ZW et femelles gynogénétiques WW à produire chez *O. aureus*), ce projet cherchera à isoler, par microdissection classique ou laser, les 4 paires de chromosomes sexuels des tilapias (X, Y, Z et W). Dans ces chromosomes en métaphase, une recherche de gènes par hybridation directe de ADNc sera réalisée sur les chromosomes, ainsi que sur des clones BACs. Une identification des BACs contenant ces gènes et une localisation par FISH seront réalisés. Ces gènes constituent à la fois des marqueurs de chromosomes sexuels, permettront également de densifier la région du déterminant majeur, en vue de son isolement. Des hybridations « BAC to BAC » rechercheront d'éventuelles régions ou gènes conservés chez une espèce phylogénétiquement proche (bar) ainsi que sur le platyfish.

Recherche de marqueurs de la différenciation sexuelle mâle naturelle ou induite par la température :

Les principaux gènes de la cascade du déterminisme du sexe des vertébrés ont été clonés chez le tilapia par notre laboratoire et/ou par d'autres équipes. L'expression de ces différents gènes dans la gonade, mais aussi dans le cerveau est en cours d'analyse par des approches de génomique fonctionnelle (macroarray thématique, PCR en temps réel). A travers une collaboration avec le groupe allemand qui les a produites, nous avons maintenant accès aux lignées divergentes fortement thermosensibles ou non thermosensibles, ainsi qu'à une lignée clonale non sensible. L'expression de la vingtaine de gènes de la cascade du déterminisme du sexe chez les vertébrés clonés chez le tilapia, est analysée dans des descendances traitées et non traitées par la température, de ces différentes lignées.

Valorisation de la séquence complète du génome d'un poisson d'intérêt aquacole majeur, le tilapia du Nil *Oreochromis niloticus*, par l'analyse *in silico* de la cascade du déterminisme du sexe:

Les tilapias constituent un groupe majeur pour l'aquaculture tropicale et mondiale. De nombreuses ressources génomiques ont été développées, en particulier par le Cirad. Un Consortium International sur le Génome des Cichlidés a été mis en place pour mettre en commun des ressources génomiques spécifiques à cette famille et proposer un projet de séquençage complet du génome du tilapia. Ce projet accepté par le NIH (USA) et réalisé par le Broad Institute sera achevé en Décembre 2008. Le tilapia sera la première espèce de poisson d'intérêt aquacole pour laquelle la séquence complète sera bientôt disponible, et par sa position phylogénique, le modèle idéal pour l'étude et l'amélioration aquacole de tous les Perciformes. Les retombées de ce projet de séquençage seront évidemment considérables pour la communauté scientifique internationale, mais aussi pour l'aquaculture mondiale. Ce projet de thèse aura trois objectifs: 1) Identifier des gènes potentiellement impliqués dans la cascade du déterminisme du sexe par des approches *in silico*, en utilisant les ESTs déjà générées par le CIRAD, 2) Rechercher des marqueurs liés au sexe par une valorisation du séquençage des extrémités des clones BAC (70 000 séquences : Projet Génoscope en cours), 3) Valoriser la séquence du génome complet du tilapia a) par identification des synténies des régions liés au sexe entre le tilapia et les 5 autres espèces de poissons séquencées (génomique comparative) et le platyfish chez lequel la région contenant le déterminant majeur a été séquencée, b) par localisation fine des gènes et ESTs présents dans les 3 groupes de liaison liés au sexe identifiés chez le tilapia

References

- Altena, A., Horstgen-Schark, G., 2002. Effects of rearing temperatures on sex ratios in tilapia, *Oreochromis niloticus* L., investigations on a local population from the Lake Victoria in Kenya. In: Challenge to organic farming and sustainable land use in the tropics and subtropics, Deutscher Tropentag, Witzzenhausen.
- Barlow GW (2000) *Cichlid Fishes: Nature's Grand Experiment in Evolution*, Perseus Books, Cambridge, UK.
- Baron D, Cocquet J, Xia X, Fellous M, Guiguen Y, Veitia RA., 2004. An evolutionary and functional analysis of FoxL2 in rainbow trout gonad differentiation. *J Mol Endocrinol.* 33: 705–715. Bull, 1980
- Bull J.J., 2008. Sex determination: are two mechanisms better than one? *J Biosci.* 33:5-8.
- Chang X, Kobayashi T, Senthilkumaran B, Kobayashi-Kajura H, Sudhakumari CC, Nagahama Y., 2005. Two types of aromatase with different encoding genes, tissue distribution and developmental expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Gen Comp Endocrinol*; 141:101-115.
- Charnier M., 1966. Action de la température sur la sex-ratio chez l'embryon d'Agama agama (Agamidae, Lacertilien). *Soc. Biol. Quest Af.* 160: 620–622
- Charnov E. L., Bull J. J., 1977. When is sex environmentally determined? *Nature* 266: 828–830.
- Conover, D.O., Kynard B.E., 1981. Environmental sex determination – Interaction of temperature and genotype in a fish. *Science* 213: 577–579.
- Conover, D.O., 2004. Temperature-dependent sex determination in fishes. In: Valenzuela, N. and V. Lance, (Eds.). *Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates*, Washington, DC: Smithsonian Books, pp. 11-20.
- Contreras-Sánchez, W.M., M.S. Fitzpatrick, and C.B. Schreck, 2001. Fate of methyltestosterone in the pond environment: Detection of MT in pond soil from a CRSP site. In: A. Gupta, K. McElwee, D. Burke, J. Burright, X. Cummings, and H. Egna (Editors), *Eighteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture CRSP*, Oregon State University, Corvallis, Oregon, pp. 79–82.
- Cravedi, J.P., G. Delous, and D. Rao, 1989. Disposition and elimination routes of 17 α -methyltestosterone in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 46:159–165.
- Cravedi, J.P., G. Delous, L. Debrauwer, and D. Prome, 1993a. Biotransformation and branchial excretion of 17 α -methyltestosterone in trout. *Drug Metab. Dispos.*, 21: 377-385.
- Cravedi, J.P., G. Delous, L. Debrauwer, Rao, D, and D. Prome, 1993b. Liquid chromatographic separation and gas chromatographic-mass spectrometric determination of 17 α -methyltestosterone residues extracted from rainbow trout tissues. *Analytica chimica acta, Congrès International symposium on hormone and veterinary drug residue analysis, Ghent, Belgique*, 275: 89-94.
- Dabbadie L., 1996. Etude de la viabilité d'une pisciculture rurale à faible niveau d'intrant dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire : Approche du réseau trophique. Thèse Dr de l'Université de Paris 6 : Spécialité : Océanologie Biologique. 203 p.
- Devlin RH, Nagahama Y., 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture* 208:191-366.
- Ezaz T., Quinn A.E., Miura I., Sarre S.D., Georges A., and Marshall Graves J.A., 2005. The dragon lizard *Pogona vitticeps* has ZZ/ZW micro-sex chromosomes. *Chromos Res*, 13:763-776.

- FAO, 2007. Fishery and Aquaculture Information and Statistics Service. Aquaculture production 2005. FAO yearbook. Fishery statistics. Vol. 100/2. Rome/Roma, 202p.
- Goudie, C.A., W.L. Shelton, and N.C. Parker, 1986a. Tissue distribution and elimination of radiolabelled methyltestosterone fed to sexually undifferentiated blue tilapia. *Aquaculture*, 58:215–226.
- Helfman, G. S., B. B. Collette, and D. E. Facey. 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science, Malden, Massachusetts. 528 p.
- Ijiri S, Kaneko H, Kobayashi T, Wang DS, Sakai F, Paul-Prasanth B, Nakamura M, Nagahama Y., 2008. Sexual dimorphic expression of genes in gonads during early differentiation of a teleost fish, the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Biol Reprod*. 78:333-41.
- Kwon, J.Y., Haghpanah, V., Kogson-Hurtado, L.M., McAndrew, B.J., Penman, D.J., 2000. Masculinization of genetic female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary administration of an aromatase inhibitor during sexual differentiation. *J. Exp. Zool.* 287, 46–53.
- Kwon, J.Y., Mc Andrew, B.J., Penman, D.J., 2001. Cloning of brain aromatase gene and expression of brain and ovarian aromatase genes during sexual differentiation in genetic male and female Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Mol. Reprod. Dev.* 59, 359–370.
- Lee BY, Penman DJ, Kocher TD., 2003: Identification of a sex-determining region in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis. *Anim Genet* 34: 379–383.
- Lee BY, Hulata G, Kocher TD., 2004. Two unlinked loci controlling the sex of blue tilapia (*Oreochromis aureus*). *Heredity* 92: 543–549.
- Lee BY, Kocher TD, 2007. Exclusion of Wilms tumor (WT1) and ovarian cytochrome P450 aromatase (CYP19A1) as candidates for sex determination genes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Anim. Genet* 38: 85–86.
- Loffler KA, Zarkower D., Koopman P., 2003. Etiology of ovarian failure in *blepharophimosis ptosis epicanthus inversus* syndrome: FOXL2 is a conserved, early-acting gene in vertebrate ovarian development. *Endocrinology* 144: 3237–3243.
- Mank JE, Promislow DEL, Avise JC: Evolution of alternative sex-determining mechanisms in teleost fishes. *Biol J Linn Soc* 87:83-93 (2006).
- Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, Sato T, Matsuda C, Kobayashi T, Morrey CE, Shibata N, Asakawa S, Shimizu N, Hori H, Hamaguchi S, Sakaizumi M, 2002. *DMY* is a Y specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature* 417: 559-563.
- Matsuda M, Shinomiya A, Kinoshita M, Suzuki A, Kobayashi T, Paul-Prasanth B, Lau EL, Hamaguchi S, Sakaizumi M, Nagahama Y., 2007. *DMY* gene induces male development in genetically female (XX) medaka fish. *Proc Natl Acad Sci USA*. 104(10): 3865-70.
- Nakamura, M, Kobayashi, T, Chang, XT, Nagahama, Y., 1998. Gonadal sex differentiation in teleost fish. *J Exp Zool.* 281:362-372.
- Nanda I, Kondo M, Hornung U, Asakawa S, Winkler C, Shimizu A et al., 2002. A duplicated copy of *DMRT1* in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 11778–11783.
- Nanda I, Hornung U, Kondo M, Schmid M, Schartl M: Common spontaneous sex-reversed XX males of the medaka *Oryzias latipes*. *Genetics* 163:245-251 (2003).
- Ohno S., 1967. Sex chromosomes and sex-linked genes, Berlin: Springer-Verlag.
- Ospina-Alvarez N, Piferrer F., 2008. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *PLoS ONE* 3(7): e2837.

- Pieau C., 1971. Sur la proportion sexuelle chez les embryons de deux Cheloniens (*Testudo graeca* L. et *Emys orbicularis* L.) issus d'œufs incubés artificiellement. C. R. Acad. Sci. Paris 272 : 3071–3074.
- Pieau C., 1972. Effets de la température sur le développement des glandes génitales chez les embryons de deux Cheloniens, *Emys orbicularis* L. et *Testudo graeca* L. C. R. Acad. Sci. Paris 274 : 719–722.
- Quinn A E., Georges A. Sarre S. Guarino F., Ezaz T., Marshall Graves J.A., 2007. Temperature sex reversal implies sex gene dosage in a reptile. Science 316: 411.
- Radder R S, Quinn A.E., Georges A., Sarre S.D., Shine R., 2008. Genetic evidence for co-occurrence of chromosomal and thermal sex-determining systems in a lizard; Biol. Letts. 4:176-8.
- Sarre S. D., Georges A., and Quinn A., 2004. The ends of a *continuum*: genetic and temperature-dependent sex determination in reptiles. Bioessays 26: 639–645.
- Schartl M, 2004. Sex chromosome evolution in non-mammalian vertebrates. Curr Opin Genet Dev 14: 634-641.
- Shine R, Elphick MJ., Donnellan S., 2002. Co-occurrence of multiple, supposedly incompatible modes of sex determination in a lizard population. Ecol Letts, 5:486–489.
- Shirak A, Seroussi E, Cnaani A, Howe AE, Domokhovskiy R, Zilberman N, Kocher TD, Hulata G, Ron M., 2006. Amh and dmrt2 genes map to tilapia (*Oreochromis* spp.) linkage group 23 within quantitative trait locus regions for sex determination. Genetics 174: 1573–1581.
- Shoemaker C, Ramsey M, Queen J, Crews D., 2007. Expression of Sox9, Mis, and Dmrt1 in the gonad of a species with temperature-dependent sex determination. Dev Dyn, 236:1055-1063.
- Smith, C.A., Sinclair, A.H., 2004. Sex determination: insights from the chicken. Bioessays 26, 120–132.
- Strussmann C. A., Moriyama S., Hanke E. F., Calsina Cota J. C. Takashima F., 1996. Evidence of thermolabile sex determination in pejerrey. J. Fish Biol. 48: 643–651.
- Tessema, M., Muller-Belecke, A., Horstgen-Schwark, G., 2006. Effect of rearing temperatures on the sex ratios of *Oreochromis niloticus* populations. Aquaculture 258, 270-277.
- Valenzuela N, 2004. Evolution and maintenance of temperature-dependent sex determination, In: Valenzuela, N. and V. Lance, (Eds.). Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates, Washington, DC: Smithsonian Books, pp. 131-147.
- Valenzuela N., 2008. Sexual development and the evolution of sex determination. Sex Dev., 2: 64–72.
- Wang DS, Kobayashi T, Zhou LY, Paul-Prasanth B, Ijiri S, Sakai F, Okubo K, Morohashi K, Nagahama Y., 2007. Foxl2 up-regulates aromatase gene transcription in a female-specific manner by binding to the promoter as well as interacting with ad4 binding protein/steroidogenic factor 1. Mol Endocrinol. 21:712-725.
- Warner D. A., Shine R., 2008. The adaptive significance of temperature-dependent sex determination in a reptile. Nature 451: 566-568.
- Wessels S., Horstgen-Schwark, G., 2007. Selection experiments to increase the proportion of males in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by means of temperature treatment. Aquaculture, 272: S80-S87.
- Vandeputte M, Dupont-Nivet M, Chavanne H, Chatain B., 2007. A polygenic hypothesis for sex determination in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*. Genetics, 176: 1049-57.
- Volff JN, Kondo M, Schartl M, 2003. Medaka *dmY/dmrt1Y* is not the universal primary sex determining gene in fish. Trends Genet 19: 196-199.

- Volff JN, 2005. Genome evolution and biodiversity in teleost fish. *Heredity* 94:280-294.
- Western, P.S., Harry, J.L., Graves, J.A., Sinclair, A.H., 1999. Temperature-dependent sex determination in the American alligator: AMH precedes SOX9 expression. *Dev. Dyn.* 216, 411–419.
- Yamamoto T. 1969. Sex differentiation. *Fish Physiol.* 3, 117-175.
- Yao HH, Capel B., 2005. Temperature, genes, and sex: a comparative view of sex determination in *Trachemys scripta* and *Mus musculus*. *J Biochem.* 138:5-12.