

UNIVERSITE DU QUÉBEC

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN PRODUCTIVITÉ AQUATIQUE

PAR

VÉNANTIE MUKASIKUBWABO

B. SC. BIOLOGIE

CONTRÔLE DE L'OVOGÉNÈSE CHEZ *Tilapia nilotica* :

EFFETS DE LA TEMPÉRATURE ET DE L'ILLUMINATION NOCTURNE .

Juillet 1990



Mise en garde/Advice

Afin de rendre accessible au plus grand nombre le résultat des travaux de recherche menés par ses étudiants gradués et dans l'esprit des règles qui régissent le dépôt et la diffusion des mémoires et thèses produits dans cette Institution, **l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** est fière de rendre accessible une version complète et gratuite de cette œuvre.

Motivated by a desire to make the results of its graduate students' research accessible to all, and in accordance with the rules governing the acceptance and diffusion of dissertations and theses in this Institution, the **Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** is proud to make a complete version of this work available at no cost to the reader.

L'auteur conserve néanmoins la propriété du droit d'auteur qui protège ce mémoire ou cette thèse. Ni le mémoire ou la thèse ni des extraits substantiels de ceux-ci ne peuvent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

The author retains ownership of the copyright of this dissertation or thesis. Neither the dissertation or thesis, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

A mon époux Eugène MUKAMA,

et

A mes chers enfants:

Alain,

Marie Ange

et

Déborah

pour leur patience et leur compréhension;

A feu mon père

A ma mère

A mes frères et soeurs

et

plus particulièrement à Kanyandekwe Stanislas;

Cet humble travail est dédié.

RÉSUMÉ

Dans les milieux halieutiques africains et autres des régions à climat chaud, les tilapias et en l'occurrence *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) sont caractérisés par un cycle de reproduction assez court.

Cependant, au Rwanda, il s'est avéré que l'élevage en étangs de *T. nilotica* a suscité des problèmes principalement au niveau de sa reproduction, au niveau de la production d'alevins (10 à 30 alevins/femelle/mois) et au niveau de la production pendant la saison sèche à la suite des brusques changements de température de l'eau (19 à 28°C).

Pour trouver une solution à ces problèmes, nous avons tenté d'analyser l'impact de l'illumination nocturne et de la température sur le contrôle de la reproduction. Dans les deux (2) cas, il nous a fallu déterminer les variations des paramètres liés à la reproduction telle que la variation de l'indice gonadosomatique (IGS) des géniteurs utilisés lors de notre expérimentation. Grâce aux techniques histologiques, les tailles des cellules germinales ont été également estimées en vue de nous renseigner sur l'avancement de l'ovogénèse chez *T. nilotica*.

Pour ce qui concerne l'effet de l'illumination nocturne sur la reproduction, les expériences ont été réalisées sur le terrain, à la station piscicole de Rwasave au Rwanda. Pour ce faire, un échantillon de référence (échantillon R) était prélevé avant chaque expérience afin de nous indiquer l'état des gonades des géniteurs. Quant à l'expérimentation proprement dite, celle-ci a porté sur des géniteurs placés dans deux (2) happas dont l'un a été soumis à une illumination nocturne à raison de quatre (4) heures par nuit pendant sept (7) jours successifs et l'autre (témoin) sans illumination nocturne.

Après dix (10) jours à compter du début de la deuxième expérience (expérience 2), nous avons constaté que l'amplification moyenne des gonades des géniteurs du happas illuminé (IGSm de 5,8 %) était significativement supérieure ($p < 0,01$) à celles de ceux de l'échantillon R (IGSm de 3,32 %) et ceux du groupe témoin (IGSm de 4,09 %), et ces deux dernières n'étant pas significativement différentes.

Une étude portant sur les diamètres des ovocytes a également prouvé que l'ovogénèse est accélérée chez les géniteurs ayant subi l'illumination, comparée à ceux du happas témoin.

Cependant, à la fin de l'expérience 2 (18 jours au total), les géniteurs du happas illuminé présentaient une régression en poids des gonades (IGSm de 4,88 %) alors que les gonades des géniteurs du happas témoin augmentaient de poids (IGSm de 4,92 %).

Cette diminution de l'IGS des géniteurs du happas illuminé est probablement due à la ponte provoquée par l'accélération de l'ovogénèse. Ce facteur s'avère également responsable de l'amplification des ovaires et, par ricochet, de l'avancement de l'ovogénèse très prononcé chez les mêmes géniteurs femelles après le premier échantillonnage.

Ces résultats ont été supportés par la troisième expérience (expérience 3) au cours de laquelle nous avons enregistré une chute spectaculaire de l'IGSm des géniteurs du happas illuminé. En effet, au début de cette expérience l'IGSm était de 5,4 % et 18 jours plus

tard, l'IGSm est devenu 3,56 % pour les femelles illuminées et 5,63 % pour les femelles témoins. Le test "t" de student a révélé que les IGSm des géniteurs des deux happas étaient significativement différent ($p < 0,01$).

Quant au facteur de température, les expériences ont été effectuées en laboratoire d'aquiculture de l'UQAC, et ont consisté à soumettre trois groupes de géniteurs femelles à trois températures différentes (19°C, 23°C et 28°C).

A cette fin, nous avons relevé que les géniteurs élevés à 23°C présentaient des gonades (IGSm de 7,79 %) dont l'amplification était similaire à celui des gonades des géniteurs soumis à 28°C (IGSm de 6,88 %), les gonades des deux (2) groupes précédents étant plus amplifiées par rapport à ceux élevés à 19°C (3,52 %). De plus, la variation des diamètres des cellules germinales est proportionnelle à celle de l'IGS des mêmes géniteurs.

La température de 23°C nous a donc semblé idéale pour la reproduction du *T. nilotica* et, par conséquent, pour son élevage. Quant à celle de 19°C, elle freine la reproduction tout en synchronisant les ovaires des géniteurs.

Enfin, tenant compte des effets de développement germinal des deux (2) facteurs (lumière et température) sur la reproduction de *T. nilotica*, et tenant compte qu'il est plus facile et moins coûteux d'illuminer un étang que de le réchauffer et le maintenir à 23°C, nous concluons que l'illumination nocturne serait une méthode plus appropriée pour moduler la reproduction.



Vénantie MUKASIKUBWABO



Denis H. LARRIVÉE

REMERCIEMENTS

Le présent travail a vu le jour sous le concours de plusieurs personnes, qui de près ou de loin n'ont ménagé aucun soutien moral ou matériel à mon égard et auxquelles nos sincères remerciements sont adressés.

Plus particulièrement, Monsieur Denis H. Larrivé, professeur à l'université du Québec à Chicoutimi, et directeur de ce mémoire, je m'en voudrais de ne pas le remercier pour l'encadrement, la supervision ainsi que la patience qu'il a montrée lors des recherches, de la rédaction et de la correction des textes.

A tous les techniciens de l'UQAC qui ont aidé à garder en bonnes conditions les poissons et plus particulièrement à Melle Linda Bouchard pour l'effort déployé lors des analyses en laboratoire, je les en remercie.

Notre profonde gratitude et reconnaissance sans faille sont également dirigées à l'endroit des responsables et de tout le personnel de l'organisme subventionnaire, à savoir le projet PBF (Projet des Bourses de la Francophonie) sans lequel mes études n'auraient pas été menées à bonne fin.

Nos remerciements vont aux responsables et à tout le personnel de la station piscicole de Rwasave et du Projet Pisciculture Nationale de Kigembe qui m'ont tous soutenue et moralement aidée lors de mes recherches et de la collecte des données sur le terrain au pays natal, le Rwanda.

Enfin, je remercie mon cher époux Eugène Mukama et nos trois enfants: Mukama Alain, Uwera Marie-Ange, Uwiragiye Déborah; pour le soutien moral et la patience qu'ils ont montrés durant les trois années que j'ai passé au Canada.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	ii
RÉSUMÉ.....	iii
REMERCIEMENTS.....	v
TABLE DES MATIÈRES.....	vi
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	x
CHAPITRE I: INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE II: REVUE DE LITTÉRATURE ET OBJECTIFS	5
CHAPITRE III: MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	24
3.1 EFFET DE L'ILLUMINATION NOCTURNE SUR L'OVOGÉNÈSE	25
3.1.1 Site d'expérience et caractéristiques biophysiques.....	25
3.1.2 Matériel.....	28
3.1.3 Méthodologie expérimentale.....	31
3.1.3.1 Dispositif expérimental	31
3.1.3.2 Capture des géniteurs et détermination du sexe.....	32
3.1.3.3 Déroulement et description des expériences.....	35
3.1.3.4 Détermination de l'indice gonadosomatique (IGS).....	38
3.1.3.5 Analyses microscopiques.....	38
3.2 EFFET DE LA TEMPÉRATURE SUR L'OVOGÉNÈSE.....	42
3.2.1 Matériel.....	42
3.2.2 Méthodologie expérimentale.....	44

CHAPITRE IV : RÉSULTATS	46
4.1 EFFET DE L'ILLUMINATION NOCTURNE SUR L'OVOGÉNÈSE	47
4.1.1. Généralités	47
4.1.2 Indice gonadosomatique (IGS).....	50
4.1.3 Histologie des ovaires.....	57
4.2 EFFET DE LA TEMPÉRATURE SUR L'OVOGÉNÈSE.....	63
4.2.1 Indice gonadosomatique (IGS).....	63
4.2.3 Histologie des ovaires.....	66
4.3. RAPPROCHEMENT DES RÉSULTATS	71
4.4 HISTOCHIMIE DES GONADES	74
4.4.1 Généralités.....	74
4.4.2 Sur le terrain.....	75
4.4.3 En laboratoire.....	76
CHAPITRE V: DISCUSSION	79
5.1 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE.....	80
5.2 CYCLE DE REPRODUCTION CHEZ <i>Tilapia nilotica</i>	83
5.3 CONTRÔLE DE LA REPRODUCTION CHEZ <i>Tilapia nilotica</i>	88
CHAPITRE VI: CONCLUSION.....	97
BIBLIOGRAPHIE	101

LISTE DES FIGURES

Figure 1. <i>Tilapia nilotica</i> (Linnée).	7
Figure 2. Influence des diverses températures sur la biologie des tilapias (modifié d'après Balarin et Haller, 1982)	15
Figure 3. Schéma général de l'ovogénèse chez les Téléostéens	18
Figure 4. Cadre théorique des mécanismes des facteurs de la régulation de la reproduction chez les organismes aquatiques	22
Figure 5. Carte du Rwanda.	26
Figure 6. Disposition des happas dans l'étang expérimental à Rwasave, au Rwanda.	32
Figure 7. Orifices génito-urinaires d'un mâle et d'une femelle chez <i>Tilapia nilotica</i> (L.)....	34
Figure 8. Protocole pour la préparation des tissus.	41
Figure 9. Variation journalière de la température dans l'étang expérimental durant une journée chaude (24 heures) et une journée froide (24 heures).	49
Figure 10. Histogrammes montrant les fréquences de distributions des IGS des géniteurs femelles de l'expérience 2.	52
Figure 11. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des IGS des géniteurs femelles de l'expérience 3.	53
Figure 12. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des diamètres des ovocytes des géniteurs au cours de l'expérience 2.	59
Figure 13. Photographies en microscopie optique illustrant les différents stades de développement des ovaires des géniteurs de l'expérience 2	62
Figure 14. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des IGS des géniteurs élevés en laboratoire à 19 °C, 23°C et 28°C	64
Figure 15. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des diamètres des cellules germinales des géniteurs élevés en laboratoire à 19°C, 23°C et 28°C ...	67
Figure 16. Photographies en microscopie optique illustrant les stades de développement des ovaires des géniteurs élevés en laboratoire à 19°C, 23°C et 28°C.	70
Figure 17. Organisation ultrastructurale des ovocytes chez <i>Tilapia nilotica</i> . A) Chorion et région excentrique du cytoplasme (5185X). B) Région intermédiaire du cytoplasme (5185X). C) Région centrale du cytoplasme (17000X).....	77
Figure 18. Schéma hypothétique de régulation de l'ovogénèse chez <i>Tilapia nilotica</i>	95

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques climatiques à la station piscicole de Rwasave (valeurs moyennes enregistrées en 1988)	27
Tableau 2. Caractéristiques physicochimiques de l'eau au début de chaque expérience (valeurs ponctuelles relevées à 10h du matin)	29
Tableau 3. Tableau récapitulatif des trois expériences effectuées sur le terrain.	37
Tableau 4. Paramètres et données statistiques de la taille des cellules germinales des géniteurs élevés aux températures de 19°C, 23°C et 28°C	69

LISTE DES ABRÉVIATIONS

UQAC = Université du Québec à Chicoutimi

IGS = Indice Gonadosomatique

IGSm = Indice Gonadosomatique moyen

gén. = géniteurs

ovoc. = ovocytes

tém. = témoins

illum. = illuminés

Dmoyen = diamètre moyen

fig. = figure

% = pourcentage

°C = degrés Celsius

km = kilomètre

m = mètre

cm = centimètre

mm = millimètre

nm = nanomètre

µm = micromètre

h = heure

min = minute

exp = expérimental

pH = potentiel d'hydrogène

O₂ = oxygène

ppm = parti par million

mg.l⁻¹ = milligramme par litre

g = gramme

M = molaire

N = nombre

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Depuis environ trente ans, l'aquiculture a été l'objet d'importants progrès dans divers pays visant à assurer une véritable autonomie alimentaire à leurs populations respectives. Ces efforts ont été fournis dans le domaine du développement des connaissances scientifiques et techniques en vue d'une amélioration accrue des systèmes d'élevage et des méthodes de gestion aquicole de certains organismes vivants.

En ce qui concerne plus particulièrement les pays africains, le déficit alimentaire, les problèmes démographiques, et la rareté des terres cultivables devraient amener ces pays à adopter des programmes de recherche dans le but d'augmenter la production des protéines animales. Cependant, on ne peut entrevoir de solution à ce problème de carence en protéines, qu'en exploitant au maximum et rationnellement les ressources piscicoles de ces pays, notamment les espèces de poissons dont l'écologie est bien connue depuis de nombreuses années pour toute l'Afrique, entre autres les tilapias et plus particulièrement le *Tilapia nilotica* (Linnée) (*T. nilotica*).

En effet, *T. nilotica* s'avère être le poisson dont la productivité et le taux de croissance sont parmi les plus élevés en pisciculture traditionnelle. Il est microphage, très rustique, et se reproduit très facilement en captivité. C'est aussi celui qui convient le mieux à la production intensive, car il est phyto-planctophage et donc consommateur primaire idéal pour l'élevage en étangs, en cages et en enclos dans de nombreux lacs, baies et réservoirs des pays des régions à climat chaud.

Outre leur rôle dans l'alimentation humaine, ces poissons agissent également comme agents de contrôle des moustiques, des cercaires¹, des algues ainsi que comme poissons sportifs.

Même si la productivité d'une femelle de *T. nilotica* est relativement faible (environ 300 oeufs, d'après McBay, 1961), l'âge précoce de reproduction, l'absence ou la courte période de latence réfractaire entre les pontes (6 à 11 pontes par année), de même que sa robustesse en feraient un organisme à fort potentiel de productivité, une fois sa reproduction contrôlée.

Cependant, il reste plusieurs points obscurs rendant difficile la production intensive de *T. nilotica*. En effet, au Rwanda, on a enregistré une faible production d'alevins (10 à 30 alevins par femelle par mois) et qui diminue considérablement pendant la saison sèche (de juin à septembre) à la suite des fortes variations de température (Veverica, 1988). De Bont (1950) a montré que *T. nilotica* ne se reproduit pas à des températures en dessous de 20°C. Philippart et Ruwet (1982) affirmèrent que cette espèce exige une température moyenne supérieure à 22°C pour se reproduire. Les travaux de Balarin (1979) ont également montré que la température critique à la reproduction serait autour de 20°C.

Un autre facteur, à savoir la lumière, semble affecter la reproduction des tilapias. Certains auteurs se contredisent à cet égard: Stickney (1986) rapporte que la photopériode ne semble pas jouer un rôle dans la ponte des tilapias alors que Schwanck (1987) affirme avoir établi une relation entre la périodicité lunaire et la régulation du cycle de reproduction chez *T. mariae*.

¹Des organismes causant la bilharziose, une maladie qui est fréquente dans les pays tropicaux.

CHAPITRE II

REVUE DE LITTÉRATURE ET OBJECTIFS DE LA RECHERCHE

A cause de leur intolérance au froid, les tilapias sont des poissons dont la culture est exclusivement limitée aux zones continentales des régions à climat chaud du monde entier, comme le sud des Etats Unis, la plus grande partie de l'Afrique et une partie des pays asiatiques.

Au sein du genre tilapia, on distingue une quinzaine d'espèces formant deux (2) catégories morphologiquement liées à la structure des branchiospines¹. Les tilapias macrophages, phytophages, herbivores et formant une famille biparentale tels que *T. rendalli*, *T. melanopleura* d'une part, et d'autre part, les tilapias microphages, planctoniques et dont les femelles sont des incubatrices buccales. Ils forment une famille monoparentale et c'est le cas particulier de *T. nilotica* qui fait l'objet de cette étude.

D'après la classification de Greenwood, Rosen, Weitzman et Myers (1966), l'espèce *T. nilotica* appartient à la classe des téléostéens, au super-ordre des acanthoptérygiens (poissons aux nageoires épineuses), à l'ordre des percomorphes, à la famille des cichlidés et au genre tilapia. Ce poisson (fig. 1) est caractérisé par un corps comprimé latéralement de couleur gris-brun avec une teinte verdâtre plus foncée sur le dessus et plus claire sur le dessous. L'espèce *T. nilotica* se distingue aisément des autres tilapias par la présence de plus ou moins sept (7) bandes blanches alternant avec des bandes grises sur la nageoire caudale et possède 25 à 27 microbranchiospines sur le premier arc branchial, ce qui lui permet de filtrer le phytoplancton dont il se nourrit principalement.

¹ Les branchiospines sont les systèmes filtreurs de l'appareil branchial.



Figure 1. *Tilapia nilotica* (Linné).

Plusieurs études présentent les aspects biologiques de la reproduction des cichlidés. Dans son travail sur la reproduction du cichlidé *Sarotherodon melanotheron*, Eyeson (1983) a constaté que les mâles atteignent la maturité plus vite que les femelles et que la taille de première maturité semble varier avec les conditions d'élevage. Il mit également en évidence une faible activité de reproduction et une désynchronisation dans le développement des ovaires. Chez *T. mossambica*, la taille de première maturité a été estimée à 15,2 cm pour les femelles et de 17,4 cm pour les mâles (Arthington et Milton, 1986). Perez *et al.* (1988) ont étudié la reproduction du cichlidé *Cichlasoma tétracanthum* et ont démontré que la différenciation et la maturation des gonades dépendent de la taille, de l'âge du poisson et de la saison de ponte. Par ailleurs, les études sur la structure de l'ovocyte mûr et du zygote de *Corynosoma-semerme acanthocephala* ont respectivement révélé la présence d'inclusions hétérogènes dans le premier cas, et l'homogénéité des structures cytoplasmiques dans le second (Peura *et al.*, 1982). Peters (1983) a étudié la fécondité et le développement des ovocytes chez les tilapias. Omotosho (1987) travailla sur le développement d'ovaires surnuméraires chez *T. nilotica* et démontra à l'aide d'analyses histochimiques qu'ils ne différaient pas d'ovaires normaux. Quant à la structure et la transformation des ovaires chez les poissons en général, elles ont été discutées par Guraya (1986) qui a souligné que, l'âge à laquelle les ovocytes entrent en croissance varie d'une espèce à l'autre. En 1987, Adebisi étudia la relation entre l'indice gonadosomatique (l'IGS)¹ et la taille des oeufs de quelques poissons de la rivière Ogun au Nigéria et trouva que l'IGS des cichlidés (2,27 à 3,02 %) était beaucoup plus faible que celui des autres familles ² (3 à 14,06 %). Le cannibalisme de

¹ L'indice gonadosomatique (IGS) est défini comme étant le rapport entre le poids humide de l'organe et le poids total humide de l'animal.

² Parmi les non- cichlidés, on cite les cyprinidés, les mochokidés, les schilbéidés, les mormydés et les channidés.

certaines cichlidés durant la phase d'incubation a été souligné par Mrowka (1987) qui démontra que la plupart des oeufs infertiles sont dévorés par le parent.

Concernant le cas particulier de *T. nilotica*, Balarin (1979) a montré que cette espèce devient adulte vers l'âge de quatre (4) mois à une taille comprise entre 10 et 17 cm. Cependant, il a été observé que la taille de première maturité chez les mâles élevés dans les étangs pouvaient être de 8 cm de longueur (Lowe-McConnell, 1959; McNamara, 1988). Mukankomeje (1984) a souligné que si on exploitait une même population, la taille de première maturité pouvait être plus petite.

Au Soudan, Babiker (1984; 1986) prouva que l'activité de reproduction chez *T. nilotica* était très élevée d'avril en septembre. Des études de comportement conduites à l'Université Auburn (McBay, 1961) suggèrent que les activités de reproduction chez cette espèce consistent en l'aggrégation, la territorialité, la parade nuptiale, les pontes et les soins parentaux. *T. nilotica* se reproduit facilement en captivité et dans les eaux peu profondes (Welcome, 1967) pourvu qu'il y ait un substrat de gravier, de sable ou de vase propre. Quand la température de l'eau dépasse 20°C, les mâles se rassemblent sur une zone de nidification généralement localisée tout près des berges à pente légère et à moins d'un mètre de profondeur. Chaque mâle porteur d'une coloration¹, défend son territoire et aménage un nid où il lui faudra retenir une femelle. Le nid de *T. nilotica* est circulaire et creux comme une assiette dont le fond est plus petit que la partie haute. La taille du nid est comprise entre 0,5 et 2 m et varie avec la taille du mâle.

Une fois que les femelles sont prêtes à pondre, elles font le tour des territoires et, courtisées successivement par les mâles, en choisissent un en s'arrêtant au

¹ Cette coloration (tête et front recouverts de taches rouges) est caractéristique de la parade nuptiale.

dessus d'un nid pour former un couple éphémère. Ensuite, on assiste à une parade de synchronisation sexuelle, suivie d'un dépôt par la femelle d'un lot d'ovules que le mâle féconde aussitôt après, et qu'un des parents (généralement la femelle) reprend dans la bouche jusqu'à l'éclosion (Melard et Philipart, 1981). Le nombre et la taille des ovules sont en rapport avec la taille de la femelle. Les travaux de McBay (1961) rapportent une moyenne de 300 oeufs par ponte à intervalles de six (6) semaines. La ponte dure à peu près 30 minutes et notons que cette opération peut se répéter dans la suite avec le même ou un autre mâle.

D'après Hishamunda (1984), dans les conditions d'élevage à Kigembe au Rwanda, l'incubation a lieu dans les zones abritées et dure à peu près cinq (5) jours après la fécondation. Signalons cependant que, le temps maximum d'incubation artificielle des oeufs de *T. nilotica* a été déterminé à sept (7) jours (Verdegem et McGinty, 1987). Ces auteurs ont également constaté que le déplacement des zygotes et des larves de la bouche des femelles pouvait allonger le cycle de ponte. L'éclosion a lieu dans la bouche à 12 jours lorsque la vésicule vitelline est totalement résorbée. Il a été observé que cette phase de résorption dépend de la température, de l'oxygène dissous, de la dureté et de l'alcalinité de l'eau. Les larves restent groupées pendant une quinzaine de jours en formant un nuage dans le fond de l'étang et en retournant dans la bouche de la femelle au moindre danger. Quand ils atteignent une longueur de 9 à 10 mm, les alevins s'éloignent complètement de leur mère vers les eaux peu profondes où ils s'organisent en banc et continuent leur croissance.

En élevage, plusieurs facteurs du milieu ambiant influent sur la reproduction. Il s'agit notamment de l'oxygène dissous, du pH, de l'alcalinité, de la turbidité, de la salinité, de la nourriture et de la température. A ceci nous pouvons ajouter les modulations hormonales contrôlant la reproduction.

En ce qui concerne le taux d'oxygène dissous dans l'eau, il varie avec la température, la salinité et la pression. Dans le cas de *T. nilotica*, le taux métabolique diminue à une concentration d'oxygène en dessous de 3 mg.l^{-1} (Balarin et Haller, 1982). Cependant, *T. nilotica* peut survivre à une concentration de $1,2 \text{ mg.l}^{-1}$ d' O_2 , mais ne résiste pas à une longue exposition de $0,7 \text{ mg.l}^{-1}$ (Coche, 1977; 1978). Ainsi, les tilapias ne sont pas très exigeants en oxygène dissous d'autant plus qu'ils peuvent utiliser directement l'oxygène de l'air (Lequenne, 1984). En 1975, Magid et Babiker ont mis en évidence un modèle de consommation d'oxygène de *T. nilotica* ainsi que le comportement de cette espèce en milieu désoxygéné.

La dureté et l'alcalinité totale des eaux du milieu d'élevage ont une grande importance: on a constaté que leur valeur optimale oscille autour de 150 mg.l^{-1} (Billard et Marcel, 1980) mais Boyd (1979) a démontré qu'une dureté ou une alcalinité totale de 20 mg.l^{-1} était suffisante pour atteindre une bonne production.

La transparence de l'eau est également un facteur à ne pas négliger car elle est souvent liée à la présence du plancton et modifiée par la pollution du milieu. En effet, une haute turbidité abaisse le niveau d'oxygène, favorise les maladies fongiques et diminue le taux de reproduction (Baralin, 1979).

Pour ce qui est du pH de l'eau, celui-ci est contrôlé par la présence de carbonates et de bicarbonates; *T. nilotica* ne tolère pas les eaux acides. Les études faites à ce sujet montrent que les valeurs de pH les plus favorables pour la culture des tilapias sont comprises entre 6 et 9 (Billard et Marcel, 1980) ou entre 6.5 et 8.5 (Stickney, 1986).

L'espèce *T. nilotica* est très résistante à la toxicité de l'ammoniaque dissout dans l'eau. Cependant, à une concentration élevée, on peut observer des effets négatifs, tel que la diminution de la résistance aux maladies (Lequenne, 1984).

Les tilapias sont des espèces euryhalines et la tolérance à la salinité varie d'une espèce à l'autre (Pullin et Lowe-McConnell, 1982). *T. nilotica* peut vivre dans des lacs dont la salinité peut atteindre 29 ppm. Cependant, la fécondité des tilapias décroît avec les salinités au delà de 20 ppm et la valeur optimale serait de 13 ppm chez *T. nilotica*. Watanabe et Kuo (1985) ont mis en évidence la performance de l'activité de reproduction chez *T. nilotica* élevé en laboratoire dans des aquariums aux salinités variables: d'une part, des échecs de reproduction ont été observés dans les bassins contenant l'eau de mer et d'autre part, il fut constaté que les oeufs et les larves des femelles placées dans l'eau à une salinité de 5 à 15 ppm étaient plus développés que ceux expérimentés dans l'eau douce. Une autre étude rapporte que les larves de *T. nilotica* pondues et élevées dans les eaux à des salinités variables sont plus tolérantes par rapport à celles pondues dans l'eau douce et élevées dans les mêmes conditions de salinité (Watanabé, Kuo et Huang, 1985). Récemment, Fineman-Kalio (1988) a observé qu'à des salinités élevées (25 à 50 ppm), *T. nilotica* présentait des gonades bien développées mais que la ponte était inhibée.

En ce qui concerne l'alimentation, *T. nilotica* se nourrit naturellement de phytoplancton, d'algues bleu-vertes et de micro-faunes benthiques. Même si *T. nilotica* préfère des diètes riches en fibres, la nourriture artificielle doit contenir tous les éléments nutritifs et surtout des protéines animales ou végétales. Dépendant du stade de développement du poisson, la teneur en protéine des diètes doit varier en moyenne de 25 à 30 % de la nourriture fournie (Stickney, 1986). La nourriture doit contenir aussi une certaine quantité de vitamine C et de vitamine B₁₂. A titre d'exemple, la nourriture artificielle

couramment utilisée au Rwanda est composée de son de riz¹, de concassé de vinasse², de déchets de cuisine, d'excréments d'animaux domestiques, de fumier et d'autres rejets organiques.

Quelques données permettent de croire que la qualité et la quantité des aliments fournis influencent d'une façon ou d'une autre la reproduction des tilapias. Townshend et Wootton (1984) ont mis en évidence l'effet de la nourriture sur la reproduction de *Cichlasoma nigrofasciatum*, cichlidé de type biparental, originaire de l'Amérique centrale et possédant des caractéristiques comparables à celles des tilapias. La ration de nourriture était distribuée une fois par jour pour un groupe de poissons (groupe 1), 3 fois par semaine pour un autre groupe (groupe 2) et une fois par semaine pour un troisième groupe (groupe 3). La fécondité des femelles des groupes 2 et 3 a diminué et l'intervalle entre les pontes a augmenté pour les trois (3) groupes expérimentés mais cette augmentation était inversement proportionnelle à la fréquence d'alimentation. Marsh *et al.* (1986) ont trouvé que l'activité de reproduction chez les cichlidés (lac Malawi) présentait deux (2) grands pics par année qui correspondaient à la floraison planctonique. Récemment, quelques auteurs (Santiago *et al.*, 1988) ont travaillé sur les effets d'une diète contenant des feuilles de *Leucaena leucocephala* sur la performance de la reproduction et de la croissance de *T. nilotica*. Les poissons nourris avec cette plante ont perdu du poids et leur IGS était significativement plus bas que celui des poissons nourris à la diète témoin ($p < 0.05$).

Il faut souligner que l'alimentation agit toujours en synergie avec la température. Pour contrôler l'effet de la nourriture sur la reproduction, il faut maintenir les poissons à une température bien déterminée et vice versa. Lorsque les tilapias sont bien

¹ Son de riz: rejets de riz (25% de protéines).

² Vinasse: rejets de sorgho (22,8 % de protéines).

nourris et maintenus à une température supérieure à 20°C, la reproduction se fait normalement. Pour Huet (1970), la taille de première maturité de *T. nilotica* dépend de la température, de la nourriture et de l'espace dont il dispose. Perez *et al.* (1988) ont montré que l'activité de ponte du cichlidé *Cichlasoma tetracanthum* était influencée par la température de l'eau (23°C et plus) et le régime d'alimentation.

Les résultats d'autres recherches indiquent que la température est le facteur le plus déterminant pour la reproduction des tilapias. De Bont (1950) a effectué des expériences dans une région du Zaïre (Shaba) qui l'ont conduit à confirmer que *T. nilotica* ne se reproduisait pas en saison froide. Plus particulièrement, la température joue un double rôle; d'une part, chaque espèce de tilapia présente une croissance et une reproduction optimales à des températures spécifiques (Balarin et Haller, 1982) et d'autre part, quand elle n'est pas bien contrôlée, la température peut être un stresser chronique ou aigu pour les tilapias en provoquant une détérioration de la qualité de l'eau (Kindle et Whitmore, 1986). L'influence de diverses températures sur la biologie des tilapias est illustrée à la figure 2.

Dans le cas de *T. nilotica*, les températures léthales inférieure et supérieure sont respectivement de 8°C et 42°C. La température permettant la croissance et la reproduction est comprise entre 22°C et 28°C. En dessous de 15°C, cette espèce refuse la nourriture et sa croissance s'arrête. La température optimale à la croissance de cette espèce oscille autour de 31°C (Balarin et Haller, 1982). Une étude de Chen et Yew (1988) a également montré que la température agit sur la réplication d'ADN dans les cellules de l'ovaire de *T. nilotica*. La température de 31°C s'est révélée idéale à la synthèse d'ADN.

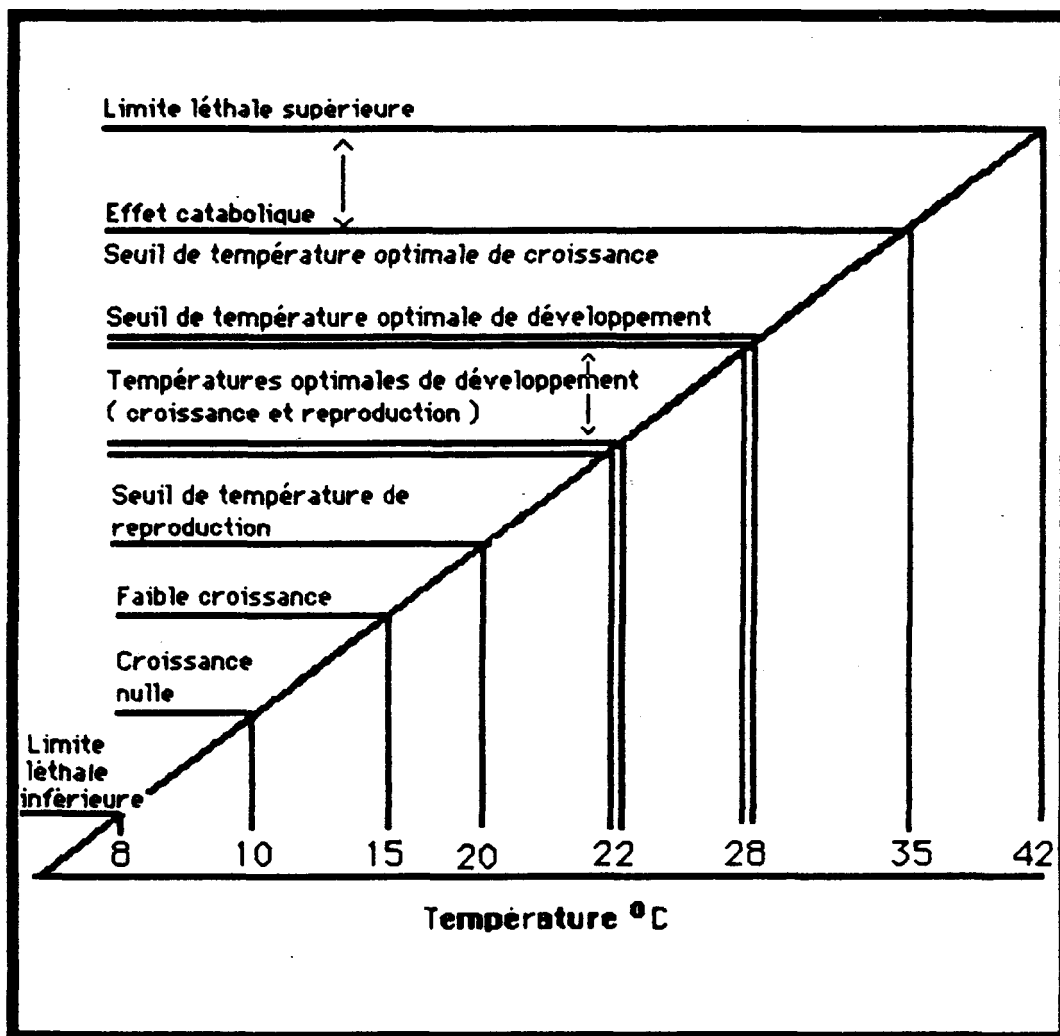


Figure 2. Influence des diverses températures sur la biologie des tilapias (modifiée d'après Balarin et Haller, 1982).

Chen, Yew et Li (1988) ont travaillé sur l'adaptation thermique et la réponse au choc thermique sur les cellules de l'ovaire de *T. nilotica* . Ils ont démontré que la température contrôlait le taux de synthèse des protéines, le taux maximal se manifestant à 31°C.

Un autre facteur à ne pas négliger est l'altitude qui agit indirectement par l'intermédiaire de la température, de l'oxygène dissous et autres gazs (Balarin, 1979), en ce sens que les hautes altitudes retardent la maturation des gonades et par conséquent la reproduction des tilapias (*T. endersoni*).

Par ailleurs, de nombreuses revues rapportent depuis longtemps (Sundararaj et Anand, 1972; Nakamura, 1981; Matthiessen et Logan, 1984; Macintosh *et al.*, 1985; Deb *et al.*, 1985; Uematsu, 1985; Berger et Rothbard, 1987; Demano et Frederick, 1987; Pandian et Vadararaj, 1987; Smith et Haley, 1988) que les hormones jouent un rôle important dans le contrôle du comportement reproducteur des poissons téléostéens. Nagahama, Kagwa et Young (1982) ont mené leurs expériences sur la genèse cellulaire sexuelle des hormones dans les gonades des téléostéens. A l'aide des analyses histochimiques et ultrastructurales, ils ont trouvé que chez les mâles, les cellules intersticielles du testicule sont le principal site de synthèse d'hormones androgènes alors que chez les femelles, il fut démontré que les cellules folliculaires et thécales sont les principaux sites de synthèse des stéroïdes dans l'ovaire des téléostéens. De même, Demiski et Hornby (1982) ont centré leurs recherches sur les régions du cerveau activatrices des stéroïdes sexuels (estradiol, testostérone). Leurs expériences électrophysiologiques menées sur les carassins et les crapets ont conduit à la ponte, la libération du sperme chez ces deux (2) poissons ainsi que la parade nuptiale et la nidification chez le crapet.

Tous ces comportements reproducteurs sont donc étroitement liés à l'activité des neuro-hormones. Au niveau du contrôle de l'ovogénèse des poissons téléostéens, les hormones peuvent agir sur l'un ou l'autre des quatre (4) phases bien distinctes formant dans les conditions normales, un cycle complet:

- a) une phase de latence caractérisée par des gonades peu développées;
- b) une phase caractérisée par la multiplication des ovogonies;
- c) une phase de prévitellogénèse et de vitellogénèse;
- d) et enfin, une phase de maturation et de libération des gamètes.

Ces phases correspondent aux quatre (4) étapes successives de l'ovogénèse (fig. 3). Cependant, l'une ou l'autre de ces phases peut être bloquée selon des caractéristiques spécifiques. L'augmentation considérable du poids des ovaires des poissons (jusqu'à 10 % chez les tilapias) qui se manifeste avant la ponte est due principalement à l'accumulation des substances de réserve par les ovocytes. Nous référant aux études les plus récentes sur le sujet (Guraya, 1986), l'origine des substances de réserve se présentait sous les formes suivantes:

1) Des précurseurs de vitellus seraient produits par l'ovocyte lui-même par l'effort combiné des organites cytoplasmiques et du nucléole. Ceci correspond à la vitellogénèse endogène.

2) Plusieurs précurseurs de vitellus (en particulier la vitellogénine) seraient synthétisés à l'extérieur de l'ovocyte (en particulier par les hépatocytes) et sont ensuite intégrés par pinocytose à l'intérieur de l'ovocyte. Ceci correspond à la vitellogénèse exogène.

3) Ces deux processus de vitellogénèse seraient synchronisés de façon à permettre la plus grande efficacité dans la formation du vitellus et des gamètes femelles.

Phases	Types cellulaires	Processus
<u>Phase latente</u> (Période réfractaire ?)	Cellules germinales et phagocytes	Mise en place de l'épithélium germinal et phagocytose des populations cellulaires du cycle précédent.
<u>Phase de multiplication</u>	Ovogonies	Multiplication des ovogonies primaires et formation des ovogonies secondaires qui formeront la cohorte cellulaire de ce cycle de reproduction.
<u>Phase de vitellogénèse et de division réductionnelle</u>	Ovocytes primaires Ovocytes secondaires	Durant la prophase I, une activité nucléaire intense se manifeste et une grande quantité de matériel nucléaire est transportée dans le cytoplasme. Vers la fin de cette phase du matériel synthétisé dans les cellules hépatiques est incorporé dans les ovocytes.
<u>Phase de maturation et de libération des gamètes</u>	Ovotides et oeufs	Construction de la paroi (chorion) des cellules germinales et transformation des substances de réserve dans le cytoplasme. Modifications cytoplasmiques.

Figure 3. Schéma général de l'ovogénèse chez les téléostéens .

Les travaux de Billard et Marcel (1980) ont mis en évidence quelques étapes de la reproduction en milieu contrôlé telle que l'induction de la ponte par hypophysation¹. Billard et Breton (1984) ont réussi à avancer et à synchroniser l'ovulation chez la truite fario par une injection d'extraits d'hormones hypophysaires. Bhowmick *et al.* (1987) ont utilisé plusieurs hormones dans l'hypophysation de la carpe, du poisson-chat et du saumon dans le but d'induire la ponte. Ces expériences ont conduit à des résultats positifs qui étaient pratiquement identiques chez ces différents poissons. Toutefois, les expériences de ce genre effectuées par les mêmes auteurs sur d'autres poissons comme *Channa.sp*, *T. mossambica*, et *Motopterus chitola* aboutirent à des résultats négatifs. Récemment, Donovan et Abraham (1987) ont réussi à inhiber la spermatogénèse chez les tilapias par une drogue anticonceptionnelle, le dibromochloropropane.

Parfois la température et les hormones agissent en synergie comme c'est le cas chez les cyprinidés. Chez la carpe (Barnabé, 1986) par exemple, le début de la gamétogénèse commence aussitôt après la ponte au printemps et généralement elle est achevée en automne, mais une chute de température bloque la maturation des follicules et l'ovulation, qui n'auront lieu qu'au printemps suivant, à moins de pratiquer des injections hormonales. Le succès de l'hypophysation exige des températures supérieures à 19°C. En captivité, la carpe exige des températures comprises entre 20 et 24°C pour que la gamétogénèse ait lieu, la température optimale pour sa reproduction étant de 25°C. Dans le même ordre d'idées, Silva et Godinho (1983) ont réussi à accélérer la spermatogénèse de *T. nilotica* mâle en élevant la

¹ L'hypophysation est une pratique consistant à injecter des hormones hypophysaires pour déclencher une phase du cycle reproducteur qui ne se reproduit pas naturellement dans le cas des poissons en captivité (carpe) ou se trouvant dans un environnement écologique inadéquat comme l'absence de frayères (brochet) ou encore dans de l'eau courante à basse température

température de l'eau à 25°C. Ils ont ainsi évalué à sept (7) jours, la durée minimale de la spermatogénèse depuis les spermatocytes primaires jusqu'aux spermatozoïdes¹.

Cependant, ces pratiques ne sont pas fréquentes chez les tilapias et encore moins chez *T. nilotica*. Étant donné que, le seuil de température de reproduction chez *T. nilotica* se situe autour de 20°C alors que celle optimale oscille autour de 31°C, et tenant compte des variations de température de l'eau des étangs de la station de Rwasave (de 19°C à 28°C); nous nous sommes demandés quels effets, des températures de 19°C, 23°C et 28°C pourraient avoir sur le processus d'ovogénèse; et s'il était possible, en faisant intervenir un autre facteur de l'environnement et en maintenant *T. nilotica* à des basses températures, de stimuler le développement des gonades sans pour autant faire appel aux moyens très coûteux comme les injections d'hormones. Ce facteur possiblement important dans le contrôle de la reproduction est la lumière.

La gamétogénèse des salmonidés est influencée par la photopériode. Chessus (cité dans Billard et Breton, 1984) a réussi à moduler la reproduction chez quatre (4) souches différentes de truites arc-en-ciel en manipulant la durée du jour. De plus, il a été démontré que l'intensité lumineuse et la photopériode influencent les processus physiologiques liés à la maturation chez certains poissons (Balarin et Haller, 1982). Cridland (1962) a suggéré de prolonger la photopériode pour augmenter l'activité de reproduction. En 1986, Stickney rapporte que la photopériode ne semble pas jouer un rôle important dans la ponte chez les tilapias contrairement à Schwanck (1987) qui affirme avoir établi une relation entre la périodicité lunaire et la régulation du cycle de reproduction chez *T. mariae*. Il a en effet constaté que la lune favorise le développement des ovaires pendant les phases les plus critiques. A cette égard, nous pouvons faire l'hypothèse qu'une illumination

¹c.à.d. présence des spermatozoïdes dans le sperme et dans les tubes seminifères.

nocturne aurait un effet plus important sur l'amplification des ovaires, que la simple prolongation de la période lumineuse du jour.

Dans une étude sur les silures (*Heteropneustes fossilis*), Sundararaj et Vasal (1976) ont montré que des manipulations photothermiques peuvent accélérer l'amplification de l'ovaire. Ainsi, même à des températures aussi basses que 15°C, un éclairage nocturne a un effet sur le développement de la gonade. Taylor (1984) a également trouvé que la lune pouvait jouer un rôle de synchronisation au niveau de la reproduction des poissons. Des travaux de ce genre n'ont pas été effectués sur le *T. nilotica*, ce qui nous a poussé à donner une importance particulière au facteur d'illumination au cours de notre expérimentation sur le terrain.

Par ailleurs, la plupart des auteurs (Chaet et McConnaughy, 1959; Himmelman, 1979) attribuent la synchronisation du cycle de reproduction à des facteurs externes intervenant au niveau de facteurs intrinsèques. Ici, on se réfère surtout à la production des gamètes. La figure 4 présente le cadre théorique des facteurs de régulation de la reproduction chez les organismes aquatiques.

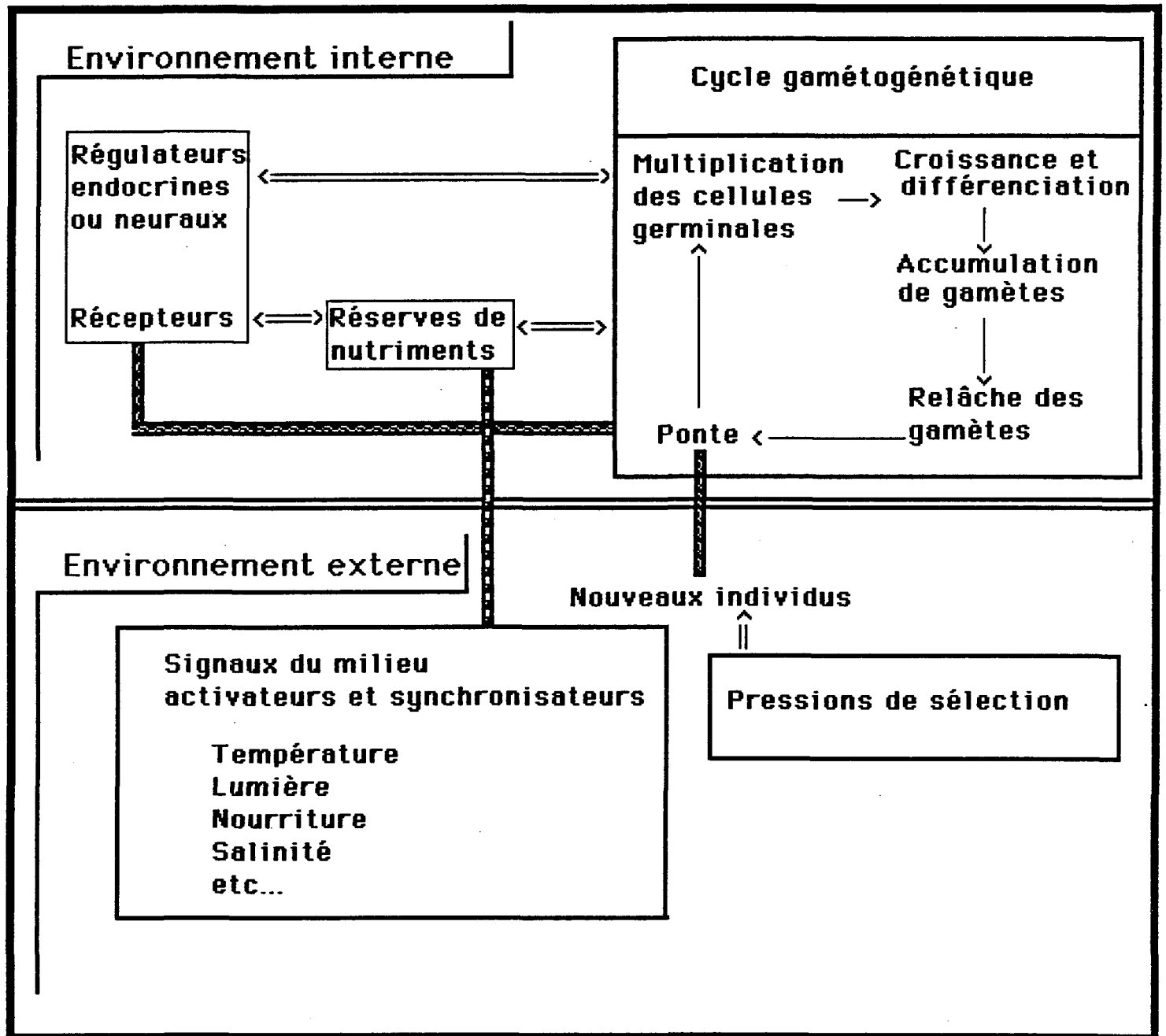


Figure 4. Cadre théorique des facteurs de régulation de la reproduction chez les organismes aquatiques.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés aux mécanismes de contrôle de l'ovogénèse chez *T. nilotica* et nous avons tenu compte de deux (2) facteurs à savoir la température et l'illumination nocturne. Nous avons poursuivi deux (2) objectifs:

a) le premier a été de déterminer l'effet d'illumination nocturne de 4 heures par nuit pendant sept (7) jours successifs sur l'ovogénèse de *Tilapia nilotica* élevé en happas, en milieu naturel.

b) le deuxième a été de déterminer l'effet de trois (3) températures différentes (19°C; 23°C; 28°C) sur le développement de l'ovaire de *Tilapia nilotica* élevé sous conditions contrôlées.

Dans les deux (2) cas, les changements au niveau des différents paramètres gonadiques comme l'IGS et la maturation des ovocytes nous ont respectivement donnés des informations sur l'amplification des gonades et l'avancement de la gamétogénèse, et nous ont permis de proposer une interprétation de la régulation de l'ovogénèse chez ces poissons.

CHAPITRE III

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Une partie des expériences a été effectuée sur le terrain, au laboratoire expérimental de Rwasave au Rwanda (fig. 5), un pays situé en Afrique centrale près de l'Equateur. L'autre partie s'est déroulée à l'aquiculture de l'Université du Québec à Chicoutimi (Canada).

3.1 EFFET DE L'ILLUMINATION NOCTURNE SUR L'OVOGÉNÈSE

3.1.1 Site d'expérience et caractéristiques biophysiques.

Les expériences sur le terrain ont eu lieu dans une station de recherche en pisciculture sise dans la petite localité de Rwasave. Cette station piscicole est rattachée au Département de la Faculté d'Agronomie de l'Université Nationale du Rwanda (UNR) à Butare. Elle a comme site proprement dit un grand marais situé dans la commune de Ngoma, à environ 2,5 km du chef lieu de préfecture de Butare. Ce marais est situé à une altitude de 1700 m et possède une pluviométrie moyenne annuelle de 1200 mm; 31,2°C de température moyenne annuelle de l'air; 20,5°C de température moyenne de l'eau à 25 cm de la surface et de 66 % d'humidité relative moyenne de l'air (valeurs enregistrées en 1987).

Les conditions climatiques dans lesquelles nous avons travaillé ont été synthétisées dans le tableau 1.

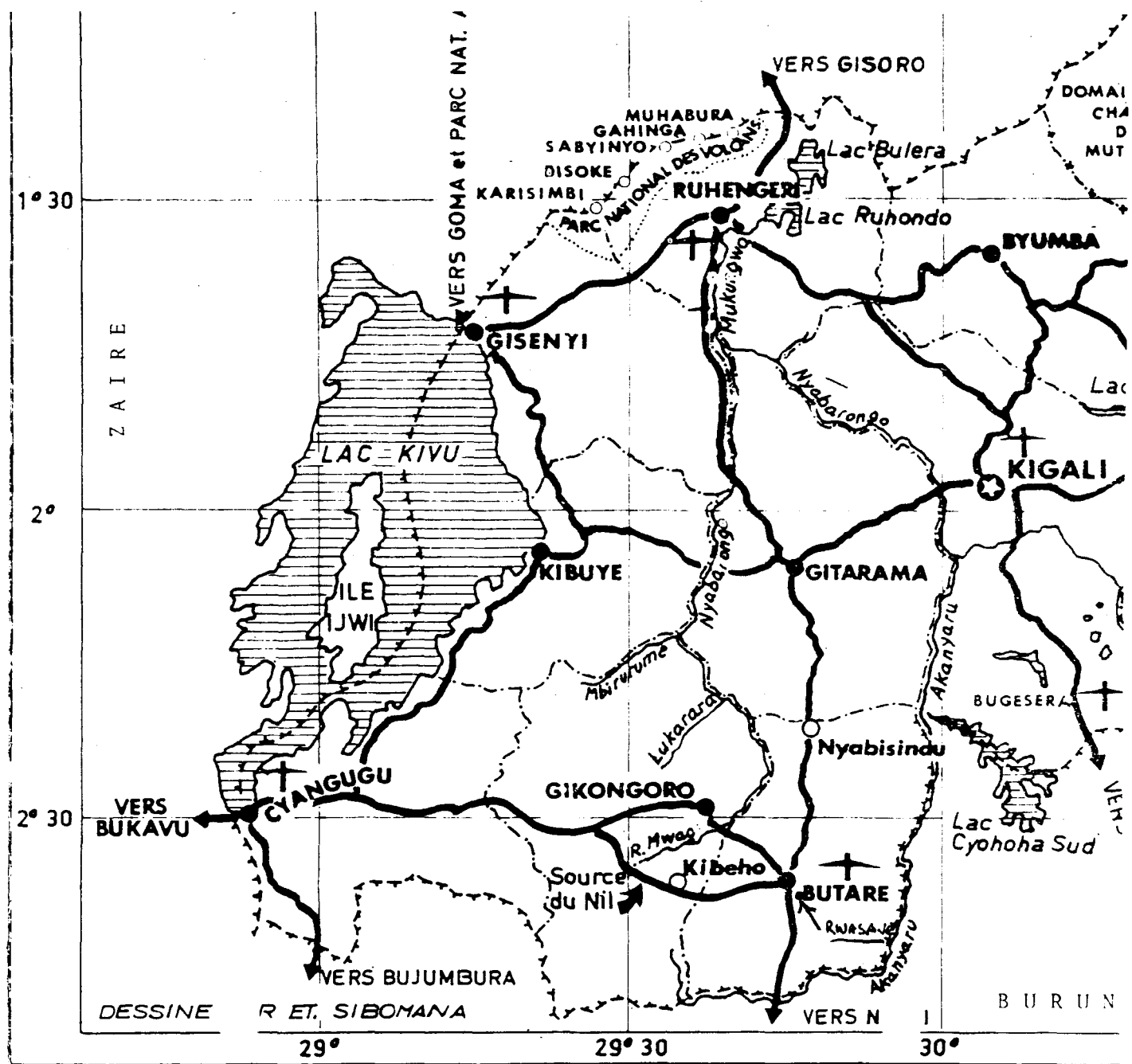


Figure 5. Carte du Rwanda .

TABLEAU 1

Caractéristiques climatiques à la station piscicole de Rwasave
(valeurs moyennes enregistrées en 1988).

	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
Ensoleillement (E / m ² / jour)	23,86	21,94	27,84	26,89	28,29
Pluies (mm)	0,67	0,97	0,20	0,64	0,47
Vent (km/h)	3,14	3,07	3,43	3,24	3,57
Température maximale (°C)	28,54	27,78	28,23	27,90	28,37
Température minimale (°C)	12,48	12,51	12,3	12,42	12,9

3.1.2 Matériel

Les étangs

Il a été mis à notre disposition deux (2) étangs dont chacun possédait un canal d'alimentation et un moine d'évacuation en eau individuels. L'un des étangs contenait un certain nombre de géniteurs femelles parmi lesquels ont été choisies celles destinées à l'expérimentation. Cet étang avait une profondeur moyenne de 70 cm et totalisait une superficie de 1,6 ares¹. L'autre étang était destiné à recevoir les happas contenant les femelles choisies pour l'expérimentation et avait une profondeur moyenne de 1 m et une superficie totale de 15 ares.

L'eau

La qualité de l'eau de l'étang d'expérimentation était déterminée, avant de commencer chaque expérience. La température de l'eau était mesurée grâce à un thermomètre ordinaire ou à des thermomètres à eau. L'oxygène dissous était évalué à l'aide d'un oxymètre du type YSI Model/57 (Yellow Springs instrument, OHIO, USA). Cet appareil peut également mesurer la température. Le pH était mesuré avec un pHmètre du type digital ionalyser/501 (Orion research). La valeur de la turbidité était déterminée par le disque de Secchi. Enfin, l'alcalinité a été mesurée par titrage et exprimée en équivalent de carbonates de calcium (CaCO_3) retrouvée dans l'eau.

Le tableau 2 nous montre les variations des caractéristiques physico-chimiques de l'eau avant la mise en charge des happas pour chaque expérience.

¹Un are: un décamètre au carré

TABLEAU 2

Caractéristiques physico-chimiques de l'eau au début de chaque expérience
(Valeurs ponctuelles).

	Expérience 1	Expérience 2	Expérience 3
Température	20,8	21,5	21,5
pH	5,9	6,1	5,9
Oxygène dissous (mg/l)	2,6	2,7	2,9
Turbidité (mg/l)	25	28	27
Alcalinité (mg/l)	23,5	24	23,4

Les poissons

Les tilapias utilisés étaient de l'espèce *T. nilotica*, un poisson généralement élevé au Rwanda. Ces poissons étaient tous des géniteurs femelles à l'exception de quelques mâles introduits dans les happas lors de la dernière expérience.

Les happas

Les happas étaient disposés pour recevoir des poissons à expérimenter. L'un deux (2) accueillait un groupe de tilapias témoins et l'autre un groupe de tilapias à illuminer. Chaque happas était constitué de trois parties: une première immergée ayant la forme d'une poche en filet constituait le volume d'élevage et une deuxième émergée formait la structure de surface du happas. Cette structure de forme carrée se réduisait à quelques flotteurs en bois reliés entre eux par des clous. La troisième partie constituait un système d'ancrage fait par du fer à béton attaché au fond du filet et permettait de fixer les happas dans une zone bien limitée.

L'alimentation

La nourriture naturelle de ces poissons mis en charge était constituée de plancton et plus particulièrement de zooplancton et très peu de phytoplancton. En complément à leurs besoins alimentaires, une nourriture artificielle constituée soit de son de riz, soit de vinasse, était ajoutée dans les happas.

Le matériel d'éclairage

Le montage pour l'illumination nocturne était composé d'une batterie de 12 volts, d'une lampe nautique, d'une fiche électrique et d'un interrupteur. Des ampoules de 25 watts étaient utilisées à cette fin.

Les thermomètres

Un thermomètre à maxima et à minima était placé dans chaque happas pour permettre le prélèvement régulier de la température maximale et minimale. Un thermomètre ordinaire était utilisé juste avant la mise en charge des happas.

Le matériel d'échantillonnage

Une épuisette et deux (2) sceaux étaient utilisés lors de l'échantillonnage. De grands bassins, des paniers et un grand filet étaient nécessaires pour la capture des femelles dans l'étang des géniteurs. Une petite balance électronique du type Mettler PE 360 servait à mesurer le poids des poissons et une balance analytique du type Mettler AE 100 était utilisée pour peser les organes prélevés après dissection des femelles. Enfin, une table graduée servait à mesurer la longueur des femelles échantillonnées. De la formaline en solution aqueuse de 10 % était utilisée pour fixer les organes prélevés.

3.1.3 Méthodologie expérimentale

3.1.3.1 Dispositif expérimental

Comme il apparaît sur la figure 6, le dispositif expérimental comprenait deux (2) happas reliés entre eux par deux (2) longues cordes visant à réduire le mouvement. Les deux cordes étaient ensuite attachées parallèlement des deux (2) côtés opposés de l'étang par quatre (4) piliers en bois. Ce dispositif comprenait également un système d'éclairage. De plus, des précautions ont été prises en recouvrant les happas de filets fins et blancs visant à empêcher les poissons de s'évader.



Figure 6. Disposition des happas dans l'étang expérimental à Rwasave, Rwanda.

3.1.3.2 Capture des géniteurs et détermination du sexe

La capture des géniteurs

Au début de chaque expérience, l'échantillonnage des poissons consistait en la capture des géniteurs femelles pris au moyen d'une seine avec laquelle les ouvriers balayaient l'étang. Les poissons ainsi capturés étaient récupérés dans les paniers maillés, placés à leur tour dans de grands sceaux contenant de l'eau. Les ouvriers passaient le filet dans l'étang autant de fois qu'il était nécessaire pour avoir le nombre voulu de femelles.

La détermination du sexe

Avant chaque expérience, tant sur le terrain qu'en laboratoire, une vérification des sexes des géniteurs échantillonnés était faite. Cependant, la classification des sexes à partir des caractères externes n'est pas toujours chose facile chez les poissons. Chez les cichlidés, on distingue les mâles des femelles par un examen des orifices génito-urinaires (fig. 7). D'après Bard *et al.* (1974), les mâles possèdent deux orifices génitaux à savoir: l'anus; l'urètre et le spermiducte réduits à un point unique. Chez les femelles, on observe trois (3) orifices nettement distincts: l'anus, l'oviducte, l'urètre. Par ailleurs, à l'approche de la période de frai, l'ouverture génitale des femelles se prolonge en un ovipositeur court et conique (De Bont, 1950). De plus, pendant la période nuptiale, on observe chez les mâles que la surface ventrale de leur corps ainsi que leurs nageoires anales, dorsales et pelviennes sont noires, alors que leur tête et leur front sont recouverts de taches rouges, phénomènes que l'on constate rarement chez les femelles.

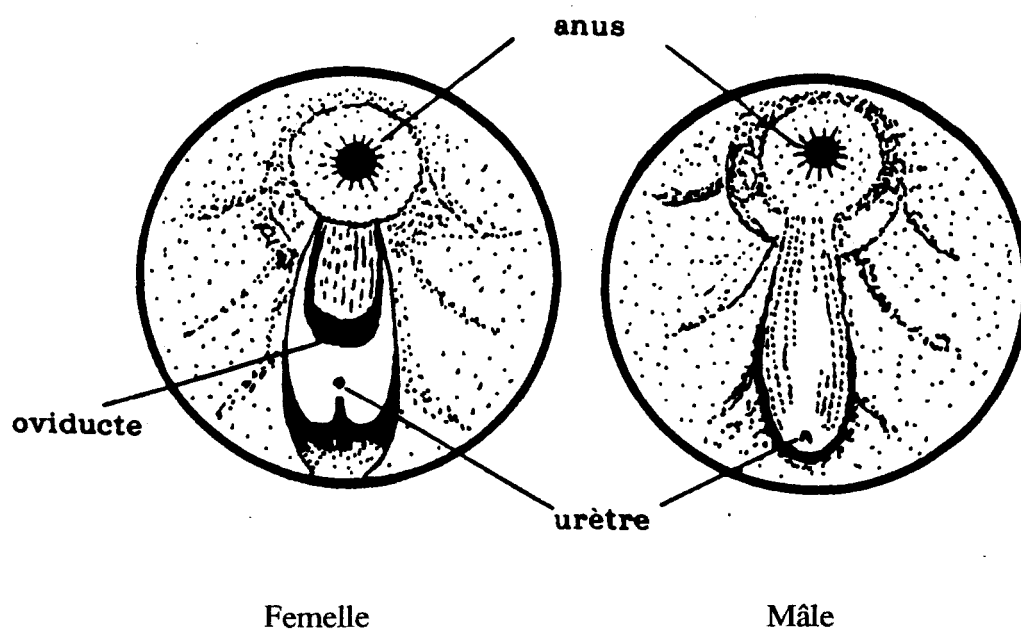


Figure 7. Orifices génito-urinaires d'un mâle et d'une femelle chez *Tilapia nilotica* (Linné).

3.1.3.3 Déroulement et description des expériences

Sur le terrain, la durée des travaux a été de quatre (4) mois et les tilapias ont été regroupés selon trois (3) grandes expériences avec comme objectif de moduler la régulation de l'ovogénèse par l'illumination nocturne sous des conditions d'élevage en happas. Au début de chaque expérience, un nombre déterminé de géniteurs femelles, déjà échantillonnés, était réparti comme suit:

- une petite quantité d'entre elles (N=20) constituait un échantillon de référence ou échantillon R, permettant l'observation de l'état des gonades avant l'expérimentation proprement dite;
- le reste des femelles était placé dans deux (2) happas, l'un à titre témoin et l'autre à titre expérimental (soumis à l'illumination). Chaque happas recevait un nombre égal de poissons préalablement pesés.

Lors de la première expérience (expérience 1), l'échantillonnage de référence comptait 20 poissons et 100 autres femelles ont été réparties en nombre égal dans chacun des happas. Le temps d'acclimatation a duré trois (3) jours. Par après, un groupe de géniteurs a été soumis à l'illumination nocturne de deux (2) heures (de 00 h à 2 h du matin) pendant quatre (4) jours successifs. Ensuite, nous avons procédé au relevé des échantillons dans les happas: le premier échantillonnage a eu lieu le huitième jour à compter du début de l'expérience (temps 0), le deuxième et le troisième ont été effectués respectivement le quinzième et le vingt deuxième jours à compter du temps 0. Chaque échantillonnage comptait deux échantillons de 15 femelles chacun.

Dans le cas de la deuxième expérience (expérience 2), 110 femelles ont été utilisées. L'échantillon de référence étant constitué de 20 poissons, 90 femelles ont été réparties en nombre égal dans les happas. La période d'acclimatation est restée la même (3

jours) tandis que celle d'illumination nocturne pour le groupe expérimental s'est étendue sur sept (7) jours à raison de quatre (4) heures par nuit (de 00 h à 4 h du matin). Le premier échantillonnage a eu lieu le jour suivant la période d'illumination. Le dix-huitième jour à compter du temps 0, un dernier échantillonnage a été effectué et chaque fois l'échantillon comptait 20 poissons.

Dans la troisième série d'expérience (expérience 3) nous disposions de 80 femelles; 20 d'entre elles ont constituées l'échantillon de référence et chaque happas a reçu une mise en charge de 30 poissons. La période d'acclimatation est demeurée de trois (3) jours et celle d'illumination nocturne a été maintenue à sept (7) à raison de quatre (4) heures par nuit comme lors de l'expérience précédente. Soulignons qu'au cinquième jour à compter du temps 0, trois (3) mâles de poids moyen de 200 g ont été respectivement introduits dans chacun des deux happas, en vue de vérifier s'il y aurait ponte et fécondation. Cette expérience a duré 18 jours et un seul échantillonnage a été effectué.

Pour les trois (3) expériences décrites ci-dessus, les échantillonnages furent effectués ainsi. Ceci consistait à mettre à découvert une partie du happas en pliant l'extrémité du filet blanc tout en introduisant l'épuisette pour attraper les poissons. Ils étaient récupérés dans un sceau à moitié rempli d'eau, puis pesés, mesurés et disséqués. Leurs gonades étaient prélevées pour être pesées, et fixées à la formaline à 10 % pour fin d'analyse microscopique.

Quant à l'alimentation, tous les géniteurs recevaient, en plus de la nourriture naturelle présente dans l'eau de l'étang, du son de riz ou du vinasse, une fois par jour vers 10 h. La dose journalière était de 4 % de la biomasse de chaque happas. La température de l'eau de chaque happas était enregistrée une fois par jour à 10 h. Le tableau 3 nous donne un résumé succinct des trois (3) expériences réalisées sur le terrain.

TABLEAU 3

Tableau récapitulatif des trois expériences effectuées sur le terrain

	Expérience 1	Expérience 2	Expérience 3
Nombre de géniteurs Echantillon R	20	20	20
Nombre de géniteurs Happas témoin	50	45	30
Nombre de géniteurs Happas illuminé	50	45	30
Durée d'illumination	2 h/4 jours	4 h/7 jours	4 h/7 jours
Durée d'acclimatation (jours)	3	3	3
Echantionnage (s)	3	2	1
Durée d'expérience (jours)	22	18	18

3.1.3.4 Détermination de l'indice gonadosomatique (IGS)

Avant de procéder aux analyses microscopiques des organes prélevés, il a été jugé indispensable de déterminer l'indice gonadosomatique (IGS) de géniteurs femelles soumis aux expériences précédemment réalisées. A cet effet, la méthode utilisée est celle de Magniez (1983) et Himmelman (1980) qui la définissent comme étant le rapport entre le poids humide (5 min sur le papier buvard) d'un organe et le poids total humide (15 min sur le papier buvard) de l'animal. Signalons que cette méthode a été choisie parmi beaucoup d'autres capables d'estimer l'IGS d'un individu, entre autres celles préconisées par les auteurs comme Giese *et al.* (1957); Pearse (1966; 1968); Lewis (1958); Fuji (1960) et Gonor (1973).

Par la suite, des analyses statistiques sur l'IGS ont été effectués dans le but de comparer le développement des gonades des géniteurs femelles du happas illuminé avec ceux du happas témoin et ceux de l'échantillon R. Pour les analyses microscopiques, les tissus fixés ont été préparés selon les méthodes standards.

3.1.3.5 Analyses microscopiques

Pour être examinés au microscope, les organes prélevés doivent être déshydratés, enrobés, sectionnés, réhydratés et les tissus colorés.

La déshydratation et l'enrobage des tissus

Les tissus déjà fixés à la formaline (10 %) ont été d'abord lavés dans l'eau courante pendant une heure pour enlever tout excès de fixateur, puis déshydratés en les faisant successivement passer dans les bains (30 min chacun) d'alcool à concentration croissante (30 %; 50 %; 70 %; 90 %; 100 %). Par la suite, ces mêmes tissus ont subi deux (2) bains d'histoclear (National Diagnostics, Manville, New Jersey) durant 30 min. Par

après, ces tissus furent trempés dans un bain d'huile de cèdre:paraffine (1:1) et placés dans le four à 57°C pendant 24 heures; ils ont ensuite été transférés dans un bain de paraffine à 100 % dans le four à 57°C durant une heure. Enfin, les tissus ont subi une dernière infiltration à la paraffine dans le four à 57°C durant une heure et demi.

Les tissus enrobés séparément à 57°C, ont été durcis par refroidissement dans l'eau glacée. Ces blocs durs ainsi obtenus ont été coupés à l'aide d'un microtome à main de type American optical réglé à 8 µm. Les sections étaient ensuite montées sur lames à l'aide d'albumine. Enfin, les lames étaient séchées avant de subir les procédures de réhydratation et de coloration.

La réhydratation des tissus

Les lames portant les sections ont d'abord subi trois (3) bains successifs d'histoclear durant deux (2) min chacun pour enlever la paraffine. Elles ont été ensuite passées dans des bains (2 min chacun) d'alcools à concentration décroissante: 100 %; 95 %; 70 %; 50 %; 30 %. Enfin les mêmes lames ont été rincées dans l'eau distillée pendant deux (2) min immédiatement avant d'être colorées.

Les méthodes de coloration

Deux (2) méthodes de colorations ont été utilisées: la méthode standard du Trichrome de Masson (Gabe, 1968) dont le but est de renforcer le contraste naturel et de rendre plus évident les différents constituants cellulaires, tissulaires et les substances extrinsèques. La méthode histochimique de Himes et Moriber (1956) qui consiste à faire passer les organes prélevés dans une série de produits chimiques et permet de déterminer quantitativement les substances de réserves contenues dans les oeufs telles que les protéines, les lipides, les glucides et autres.

Les analyses morphométriques

Après coloration, les lames ont été observées au microscope optique et au stéréomicroscope et des photos ont été prises. Le film kodak (noir et blanc 400 ASA) et le film Kodak (1000 ASA) ont été utilisés à cette fin. Des photographies ont été utilisés pour les analyses morphométriques.

En pratique, l'analyse morphométrique a consisté à appliquer des analyses statistiques sur les données obtenues par comptage du nombre et mesure des diamètres des ovocytes contenus dans une section donnée de l'ovaire. L'observation était basée sur 14 à 17 individus de chacun des échantillons effectués. Chaque section de l'ovaire comprenait 7 à 26 ovocytes suivant l'état de maturation de la gonade et le diamètre moyen a été calculé pour chaque échantillon. Nous avons formé des classes de taille et calculé le pourcentage (%) de cellules représentées dans chaque classe. Les résultats de ces analyses permettent de mieux mettre en évidence les changements chez les groupes expérimentaux. La figure 8 présente le protocole de préparation des tissus pour les besoins d'analyse.

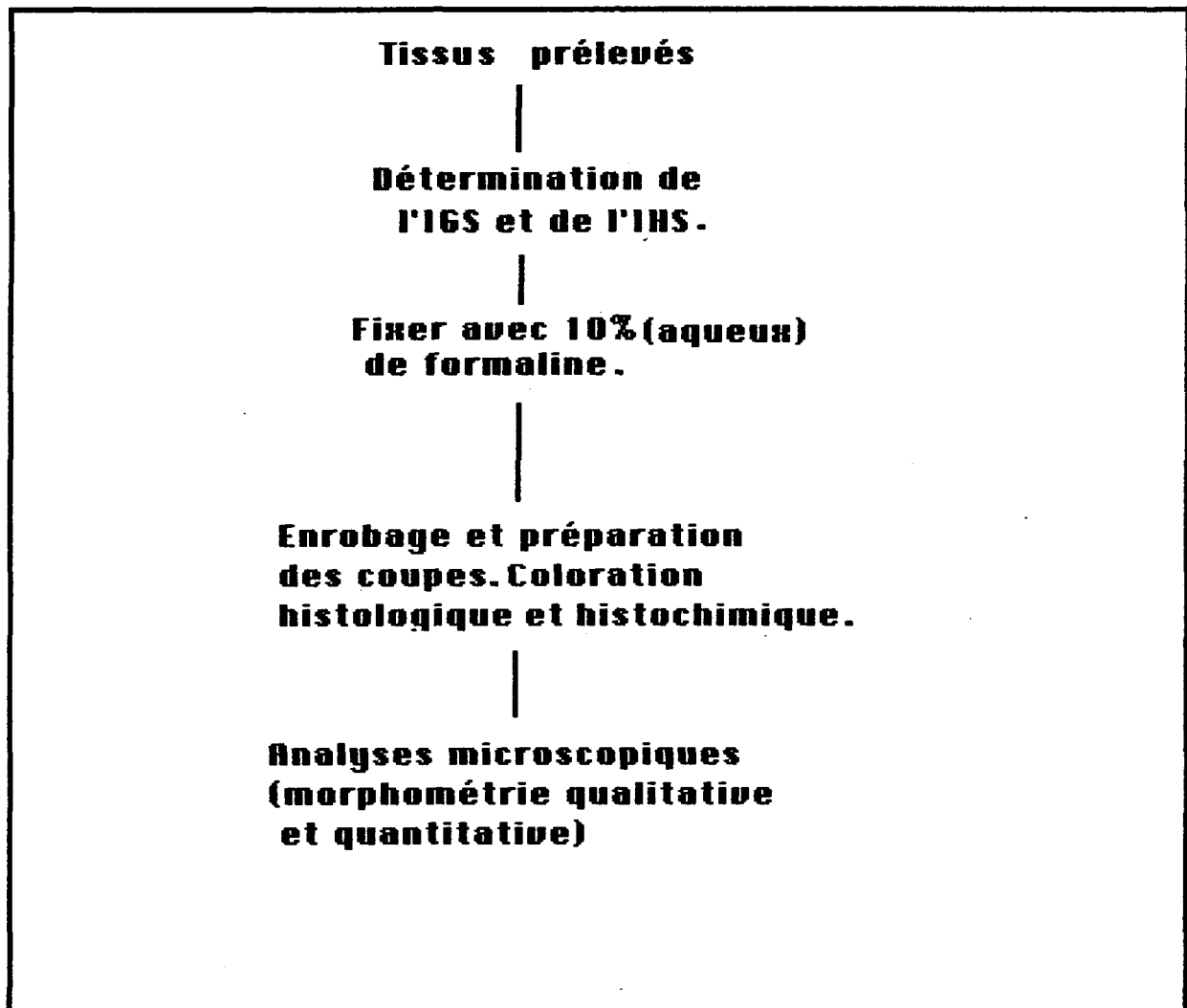


Figure 8. Protocole pour la préparation des tissus.

3.2 EFFET DE LA TEMPÉRATURE SUR L'OVOGÉNÈSE

D'autres expériences ont été effectuées en laboratoire d'aquiculture de l'UQAC pour compléter le travail. En effet, la température ne pouvant être contrôlée sur le terrain, le seul paramètre considéré y était l'illumination nocturne.

3.2.1 Matériel

Le milieu d'expérience

L'expérience en laboratoire a eu lieu dans l'aquiculture expérimentale de l'UQAC, dans une petite chambre à la température constante de 19°C.

Les poissons

Les poissons utilisés étaient de l'espèce *Tilapia nilotica* et provenaient de Aquaquest (Haslett, Michigan, USA). Ces tilapias ont été obtenus sous forme d'alevins et ont été élevés dans un bassin situé dans le laboratoire de Biologie du Développement à une température de 22°C jusqu'à ce qu'ils atteignent la taille de maturité sexuelle.

L'eau

L'eau provenait de l'alimentation générale de la ville de Chicoutimi. Comme elle était trop froide, elle devait être chauffée au moyen de thermostats.

Les bassins

En plus du grand aquarium contenant des géniteurs mâles et femelles, trois petits bassins ont été utilisés pour les trois expériences effectuées sous les conditions de températures différentes.

Les aliments

Tous ces géniteurs mâles et femelles étaient nourris artificiellement à la moulée de truites, connue sous le nom d'Atlantide (moulée # 0,5 GR, Nutribec, Québec).

Le thermomètre

La température de l'eau des bassins était vérifiée régulièrement avec un thermomètre standard.

Le pHmètre

Le pH de l'eau des aquariums était mesuré deux (2) fois par semaine au moyen d'un pHmètre de type Fisher Accumet 825 MP (Fisher Scientifics, Montréal). Pendant toute la période d'élevage et d'expérimentation, le pH s'est maintenu autour de 7.

Le spectrophotomètre.

L'excès d'ammoniaque dans l'eau étant nocif aux tilapias, la concentration de ce produit était vérifié régulièrement au moyen de la méthode calorimétrique standard avec un Spectronic 21 MV (B+L, Fisher Scientific., Montréal).

Les filtres

L'aération des aquariums était assurée par des pompes à air qui actionnaient le système de filtration. Ce dernier était composé de charbon activé, de laine minérale et d'un filtreur.

3.2.2 Méthodologie expérimentale

Comme sur le terrain, on a procédé au sexage des géniteurs élevés à 22°C, pour ne retenir que 45 femelles. Elles ont été placées dans des bassins à 19°C pendant un mois, dans le but d'amener un état de référence au niveau de la gamétogénèse. Pour déterminer l'effet de la température sur la reproduction de *T. nilotica*, ces géniteurs ont été alors répartis en trois (3) groupes expérimentaux de 15 femelles chacun et soumis à des conditions d'élevage aux températures suivantes:

1) le premier groupe de géniteurs est resté à 19°C et a été considéré comme témoin, en référence à la situation des étangs de Rwasave où la température la plus basse variait autour de 19°C;

2) le deuxième groupe de femelles a été directement transféré de l'aquarium de 19°C à celui chauffé à 23°C;

3) quant au troisième groupe de femelles, elles ont été placées pendant 30 minutes à 23°C puis transférées subséquemment à 28°C.

Pour ces expériences, la température était régulièrement vérifiée à raison de deux (2) fois par jour. Au bout de 15 jours, les 45 femelles ont été prélevées et disséquées. Avant chaque dissection, la longueur et le poids de chaque poisson étaient notés. Après la dissection, les gonades furent prélevées et pesées. La majeure partie de la gonade a été fixée dans la formaline à 10 % pour subir ultérieurement les mêmes traitements et analyses histologiques, histochimiques et morphométriques, que ceux subis par les échantillons prélevés sur le terrain.

Une petite partie de la gonade fut placée dans la glutaraldéhyde (3,5 % dans le tampon cacodylate à 0,2 M. pH de 7,2 à la température de la pièce 22°C) pendant environ 6 heures. Ensuite, ces échantillons ont subi trois lavages (20 à 30 min chaque bain) de tampon cacodylate, puis imbibés dans une série de concentrations croissantes d'alcool et enrobés dans un mélange Spurr (Spurr, Analychem Corp., Ont.-Canada). Les sections minces furent coupées au moyen d'un ultramicrotome (Reichert O M U2) à des épaisseurs d'environ 200 à 500 nm (coupes ultraminces). Les coupes ont été montées sur treillis métalliques pour être contrastées avec l'acétate d'uranyl dans l'éthanol à 95 % pendant 20 min, suivi d'un traitement au citrate de plomb pendant 6 minutes (méthode de Reynolds, 1963). Enfin, les coupes ainsi préparées ont été examinées au microscope électronique de type Philips EM 201.

CHAPITRE IV

RÉSULTATS

4.1 EFFET DE L'ILLUMINATION NOCTURNE SUR L'OVOGÉNÈSE

4.1.1 Généralités

Comme il a été indiqué plus haut (tableau 3), les trois expériences effectuées sur le terrain ont porté sur un total de 310 poissons. C'est ainsi que durant toute la période d'expérimentation, les observations générales suivantes ont été relevées:

1) sur un total de 120 géniteurs femelles de l'expérience 1, une perte de 5 individus répartie comme suit a été enregistrée:

- 2 poissons du happas témoin lors du premier échantillonnage

- 1 poisson " " " deuxième "

- 1 " " " troisième "

- 1 " du happas illuminé lors du troisième échantillonnage;

2) durant les deux (2) autres expériences, aucune perte ne fut observée sur le nombre restant de 190 poissons;

3) concernant la nourriture quotidienne distribuée une fois par jour, il fut observé que les poissons du happas soumis à l'illumination nocturne étaient plus voraces que ceux du happas témoin. En effet, on pouvait voir ceux du premier happas monter à la surface de l'eau pour s'alimenter;

4) durant toute la période d'illumination, les poissons du happas témoin restaient calmes alors que ceux du happas expérimental étaient plus nerveux et sautaient davantage;

5) lors de la dissection des géniteurs femelles de l'échantillon de référence, on a généralement constaté l'absence de synchronisme dans l'ovogénèse de telle sorte que ces

femelles portaient des oeufs à des stades de développement différents. Il fut noté cependant que l'ovogénèse semble être accélérée chez les femelles placées dans le happas illuminé;

6) à la fin de la troisième expérience, nous avons constaté que plusieurs femelles du happas illuminé étaient dans leur période d'incubation et que, malgré les précautions que nous avons prises, ces dernières crachaient les oeufs lors de l'échantillonnage et refusaient de les reprendre;

7) enfin, une attention particulière a été portée sur l'enregistrement de la température de l'eau de l'étang où se trouvaient les happas. En effet, pendant une période de deux (2) jours (1 jour chaud et 1 jour froid) choisis au hasard, nous avons relevé les écarts de température suivants: au cours de la journée chaude, la température passait de 19,6 à 28°C (de 7 h à 16 h), pour chuter de 28 à 19,8°C (de 16 h à 7 h du matin), alors que les écarts variaient de 19,8 à 23,2°C au cours de la journée froide pour baisser, à partir de la soirée, de 23,2 à 19,6°C.

En conclusion aux observations énoncées ci-dessus et représentées graphiquement sur la figure 9, il serait possible d'affirmer que ces fluctuations de température de l'eau soient davantage ressenties par les tilapias pendant les journées chaudes, puisque le taux de variation de la température y est plus fort. Au cours de ces deux (2) jours, on a remarqué que la période de réchauffement s'étendait sur un temps de neuf (9) heures, tandis que le refroidissement nocturne s'effectuait pendant 15 heures. Durant les quatre (4) mois d'expérimentation sur le terrain, la température minimale de l'eau n'est pas descendue en dessous de 19°C tandis que celle maximale n'a pas excédé 28°C.

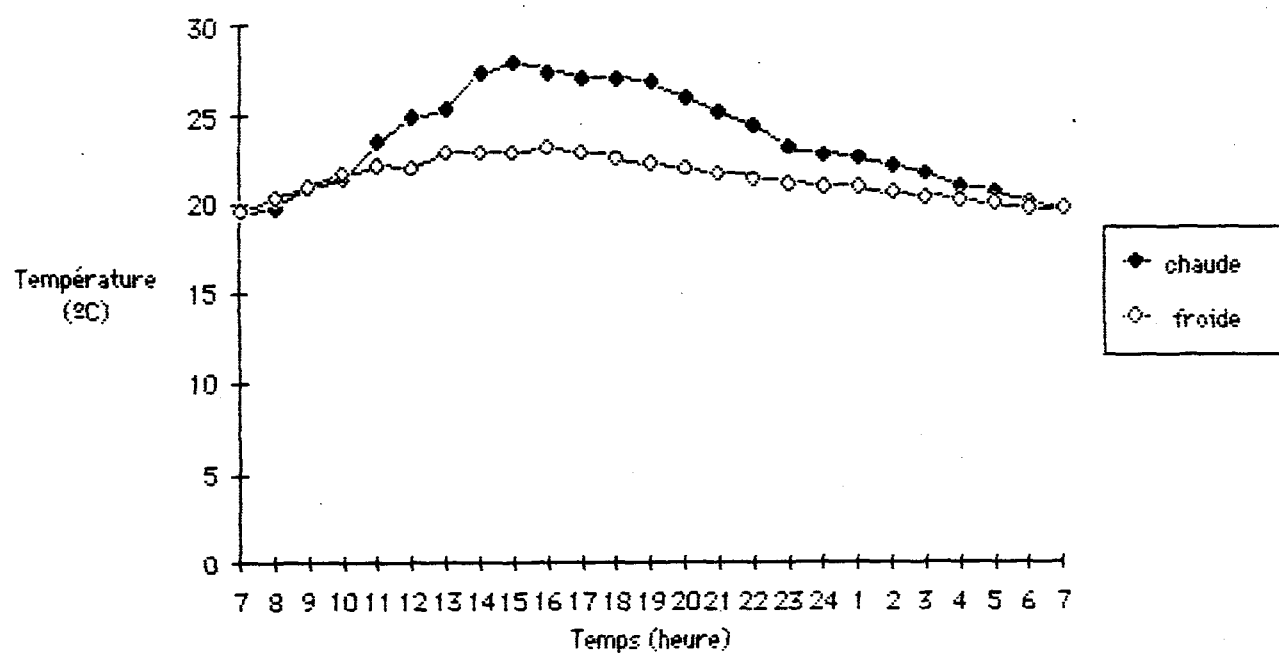


Figure 9. Variation journalière de la température dans l'étang expérimental durant une journée chaude (24 heures) et une froide (24 heures).

Dans ce qui suit, nous allons voir si ces changements de température (enregistrés à la station piscicole de Rwasave) agissent d'une façon ou d'une autre sur la reproduction de *T. nilotica* et si une illumination nocturne de quelques heures peut être une des solutions pouvant modifier l'ovogénèse chez les tilapias durant la saison sèche.

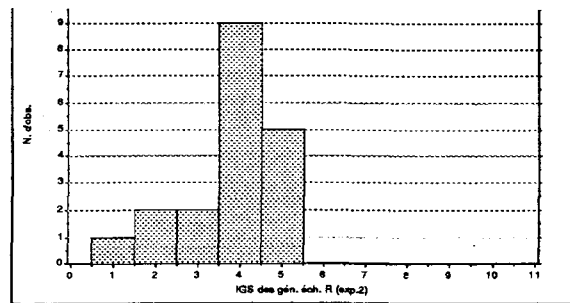
4.1.2 Indice gonadosomatique (IGS).

Comme il a déjà été indiqué, l'objectif était de déterminer et de mettre en évidence l'effet possible de l'illumination nocturne sur la gamétogénèse de *T. nilotica*. A cet effet, nous avons construit des histogrammes montrant les fréquences des distributions des IGS des géniteurs de chaque expérience. Cependant, étant donné que les résultats obtenus lors de l'expérience 1 (illumination de 4 jours) n'ont pas été significatifs, nous avons par la suite, surtout retenu et interprété ceux des expériences 2 et 3.

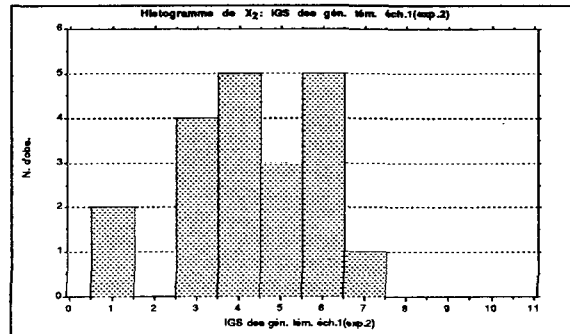
Les distributions des IGS des femelles de l'expérience 2 sont représentées par la figure 10 montrant la variation des classes avec une amplitude de 1 %. Au début de cette expérience la classe d'IGS dont le centre est 4 % est la plus représentée (9 gén.). On remarque qu'aucun géniteur du groupe de référence ne possède un IGS supérieur ou égal à 6 % (fig. 10 a).

Après 10 jours à compter du temps 0, les classes dont les centres sont respectivement 4 et 6 % sont les plus représentées chez les géniteurs témoins (5 gén.) tandis que chez les illuminés, la classe la plus représentée est celle dont le centre est 6 % (7 gén.). En effet, plus de la moitié des géniteurs (13) du happas illuminé possèdent un IGS de 6 % ou plus, alors qu'on en compte moins d'un tiers (6) dans le happas témoin (fig. 10 b et 10 c).

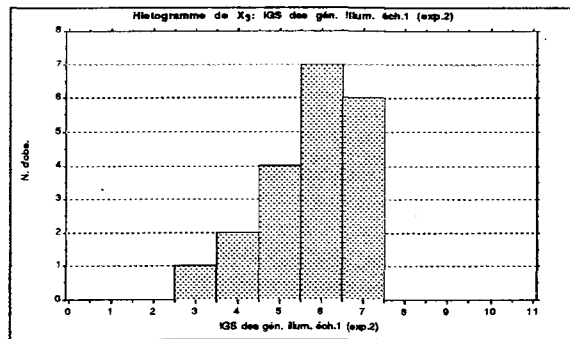
a. Groupe de référence (temps 0)
IGSm = 3,32 %



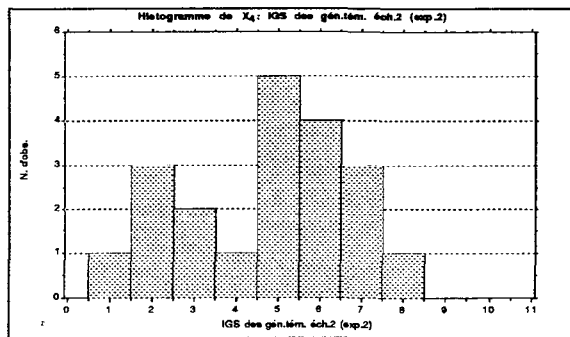
b. Groupe témoin (10 jours)
IGSm = 4,09 %



c. Groupe illuminé (10 jours)
IGSm = 5,80 %



d. Groupe témoin (18 jours)
IGSm = 4,88 %



e. Groupe illuminé (18 jours)
IGSm = 4,92 %

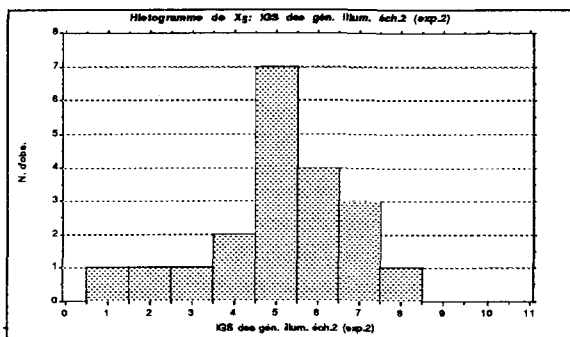


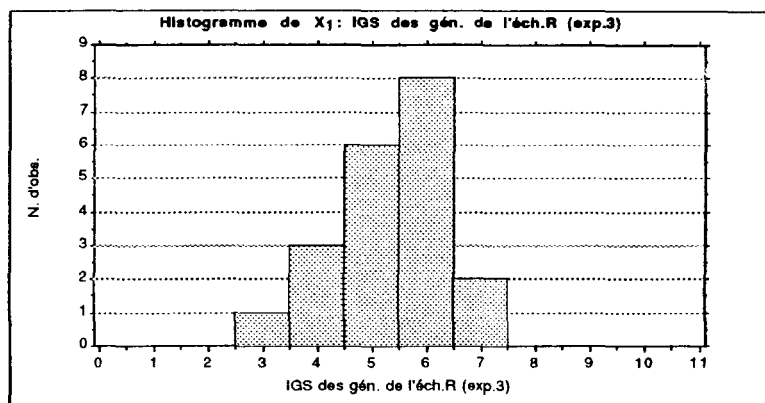
Figure 10. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des IGS des géniteurs femelles de l'expérience 2.

Après 18 jours, chez le groupe témoin, la classe dont le centre est 5 % est la mieux représentée chez les géniteurs témoins (5 gén.) et illuminés (7 gén.). En moyenne, nous pouvons observer une légère diminution d'IGS dans le groupe de géniteurs illuminés et une certaine augmentation dans le groupe de géniteurs témoins (fig. 10 d et 10 e).

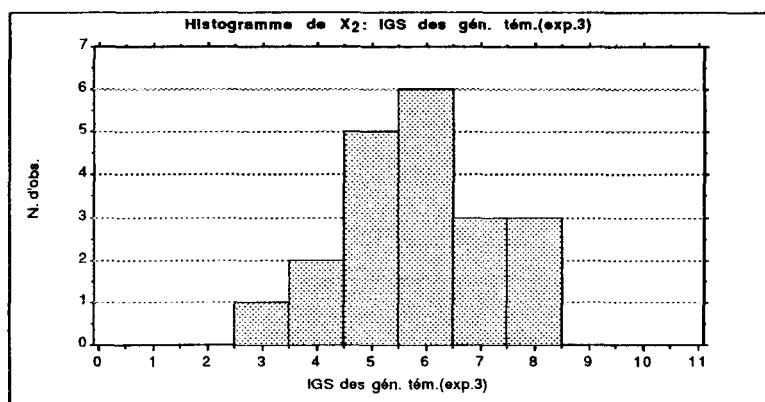
Les informations précédentes ont été complétées par les résultats de l'expérience 3 au début de laquelle on a pu constater que les IGS de l'échantillon R étaient plus élevés que ceux de l'expérience 2. La figure 11 montre les histogrammes mettant en évidence les fréquences des distributions des IGS des géniteurs; l'amplitude des classes étant 1 %. Au début de l'expérience 3, la classe d'IGS la plus représentée est celle dont le centre est de 6 % (5 gén.) (fig. 11 a). Après le dix-huitième jour, chez le groupe témoin, la classe dont le centre est 6 % est la plus représentée (6 gén.) tandis que chez le groupe illuminé, il s'agit de la classe dont le centre est 4 % (8 gén.) (fig. 11 b et 11 c). Bref, on n'enregistre aucun géniteur dans le happas illuminé ayant un IGS de 6 % ou plus.

Pour compléter les résultats précédents et pour faire ressortir l'effet de l'illumination nocturne sur la reproduction chez *T. nilotica*, nous avons par la suite procédé à la détermination et à l'analyse des données statistiques d'IGS. Des tests de signification entre l'IGSm des géniteurs du happas témoin, celui de ceux du happas illuminé et celui de ceux de l'échantillon R furent effectués pour chaque expérience.

a. Groupe de référence (temps 0)
IGSm = 5,40 %



b. Groupe témoin (18 jours)
IGSm = 5,63 %



c. Groupe illuminé (18 jours)
IGSm = 3,56 %

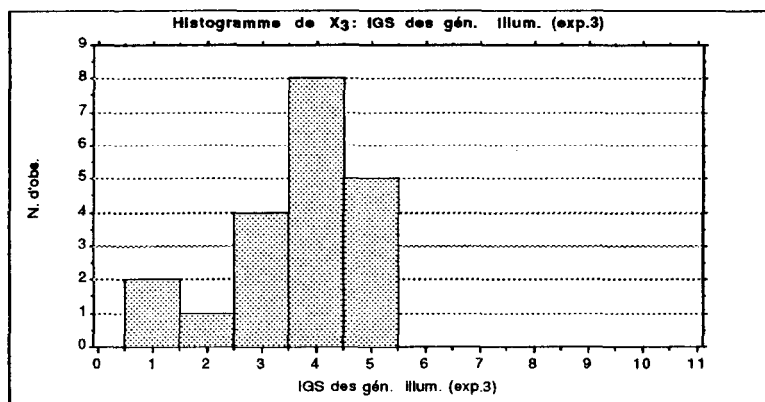


Figure 11. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des IGS des géniteurs femelles de l'expérience 3.

Lors de l'expérience 1, les données obtenues ne nous ont pas permis de tirer des conclusions significatives. L'IGS des géniteurs de l'échantillon R variait de 1,37 à 6,28 % avec un IGSm de 3,49 %. Lors du premier échantillonnage, l'IGS des géniteurs du happas expérimental variait de 1,26 à 6,73 % avec un IGSm de 3,87 % tandis que celui de ceux du happas témoin variait de 0,19 à 7,53 % avec un IGSm de 4,11 %. Après le deuxième échantillonnage, l'IGS des femelles du happas illuminé variait de 0,35 à 7,83 % avec un IGSm de 3,47 % alors que l'IGS de ceux du happas témoin était compris entre 0,28 et 8,50 % avec un IGSm de 4,22 %. Quant au dernier échantillonnage, nous avons constaté que l'IGS des poissons du happas expérimental prenait les valeurs comprises entre 0,43 et 8,80 % avec un IGSm de 4,47 % par rapport à celui de ceux du happas témoin qui variait de 2,16 à 8,03 % avec un IGSm de 5,37 %.

En ce qui concerne les résultats obtenus lors de l'expérience 1, aucune différence significative entre l'IGSm des géniteurs du groupe expérimental et celui de ceux du groupe témoin ne fut relevée d'après les tests paramétriques (test "t" de student) et non paramétriques (tests de médianes) de comparaison d'échantillons ($p < 0,05$).

Concernant l'expérience 2, la durée d'illumination a été allongée à quatre (4) heures par nuit pendant sept (7) jours successifs et les résultats ont été plus concluants. L'IGS des géniteurs de l'échantillon R variait de 0,19 à 5,11 % avec un IGSm de 3,32 %.

Après 10 jours à compter du temps 0, l'IGS des femelles du happas illuminé variait de 3,27 à 7,26 % avec un IGSm de 5,80 % tandis que celui des femelles du happas témoin variait de 1,16 à 6,86 % avec un IGSm de 4,09 %. Le test "t" de student effectué sur les IGSm nous donna des résultats suivants:

- 1) l'IGSm des femelles de l'échantillon R était significativement différent de celui de celles du groupe illuminé ($t_{exp} = 6,70 > t(38;0,01) = 2,71$);
- 2) l'IGSm des géniteurs de l'échantillon R ne différait pas significativement de celui de ceux du happas témoin ($t_{exp} = 1,66 < t(38;0,05) = 2,025$);
- 3) l'IGSm des poissons du happas illuminé était significativement différent de celui de ceux du happas témoin ($t_{exp} = 3,86 > t(38;0,01) = 2,71$).

Au deuxième échantillonnage, l'IGS des femelles du happas illuminé variait de 0,94 à 7,74 % avec un IGSm de 4,88 % alors que celui des femelles du happas témoin variait de 1,32 à 7,34 % avec un IGSm de 4,92 %. Par la suite, l'analyse statistique nous donna des résultats suivants:

- 1) l'IGSm des géniteurs du happas témoin et celui de ceux du happas illuminé n'étaient pas significativement différents ($t_{exp} = 0,050 < t(38;0,05) = 2,025$);
- 2) l'IGSm des femelles du happas illuminé était significativement différent ($t_{exp} = 3,21 > t(38;0,01) = 2,71$) de celui des femelles de l'échantillon R qui à son tour, était également significativement différent de l'IGSm des géniteurs du happas témoin ($t_{exp} = 3,49 > t(38;0,01) = 2,71$).

Quant à l'expérience 3, elle a été effectuée dans le but de renforcer les résultats obtenus précédemment et mettre en évidence la ponte et la fécondation. Au début, l'IGS des géniteurs de l'échantillon R variait de 3,34 à 7,24 % avec un IGSm de 5,4 %. Après 18 jours à compter du temps 0, l'IGS des géniteurs du happas expérimental variait de

0,62 à 5,25 % avec un IGSm de 3,56 % alors que celui des géniteurs du happas témoin était comprises entre 3,01 à 7,70 % avec un IGSm de 5,63 %. Le test de comparaison ("t" de student) de moyennes effectués sur l'IGSm a conduit à des résultats suivants:

1) l'IGSm des géniteurs de l'échantillon R était significativement différent de celui de ceux du happas illuminé ($t_{\text{exp}} = 5,18 > t(38;0,01) = 2,71$) tandis que l'IGSm des femelles du groupe témoin n'était pas significativement différent de celui des femelles du groupe de référence ($t_{\text{exp}} = 0,64 < t(38;0,05) = 2,025$);

2) l'IGSm des individus du groupe témoin et celui de ceux du groupe illuminé étaient significativement différents ($t_{\text{exp}} = 4,99 > t(38;0,01) = 2,71$).

En conclusion des analyses précédentes sur l'IGS des géniteurs soumis aux trois expériences, on peut observer:

- d'une part, chez le groupe de géniteurs du happas expérimental, l'IGSm obtenu lors du premier échantillonnage est supérieur à celui des géniteurs du deuxième échantillonnage qui est également inférieur à celui des femelles du troisième échantillonnage:

$$\text{IGSmR} < \text{IGSm1} > \text{IGSm2}$$

$$\text{IGSm1} > \text{IGSm2} < \text{IGSm3}$$

$$\text{IGSmR} < \text{IGSm1} > \text{IGSm3};$$

- d'autre part, chez le groupe de géniteurs du happas témoin, l'IGSm augmente du premier au dernier échantillonnage, pourvu que la durée de l'expérience soit maintenu à 22 jours au maximum:

$$\text{IGSmR} < \text{IGSm1} < \text{IGSm2} < \text{IGSm3};$$

- enfin, après la période d'illumination, l'IGSm des géniteurs du happas expérimental était significativement supérieur à celui de ceux du happas témoin.

4.1.3 Histologie des ovaires

Comme nous l'avons souligné précédemment, l'IGS ne peut pas à lui seul nous fournir toutes les informations sur l'état de l'ovogénèse et c'est dans ce but que nous avons procédé aux analyses microscopiques et morphométriques.

L'anatomie des ovaires

Chez une même femelle mature, les deux (2) ovaires peuvent être de taille différente mais ils sont en général aux mêmes stades de développement, comme nous avons pu le constater lors de nos dissections. Chaque femelle dispose de deux (2) ovaires situés sous les nageoires pelviennes. Chacun a une forme allongée et granuleuse et, est entouré d'une mince paroi gonadique (stroma) qui laisse entrevoir de nombreux ovocytes remplis de vitellus. L'ensemble de l'ovaire se présente sous l'aspect d'un organe coloré jaune-orangé. En général, la structure de la paroi ovarienne des tilapias est similaire à celle observée chez les autres poissons de la classe des téléostéens. L'épithélium est en effet constitué de cellules germinales et de cellules accessoires.

L'analyse des diamètres des cellules germinales.

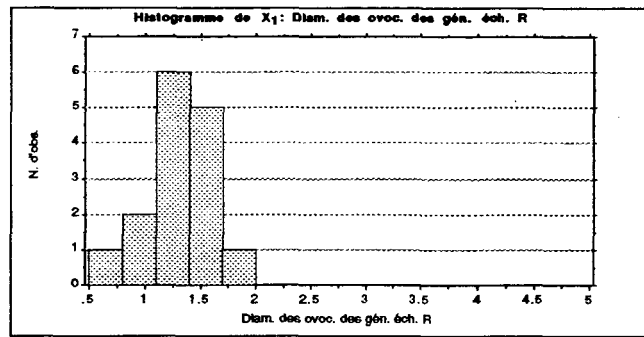
Les analyses morphométriques ont porté sur la mesure et la comparaison des diamètres des cellules germinales comprises dans des coupes d'ovaires des géniteurs. Signalons toutefois que pour les expériences de terrain, ces analyses ont été uniquement effectuées sur les spécimens de l'expérience 2, celle-ci étant la plus complète.

Après avoir mesuré la taille des ovocytes¹, les distributions des diamètres moyens sont graphiquement représentées par les histogrammes de la figure 12. Les classes de taille ont été définies par les intervalles de 0,3 cm entre 0,5 et 5 cm. On constate qu'au début de l'expérience, la classe dont le centre est 1,25 cm est la mieux représentée (6 gén.) (fig. 12 a). Lors du premier échantillonnage, chez le groupe témoin, la classe dont le centre est 1,65 cm est la plus représentée (4 gén.) tandis que chez le groupe illuminé, c'est celle dont le centre est 2,15 cm (3 gén.) (fig. 12 b et 12 c). Lors du dernier échantillonnage, chez le groupe témoin, la classe dont le centre est 2,45 cm est la plus représentée (7 gén.), tandis que chez le groupe illuminé, il s'agit de la classe dont le centre est 3,05 cm (7 gén.).

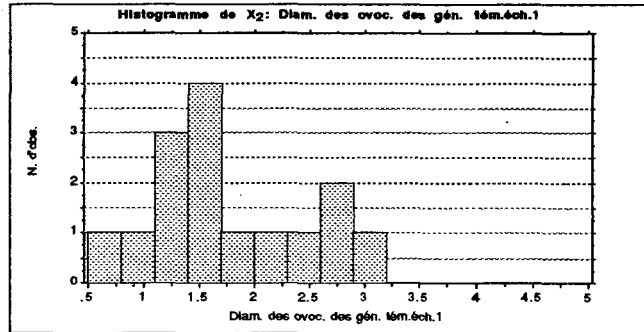
En conclusion de tout ce qui précède, on ne note aucun individu possédant des ovocytes dont la taille est 3 cm ou plus dans l'échantillon R alors qu'après le premier échantillonnage, six (6) géniteurs du happas illuminé et seulement un (1) géniteur du happas témoin possèdent des ovocytes dont la taille est de 3 cm ou plus. Après le deuxième échantillonnage, on note une augmentation de la taille des cellules germinales des géniteurs des deux (2) happas. En effet, 10 géniteurs du groupe illuminé et quatre (4) du groupe témoin possèdent des ovocytes dont la taille est 3 cm ou plus.

¹ La taille des ovocytes est prise au microscope optique au grossissement de 18,8 X.

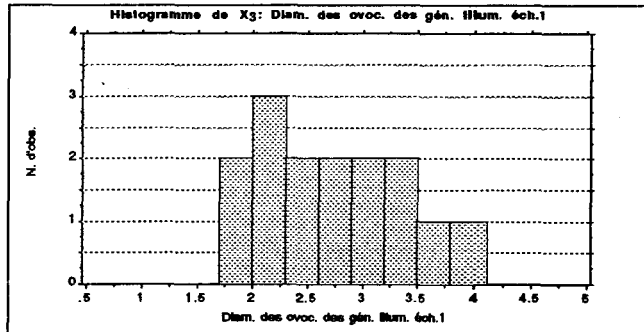
a. Groupe de référence (temps 0)
Dmoyen = 1,45 cm



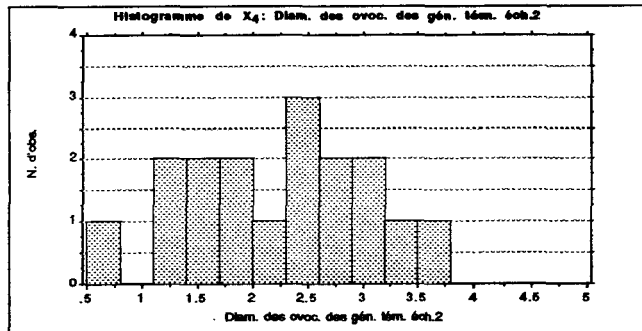
b. Groupe témoin (10 jours)
Dmoyen = 1,78 cm



c. Groupe illuminé (10 jours)
Dmoyen = 2,68 cm



d. Groupe témoin (18 jours)
Dmoyen = 2,25 cm



e. Groupe illuminé (18 jours)
Dmoyen = 2,87 cm

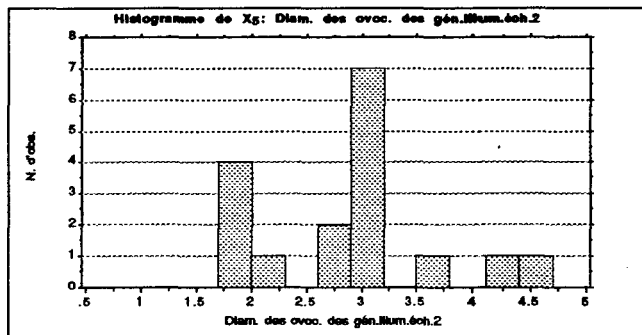


Figure 12. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des diamètres moyens des ovocytes des géniteurs femelles de l'expérience 2.

Pour évaluer de façon critique les données précédentes, nous avons d'abord calculé les paramètres statistiques de la taille des cellules germinales. Au début de l'expérience 2, le diamètre moyen des cellules germinales des géniteurs de l'échantillon R variait de 0,57 à 1,70 cm avec une moyenne de 1,45 cm. Après le premier échantillonnage, le diamètre des ovocytes des géniteurs du happe illuminé variait de 1,92 à 4,08 cm avec une moyenne de 2,68 cm alors que celui de ceux du happe témoin variait de 0,68 à 3,13 cm avec une moyenne de 1,78 cm. Dans le cas du deuxième échantillonnage, le diamètre moyen des ovocytes des individus du groupe illuminé variait de 1,70 à 4,52 cm avec une moyenne de 2,87 cm tandis que celui de ceux du groupe témoin variait entre 0,78 à 3,60 cm avec un diamètre moyen de 2,25 cm.

L'analyse statistique portant sur les diamètres a permis d'obtenir des résultats suivants:

1) lors du premier échantillonnage, le diamètre moyen des ovocytes de l'échantillon R est significativement différent de celui de ceux du happe illuminé ($t_{exp} = 6,43 > t(28; 0,01) = 2,76$) tandis que le diamètre moyen des ovocytes de l'échantillon R n'était pas significativement différent de celui de ceux du happe témoin ($t_{exp} = 1,55 < t(28; 0,05) = 2,05$);

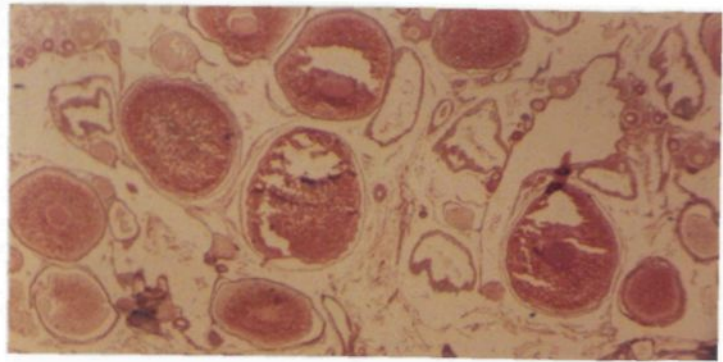
2) après le deuxième échantillonnage, le diamètre moyen des ovocytes des femelles de l'échantillon R était également significativement différent de celui de ceux du happe illuminé ($t_{exp} = 5,24 > t(30; 0,01) = 2,75$). De même, le diamètre moyen des cellules germinales des géniteurs du happe témoin était significativement différent de celui de ceux des individus de l'échantillon R ($t_{exp} = 3,26 > t(29; 0,01) = 2,75$);

3) après 10 jours à compter du temps 0, le diamètre moyen des ovocytes du happas expérimental différait de façon significative de celui de ceux du happas témoin ($t_{\text{exp}} = 4,22 > t(28; 0,01) = 2,76$) tandis qu'à la fin de l'expérience, le diamètre moyen des ovocytes est légèrement supérieur dans le cas du groupe illuminé, et cette différence n'est significative qu'à 95 % ($t_{\text{exp}} = 2,06 > t(32; 0,05) = 2,04$).

Des photographies représentant une section de l'ovaire de tilapia prélevé lors de l'expérience 2 sont présentées à la figure 13 montrant les sections correspondant aux cinq (5) échantillons. Chaque photo porte une section de l'ovaire représentative de l'état de développement des gonades des géniteurs d'un échantillon, et est choisie en se basant sur la moyenne de l'IGS et de la taille des cellules germinales des géniteurs à l'intérieur de chaque groupe.

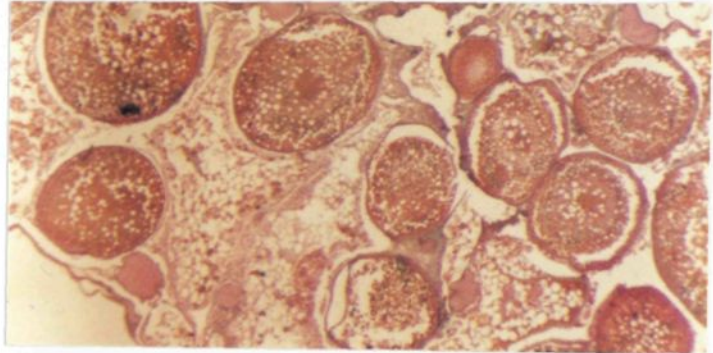
a. Echantillon R

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
0,71 mm x 18,8
IGS = 3,35 %



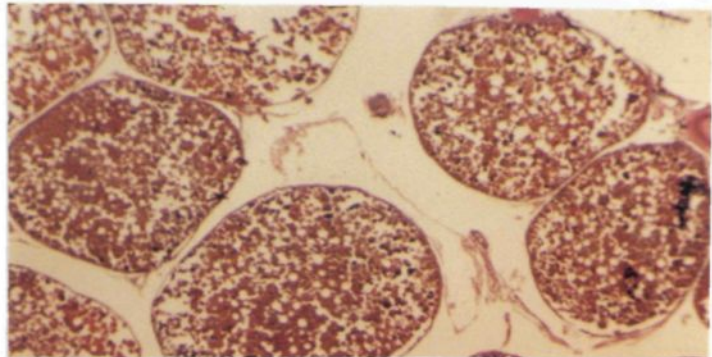
b. Groupe témoin (éch.1)

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
0,94 mm x 18,8
IGS = 4,08 %



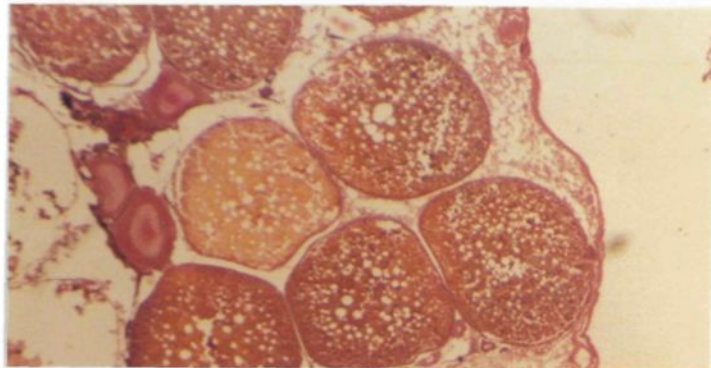
c. Groupe illuminé (éch.1)

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
1,4 mm x 18,8
IGS = 5,91 %



d. Groupe témoin (éch. 2)

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
1,28 mm x 18,8
IGS = 5,29



e. Groupe illuminé (éch.2)

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
1,54 mm x 18,8
IGS = 4,99

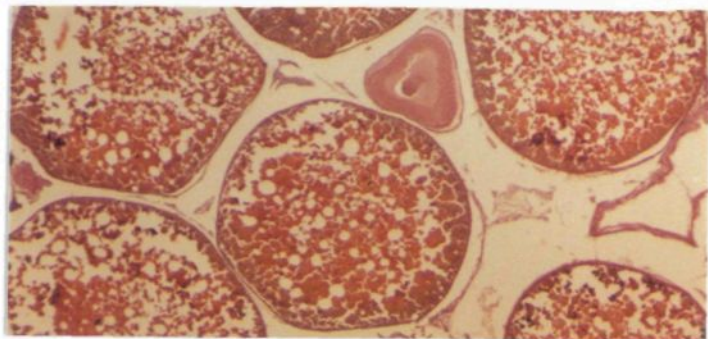


Figure 13 . Photographies en microscopie optique illustrant les différents stades de développement des ovaires des géniteurs de l'expérience 2 (Coloration Trichrome de Masson).

4.2 EFFET DE LA TEMPÉRATURE SUR L'OVOGÉNÈSE

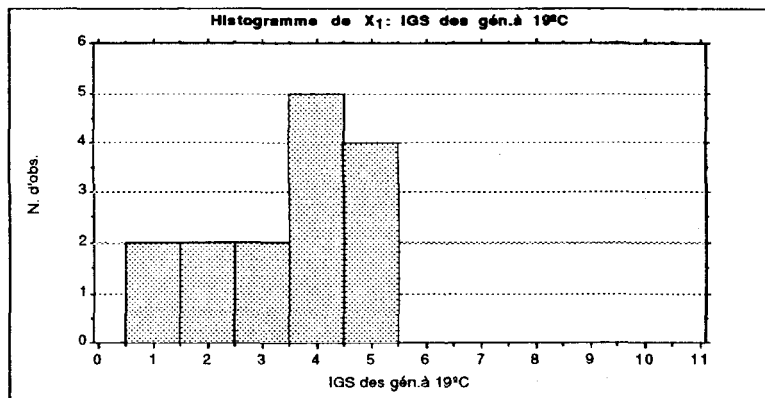
Au cours de l'expérience, nous avons observé que les poissons se trouvant à 19°C étaient peu actifs et ne s'alimentaient que très peu; ceux se trouvant à 23°C étaient plus actifs et s'alimentaient davantage et ceux élevés à 28°C étaient très actifs et faisaient de nombreuses incursions à la surface de l'eau. Ces femelles pouvaient dévorer le double de la nourriture utilisée par les poissons à 23°C.

4.2.1 Indice gonadosomatique (IGS)

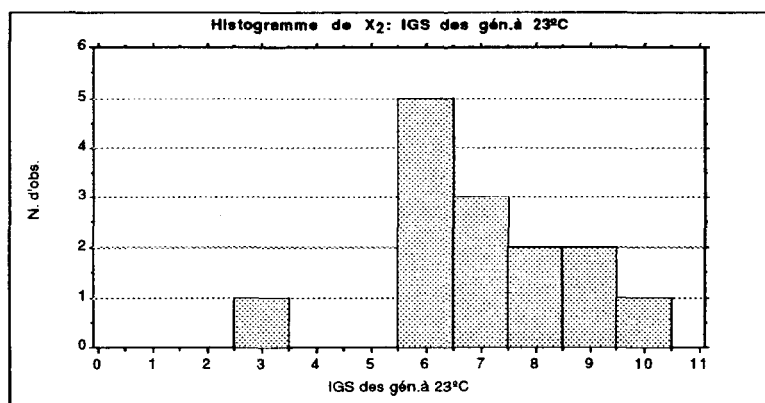
Comme nous avons vu précédemment (chapitre 3), les expériences en laboratoire ont porté sur l'effet de la température sur la reproduction de *T. nilotica*. A ce sujet, nous avons subdivisé les géniteurs femelles en trois (3) groupes soumis à des conditions d'élevage aux températures de 19°C, 23°C et 28°C pendant 15 jours; le groupe élevé à 19°C nous servait de groupe témoin. Après la dissection et le prélèvement des gonades, nous avons procédé au calcul de l'IGS de ces géniteurs femelles pour chaque groupe expérimental et par la suite, nous avons construit les histogrammes représentant les distributions des IGS pour les trois (3) groupes de géniteurs, l'amplitude des classes étant de 1 %.

La figure 14 montre que chez les femelles élevées à 19°C, la classe la plus représentée est celle dont le centre est 4 % (5 gén.) (fig. 14 a). Pour le groupe élevé à 23°C et celui exposé à 28°C, la classe dont le centre est 6 % est la mieux représentée (5 gén. chacune) (fig.14 b et 14 c).

a. Groupe de géniteurs à 19°C
IGSm = 3,52 %



b. Groupe de géniteurs à 23°C
IGSm = 7,87 %



c. Groupe de géniteurs à 28°C
IGSm = 6,88 %

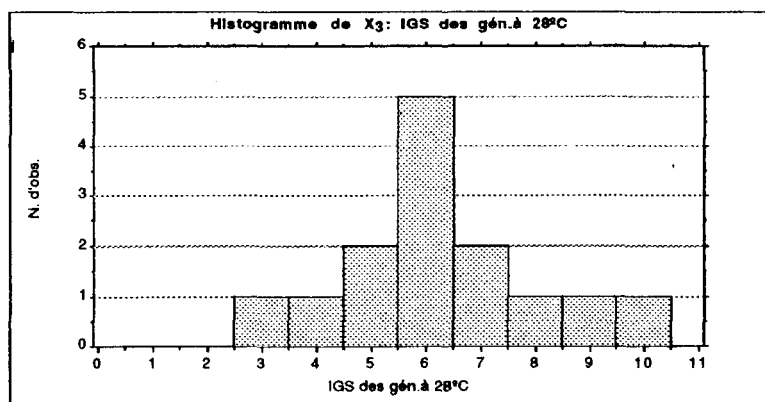


Figure 14. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des IGS des géniteurs femelles élevés en laboratoire à 19°C, 23°C et 28 °C (Durée d'expérience = 15 jours).

En conclusion, on n'observe aucun géniteur dans le groupe élevé à 19°C ayant un IGS de 6 % ou plus, alors que 13 géniteurs du groupe élevé à 23°C et 10 de ceux élevés à 28°C présentent des ovaires très amplifiés avec un IGS de 6 % ou plus.

L'IGS des trois groupes variait de 0,82 à 5,32 % avec un IGSm de 3,52 % pour les géniteurs soumis à 19°C; de 3,32 à 10,8 % avec un IGSm de 7,97 % pour les femelles élevées à 23°C et de 4,05 à 11,44 % avec un IGSm de 6,88 % dans le cas des géniteurs placés à 28°C. Par la suite, le test de comparaison de moyennes a été effectué et a conduit aux résultats suivants:

1) l'IGSm des géniteurs élevés à 19°C et celui de ceux élevés à 23°C, étaient significativement différents ($t_{\text{exp}} = 6,82 > t(28;0,01) = 2,76$);

2) la comparaison de l'IGSm des géniteurs élevés à 19°C avec celui de ceux élevés à 28°C a révélé que les IGSm différaient également de façon significative ($t_{\text{exp}} = 4,90 > t(28;0,01) = 2,76$);

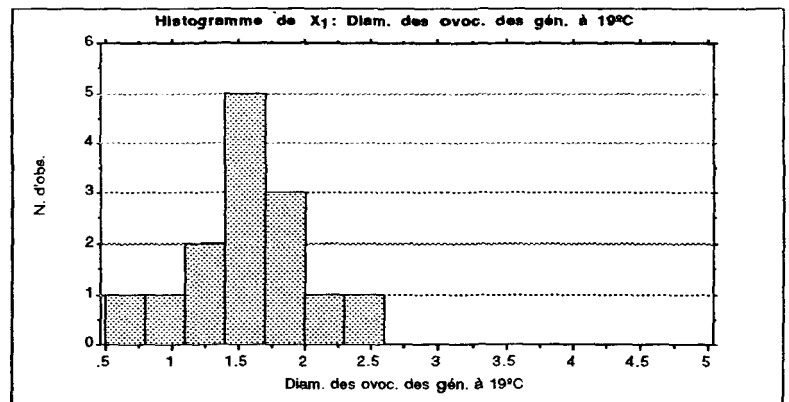
3) l'IGSm des géniteurs élevés à 23°C n'était pas significativement différent de celui de ceux du groupe élevé à 28°C ($t_{\text{exp}} = 0,94 < t(28;0,05) = 2,04$).

4.2.3 Histologie des ovaires

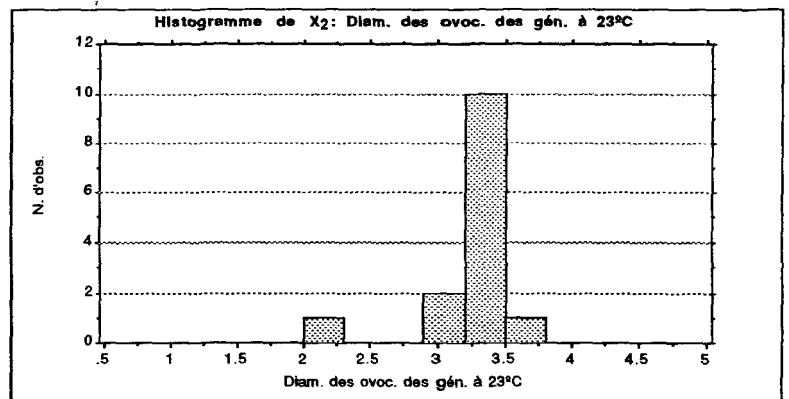
Comme sur le terrain, une étude histologique des ovaires a été effectuée. La figure 15 indique les distributions des diamètres moyens des ovocytes de chacun des géniteurs placés aux températures différentes; l'amplitude des classes étant de 0.3 cm. Au regard de cette figure, il apparaît clairement que chez les géniteurs élevés à 19°C, la classe dont le centre est 1,55 cm, est la mieux représentée (5 gén.) (fig.15 a). Chez les géniteurs exposés à 23°C, celle dont le centre est 3,45 cm est la mieux représentée (10 gén.) tandis que celle dont le centre est 2,75 cm est la mieux représentée chez les poissons exposés à 28°C (5 gén.) (fig.15 b et 15 c).

Il découle de ces observations, que les diamètres moyens des ovocytes des individus élevés à 23°C et à 28°C sont supérieurs à ceux des géniteurs à 19°C. En effet, chez les tilapias élevés à 19°C, nous n'avons enregistré aucune femelle dont les ovocytes ont une taille de 2,7 cm ou plus alors que 13 géniteurs du groupe exposé à 23°C et 12 du groupe soumis à 28°C possèdent des ovocytes dont la taille est 2,7 cm ou plus.

a. Groupe de géniteurs à 19°C
Dmoyen = 1,53 cm



b. Groupe de géniteurs à 23 °C
Dmoyen = 3,21 cm



c. Groupe de géniteurs à 28°C
Dmoyen = 2,87 cm

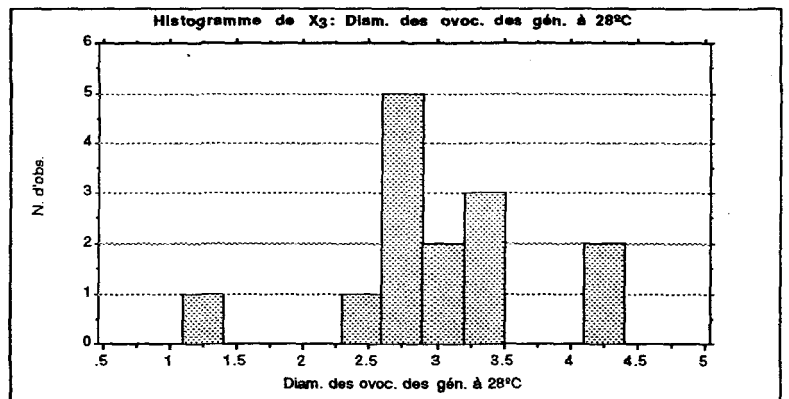


Figure 15. Histogrammes montrant les fréquences des distributions des diamètres moyens des ovocytes des géniteurs femelles élevés en laboratoire à 19°C, 23°C et 28 °C. (Durée d'expérience =15 jours).

La comparaison de la taille des ovocytes (tableau 4) montre que:

1) le diamètre moyen des ovocytes des géniteurs élevés à 19°C et celui de ceux des géniteurs placés à 23°C étaient significativement différents ($t_{exp} = 9,33 > t(26;0,01) = 2,78$);

2) le diamètre moyen des ovocytes élevés à 28°C était significativement différent de celui de ceux des géniteurs maintenus à 19°C ($t_{exp} = 5,83 > t(26;0,01) = 2,78$);

3) le diamètre moyen des ovocytes des géniteurs élevés à 23°C et celui de ceux des géniteurs élevés à 28°C ne diffèrent pas significativement ($t_{exp} = 1,83 < t(26;0,05) = 2,05$).

L'état des gonades est représenté par la figure 16 où nous retrouvons des photographies représentatives d'une section de l'ovaire des géniteurs soumis aux trois températures (19°C; 23°C; 28°C).

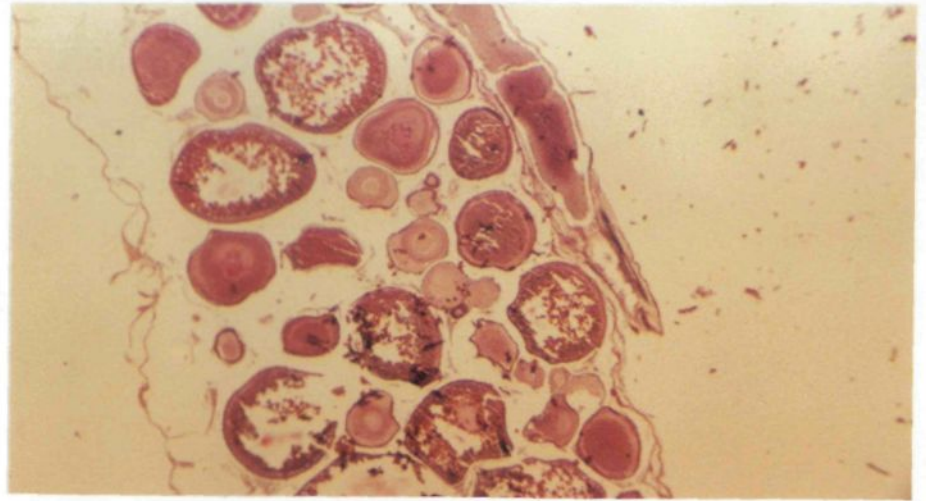
TABLEAU 4

**Paramètres statistiques des diamètres moyens (cm) des cellules germinales des géniteurs
femelles élevés en laboratoire à 19°C, 23°C et 28°C.**

	Expérience à 19°C	Expérience à 23°C	Expérience à 28°C
Nombre	14	14	14
Dmoyen	1,53	3,21	2,87
Variance	0,34	0,12	0,39
Ecart type	0,58	0,33	0,62
Minimum	0,59	2,27	1,3
Maximum	2,57	3,56	4,12
Médiane	1,49	3,29	2,87

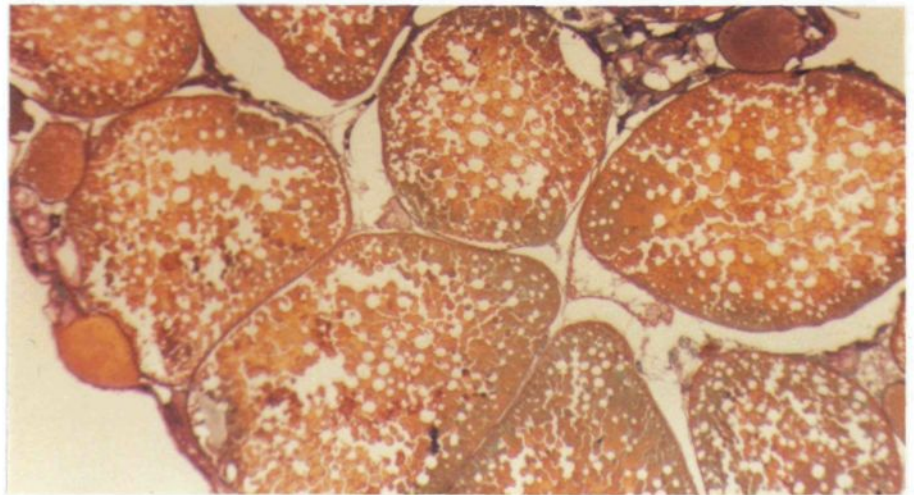
a. Groupe de géniteurs à 19 °C

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
0,77 mm x 18,8
IGS = 3,45 %



d. Groupe de géniteurs à 23 °C

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
1,90 mm x 18,8
IGS = 7,94 %



e. Groupe de géniteurs à 28°C

Ovaire avec ovocytes de
diamètre moyen de
1,53 mm x 18,8
IGS = 6,27 %

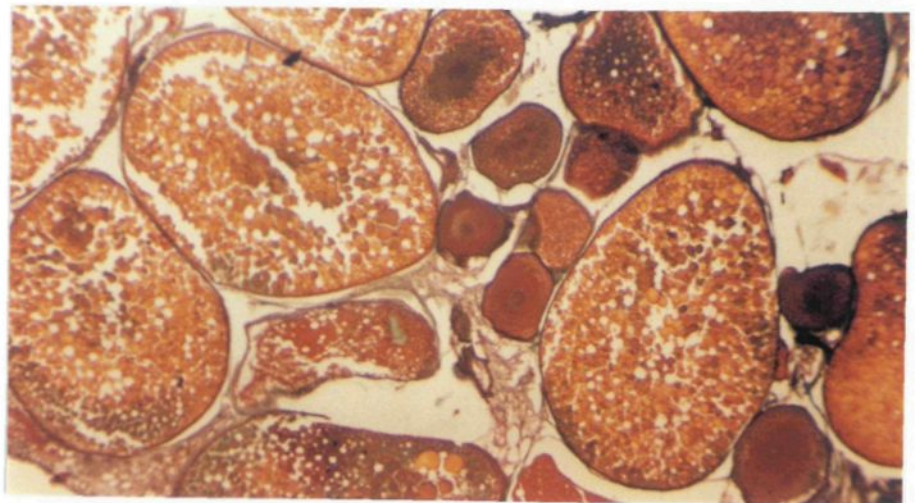


Figure 16 . Photographies en microscopie optique illustrant les différents stades de développement des ovaires des géniteurs élevés en laboratoire à des températures de 19 °C, 23°C et 28°C (Coloration Trichrome de Masson).

4.3 RAPPROCHEMENT DES RÉSULTATS

Même si la température est un facteur critique qui influence la reproduction de plusieurs espèces de poissons, il est improbable qu'elle soit un facteur unique et suffisant pour en contrôler la régulation. Tenant compte des résultats obtenus lors de nos expériences tant sur le terrain qu'en laboratoire, nous avons tenté de faire un certain rapprochement entre les effets de l'illumination nocturne et de la température sur le développement des gonades et sur la taille des ovocytes.

En considérant, sur le terrain, les géniteurs de l'expérience 2 (l'échantillon R et ceux du premier échantillonnage dans les deux (2) happas) et en laboratoire, ceux élevés à 19 et 23°C, nous avons comparé les variations de l'IGS et celles des diamètres moyens des ovocytes.

L'indice gonadosomatique (IGS)

En plus des résultats obtenus relatifs à la variation de l'IGS tant sur le terrain qu'en laboratoire, les tests de comparaison de ces IGS ont été faits dans le but de déterminer lequel des deux (2) facteurs aurait un impact plus fort sur la régulation de la reproduction chez *T. nilotica*. L'analyse statistique nous a conduit aux constatations suivantes:

1) la comparaison entre l'IGSm des femelles de l'échantillon R (terrain) avec celui de celles élevées à 19°C (laboratoire) a révélé que ces IGSm étaient plus ou moins semblables ($t_{\text{exp}} = 0,42 < t(0,05;32) = 2,04$);

Cette observation nous a permis d'effectuer les autres tests puisque les deux (2) populations de référence (celle sur le terrain et celle en laboratoire) ne différaient pas significativement (égalité des variances, égalité des moyennes).

2) la comparaison de l'IGSm des géniteurs de l'échantillon R avec celui de ceux exposés à 23°C a révélé qu'ils étaient significativement différents ($t_{\text{exp}} = 4,57 > t(0,01,32) = 2,74$);

3) la comparaison de l'IGSm des femelles du groupe témoin (groupe non-illuminé) avec celui de celles maintenues à 19°C a révélé qu'ils n'étaient pas significativement différents ($t_{\text{exp}} = 1,02 < t(0,05, 32) = 2,04$);

4) la comparaison de l'IGSm des géniteurs du groupe témoin avec celui de ceux exposés à 23°C a montré une différence significative ($t_{\text{exp}} = 6,04 > t(0,01;32) = 2,74$);

5) En comparant l'IGSm des géniteurs du happe illuminé avec celui de ceux élevés à 19°C, nous avons trouvé que ces IGSm étaient significativement différents ($t_{\text{exp}} = 5,15 > t(0,01; 32) = 2,74$);

6) Enfin, le test portant sur la comparaison entre l'IGSm des femelles du happe illuminé et celui de celles transférées à 23°C, a révélé une différence significative ($t_{\text{exp}} = 3,77 > t(32; 0,01) = 2,74$).

En conclusion, il ressort de toutes ces comparaisons que le développement des gonades des géniteurs de l'échantillon R et celui de ceux du groupe témoin (terrain) sont similaires à celui observé chez les géniteurs élevés à 19°C (laboratoire). L'IGSm de ces trois (3) groupes est significativement inférieur à celui de ceux élevés à 23°C et ceux du happe illuminé.

Les diamètres des cellules germinales

En plus des conclusions précédentes, nous avons également fait appel au test "t" de student pour comparer la taille des ovocytes de ces géniteurs. Nous arrivons aux conclusions suivantes:

1) le diamètre moyen des ovocytes des géniteurs de l'échantillon R et celui de ceux élevés à 19°C n'étaient pas significativement différents ($t_{exp} = 0,39 < t(0,05;27) = 2,05$);

2) le diamètre moyen des ovocytes des géniteurs de l'échantillon R était significativement inférieur à celui de ceux exposés à 23°C ($t_{exp} = 11,15 > t(0,01;27) = 2,77$);

3) le diamètre moyen des ovocytes des géniteurs du happas illuminé est significativement supérieur de celui de ceux élevés à 19°C ($t_{exp} = 5,53 > t(0,01;27) = 2,77$);

4) les géniteurs du happas illuminé possédaient des ovocytes avec un diamètre moyen qui ne différait significativement qu'à 95 % de celui de ceux exposés à 23°C ($t_{exp} = 2,28 > t(0,05; 27) = 2,04$);

5) les géniteurs du happas témoin présentaient des ovocytes dont le diamètre était significativement inférieur à celui de ceux élevés à 23°C ($t_{exp} = 6,81 > t(0,01;27) = 2,77$);

6) le diamètre des géniteurs du groupe témoin n'était pas significativement supérieur de celui de ceux élevés à 19°C ($t_{exp} = 1,67 < t(0,05;27) = 2,04$).

Il ressort de toutes ces comparaisons que la taille des ovocytes des gonades est plus élevée dans le cas des géniteurs exposés à 23°C et ceux du happas illuminé en comparaison avec celle des autres groupes de géniteurs.

4.4 HISTOCHIMIE DES GONADES

4.4.1 Généralités

L'histochimie des gonades a été effectuée pour compléter les résultats obtenus par les analyses histologiques. Cette méthode nous a renseigné sur la teneur en substances de réserves des cellules germinales et nous a aidé à les classer en catégories en tenant compte de leur taille. C'est ainsi qu'un examen au microscope optique nous a révélé cinq (5) catégories que nous appelons stades de développement. A travers tous ces stades, nous avons observé la présence des cellules de support.

Stade 1 (de 0 à 1 cm): il est caractérisé par des cellules très peu développées, à noyau coloré en jaune. Ces cellules peuvent être des ovogonies ou de jeunes ovocytes. Le vitellus n'y est pas apparent.

Stade 2 (de 1 à 1,5 cm): les cellules de cette catégorie sont caractérisées par une région périnucléaire foncée qui caractérise le début de la synthèse de nouvelles nucléoprotéines.

Stade 3 (de 1,5 à 2 cm): le noyau des cellules y est encore bien visible et la membrane nucléaire est bien distincte. Dans le cytoplasme, on observe de grosses vésicules pourpres à proximité du noyau et de petites vésicules excentriques plus claires.

Stade 4 (de 2 à 3 cm): les cellules présentent une double paroi et leur cytoplasme est rempli de vésicules pourpres de tailles diverses. On remarque également que de petites vésicules sont collées à la membrane cytoplasmique et que le noyau n'est plus visible, on note la présence du chorion.

Stade 5 (de 3 cm et plus): nous observons des espaces et des vésicules plus claires qui représentent sans doute la présence de vacuoles dans la cellule à la fin de l'ovogénèse.

Nous avons par après essayé de voir à quel stade appartenait les cellules germinales des femelles prélevées dans les expériences de terrain et de laboratoire.

4.4.2 Sur le terrain

Nous nous sommes intéressés à l'histochimie des gonades des géniteurs femelles de l'expérience 2 pour les raisons citées plus haut et les constatations suivantes ont été faites:

1) échantillon R: quand on observe les gonades des géniteurs au début de la deuxième expérience, on peut dire que plus de 75 % des cellules germinales contenues dans une section de l'ovaire font partie des stades 1, 2 et 3 et moins de 25 % sont des cellules du stade 4 .

2) groupe illuminé: que ce soit après le premier ou le deuxième échantillonnage, on trouve à peu près 25 % des ovocytes dans les stades 2 et 3 et à peu près 75 % dans les stades 4 et 5. On observe très rarement des cellules du stade 1.

3) groupe non illuminé: après le premier échantillonnage, les gonades des géniteurs renferment 25 % des cellules des stades 1 et 2 tandis qu'à peu près 50 % des cellules sont au stade 3 et environ 25 % des cellules sont au stade 4. Les cellules du stade 5 sont très rarement représentées. Après le deuxième échantillonnage, les femelles possèdent des gonades plus développées de telle sorte qu'on enregistre à peu près 25 % des ovocytes appartenant aux trois premiers stades et environ 50 % des cellules au stade 4 et environ 25 % appartiennent au stade 5.

4.4.3 En laboratoire

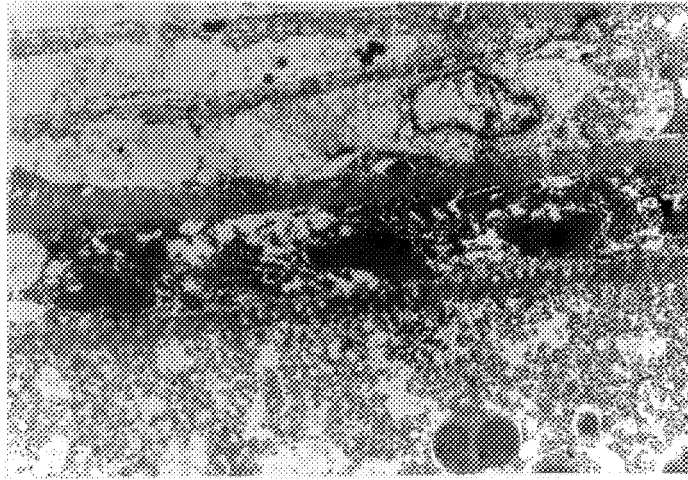
Au microscope optique, les observations suivantes ont été notées:

- 1) groupe de tilapias à 19°C: les gonades sont constituées à plus de 75 % de jeunes ovocytes des trois premières catégories et moins de 25 % de cellules du stade 4.
- 2) groupe de tilapias à 23°C: Les gonades sont constituées à plus de 75 % d'ovocytes du stade 5 et environ 25 % des cellules appartiennent aux stades 2; 3 et 4.
- 3) groupe de tilapias à 28°C: quand aux femelles transférées à 28°C, on trouve presque tous les stades de l'ovogénèse dans la plupart des ovaires. Cependant, les ovocytes plus développés sont plus nombreux, suivis d'autres stades intermédiaires et enfin très peu de cellules du stade 1. Les stades 2 et 3 sont représentés par environ 40 % des cellules et les stades 4 et 5 sont représentés par à peu près 60 %.

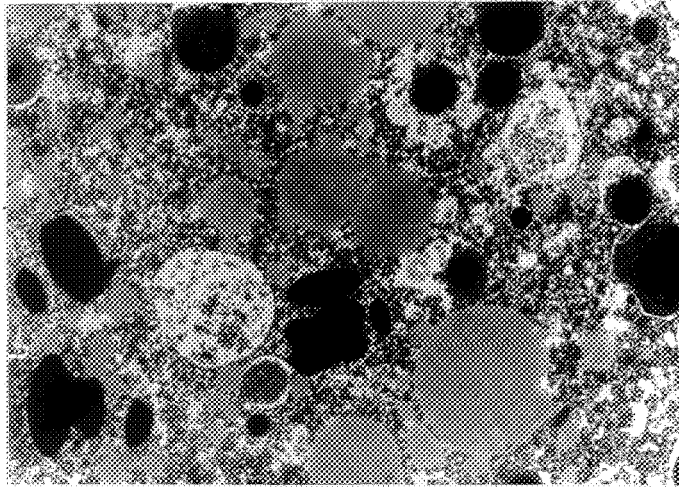
Bref, de tout ce qui précède, nous pouvons affirmer que les géniteurs du happas illuminé et ceux élevés à 23 °C présentaient des gonades plus amplifiées d'une part, et d'autre part possédaient des cellules germinales plus développées par rapport à ceux des géniteurs des autres groupes étudiés.

Pour compléter les informations recueillies sur le terrain en ce qui touche l'anatomie des ovocytes, nous avons effectué une étude au microscope électronique qui nous a permis de mettre en relief l'organisation ultrastructurale d'une section d'un ovocyte de *T. nilotica* (fig. 17).

A)



B)



C)

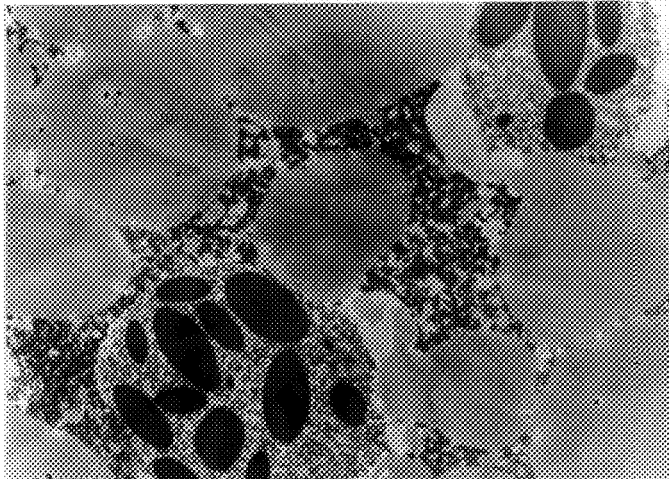


Figure17. Organisation ultrastructurale des ovocytes. A) Chorion et région excentrique du cytoplasme (5185 X). B) Région intermédiaire du cytoplasme (5185 X). C) Région centrale du cytoplasme (17000 X).

On peut reconnaître (fig. 17 A) en partant du haut de la figure, la couche cellulaire de la thèque, puis la zone de cellules fibroblastiques. Une lame basale sépare celles-ci des cellules folliculaires au dessous desquelles nous pouvons noter la zone pellucide (ramifications membraneuses) se trouvant au dessus du cytoplasme de l'ovocyte.

Les figures 17 B et 17 C représentent différents aspects du cytoplasme de l'ovocyte et en particulier ceux du développement vésiculaire. Ainsi, nous retrouvons les corps multivésiculaires plus caractéristiques du cytoplasme périnucléaire et parfois à l'intérieur de ces corps, nous pouvons noter la présence regroupée de structures opaques aux électrons. La formation du vitellus lipidique dans l'ovogénèse des poissons se fait avant même celle du vitellus protéinique. Si nous observons l'importance relative de ces deux types de vitellus dans cet ovocyte, les vésicules lipidiques (plus pâles) étant représentées d'avantage, il apparaît que le développement soit dans une étape intermédiaire (préovotide).

L'étude cinétique de la formation du vitellus n'a pas été faite, mais nous savons à partir d'études histochimiques (Guraya, 1986) que le vitellus de l'oeuf mature consiste principalement en protéine et lipoprotéine. Dans les figures 17 B et 17 C, nous observons l'étroite relation entre les vésicules nucléoprotéiniques (multivésiculaires) et phospholipidiques. Il apparaît que l'association des éléments de ces vésicules puisse favoriser la transformation de l'oeuf jusqu'à sa maturité.

CHAPITRE V

DISCUSSION

5.1 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

Les expériences sur le terrain

Comme nous avons vu précédemment (chap.III), la méthodologie a été quelque peu modifiée lors de l'expérience 1 au cours de laquelle l'illumination devait comme prévu, durer sept (7) jours successifs à raison de deux (2) heures par nuit. En effet, suite aux problèmes liés au système d'éclairage automatique qui, momentanément, a été bloqué après le quatrième jour d'illumination, nous nous sommes vus obligés de procéder au premier échantillonnage qui a eu lieu exactement le huitième jour à compter du début de cette expérience.

Subséquemment, en se fiant aux suggestions de Cridland (1962) de prolonger la photopériode pour augmenter l'activité de reproduction de *T. zilli*, lors des expériences 2 et 3 effectuées sur le terrain, nous avons allongé la durée de l'illumination à quatre (4) heures par nuit pendant sept (7) jours successifs. Comme nous ne pouvions nous fier à l'automatisme de l'illumination, nous devions à chaque jour allumer la lampe à minuit et l'éteindre à 4 h du matin. C'est lors de cette manoeuvre que nous avons constaté que sitôt l'illumination faite, les géniteurs se mettaient à sauter, phénomène pouvant être attribué soit au fait que la lumière les traumatisait, soit que ces géniteurs confondaient l'illumination avec la lumière du jour. En effet, les géniteurs du happas témoin restaient calmes.

Lors de l'expérience 3, quelques changements ont été apportés à la méthodologie compte tenu des résultats obtenus dans l'expérience 2. Ainsi, l'expérimentation a porté sur des géniteurs ayant des ovaires à un stade de développement avancé pour mettre en évidence la ponte. De plus, à la différence de Melard et Philippart

(1981) qui recommandent huit (8) mâles pour 30 femelles, un nombre de trois (3) mâles pour 30 femelles a été rajouté à chaque happas, puisque nous devons tenir compte de l'espace limité disponible.

La méthodologie utilisée nous a permis d'atteindre notre objectif expérimental. Cependant, le diamètre des mailles des filets n'a pas permis d'observer de près les phénomènes de ponte et de fécondation bien que nous ayons pu capturer quelques femelles en phase d'incubation. Pour suppléer à ce problème, nous avons transféré ces femelles dans les bassins pour suivre l'éclosion et les premiers stades des larves, mais nous avons dû faire face au phénomène de rejet par les femelles qui crachaient leurs oeufs pour ne plus les reprendre.

Les expériences en laboratoire

A ce niveau, nous avons perdu un grand nombre de géniteurs suite à l'abaissement rapide de la température lorsque la source de réchauffement de l'eau nous fût malencontreusement coupée. Seulement 45 femelles purent être utilisées pour des fins d'expérimentation en laboratoire.

Nous avons tenu compte des extrêmes de température observée sur le terrain (19 et 28°C) et nous les avons choisis en laboratoire, ainsi qu'une température intermédiaire, soit 23°C qui est considérée optimale pour la reproduction. Ces températures nous ont permis d'observer les effets de modulation sur l'ovogénèse.

Les analyses des données effectués en laboratoire

Tant sur le terrain qu'en laboratoire, pour traiter les données d'IGS et de mesure de taille cellulaire, nous avons procédé aux analyses statistiques touchant surtout les

tests de comparaison de deux (2) échantillons. Des tests paramétriques ("t" de student) et les tests non paramétriques (test de médianes) ont été utilisés. Comme les deux (2) types de tests ont conduit aux mêmes conclusions, nous avons retenu le "t" de student car il est le plus couramment utilisé et s'applique bien aux petits échantillons.

Nous nous sommes également servis des analyses histologiques, histochimiques et morphométriques. Ainsi, avant d'entamer les procédures de coloration, les tissus (gonades) devaient être préparés et, pour ce faire, il nous fallait les déshydrater, les enrober et les sectionner. Pour les oeufs ayant atteint une certaine taille (ovocytes avec beaucoup de vitellus), on a dû faire appel à la méthode de Baker (Gabe, 1968) pour la coupe des blocs et qui consiste à ramollir les pièces trop friables. Ce ramollissement était obtenu en immergeant le bloc dans un mélange de 36 parties d'eau, 54 parties d'alcool et 10 parties de glycérol.

Quant aux procédures de coloration, nous n'avons éprouvé aucune difficulté au niveau de l'histologie, mais certaines au niveau de l'histochimie. En effet, les cellules germinales et accessoires n'ont pas été colorées de façon uniforme, par conséquent il s'est avéré difficile de différencier les trois (3) groupes de métabolites fondamentaux: les glucides, les lipides et les protéines. Même si cette méthode de coloration histochimique nous a fournis des informations importantes sur l'avancement de l'ovogénèse chez *T. nilotica*, elle devrait être modifiée pour obtenir des résultats plus faciles à interpréter.

5.2 CYCLE DE REPRODUCTION CHEZ *Tilapia nilotica*.

Nous offrons ici l'analyse du cycle de reproduction de *T. nilotica* en rapport avec les résultats des expériences réalisées sur le terrain, en laboratoire et des connaissances tirées des travaux de différents auteurs. Nous savons que les tilapias ont un cycle de reproduction assez court (Lequenue, 1984) d'environ six (6) semaines. Cependant, tenant compte des analyses histologiques et histochimiques des gonades des géniteurs de l'échantillon de référence qui présentent des ovaires aux stades 1; 2; et 3, et en évaluant ces stades à dix (10) jours nous pensons que le cycle de ponte chez *T. nilotica* peut être mensuel, surtout dans le cas des géniteurs du happas illuminé (chap.IV). En effet, sur le terrain, après 18 jours à compter du temps 0, nous avons enregistré plusieurs femelles en phase d'incubation et nous pouvons déduire que la ponte avait lieu peu de jours avant le dernier échantillonnage. Lors de la ponte, d'après McBay (1961), un certain nombre d'oeufs (300 oeufs) sont pondus, ce qui représente plus de 75 % du poids total de la gonade. En effet, nous avons constaté qu'un poisson pesant 110 g peut avoir des gonades de 1,87 g au début de l'ovogénèse et présenter à la fin de la vitellogénèse des ovaires de 8,27 g, ce qui explique les grandes variations quant au poids des gonades au moment de la ponte. Nous avons également constaté que les oeufs des tilapias ont une grande taille et que le diamètre moyen des ovocytes du deuxième ordre (ovocyte II) au stade plus avancé a été estimé à 2,4 mm sur le terrain (géniteurs illuminés) et 2,2 mm en laboratoire (à 28°C). La taille de ces ovocytes matures chez *T. nilotica* est du même ordre de grandeur que celle trouvée par Arthington et Milton (1986) chez *T. mossambica* (2,6 mm).

Il s'ensuit que le diamètre des oeufs issus de géniteurs en captivité (en laboratoire) est inférieur à celui caractérisant les poissons expérimentés en étangs.

Barnabé (1986) a observé le phénomène inverse chez la daurade. Il nous faut noter que le temps d'expérimentation en laboratoire est inférieur de trois jours à celui du terrain. Cependant, la désynchronisation de l'ovogénèse fait que nous observions à peu près tous les stades de développement dans un ovaire échantillonné des plus petites tailles (prévitellogénèse) aux plus grosses (préponde). Nous pouvons déduire que le diamètre des ovocytes varie suivant l'origine des géniteurs femelles de *T. nilotica* ou du mode d'élevage.

De plus, les informations recueillies sur le terrain et en laboratoire nous ont permis de diviser l'ovogénèse en trois (3) principales phases chez *T. nilotica*.

La phase 1: Multiplication des ovogonies

C'est une période préparatoire caractérisée par une réactivation des ovaires et la multiplication des ovogonies qui, lors de la dernière division cellulaire sont transformées en ovocytes de premier ordre (Ovocyte I).

Sur le terrain, lors de l'expérience 2, cette phase est représentée surtout par les cellules germinales des géniteurs de l'échantillon R et du happas témoin (échantillon 1). Les analyses histologiques et histochimiques montrent que ces cellules étaient constituées pour la plupart, d'ovogonies (fig. 13 a, 13 b).

En ce qui concerne l'expérimentation en laboratoire, les résultats obtenus des géniteurs élevés à 19°C nous indiquent qu'à cette température les ovaires restent stationnaires (peu ou pas de croissance) par le fait que la grande majorité de la population de cellules germinales s'y retrouvent aux stades 1; 2 et 3 qui caractérisent la phase 1 du cycle de l'ovogénèse (fig. 16 a).

La phase 2 : Vitellogénèse et croissance de l'Ovocyte I

Cette phase est caractérisée par les modifications cytoplasmiques et nucléaires des ovocytes. C'est pendant cette période de méiose (prophase) que se déclenche la croissance des gamètes femelles qui se poursuit jusqu'au stade diplotène (Tokarz, 1978). Les analyses histologiques, histochimiques et ultrastructurales ont mis en évidence l'activité synthétique considérable de l'ovocyte I qui correspond à la mise en place du matériel cytoplasmique et à l'accumulation de substances de réserves représentées par des granules pourpres: dans les conditions normales, les glucides se présentent sous forme de glycogène tandis que les lipides et les protéines se rencontrent en association au niveau de ce qu'on appelle des plaquettes vitellines (Lamotte et l'Heritier, 1968). C'est au cours de cette période, qu'on voit apparaître les cellules folliculaires, la formation du chorion et qu'on note une augmentation drastique du développement des ovaires ainsi que leur vitellinisation.

Sur le terrain, les géniteurs de l'échantillon 1 (happas illuminé) et ceux de l'échantillon 2 (happas témoin) présentent des gonades caractéristiques de la phase 2 de l'ovogénèse (fig. 13 c, 13 d).

En laboratoire, ce sont surtout les individus exposés à 28°C qui possèdent des ovaires caractéristiques de la phase 3 (fig. 16 c).

La phase 3: Maturation

Cette phase est caractérisée par la fin de la méiose. A ce stade, nous constatons que la maturation a été amorcée bien avant la fin de la période de synthèse de substances de réserves. L'analyse ultrastructurale des ovocytes (fig. 17) illustre bien la structure du chorion, la maturation des plaquettes vitellines, leur transformation et leur

regroupement. Ces images ont été obtenues de la périphérie vers le centre de la cellule germinale.

Sur le terrain, c'est après 18 jours à compter du temps 0 des expériences 2 et 3, que nous avons observé des oeufs matures et mêmes quelques oeufs en phase d'incubation chez les géniteurs femelles du happas illuminé (fig. 13 e). L'illumination nocturne semblerait donc moduler l'ovogénèse.

Quant à l'expérimentation en laboratoire, les ovocytes des géniteurs femelles soumis à 23°C étaient caractéristiques de cette phase de maturation. (fig. 16 b).

Cette dernière phase correspond à la période de ponte proprement dite chez *T. nilotica* qui, contrairement aux autres poissons tels que les salmonidés (Barnabé, 1986) et les silures (Sundararaj et Vasal, 1976), ne présente pas la phase de latence réfractaire. Notre interprétation est appuyée par les travaux de recherche effectués chez *T. rendalli* (De Bont, 1950), *T. macrochir* (Huet, 1970) qui montrent que dans les régions chaudes, leur reproduction se poursuit sans interruption toute l'année.

Dans les conditions normales, chez les autres poissons, la période d'après ponte (latence réfractaire) est caractérisée d'abord par une régression du poids des ovaires qui, par la suite, demeurent à l'état de repos pendant un certain temps déterminé et variable selon l'espèce.

Il découle de ce qui précède que les nombreuses pontes annuelles (6 à 11 pontes) enregistrées chez les tilapias seraient liées à l'absence de période de latence réfractaire. Ainsi contrairement au *T. nilotica*, les salmonidés, les silures et autres poissons téléostéens présentent un cycle de ponte annuel bien tranché avec les quatre (4) phases bien distinctes (Barnabé, 1984; 1986); Sundararaj et Vasal, 1976).

Il nous apparait que les stades 1, 2 et 3 que nous avons décrit plus haut (chap.IV) représentent davantage la phase 1 du développement des cellules germinales; que le stade 4 représente davantage la phase 2 et enfin, que la phase 3 correspond davantage au stade 5.

5.3 CONTRÔLE DE LA REPRODUCTION CHEZ *Tilapia nilotica*

Dans cette section nous présentons l'interprétation critique du rôle de l'illumination nocturne et de la température sur la régulation de la modulation de l'ovogénèse chez *T. nilotica*.

L'effet de l'illumination nocturne

L'effet de l'illumination nocturne est mise en relief par l'analyse de l'IGS et de la taille des ovocytes des géniteurs utilisés au cours de l'expérimentation sur le terrain.

Lors de l'expérience 1, aucune différence significative au niveau de l'amplification des gonades, n'a été révélée, ni entre les géniteurs des happas (illuminé et témoin), ni entre ceux de ces derniers et ceux de l'échantillon R. La courte période d'illumination n'a pas été suffisante pour marquer une nette distinction entre les gonades des groupes de géniteurs utilisés. Cependant, en regard des données obtenues, nous nous sommes demandés pourquoi l'IGSm des géniteurs sous illumination avait d'abord augmenté lors du premier échantillonnage, pour ensuite baisser lors du deuxième et enfin augmenter lors du troisième échantillonnage alors que l'IGSm de ceux du happas témoin a augmenté du début à la fin de l'expérience.

Ces observations nous ont amenés à allonger la durée de l'illumination pour les expériences 2 et 3, afin de faire ressortir l'effet éventuel de l'illumination sur la reproduction de *T. nilotica*. En effet, Cridland (1962) croit que le fait de prolonger la photopériode pourrait augmenter l'activité de reproduction chez *Tilapia zilli*. Nous avons donc pensé qu'une prolongation de l'illumination nocturne pourrait avoir un effet similaire chez *T. nilotica*.

C'est ainsi qu'après dix jours à compter du début de l'expérience 2, il s'est avéré qu'en moyenne, le développement des gonades des géniteurs du happas illuminé était à la fois significativement supérieur à celui des gonades de ceux du happas témoin et de ceux de l'échantillon R. Ces deux (2) derniers groupes possédaient des gonades presque aux mêmes stades de développement.

Cette hypothèse de l'effet de l'illumination a été confirmée par Sundararaj et Vasal (1976) qui trouvèrent que, chez *Heteropneustes fossilis*, des manipulations photothermiques stimulaient l'amplification de l'ovaire et que, même à des températures aussi basses que 15°C, l'éclairage nocturne avait un effet sur le développement de la gonade de ce silure. Dans le même ordre d'idées, Schwanck (1987) a constaté que la lune favorise le développement des ovaires chez *T. mariae* pendant les phases les plus critiques.

Cependant, le dix-huitième jour à compter du temps 0, l'effet du développement des gonades par l'illumination nocturne a été mis en doute lorsque nous avons constaté une faible diminution de l'IGSm des géniteurs du happas illuminé pendant qu'une augmentation de l'IGSm de ceux du happas témoin se manifestait (fig. 10). Cette observation nous a conduit à formuler deux (2) hypothèses:

1) d'une part, une semaine après la période d'illumination nocturne, le processus de l'ovogénèse chez *T. nilotica* est bloqué et ceci s'expliquerait par une diminution du poids de l'ovaire. Si c'est le cas, l'illumination nocturne jouerait un rôle inhibiteur dans l'amplification des gonades.

2) D'autre part, on peut aussi penser que l'illumination nocturne stimule l'accélération de l'ovogénèse et provoque la ponte, phénomène qui ne se produit pas normalement chez une femelle de *T. nilotica* en l'absence des mâles. En effet, dans les conditions normales, la ponte dépend de la vitesse à laquelle les mâles creusent des nids et

dans le cas contraire, les oeufs matures pourrissent à l'intérieur des femelles qui peuvent en mourir. Les oeufs abîmés sont reconnus par leur couleur jaune et leur dureté (Veverica, 1988).

Pour vérifier les hypothèses précédentes, une troisième expérience a été effectuée et l'introduction des mâles dans les happas contenant les femelles nous a permis d'observer une chute spectaculaire de l'IGSm des géniteurs du happas illuminé. La plupart des femelles (75 %) du happas illuminé portaient des oeufs en phase d'incubation contre un faible pourcentage (10 %) du happas témoin. L'analyse statistique ("t" de student) de l'IGS nous a permis de conclure que l'amplification des gonades des géniteurs du happas illuminé était à la fois significativement inférieure à celles de ceux du happas témoin et de ceux de l'échantillon R; le stade de développement gonadique de ces deux (2) derniers groupes étant plus ou moins similaire (fig. 11).

Il en découle que, l'illumination nocturne exerce effectivement un effet sur la reproduction de *T. nilotica* en raccourcissant le cycle de ponte. D'autres auteurs (Balarin et Haller, 1982) ont confirmé cette hypothèse. Ces auteurs ont trouvé qu'une forte lumière et une longue photopériode influençaient d'une façon apparente les processus physiologiques liés à la maturation (Phase 3). L'interprétation de nos résultats indiquerait que la lumière influence non seulement la maturation mais qu'elle semblerait jouer un rôle dans la synthèse ou le transport des substances de réserves.

Nous avons aussi analysé la variation des diamètres des cellules germinales afin de mieux visualiser la synchronisation des ovaires et l'avancement proprement dit de l'ovogénèse. Pour ce faire, nous avons considéré des données de l'expérience 2 pour les raisons précitées (chap. IV). Nous avons pu constater qu'après le premier échantillonnage,

la taille moyenne des ovocytes des géniteurs du happas illuminé est bien supérieure à celles de ceux du happas témoin et de ceux de l'échantillon R, celles-ci n'étant pas significativement différentes. Il en ressort que juste après la période d'illumination, l'ovogénèse était déjà plus avancée chez les géniteurs du happas illuminé par rapport à ceux du happas témoin et ceux de l'échantillon R. De plus, la variation de la taille des ovocytes suit celle de l'IGS chez les trois (3) groupes de femelles (fig. 10, 12, 13).

Après le deuxième échantillonnage, le diamètre moyen des ovocytes des géniteurs de l'échantillon R s'est révélée à la fois significativement inférieur à celui des géniteurs des happas (témoin et illuminé). Ceci s'explique par l'ovogénèse plus accélérée chez les géniteurs se trouvant dans les happas mais il faut noter que ce phénomène est plus marqué chez les femelles du groupe illuminé dont un bon nombre commençaient à pondre. La ponte chez le groupe illuminé est démontrée par le fait que l'abaissement de l'IGSm est accompagné de l'augmentation de la taille des cellules germinales des mêmes géniteurs (fig. 10, 13).

De toutes ces observations, il n'y a nul doute que l'illumination nocturne de quatre (4) heures par nuit durant sept (7) jours successifs stimule le développement des gonades et provoque la ponte chez *T. nilotica*. Ceci confirme notre hypothèse de départ.

L'effet de la température

Nous avons remarqué que les géniteurs réagissaient différemment selon la température à laquelle ils étaient élevés (19°C, 23°C et 28°C). C'est ainsi qu'à 19°C, les géniteurs apparaissent en mauvaises conditions et bougeaient peu, contrairement à ceux exposés à 23 et 28°C qui apparaissent en bonne condition. Les mêmes comportements ont été observés par Kindle et Whitmore (1986) chez *T. aurea*.

Par ailleurs, la température a toujours été considérée comme étant un facteur critique pour la gamétogénèse chez plusieurs poissons tels que, chez les cyprinidés (Barnabé, 1986). Plus particulièrement chez *Cyprinus carpio*, les températures comprises entre 20 et 24°C se sont avérées nécessaires pour que la gamétogénèse ait lieu. L'hypophysation qui permet la maturation des follicules et l'ovulation ne peut réussir qu'à des températures supérieures à 19°C. Silva et Godinho (1983) ont réussi à réduire la durée de la spermatogénèse à sept (7) jours chez *T. nilotica* mâle en l'exposant à une température de 25°C. Egalement chez les femelles de *T. nilotica*, nous avons trouvé que les températures de 23 et 28°C stimulaient l'ovogénèse. En effet, les géniteurs exposés à ces deux (2) températures possédaient des IGSm plus élevés que celui de ceux élevés à 19°C (fig. 14). Les analyses des diamètres des ovocytes de ces géniteurs ont également confirmé l'interprétation précédente: en moyenne la taille des ovocytes des géniteurs placés à 19°C était à la fois significativement inférieure à celles de ceux des groupes soumis à 23°C et 28°C (fig. 15, 16).

Enfin, nous pouvons affirmer que le phénomène de l'ovogénèse était très avancé chez les groupes de géniteurs placés sous conditionnement à 23 ou à 28°C. Notons cependant que d'après nos résultats, la gamétogénèse des géniteurs à 23°C était légèrement plus avancée que chez ceux élevés à 28°C, et ce contrairement aux recherches de plusieurs auteurs dont Balarin et Haller (1982) qui ont émis l'idée que plus la température augmente, plus l'activité de reproduction est augmentée et qu'elle était idéale aux environs de 33°C chez les tilapias. A notre avis, ceci pourrait être attribué au fait que lors de l'expérimentation, le transfert des géniteurs de 19 à 28°C par un court passage à 23°C aurait été trop brusque et aurait entraîné par là même, un comportement inhibiteur quant à la reproduction. Alternativement, ceci pourrait être dû à une ponte partielle et précoce qui diminuerait d'autant

l'apport des cellules germinales matures. De plus, Billard et Marcel (1980) ont montré que toute élévation de température s'accompagne d'un accroissement du métabolisme. La consommation d'oxygène devient deux (2) fois plus élevée à 30°C qu'à 20°C, ce qui pourrait freiner l'activité de reproduction en diminuant l'apport énergétique du tissu hépatique vers les gonades.

La température a toujours joué un rôle déterminant chez plusieurs poissons comme chez *Hétéropneustes fossilis* (Sundararaj et Vasal, 1976) où la température de 31°C a été considérée comme étant idéale pour l'amplification des ovaires quelle que soit la photopériode. Comme l'a souligné Dashow (Pullin et Lowe-McConnell, 1982) ainsi que Balarin et Haller (1982), il apparaît que la température de 20°C est critique à la reproduction des tilapias. Nous avons également trouvé qu'à 19°C, les processus de l'ovogénèse chez *T. nilotica* étaient inhibés même si, à cette température, les géniteurs semblaient plus synchronisés au niveau des ovaires par rapport à ceux placés à 28°C (fig. 16).

En pratique, il serait donc plus intéressant d'élever *T. nilotica* à une température qui se situe aux environs de 23°C et utiliser celle de 19°C pour synchroniser les ovaires. Ces résultats sont soutenus par plusieurs auteurs (Bardach *et al.*, 1972; Philippart et Ruwet, 1982) qui soulignent que *T. nilotica* exige une température moyenne supérieure à 22°C pour que la ponte ait lieu. Ceci expliquerait la faible production d'alevins enregistrée à Rwasave (Rwanda) où la température moyenne annuelle de l'eau est aux alentours de 20,5°C.

Finalement, la température est un facteur critique pour la reproduction des tilapias et doit être suivie régulièrement pour avoir un meilleur rendement. Bishai (1965) a souligné que la température affecte à la fois la survie et la distribution du poisson, ses taux de croissance et de développement ainsi que ses activités locomotrices et reproductrices.

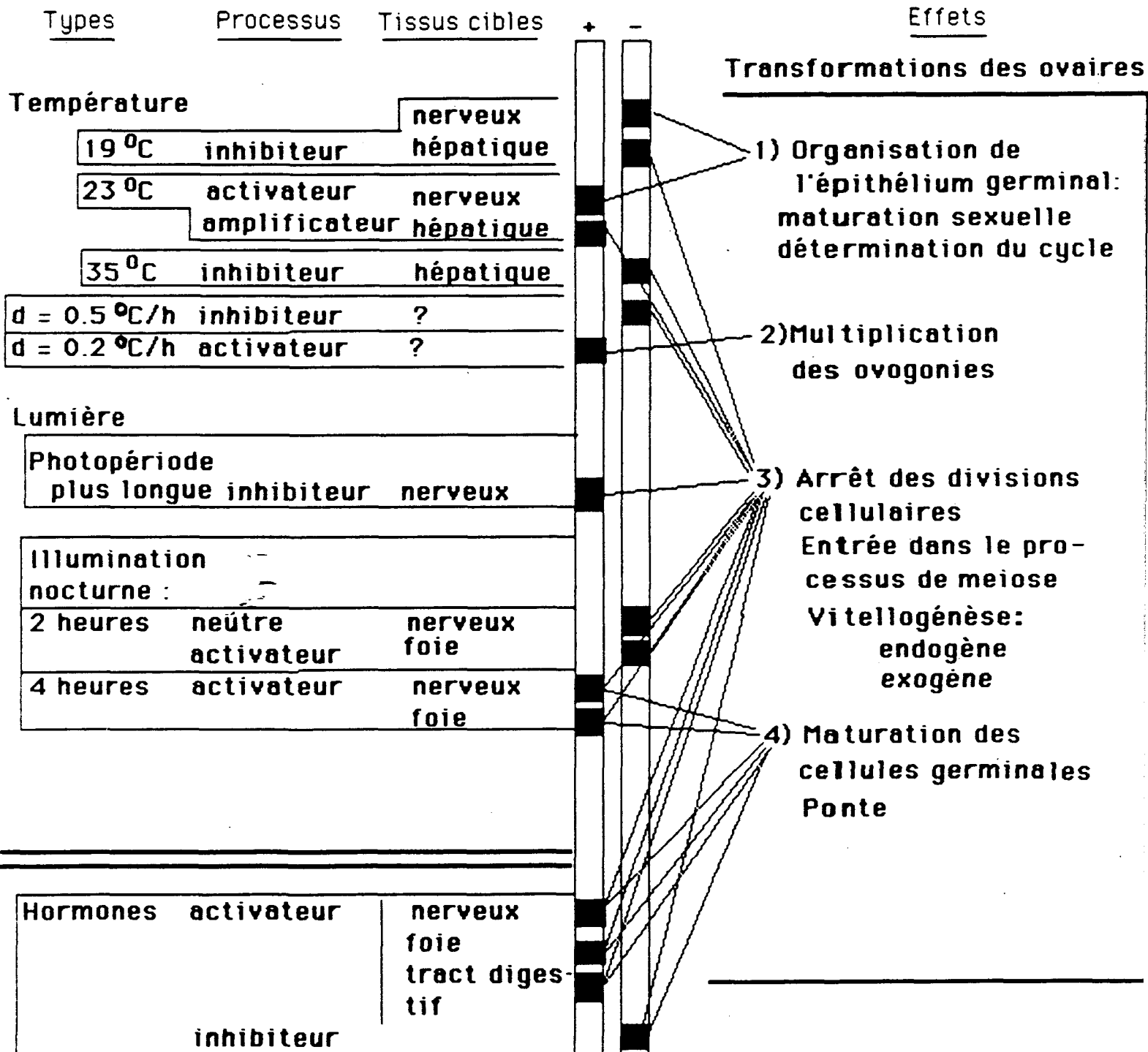
La synthèse des interprétations

La température est un facteur critique qui influence la reproduction de plusieurs espèces de poissons. Cependant, nos travaux effectués sur le terrain nous ont permis d'établir que l'illumination nocturne est un autre facteur qui stimule l'ovogénèse chez *T. nilotica* (Chap.IV). En effet, le rapprochement entre les effets de l'illumination nocturne et de la température sur le développement des gonades nous montre que l'IGSm des géniteurs de l'échantillon R et celui de ceux du groupe témoin (terrain) sont similaires à celui observée chez les géniteurs élevés à 19°C (laboratoire). De plus, le développement des gonades de ces trois (3) derniers groupes est significativement inférieur à celui de ceux élevés à 23°C et ceux du happas illuminé. Adebisi (1987) a noté chez les cichlidés des IGS très faibles (2,27 à 3,02 %) en comparaison de ceux que nous avons trouvé chez *T. nilotica*; cette différence serait probablement dû au mode d'élevage et aux espèces.

Quant au rapprochement des diamètres des cellules germinales des géniteurs élevés sur le terrain et ceux élevés en laboratoire, il ressort que la taille des ovocytes est légèrement plus élevée dans le cas des géniteurs exposés à 23°C par rapport à celle constatée chez les géniteurs du happas illuminé (95 %). Cette légère différence pourrait être liée à l'origine ou au mode d'élevage des géniteurs comme l'a constaté Barnabé (1986) chez la daurade.

La distribution des populations des cellules germinales a été présentée dans les catégories caractérisant les stades de développement. Seuls les géniteurs placés à 23°C et ceux du happas illuminés (échantillon 2) présentaient des gonades constituées d'environ 75 % d'ovocytes mûrs. Suite à ces observations, une interprétation schématique du contrôle de la reproduction chez *Tilapia nilotica* est présentée à la figure 18.

Facteurs exogènes



Facteurs endogènes

Figure 18. Schéma hypothétique de la régulation de l'ovogénèse chez *Tilapia nilotica* (Linné).

En effet, les facteurs exogènes semblent influencer prioritairement le tissu hépatique (synthèse des substances de réserve) et le tissu nerveux (neurohormones qui amènent des changements de perméabilité), si on en juge par la croissance des ovocytes (synthèse et transport des substances de réserve) ou la maturation des oeufs (différenciation du cytoplasme). Certains de ces facteurs exercent évidemment des contraintes. Par exemple, la température de 19°C semble inhiber le métabolisme de l'épithélium germinal, alors qu'un gradient de température trop prononcé, semble inhiber la prolifération des ovogonies. Quant à l'illumination nocturne plus spécifiquement, elle semble surtout exercer ces effets sur la vitellogénèse et la maturation des cellules germinales par son action sur le tissu nerveux et le tissu hépatique.

De tout ce qui précède, nous pouvons dire que notre objectif est atteint dans la mesure où les effets des deux (2) facteurs (illumination nocturne et température) sur le développement des ovaires et sur l'accélération de l'ovogénèse chez *T. nilotica*, ont été mis en évidence. Cependant, même si la température de 23°C semble davantage stimuler plus la gamétogénèse chez cette espèce que l'illumination nocturne (cette dernière ayant cependant l'avantage de provoquer la ponte), il est plus facile et moins coûteux pour les pisciculteurs (surtout du tiers monde) d'illuminer les étangs par l'usage des feux sur brûlis, car l'ajustement de la température de l'eau présente des difficultés considérables en milieu naturel. Par ailleurs, comme l'ont suggéré Billard et Marcel (1980), toute intervention en étang devra tenir compte de la température de l'eau. Évidemment, pour une culture intensive de poissons, tous les facteurs (O₂, pH, salinité, lumière, alimentation, alcalinité, turbidité, température) sont contrôlés régulièrement.

CHAPITRE VI

CONCLUSION

Sur le terrain, les résultats de l'expérience 1 n'ont pas été concluants. En effet, la variation de l'IGS des géniteurs utilisés au cours de cette expérience n'a pas permis de faire ressortir l'effet de l'illumination nocturne sur la reproduction de *T. nilotica* suite à une courte période d'illumination qui était de deux (2) heures par nuit pendant quatre (4) jours. L'exposition pendant une courte période ne serait donc pas suffisante pour moduler l'ovogénèse.

Au cours de l'expérience 2, la durée de l'illumination a été allongée à quatre (4) heures par nuit pendant sept (7) jours successifs. Juste après la période d'illumination, le premier échantillonnage a été pris et l'analyse de l'IGS a permis de conclure que les géniteurs femelles du groupe illuminé possédaient en moyenne des gonades plus amplifiées (IGSm de 5,8 %) par rapport à celles de ceux de l'échantillon R (IGSm de 3,32 %) et ceux du groupe témoin (IGSm de 4,09 %) avec un risque d'erreur de 0,01. A la fin de cette expérience (18 jours au total), les géniteurs du happe illuminé ont accusé une légère diminution de poids de leurs gonades (IGSm de 4,88 %) tandis que celles des géniteurs du happe témoin continuaient à augmenter de poids (IGSm de 4,92 %).

Cette diminution de l'IGSm des géniteurs du happe illuminé a été mise en évidence au cours de l'expérience 3 où nous avons constaté qu'en moyenne, l'amplification des gonades de ce même groupe (IGSm de 3,56 %) s'est révélée à la fois significativement inférieure ($P < 0,01$) à celle des gonades des géniteurs de l'échantillon R (IGSm de 5,4 %) et à celle des gonades de ceux du happe témoin (IGSm de 5,63 %). De plus, au cours de cette expérience, on a relevé plusieurs femelles (75 %) portant des oeufs en phase d'incubation dans le happe illuminé en comparaison avec celles placées dans le happe témoin (10 %).

Cette chute spectaculaire de l'IGSm des géniteurs du happas illuminé est probablement due à la ponte provoquée par l'illumination nocturne, facteur responsable de l'amplification très prononcée des gonades des géniteurs, observée 10 jours après le début de l'expérience. Le groupe de géniteurs exposé à une illumination nocturne a révélé un cycle de ponte probablement mensuel. Le recrutement mensuel des ovules varie suivant le degré de synchronisation des ovaires et représente plus de 75 % du poids total de la gonade. L'histologie des gonades a confirmé les résultats précédents par le fait que l'ovogénèse était clairement plus accélérée chez les géniteurs du happas illuminé. En effet, à l'intérieur de ce groupe, on rencontrait soit des ovocytes au stade très avancé, soit des ovogonies ou des jeunes ovocytes mais en proportions différentes (suivant la période de ponte).

En ce qui concerne l'expérimentation en laboratoire, il s'est révélé que l'amplification des gonades des géniteurs femelles exposés à 23°C (IGSm de 7,79 %) et celles de ceux soumis à 28°C (IGSm de 6,88 %) étaient significativement supérieures à celle de ceux du groupe élevé à 19°C (IGSm de 3,52 %). Nous avons également constaté que, les variations des diamètres des cellules germinales suivaient celles de l'IGS des mêmes géniteurs

Même si les femelles placées respectivement à 23°C et 28°C démontrent une amplification des ovaires, la température de 23°C est à recommander comme étant idéale à l'élevage et à la reproduction de *T. nilotica* parce qu'elle offre les meilleurs avantages énergétiques. Quant à la température de 19°C, elle semble bloquer la reproduction, mais peut être utilisée pour synchroniser le développement des ovaires.

En conclusion, le rapprochement des résultats obtenus quant aux effets des deux facteurs analysés sur la reproduction nous a permis de suggérer que la température de

23°C joue un rôle plus important dans le développement de la gamétogénèse que l'illumination nocturne; cette dernière ayant cependant l'avantage de provoquer la ponte, même en l'absence de substrat, d'être moins coûteuse et plus pratique, nous pouvons donc suggérer aux pisciculteurs d'utiliser l'illumination nocturne plutôt que la température. En effet, il serait plus facile pour le paysan pisciculteur rwandais d'éclairer son étang par la pratique des feux sur brûlis plutôt que de réchauffer et maintenir la température de l'eau à 23°C. Ainsi, il pourra augmenter le nombre de ponte par année et par conséquent augmenter le nombre d'alevins par femelle par année. Ceci n'implique pas que des méthodes de conservation de la chaleur ne puisse être développées pour prévenir le refroidissement des eaux de l'étang.

Concernant la méthodologie expérimentale employée, en laboratoire, il aurait été plus intéressant d'expérimenter sur une cohorte plus importante de géniteurs en vue de former plusieurs autres groupes (chap.V) pour faire ressortir clairement l'effet de la température et de l'illumination nocturne en milieu contrôlé sur la reproduction de *T.nilotica* ; entre autres:

- 1) trois (3) groupes de géniteurs à exposer aux mêmes températures (19°C, 23°C et 28°C) mais soumis à l'illumination nocturne de quatre (4) heures par nuit pendant sept (7) jours comme sur le terrain;

- 2) deux groupes de géniteurs à placer dans des bassins contenant une eau dont la température varie journellement de 19 à 28°C suivant le gradient de température déterminé sur le terrain mais dont l'un devrait subir une illumination nocturne. Ces deux derniers groupes nous auraient permis de vérifier en laboratoire l'effet de la pente du gradient de température.

BIBLIOGRAPHIE

- Adebisi, A.A. 1987. The relationships between the fecundities, gonadosomatic indices and egg sizes of some fishes of Ogun river, Nigeria. Arch. Hydrobiol., 111 (1): 151-156.
- Arthington, A.H and D.A. Milton 1986. Reproductive biology growth and age composition, of introduced *Oreochromis-mossambicus* cichlidae in two reservoirs, Brisbane, Australia. Environ. biol. fishes, 16 (4): 256-266.
- Babiker, M.M. 1984. Seasonal abundance, breeding, and sex structure of populations of *Tilapia niloticus* and *Labeo niloticus* in the jebel aulia Dam area of the white Nile Sudan. Hydrobiologia, 110 (0): 287-294.
- Babiker, M.M. 1986. Spawning periodicity and annual breeding seasons of *Tilapia nilotica* in the white Nile Sudan. Hydrobiologia, 135 (1-2): 71-80.
- Balarin, J.D. 1979. Tilapia a guide to their biology and culture in Africa. University of Stirling-Scotland. 173 pages.
- Balarin, J.D. and R.D. Haller 1982. The intensive culture of tilapia in Tanks, Raceways and Cages in J.F. Muir et R.J. Roberts, "Recent advance in aquiculture". Croonhelm, pp 265-356.
- Bard, J., P. De Kimpe et J. Lemasson 1974. Manuel de pisciculture tropicale. C.T.F.T., Paris. France.
- Bardach, J.E., J.H Ryther and W.O. MC Larney 1972. Aquaculture, the farming and husbandry of freshwater and marine organisms. Wiley et sons, New York (Etats Unis).
- Barnabé, G. 1986. Aquaculture. vol.II: 524-1123. Ed. Lavoisier.
- Berger, A. and S. Rothbard 1987. Androgen induced sex-reversal of red tilapia fry stocked in cages within ponds. Bamidgeh, 39 (2): 49-57.
- Bhowmick, R.M., G.V. Kowtal, R.K. Jana and S.D. Gupta 1987. Observations on the use of various hormones and clomiphene citrate in hypophysation of indian major carps. Vet arh, 56 (6): 285-292.
- Billard, R. et J. Marcel 1980. Quelques techniques de production de poissons d'étangs. Pisc. Fr, 59: 9-16 et 41-49.
- Billard, R. and B. Breton 1984. Control of reproduction and fish farming. Proceeding of the international soc. comp. endocrinol., B. Loft Ed. Hong Kong.
- Bishai, H.M. 1965. Resistance of *Tilapia nilotica* (L) to high temperatures. Hydrobiologia, 25: 473-488.

- Boyd, C.E. 1979. Water quality in fish ponds. Auburn University. Alabama.
- Chaet, A.B. and M. McConnaughy 1959. Physiological activity of nerve extracts. Biol. Bull., Woods holes, 117: 407-408.
- Chen, J.D. and F.H.Yew 1988. DNA Replication and repair of tilapia cells II, effects of temperature on DNA replication and UV repair in tilapia ovary cells. J. Cell. sci., 89 (2): 263-272.
- Chen, J. D., F.H. Yew and G.C. Li 1988. Thermal adaptation and heat shock response of tilapia ovary cells. J. Cell. physiol, 134 (2): 189-199.
- Coche, A.G. 1977. Premiers resultats d'élevage en cages de *Tilapia nilotica* dans le lac Kossou en Côte d'Ivoire. Aquaculture, 10: 109-140.
- Coche, A.G. 1978. Revue des pratiques d'élevage de poissons en cages dans les eaux continentales. Aquaculture, 13, 157-189.
- Cridland, C.C. 1962. Laboratory experiments on the growth of tilapia species.1. The value of various foods. Hydrobiologia, 15: 240-57.
- Deb, S, M. Jamaluddin, S. Bhattacharya, R. Bhadra and A.G. Datta 1985. Bioessay of fish gonadotropin by ovarian mitochondrial cholesterol depletion. Gen comp. endocrinol., 57 (3): 491-497.
- De Bont, A.F. 1950. La reproduction en étangs de *Tilapia melanopleura* et *Tilapia macrochir*. Station des recherches piscicoles d'Elisabethville.
- Demano, A. D. and W.G. Frederick 1987. Steroid induced final maturation in trout (*Salvelinus fontinalis*) ovocytes in vitro: the effects of faskolin and phosphodiesterase inhibitors. Biology of reproduction, 36: 1321-1332.
- Demiski, L.S. and P.J. Hornby 1982. Hormonal control of fish reproductive behavior: brain-gonadal steroid interactions. Can. J. Fish. aquat. sci., 39: 36-47.
- Donovan, P. and M. Abraham 1987. Inhibition of spermatogenesis in tilapia by dibromochloropropane an antifertility drug. Gen. comp. endocrinol., 66 (1): 19.
- Eyeson, K.N. 1983. Stunting and reproduction in pond reared *Sarotherodon melanotheron*. Aquaculture, 31 (2-4): 257-268.
- Fineman-Kalio, A.S. 1988. Preliminary observations on the effect of salinity on the reproduction and growth of fresh-water Nile *Tilapia oreochromis-niloticus* (L). cultured in brackish-water ponds. Aquacult. fish manage, 19 (3):1313-320.
- Fuji, A. 1960. Studies on biology of the sea urchin III. reproductive cycle of two sea urchins, *Strongylocentrotus nudus* and *S. intermedius*, in Southern Hokkaido. Bull. fac. fish. Hokkaido univ., 11: 49-57.
- Gabe, M. 1968. Techniques histologiques. Masson. Paris. 113 pages.

- Greenwood, P.H., D.E. Rosen, S.H. Weitzman and G.S. Myers 1966. Phyletic studies of teleostean fishes with a provisional classification of living forms. *Bull. An. Mvs. nat. hist.*, 131 (4): 339-456.
- Giese, A.C., R. Boolootian, A. Farmanfarmian, L. Greenfield and J. Bennett 1957. Reproductive cycles in some West Coast echinoderms. *Anat. Rec.*, 123:554-555.
- Gonor, J.J. 1973. Reproductive cycles in Oregon populations of the echinoid, *Strongylocentrotus purpuratus* (Stimpson). I. Annual gonad growth and ovarian gametogenic cycles. *J. exp. mar. Biol. ecol.*, 12:45-64.
- Guraya, S.S. 1986. The cell and molecular biology of fish oogenesis. 223 pages. Ed. New York: Karger.
- Himes, M and L.G. Moriber 1956. A triple stain for deoxyribonucleic acid, polysaccharides and proteins. *Stain Tech.*, 31:67.
- Himmelman, J.H. 1979. Factors regulating the reproductive cycles of two northeast pacific chitons *Tonicella lineata* and *T. insignis*. *Mar. biol. biol.*, 50: 215-225.
- Himmelman, J.H. 1980. Reproductive cycle patterns in the chiton genus *Mopolia* (*Polyplacophora*) *nautilus*, 94: 39-49.
- Hishamunda, N. 1984. Contribution à l'étude des effets de *Serranochromis macrocephala* sur la prolifération de *Tilapia macrochir* en étangs de pisciculture. Mémoire de maîtrise, Butare. 147 pages.
- Huet, M. 1970. Traité de pisciculture. Ed. Ch. de Wyngaert; 1200 Bruxelles. 718 pages.
- Kindle, K.R. and D.H. Withmore 1986. Biochemical indicators of thermal stress in *Tilapia aurea*. *J. Fish biol.*, 29: 243-255. Texas.
- Lamotte, M. et P.H. l'Heritier 1968. Biologie générale I: Structure et fonctionnement de la cellule. Reproduction sexuée. Ed. Doin. 293 pages.
- Lequenne, P. 1984. Les fermes marines. Ed. Charley Yves Chandroreille. 126 pages.
- Lewis, J.B. 1958. The biology of the tropical sea urchin, *Tripneustes asculentus* (Leske) in Barbados, British West Indies. *Can. J. Zool.*, 36:607-621.
- Lowe-McConnell, R.H. 1959. Observations of the biology of *Tilapia nilotica* (L.) in East African waters. *Rev. Zool. Bot. Afr.*, 1: 129-170.
- McBay, L.G. 1961. The biology of *Tilapia nilotica* (L.). *Proc. 15th. Ann. Conf. southeast game. Fish comm.*, pp. 208-218.
- Macintosh, D.J; T.J. Varghese and G.P.S. Rao 1985. Hormonal sex reversal of wild-spawned *Tilapia Oreochromis-mossambicus* in india. *J. Fish biol.*, 26 (2): 87-94.

- McNamara, K. 1988.. Communication personnelle.
- Magid, A. and M.M. Babiker 1975. Oxygen consumption and respiratory behaviour in three Nile fishes. *Hydrobiologia*, 46: 359-67.
- Magniez, P. 1983. Reproductive cycle of the brooding echinoid *Abatus cordatus* (Echinodermata) in Kerguelen (Antarctic Ocean): changes in the organ indices, biochemical composition and caloric content of the gonads. *Mar. biol.* 74:55-64.
- Marsh, B.A., A.C. Marsh and A.J. Ribbink 1986. Reproductive seasonality in a group of rock-frequenting cichlid fishes in lake Malawi. *J. Zool. ser. A.*, 209 (1): 9-20.
- Matthiessen, P. and J.W.M. Logan 1984. Low concentration effects of endosulfan insecticide on reproductive behavior in tropical cichlid fish *Sarotherodon mossabicus*. *Bull. environ. contam. toxicol.*, 33 (5): 575-583.
- Melard, C. et J.C. Philippart 1981. La production de tilapia de consommation dans les rejets industriels d'eau chaude en Belgique. In *Cahiers d'éthologie appliquée*, 49. 50 pages.
- Mrowka, W. 1987. Filial cannibalism and reproductive success in the maternal mouthbrooding cichlid fish *pseudocrenilabrus-multicolor*. *Behav. ecol. sociobiol.*, 21 (4): 257-266.
- Mukankomeje, R. 1984. Etude de la biologie de *Tilapia Sarothérodon-nilotica* (L.), comparaison avec *Tilapia sarothérodon-macrochir* (BLGR). Deux espèces commercialement exploitées dans le lac Ihema. Rwanda.
- Nagahama, Y., H. Kagwa and G. Young, 1982. Cellular sources of sex steroids in teleost gonads. *J. Fish aquacult. sci.*, 39: 56-64.
- Nakamura, M. 1981. Effects of 11-keto-testosterone of gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*. *Bull. JPN Soc. sci. fish*, 47 (10): 1323-1328.
- Omotosho, J.S. 1987. Abnormal development in the ovaries of *Oreochromis niloticus* (L) perciforme cichlidae in Nigeria. *Rev. Biol. trop*, 35 (1): 83-86.
- Pandian, T.J. and K. Varadaraj 1987. Techniques to regulate sex ratio and breeding in tilapia. *Curr. sci.* 56 (8): 37-34.
- Pearse, J.S. 1966. Antarctic asteroid *Odontaster validus*. Constancy of reproductive periodicities. *Science*, 152: 1763-1764.
- Pearse, J.S. 1968. Patterns of reproductive periodicities in four species of Indo-Pacific echinoderms. *Proc. ind. acad. sci.*, 67:247-278.
- Perez, M.H., E.R. Duarte, M. Penaz and J. Gajdusek 1988. Reproductive biology of *Cichlasoma tetracanthum*. *Prirodoved pr ustavu cesk akad ved brne*, 22 (2): 1-36.

- Peters, H.M. 1983. Fecundity egg weight and oocyte development in tilapias cichlidae teleostei. Illus. Paper. iv+28 pp. Manilla, philippines.
- Peura, R., E.T. Valtonen and D.W.T. Crompton 1982. The structure of the mature oocyte and zygote of *Corynosoma semerme-acanthocephala*. Parasitology, 84 (3): 475-840.
- Philippart, J.C., 1975. Dynamique des populations des poissons d'eau douce non exploitées,. P., 292-394 in Lamotte et Boulière. Problèmes d'écologie.
- Philippart, J.C. and Ruwet, 1982. Ecology and distribution of tilapias in "the biology and culture of tilapias". ICLARM-Manilla. Philippines.
- Pullin, R.S.V. and R.H. Lowe-McConnell 1982. The biology and culture of tilapia. 432p. I.C.L.A.R.M. Manille. Philippines.
- Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell biol., 17: 208.
- Rothbard, S., B.Moav. and Z. Laron 1987. Changes in steroid concentrations during sexual ontogenesis in tilapia. Aquaculture, 61 (1): 59-74.
- Santiago, C.B., M.B. Aldaba, M.A. Laron and O.S. Reyes 1988. Reproductive performance and growth of Nile *Tilapia Oreochromis-niloticus* broodstock fed diets containing *leucaena-eucocephala* leaf meal. Aquaculture, 70 (1-2): 53-62.
- Schwanck, E. 1987. Lunar periodicity in the spawning of *Tilapia mariae* in the Ethiop river, Nigéria. J. Fish biol., 30: 533-537.
- Silva, M., and H.P. Godinho 1983. Timing of some events of the gametogenesis in the male Nile *Tilapia sarotherodon-niloticus*. Arch anat. microsc. morphol. exp., 72 (3): 231-237.
- Smith, C.J. and S.R. Haley 1988. Steroid profiles of the female *Tilapia Oreochromis-mossambicus* and correlation with oocyte growth and mouthbrooding behavior. Gen comp. endocrinol., 69 (1): 88-98.
- Stickney, R. R., 1986.-- Tilapia. Culture of Nonsalmonid Freshwater Fishes, 57-73.
- Sundararaj, I. B. and T.C. Anand 1972. Effects of piscine and mammalian gonadotropins on gametogenesis in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (bloch). General and comparative endocrinology supplement, 3: 688-702.
- Sundararaj, I.B. and S. Vasal, 1976. Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish, *Heteropneustes fossilis*. J. Fish. res. board. can., 33: 959-973.
- Taylor, M. 1984. Lunar synchronisation of fish reproduction. Trans. am. fish. soc. 113: 329-419.