

DK 530374

BA TH 1321

**Université Montpellier II
Sciences et Techniques du Languedoc
Place Eugène Bataillon
34095 MONTPELLIER Cedex 5**

**CIRAD-EMVT
Campus International de Baillarguet
TA 30 / B
34398 MONTPELLIER Cedex 5**

**DIPLOME D'ETUDES SUPERIEURES SPECIALISEES
PRODUCTIONS ANIMALES EN REGIONS CHAUDES**

Année 2004-2005

RAPPORT DE STAGE

**EFFET DES VARIATIONS DE LA SALINITE CHEZ DEUX
POPULATIONS NATURELLES DE *Sarotherodon melanotheron*
heudelotii ORIGINAIRES DU SENEGAL**

Par

N'Golo OUATTARA

Le 19 octobre 2005

**CIRAD-Dist
UNITÉ BIBLIOTHÈQUE
Baillarguet**

**Laboratoire d'accueil : Laboratoire de recherches en aquaculture et gestion des ressources
aquatiques du CIRAD**

able de stage : Dr Jean-François BAROILLER et Hélène D' COTTA CARRERAS

**BA
TH1321**



CIRAD

000073242

RESUME ET MOTS CLES

Les effets de la modification de la salinité ont été étudiés durant 4 mois en milieu contrôlé chez deux populations du tilapia *Sarotherodon melanotheron heudelotii* (inféodées naturellement à des milieux extrêmement opposés, eau douce/eau hypersalée) afin de déterminer s'il existait une différence dans la capacité d'adaptation de ces deux populations à l'eau salée.

Les résultats obtenus révèlent une meilleure croissance moyenne de la population naturellement originaire d'eau douce (Saint-Louis) et cela pour tous les types de traitements effectués avec cependant une croissance hétérogène entre les individus.

Les modifications structurales et physiologiques branchiales sont par contre à l'avantage de la population qui vit naturellement en eau hypersalée. Une modification dans la localisation des cellules à chlorures est déjà observée après 8 heures de transfert en eau de mer (35 ‰).

Ces résultats laissent penser que ces deux populations présentent des différences quant à leur réponse face à une exposition à l'eau de mer. Les faibles différences de taux de croissance en eau douce et en eau de mer et les taux élevés de survie dans les différents traitements, indiquent une bonne adaptation de l'espèce à l'eau de mer.

MOTS CLES: *Sarotherodon melanotheron heudelotii*- adaptation- salinité- modification- branchies- cellules à chlorures- taux de survie- croissance

DEDICACE

Je dédis ce rapport à :

- mes défunts père OUATTARA Yédiossi et frère OUATTARA Zambé. Que la terre leur soit légère !
- Ma mère OUATTARA Kali pour son amour maternel et ses bénédictions. Que le seigneur d'accorde une longue vie !
- Mon grand frère OUATTARA Zié pour son soutien indéfectible. Ton rêve est deviendra une réalité.

REMERCIEMENTS

Je voudrais exprimer ici ma gratitude et toute ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont aidé et soutenu pour la réalisation de ce travail. Je pense particulièrement aux:

- Dr. Jean-François Baroiller et Helena D'COTTA pour m'avoir accepté au sein du laboratoire d'aquaculture du CIRAD et guider ce travail avec engagement. Trouvez ici toute l'expression de ma sincère gratitude pour votre soutien et vos conseils ;
- Pr. Guy CHARMANTIER et Genevière NEGRE pour m'avoir permis de réaliser une partie de mes travaux au sein de votre laboratoire. Merci pour votre encadrement et vos conseils. Je voudrais également remercier tous les autres membres du laboratoire pour leur collaboration.
- Samir MESSAD pour sa contribution à l'analyse de mes résultats.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : *Sarotherodon melanotheron*

Figure 2 : Répartition de 4 populations naturelles de *Sarotherodon melanotheron* inféodées à différentes salinités au SENEGAL

Figure 3 : Branchies des poissons

Figure 4 : Structure des branchies

Figure 5 : Osmorégulation chez les poissons

Figure 6 : Cellules à chlorures

Figure 7 : Grille de 2 500 μm^2 utilisé pour le comptage des cellules à chlorures.

Figure 8 : Topographie des branchies de *S. melanotheron heudelotii*

Figure 9 : Localisation des cellules à chlorures en eau douce chez Saloum

Figure 10 : Localisation des cellules à chlorures après 8 heures de transfert en eau de mer chez Saloum.

Figure 11 : Localisation des cellules à chlorures après 24 heures de transfert en eau de mer chez Saloum.

Figure 12 : Localisation des cellules à chlorures après 3 jours de transfert en eau de mer chez Saloum.

Figure 13 : Localisation des cellules à chlorures après 10 jours de transfert en eau de mer chez Saloum

Figure 14 : Localisation des cellules à chlorures chez les témoins Saint-Louis

Figure 15 : Localisation des cellules à chlorures après 24 heures de transfert en eau de mer chez Saint-Louis.

Figure 16 : Localisation des cellules à chlorures après 48 heures de transfert en eau de mer chez Saint-Louis.

Figure 17 : Localisation des cellules à chlorures après 3 jours de transfert en eau de mer chez Saint-Louis.

Figure 18 : Localisation des cellules à chlorures après 10 jours de transfert en eau de mer chez Saint-Louis.

TABBLE DES MATIERES

| | |
|---------------------------|-----|
| RESUME ET MOTS-CLEFS..... | i |
| DEDICACE | ii |
| REMERCIEMENTS | iii |
| LISTE DES FIGURES | iv |
| TABLE DES MATIERES | vi |
| INTRODUCTION | 1 |
| Contexte de l'étude | |
| Objectifs de l'étude | |

PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

| | |
|--|----|
| I- PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL, LE CIRAD | 5 |
| 1-1- PRESENTATION GENERALE | 5 |
| 1-2- CIRAD A MONTPELLIER | 5 |
| 1-3- CIRAD ET AQUACULTURE | 6 |
| II- RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES | 8 |
| 2-1- DESCRIPTION DES TILAPIAS DU GENRE <i>Sarotherodon</i> | 8 |
| 2-1-1- Systématique | 8 |
| 2-1-2- Aire de distribution et conditions du milieu | 8 |
| 2-1-3- Données zootechniques | 9 |
| 2-2- BIOLOGIE DES TILAPIAS EN EAU DE MER | 10 |
| 2-2-1- Tolérance à la salinité | 10 |
| 2-2-2- Salinité et croissance | 10 |
| 2-2-3- Salinité et reproduction | 11 |
| 2-3- OSMOREGULATION CHEZ LES POISSONS | 14 |
| 2-3-1- Branchies chez les poissons | 14 |
| 2-3-2- Fonctions des branchies | 16 |
| 2-3-2-1- Echanges gazeux | 16 |
| 2-3-2-2- balance électrolytique | 16 |
| 2-3-2-3- Rejet des déchets | 18 |
| 2-4- MECANISME D'ADAPTATION DES POISSONS A L'EAU DE MER | 18 |
| 2-4-1- Cellules à chlorure | 18 |
| 2-4-2- Enzyme Na ⁺ , K ⁺ ATPase | 20 |

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

| | |
|--|----|
| I. – MATERIEL | 21 |
| 1-1 Matériel biologique | 21 |
| 1-2- Matériel expérimental | 21 |
| II. – METHODES | 22 |
| 2-1- Techniques expérimentales d'élevage | 22 |
| 2-1-1- Traitement de l'eau | 22 |
| 2-1-2- Préparation de l'eau de mer artificielle | 22 |
| 2-1-3- Transfert des poissons | 22 |
| 2-1-4- Protocole expérimental | 22 |
| 2-1-4-1- Expérience I | 23 |
| 2-1-4-2- Expérience II | 23 |
| 2-2- Evaluation des performances zootechniques | 24 |
| 2-2-1- Taux de survie | 24 |
| 2-2-2- Contrôle de la croissance | 24 |
| 2-2-3- Traitements statistiques des données | 24 |
| 2-3- Histologie classique et immunocytochimie | 25 |
| 2-3-1- Prélèvement des échantillons | 25 |
| 2-3-2- Fixation et conservation des branchies | 25 |
| 2-3-3- Déshydratation et inclusion | 25 |
| 2-3-4- Coupes | 26 |
| 2-3-5- Coloration polychrome des coupes | 26 |
| 2-3-6- Immunolocalisation de l'ATPase Na ⁺ /K ⁺ par immunofluorescence | 27 |
| 2-3-7- Observation des coupes | 29 |
| 2-3-8- Techniques d'analyse des images | 29 |

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|---|----|
| I - PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES | 30 |
| 1-1- Taux de survie | 30 |
| 1-2- Croissance pondérale | 30 |
| 1-3- Longueur totale | 36 |
| II. - TOPOGRAPHIE DES BRANCHIES | 38 |
| III – MODIFICATION DES CELLULES À CHLORURES LORS DE L'DAPTATION A DES SALINITES PLUS ELEVEES | 38 |

| | |
|---|----|
| 3-2-1- Localisation des cellules à chlorures | 38 |
| 3-2-2- Nombre des cellules à chlorures | 40 |
| IV- DISCUSSION | 41 |
| 4-1- Caractéristiques de l'adaptation à la salinité | 41 |
| 4-2- Performances zootechniques | 42 |
| CONCLUSION | 44 |
| BIBLIOGRAPHIE | 46 |

INTRODUCTION

Le poisson représente dans de nombreux pays en voie de développement une source importante de protéines de bonne qualité alimentaire et d'un prix modéré. En particulier, les espèces du groupe des tilapias, famille des Cichlidés, font l'objet d'une pisciculture importante dans les pays du Sud (Asie, Amérique Latine, et Afrique d'où ils sont originaires), mais aussi dans certains pays du Nord (Etats-Unis et quelques pays d'Europe) (Springer et Finucane, 1963).

En effet, les tilapias présentent de nombreux avantages qui expliquent leur succès en aquaculture. Tout d'abord, leur régime alimentaire opportuniste (bien que phytoplanctonophages à la base) permet des apports alimentaires appropriés à tous les degrés d'intensification, y compris une simple fertilisation organique/minérale des étangs; le poste « nourriture » qui représente souvent près de la moitié des coûts d'élevage, peut donc être extrêmement réduit, en particulier en élevage extensif). Par ailleurs, leurs caractéristiques biologiques (reproduction continue, comportement parental très développé avec incubation des œufs et alevins, ...) permettent une reproduction aisée en élevage. Paradoxalement, l'efficacité de reproduction de ces espèces, peut même conduire à des problèmes de nanisme dans les populations d'élevage, du fait d'une grande précocité de la maturité sexuelle; c'est pourquoi l'élevage en populations monosexes mâles (les mâles grossissant généralement plus vite que les femelles) est systématiquement recherché. Enfin, ce sont des poissons rustiques pouvant vivre dans des eaux qui seraient létales pour de nombreuses autres espèces de poissons (Chervinski, 1980).

La situation actuelle de la production mondiale de tilapias reflète bien tous ces avantages. En effet, les tilapias, avec une production annuelle dépassant 1,5 millions de tonnes, représentent le deuxième groupe piscicole produit dans le monde après les cyprinidés (dont la production et la consommation sont essentiellement chinoises).

Cependant, l'essentiel de la production est réalisée en eau douce (FAO, 2004) et la part de la production en eaux salées est très minime (2%).

Or dans les régions tropicales arides et subarides, les besoins de l'agriculture, de l'industrie et des usages domestiques limitent la disponibilité de l'eau douce pour l'aquaculture empêchant ainsi le développement de la filière. D'un autre côté, les zones arides sont riches en marécages salés dont les eaux ne peuvent pas être utilisées à des fins agricoles. La valorisation des eaux marines et saumâtres par l'aquaculture apparaît donc être un enjeu important pour ces régions du globe. Le problème est de trouver des espèces tolérant les eaux salées et possédant un taux

de croissance élevé. Certaines espèces de tilapias, possédant les potentialités pour vivre et se reproduire en milieu salé, sont parmi les espèces les plus intéressantes pour être élevées dans de tels milieux (Lotan, 1960).

Les potentialités aquacoles de *Sarotherodon melanotheron* et particulièrement de la sous-espèce euryhaline *Sarotherodon melanotheron heudelotii*, originaire du Sénégal, ont pu être démontrées (Gilles *et al.*, 1998 ; Zamora, 2000). En effet, par rapport aux deux autres sous-espèces décrites par Gourène *et al* (1995), *Sarotherodon melanotheron heudelotii* présente le taux de croissance le plus élevé (0,85 g/j contre 0,41 g/j pour *Sarotherodon melanotheron melanotheron*), l'apparition de la maturité sexuelle la plus tardive et la production d'alevins la plus faible.

Même si comparativement à *Oreochromis niloticus* qui peut présenter, dans les meilleures conditions d'élevage (et en particulier d'alimentation), une croissance de 3 g/j, les performances de *Sarotherodon melanotheron heudelotii* peuvent paraître faible, il a cependant l'avantage de pouvoir vivre et se reproduire en environnement salé, ce que *Oreochromis niloticus* ne supporte pas. La recherche d'une telle espèce est donc importante. Des études complémentaires, notamment sur sa reproduction, son régime alimentaire et en ce qui concerne notre thème, sa capacité de transfert, de croissance et d'adaptation en eau de mer sont indispensables pour définir son potentiel aquacole. Enfin, l'existence de populations de *Sarotherodon melanotheron* naturellement inféodées à des milieux de régime salins extrêmes (et donc soumise à une pression de sélection constante du facteur salinité), constitue un outil biologique majeur pour la recherche de marqueurs de tolérance à la salinité, qui pourraient ensuite être validés sur d'autres espèces de tilapia présentant de meilleures performances de croissance.

Contexte de l'étude

Avec leurs caractéristiques d'euryhalinité et leur remarquable capacité à bien se développer en environnement salé, chaque espèce de tilapias est sujette à de sérieuses recherches et est testée pour une culture en eau saumâtre et en eau de mer (Lotan, 1960). Tel est le cas de *Sarotherodon melanotheron* qui peut survivre à des salinités supérieures à 120 ‰ et pouvant même développer une gamétogenèse normale (des alevins ont été observés jusqu'à 85 ‰ en milieu naturel) mais présente un faible taux de croissance.

Une étude a été menée en collaboration entre l'Institut Fondamentale d'Afrique Noire (IFAN), l'Université Cheikh Anta Diop, l'IRD et le CIRAD sur 4 populations naturelles de cette espèce, respectivement localisées :

- Au lac de Guiers où la salinité est constante et nulle ;
- A la baie de Hann sur l'océan Atlantique où la salinité varie très peu et tourne autour de 37 ‰.
- Sur l'estuaire de Gambie où la salinité varie entre 5 et 37 ‰ ;
- Sur l'estuaire du Saloum avec des salinités toujours supérieures à celles de l'eau de mer et variant entre 40 et 100 ‰.

Dans un premier temps, ces populations ont été caractérisées avec quelques paramètres osmorégulateurs quant à leur tolérance à des changements de salinités (Mbow *et al.*, 2005).

La présente étude sera effectuée en milieu contrôlé sur des descendants issus d'individus de deux de ces populations naturelles vivant dans des conditions extrêmes, originaires de l'estuaire de Saloum (avec des salinités entre 40 et 100‰) et de Saint Louis (0‰) pour une analyse des mécanismes liés à l'adaptation et à la tolérance à la salinité lors de leur passage de l'eau douce vers l'eau de mer.

Objectifs de l'étude

- Tester s'il existe une différence dans la capacité d'adaptation des deux populations à des fortes salinités.

L'adaptation des téléostéens euryhalins aux environnements hypo-osmotiques ou hyperosmotiques est accompagnée par des changements dans les fonctions osmorégulatrices pour maintenir constants leurs environnements ionique et hydrique internes (Conte, 1969 ; Bœuf, 1993).

Les cellules à chlorures ont été définitivement identifiées comme étant les sites de sécrétion du chlore dans l'eau de mer (Foskett et Scheffey, 1982) et comme étant responsables de l'absorption branchiale active des ions dans les environnements hypo-osmotiques (Laurent et Dunel, 1980 ; Marshall *et al.*, 1997). Elles sont caractérisées par la présence de nombreuses mitochondries et un système tubulaire extensif.

Plusieurs études ont rapporté que les cellules à chlorures des téléostéens euryhalins, en réponse à l'augmentation de la salinité, se proliféraient et/ou s'hypertrophiaient (Shirai et Utida, 1970 ; Karnaky *et al.*, 1976 ; Thomson et Sargent, 1977 ; Foskett *et al.*, 1981). Chez *Lateolabrax japonicus*, le passage de l'eau de mer à l'eau douce est marqué par une

migration des cellules à chlorures des filaments branchiaux vers les lamelles (Narisato *et al.*, 1999).

Dans cette étude, nous essayerons, par l'immunocytochimie, de localiser les cellules à chlorures, de les comptabiliser et de noter les changements morphologiques intervenus lors du passage de l'eau douce à l'eau de mer chez deux populations de *Sarotherodon melanotheron heudelotii*.

- Etudier les performances de croissance des deux populations en eau douce et en eau salée, et en fonction de modalités de traitement. L'étude comparée de mesures de poids et de taille devrait nous indiquer la population qui s'adapte au mieux à l'environnement salé.

PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I- PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL, LE CIRAD

1-1- PRESENTATION GENERALE

Créé en 1984, le CIRAD (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) a pour mission de contribuer au développement rural des pays tropicaux par des recherches, des réalisations expérimentales, des actions de formation.

Le CIRAD est constitué de deux bases en France métropolitaine (Montpellier et Région parisienne), comme dans les DOM-TOM (départements et territoires d'outre mer) que sont, la Guadeloupe, la Martinique, la Guyane, La Réunion, la Mayotte, la Nouvelle-Calédonie et la Polynésie Française, mais surtout une implantation dans plus de 50 pays d'Afrique, d'Asie, du Pacifique, d'Amérique latine et d'Europe.

Pour atteindre ses objectifs, il développe des liens forts avec des organismes français tels que l'INRA (Institut National de recherche Agronomique), l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement), l'IFREMER (Institut Français de Recherche et d'Exploitation de la Mer) et le CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique) et les Universités française, en particulier l'Université de Montpellier II.

Son personnel est composé de 1800 personnes, dont 900 cadres et techniciens et il est sous la tutelle de plusieurs ministères français : MINAGRI (Agriculture), MENRT (Education nationale, Recherche et Technologie) et MAE (Affaires Etrangères) et son budget provient en partie de subventions du BCRD (Budget Civil de Recherche et de Développement Technologique) et le reste est financé par les collectivités locales et l'Union européenne.

Les activités du CIRAD recouvrent les domaines des sciences agronomiques, vétérinaires, forestières et agroalimentaires. Il est divisé en départements qui développent 26 programmes de recherche. Ces programmes sont de véritables unités de gestion qui oeuvrent pour des actions de recherche, de développement et de formation.

1-2- CIRAD A MONTPELLIER

- A Montpellier, le CIRAD est localisé sur deux sites :
- Le site de Lavalette (37 000 m²) au sein du complexe AGROPOLIS.
 - Le Campus international de Baillarguet (13 000 m²) inauguré en 1995.

Il mène des recherches en interaction avec des projets de développement conduits sur le terrain et met au point des méthodes, des techniques, des outils et des produits.

Le CIRAD est aussi une structure de référence pour des organismes tels que la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) et il entretient des relations scientifiques privilégiées avec l'université.

1-3- Le CIRAD ET L'AQUACULTURE

L'aquaculture en général et l'aquaculture tropicale en particulier devront répondre, dans les 20 prochaines années, à une considérable augmentation de consommation de poissons (57 % d'augmentation prévue dans les pays en Développement d'ici 2020). Dans une perspective de développement durable de l'aquaculture, soumise à des dynamiques d'intensification et d'extensification, l'unité d'aquaculture du CIRAD développe deux axes de recherches :

Axe 1 : Biologie des espèces aquacoles et amélioration de leurs performances

- Identification et gestion des ressources génétiques (espèces et populations) d'intérêt en réponse à l'évolution des besoins et des contraintes ;
- Valorisation par l'aquaculture des espèces et des populations du milieu naturel (domestication, création de variétés, traçabilité) ;
- Amélioration des performances de ces souches par des approches classiques ou par utilisation des outils de la génomique (souches résistantes à la salinité, contrôle du sexe par des approches respectueuses de l'environnement, stérilité, ...).

Axe 2 : Amélioration et durabilité des filières et des systèmes d'élevage aquacole

- Observation/analyse des dynamiques des systèmes de production aquacole et proposition/validation d'indicateurs zootechniques, sociaux, économiques et environnementaux de leur durabilité ;
- Evaluation des déterminants de l'appropriation de l'innovation piscicole et des innovations socio-techniques en pisciculture ;
- Etude des contraintes et des conditions de gestion de la qualité par les pisciculteurs des pays tropicaux en fonction des systèmes d'élevage mis en œuvre ;
- Mise au point de référentiels zootechniques et socio-économiques permettant une meilleure utilisation des facteurs de production (ressources trophiques, humaines, économiques etc.) pour le développement durable de l'aquaculture.



Figure 1: *Sarotherodon melanotheron* (Photo UPR20 Aquaculture et gestion des ressources aquatiques du CIRAD)

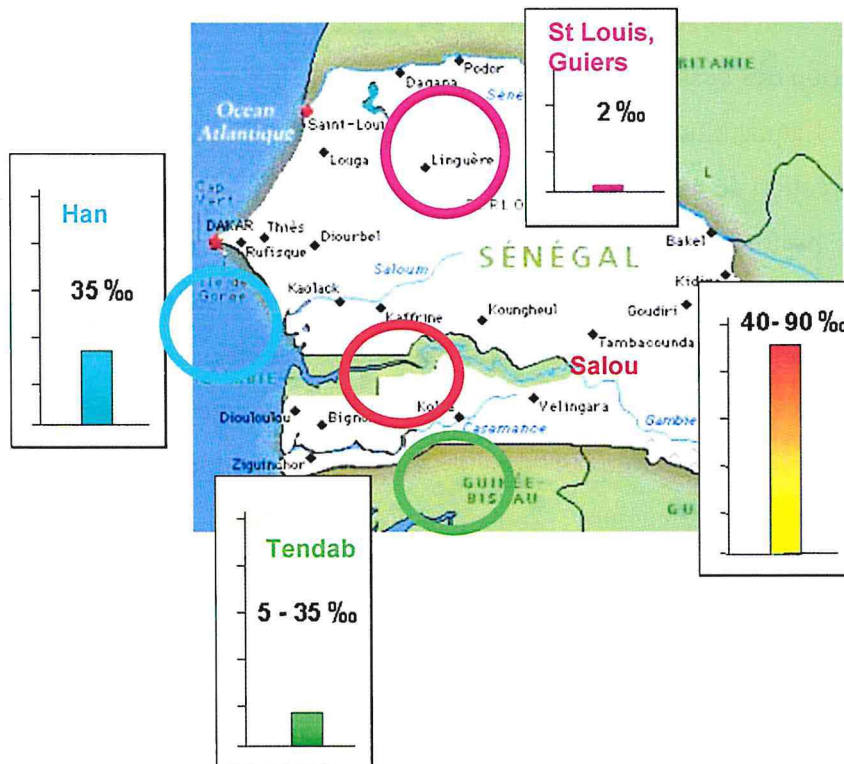


Figure 2: Répartition de 4 populations naturelles de *Sarotherodon melanotheron* inféodées à différentes salinités au SENEGAL [Source : ABDOU MBOW, 2002 (IFAN, IRD, CIRAD)]

Excepté les espèces du genre *Pangasius* sur lesquelles reposent les travaux de domestication et de diversification des espèces menées par le CIRAD au Vietnam, l'essentiel des autres projets de l'UPR concernent le groupe des tilapias. En effet, ce groupe constitue aujourd'hui un enjeu majeur pour l'aquaculture mondiale, mais aussi un outil incontournable pour le développement de nombreux pays du Sud. Enfin, c'est aussi l'un des groupes de poissons modèles pour de nombreuses études en laboratoire.

II- RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

2-1- DESCRIPTION DES TILAPIAS DU GENRE *Sarotherodon*

2-1-1- Systématique

Classe : Actinopterygii, Ordre : Perciformes, Famille : Cichlidae,

Sous-famille : Pseudocrenilabrinae, Genre : *Sarotherodon*

Le genre *Sarotherodon* comprend dix espèces dont *Sarotherodon melanotheron*.

Pour l'aquaculture, *Sarotherodon melanotheron* comprend cinq sous-espèces avec des traits différents (Trewavas, 1983) : *Sarotherodon m. melanotheron* (Rüppell, 1852) ; *Sarotherodon m. leonensis* (Thys Van Audenaerde, 1971) ; *Sarotherodon m. paludinosus* (Trewavas, 1983) ; *Sarotherodon m. nigripinnis* (Guichenot, 1861) et *Sarotherodon m. heudelotii* (Duméril, 1861) qui fait l'objet de notre étude (**figure 1**).

Ce sont des incubateurs buccaux exclusivement mâles. L'incubation caractérisée par un « goitre », dure deux semaines et la protection parentale se termine lorsque les alevins sont libérés en fin de résorption de leurs vésicules vitellines.

2-1-2- Aire de distribution et conditions du milieu

Sarotherodon melanotheron a pour origine géographique l'Afrique de l'Ouest et plus précisément les zones lagunaires et estuariennes s'étendant du Sénégal à l'Angola (**figure 2**). Il fait l'objet d'une pêche artisanale intense en Côte d'Ivoire, au Nigeria et au Sénégal (Koné et Teugels, 1999).

Parmi les paramètres environnementaux limitant sa distribution, la température (Jennings et Williams, 1992) et la salinité constituent des facteurs majeurs. La température minimale létale, selon les différentes données disponibles, s'étend de 6,9°C (Jennings, 1991) à 15°C.

L'intervalle de température naturelle est de 17 à 33°C mais il ne se reproduit pas en-dessous de 20 à 23°C. L'espèce présente une large tolérance à la salinité (0 à 130 ‰) mais préfère 10 à 15 ‰. Il est relativement tolérant aux eaux acides, il grandit et se reproduit sur des terrains sulfatés acides à pH compris entre 3,5 et 5,2. (Campbell, 1987 ; Trewavas, 1983).

2-1-3- Données zootechniques

Utilisé depuis des siècles pour la consommation humaine, les potentialités aquacoles de *Sarotherodon melanotheron* étaient ignorées jusqu'à des tentatives récentes pour adapter à l'aquaculture extensive les pêches traditionnelles très productives dans les « acadjas » (paquets de broussaille dans des lagunes peu profondes, qui attirent les poissons en leur fournissant un refuge et une nourriture abondante, surtout du périphyton) dans lesquels de grandes quantités d'individus de cette espèce sont récoltées (7 à 20 t ha⁻¹ an⁻¹ de 20 à 560 g) (Hem et Avit, 1996). D'autres essais, en étang, en cage et en enclos sont restés vains, sauf à produire de petits poissons de 50 g environ avec un taux de croissance de 0,5 à 0,7 g j⁻¹. Ces travaux réalisés au Bénin, en Côte d'Ivoire et au Nigéria concernaient *Sarotherodon melanotheron melanotheron*.

Des travaux plus récents en Côte d'Ivoire (Agnèse, 1996 ; Gilles *et al.*, 1998) ont mis en évidence des croissances beaucoup plus rapides (plus de 2 g j⁻¹) chez des poissons provenant des environs de Dakar (Sénégal), vraisemblablement *Sarotherodon melanotheron heudelotii* ou *Sarotherodon melanotheron paludinosus*. Des poissons de plus de 200 g ont été obtenus en six mois avec un ratio de conversion de nourriture de 1,7.

La reproduction semble effective toute l'année (Pauly *et al.*, 1976) avec des pontes plus fréquentes en saison sèche qu'en saison des pluies. En bassin, l'intervalle moyen séparant deux pontes est d'environ deux semaines (Aronson, 1945 ; Legendre et Trébaol, 1996). Les mâles atteignent la maturité sexuelle avant les femelles (Eyeson, 1983 ; Koné et Teugels, 1999) leur âge de première maturité variant entre trois et six mois selon les espèces. Le *sex-ratio* le plus favorable pour la production d'alevins est de 1 :1 (Legendre et Trebaol, 1996). Le nombre d'œufs par ponte est variable et corrélé positivement avec le poids et la taille des femelles (Eyeson, 1983).

2-2- BIOLOGIE DES TILAPIAS EN EAU DE MER

2-2-1- Tolérance à la salinité

Oreochromis mossambicus, *Tilapia zilli* et *Sarotherodon melanotheron* sont parmi les espèces de tilapias les plus euryhalines. *O. mossambicus* (Popper et Lichatowitch, 1975) et *Tilapia zilli* (CHervinski et Herling, 1973) survivent, grandissent et se reproduisent en eau de mer. *Sarotherodon melanotheron* prospère dans les lagunes et estuaires côtiers d'Afrique de l'Ouest où les variations de salinités peuvent aller de 0 ‰ (après de fortes pluies) à 35‰ ou 40‰ ainsi que des sites où la salinité peut varier entre 35‰ et 110 ‰ (après de fortes chaleurs dans les lieux où l'évaporation est importante (Pauly *et al.*, 1976 ; Mbow *et al.*, 2005). En laboratoire, des individus issus de populations introduites en Floride ont pu supporter des salinités de 100 ‰ et se reproduire dans les eaux à 35 ‰.

D'autres sont moins euryhalines. Ainsi, *Sarotherodon shiranus*, originaire du lac Chilwa (Malawi) où la salinité est comprise entre 12,5 et 28 ‰, ne peut pas supporter une salinité supérieure à celle de l'eau de mer (Morgan, 1972). Plusieurs espèces, tel que *Tilapia rendalli* (succombe à 13,5 ‰), sont sensibles aux salinités supérieures à 20 ‰ (Fryer et Illes, 1972).

2-2-2- Salinité et croissance

Les milieux aquatiques peuvent présenter des salinités (ici nous ne parlons que du NaCl) très variables allant de 0 ‰ en eau douce jusqu'à des salinités extrêmes supérieures à 100 ‰ (mare hypersaline) en passant par 35 ‰ qui est la valeur moyenne de l'eau de mer. Si pour beaucoup d'espèces de tilapias, le passage dans un milieu dont la salinité est éloignée de celle de son milieu « physiologique » conduit, à long terme, à un ralentissement ou à un blocage de la croissance, voire à la mort (*Oreochromis niloticus*), d'autres supportent de telles variations qui peuvent même être favorables à la croissance corporelle (Boeuf et Payan, 2001). C'est le cas de *Oreochromis mossambicus* et *Sarotherodon melanotheron* (Lemarié *et al.*, 2004). Toutefois, en milieu hypersalé (>60 ‰), la croissance de cette dernière espèce est fortement inhibée (Panfili *et al.*, 2004).

De nombreuses expériences sur la croissance des tilapias à différentes salinités ont été conduites et comparées. Un certain nombre de ces études a montré que les eaux salées avaient la propriété de stimuler la croissance chez certaines espèces dans des gammes de salinités

particulières. Il a été observé de meilleurs taux de croissance pour les individus de l'espèce *Oreochromis niloticus* élevés dans une eau à 9 ‰ que pour ceux élevés en eau douce (Chervinski, 1961 a). Des résultats similaires ont été constatés pour *Sarotherodon galilaeus* (Chervinski, 1961 b), *Oreochromis mossambicus* (Canagaratnam, 1966) et sur un tilapia rouge hybride de Floride (Watanabe *et al.*, 1988). Selon Watanabe et Burnnett (1989), la capacité de la lignée hybride du tilapia rouge de Floride d'être élevé en eau de mer a été clairement démontrée dans des études récentes mettant en évidence un taux de croissance élevé, un taux de survie élevé et un indice de conversion efficace en eau saumâtre et en eau de mer (Watanabe *et al.*, in press).

La croissance du tilapia rouge de Floride (*Oreochromis hornorum* x *Oreochromis mossambicus*) est plus élevée dans une eau à 10 ‰ que dans une eau à 1 ‰. De même, la croissance est corrélée positivement à la salinité (jusqu'à 36 ‰). Selon l'auteur, cette augmentation de la croissance est liée à l'augmentation de la consommation alimentaire et à un taux de conversion plus bas en milieu salé (Watanabe *et al.*, 1988). Cependant, en condition d'élevage cette souche de tilapia rouge, tout comme la plupart des autres souches, présente de fortes mortalités imprévisibles en eau de mer (Baroiller, comm.personnelle).

Les raisons d'une meilleure croissance de certaines espèces adaptées aux environnements halins sont les suivantes : à des salinités comparables à celles du milieu intérieur (9‰), l'osmorégulation est minimale car les poissons sont en équilibre osmotique avec le milieu et l'énergie requise pour le métabolisme de routine est plus faible qu'en eau douce.

Enfin, une exposition à la salinité aux premiers stades de développement des tilapias rouges améliore les performances de croissance pour la descendance (Watanabe *et al.*, 1989). En effet, la croissance des juvéniles à 18‰ est supérieure à celle de ceux éclos à 4 ‰.

2-2-3- Salinité et reproduction

D'un point de vue aquacole, la reproduction des tilapias en condition de salinité élevée fournit d'importants avantages en minimisant les besoins en eau douce pour maintenir la progéniture et les alevins (Uchida et King, 1962) en améliorant la croissance et la survie des œufs en eau saumâtre ou en eau de mer (Watanabe *et al.*, 1985 ; Watanabe *et al.*, 1989).

Les tilapias sont des espèces euryhalines, certaines sont connues pour leur capacité à se reproduire en milieu salé (Wohlfarth et Hulata, 1981). Cependant, on connaît encore mal l'influence de la salinité sur leurs performances de reproduction.

En milieu naturel, les tailles de première maturité sexuelle de *S. melanotheron* sont inférieures en environnement hypersalé. La fécondité relative est supérieure dans ce milieu mais la taille des ovocytes est plus faible (Panfili *et al.*, 2004).

Une étude a déterminé les effets de la salinité sur les performances de reproduction du tilapia rouge de Floride dans des aquariums sous contrôle au laboratoire. Des pontes sont observées à toutes les salinités testées de 14 à 36 ‰. Chaque femelle a pondu entre 0 et 5 fois durant la période de l'expérience. Il n'existe pas de différences significatives entre les nombres d'œufs pondus aux différentes salinités. Cependant, il y a une bonne corrélation entre le poids d'œufs pondus et le poids des femelles. Le pourcentage d'éclosion à 27 et 36 ‰ est significativement plus faible qu'à 9 ‰ ; cependant des œufs viables peuvent être pondus à toutes les salinités. Ainsi, la capacité de reproduction de l'hybride tilapia rouge de Floride en eau de mer peut être attribuée à une bonne tolérance à la salinité de deux des 4 (*O. niloticus*, *O. mossambicus*, *O. aureus* et *O. hornorum*) espèces parentales dont dérive l'hybride (Philippart et Ruwet, 1982). En effet, la capacité de *Oreochromis mossambicus* à se reproduire en eau de mer est bien connue (Chervinski, 1961a; Popper et Lichatowitch, 1975). *Oreochromis hornorum* est aussi connu pour sa survie et sa reproduction à des salinités supérieures à 30 ‰ (Philippart et Ruwet, 1982).

Chez les tilapias, le poids de ponte est bien corrélé avec le poids de la femelle. Une étude réalisée chez *Oreochromis niloticus* et *Oreochromis mossambicus* (Babiker et Ibrahim, 1979 ; Watanabe *et al.*, 1985) a montré que bon nombre de femelles libèrent très peu d'œufs par unité de poids corporel lors de la ponte. Dans cette étude, ils suggèrent que le faible nombre d'œufs libéré par unité de poids de femelle à 1‰ est en relation avec la taille relativement petite des femelles qui se reproduisent à cette salinité. Ils ont aussi constaté un effet inhibiteur de la salinité sur l'efficacité de la reproduction et une bonne qualité des gamètes.

Le taux d'éclosion à différentes salinités montre une tendance similaire indiquant une diminution de la survie proportionnelle à l'augmentation de la salinité durant la période embryonnaire.

Chez le tilapia hybride (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis hornorum*), le faible taux de survie relatif des juvéniles inférieur à 1‰ peut être le reflet du coût de l'osmorégulation considéré comme énorme en eau douce (0 ‰) ou en eau de mer (35 ‰). Le taux de mortalité plus élevé des œufs que des embryons au dessus de 1‰ peut refléter le transfert de la fonction d'osmorégulation de la membrane vitelline des œufs en développement vers les organes d'osmorégulation dès l'éclosion.

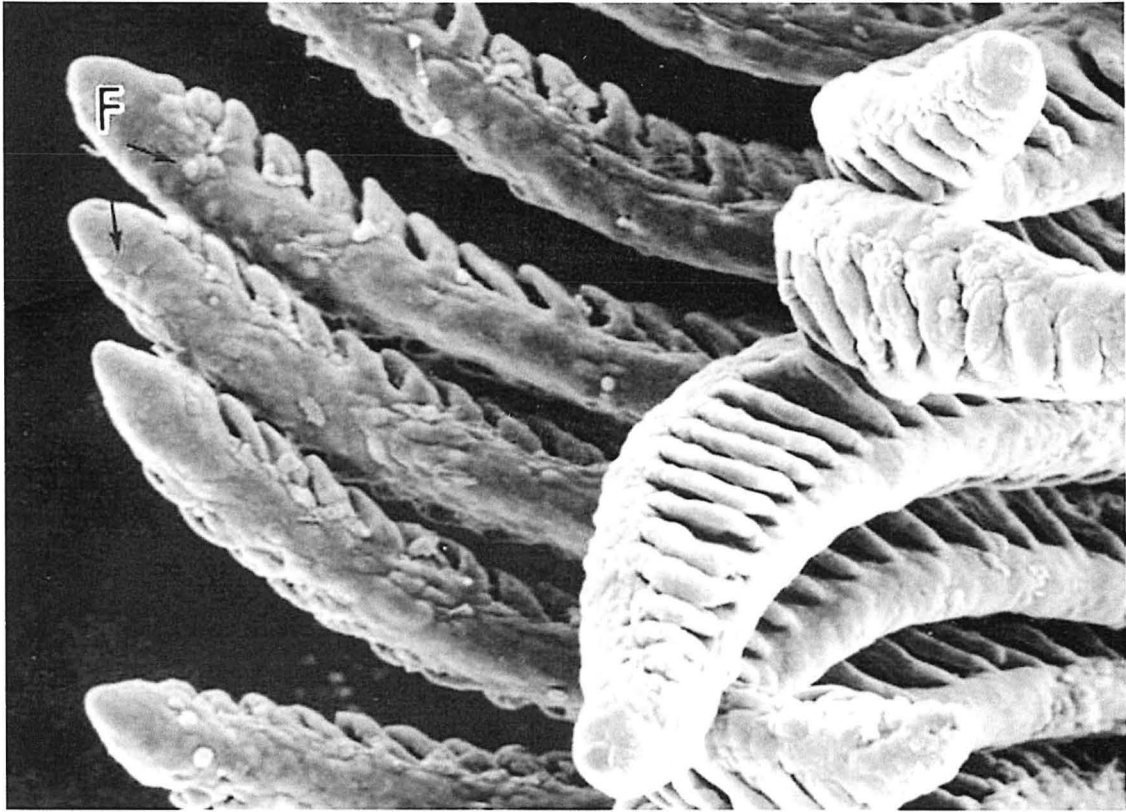


Figure 3 : Branchies des poissons (Source : Massa et Cauty, INRA)

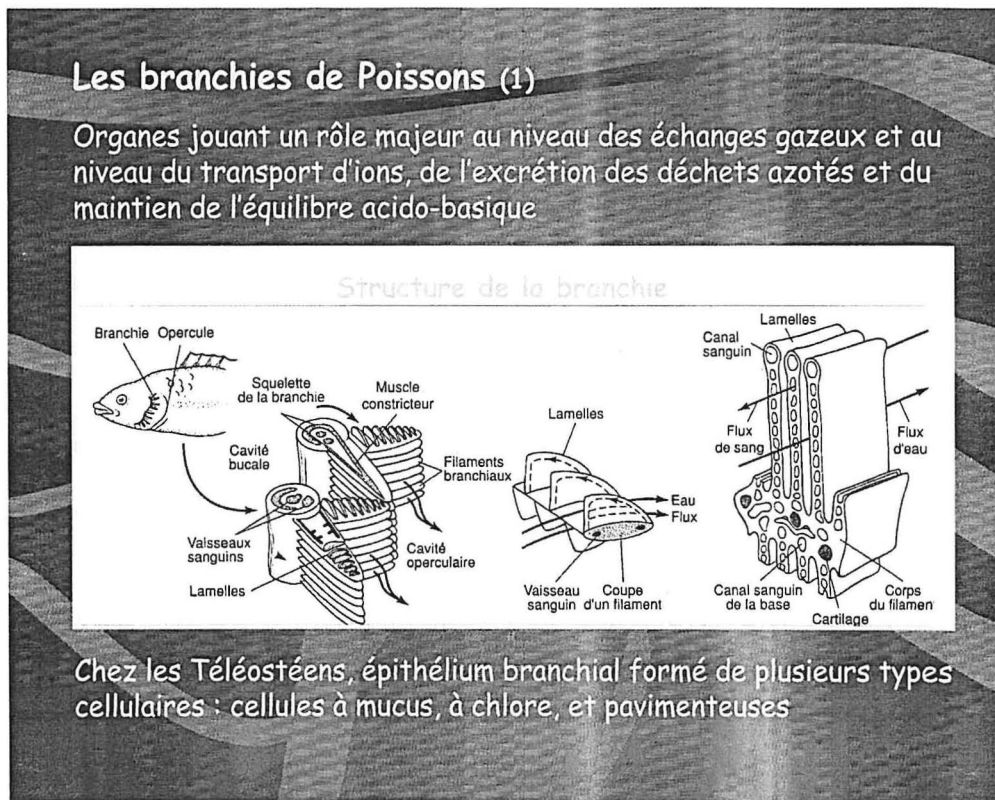


Figure 4 : Structure des branchies (Source : Adaptations physiologiques à l'environnement. www.sciences.fundp.ac.be/biologie/urbo/adaptation)

Une augmentation significative des taux d'éclosion des œufs et de survie des alevins suggère que la reproduction sous des salinités proches de l'équilibre iso-osmotique est bénéfique. Uchida et King (1962) rapportent que la production d'œufs d'*Oreochromis mossambicus* est approximativement trois fois plus élevée en eau peu salée (8,9-15,2 ‰) qu'en eau douce et suggèrent d'utiliser les eaux saumâtres pour réduire le coût de l'eau douce. Aux avantages que pourrait apporter une amélioration des capacités de reproduction à des salinités élevées doivent être opposés les risques de dissémination du tilapia en environnement marin.

2-3- OSMOREGULATION CHEZ LES POISSONS

2-3-1- Branchies chez les poissons

La branchie est formée de quatre paires d'arcs branchiaux situées sous chaque opercule.

Chaque arc branchial porte une double rangée de filaments ou (lamelles primaires) reliées à leur base par un septum interbranchial (Hughes, 1984).

Chaque filament porte sur ses deux faces et perpendiculairement à son grand axe, des lamelles en forme de feuillets aplatis (Laurent, 1984) (**Figure 3**).

On distingue au niveau de la branchie (organe complexe) différents types d'épithéliums :

- l'épithélium primaire localisé au niveau des filaments y compris l'espace interlamellaire (zone entre deux lamelles), et
- l'épithélium secondaire localisé au niveau des lamelles (Laurent et Dunel, 1980).

L'épithélium primaire est pluristratifié, des cellules indifférenciées sont situées en profondeur et des cellules différenciées sont en contact avec le milieu extérieur. Parmi ces dernières cellules, on distingue les cellules pavimenteuses, les cellules à chlorures et les cellules à mucus (**Figure 4**).

L'épithélium secondaire est formé d'une couche profonde de cellules indifférenciées et d'une couche superficielle de cellules pavimenteuses. Parfois, on remarque y la présence de cellules à chlorures. La présence de ce type de cellules dans cet épithélium peut apparaître selon la concentration en sels. On a ainsi mis en évidence l'apparition de cellules à chlorures chez différentes espèces adaptées à l'eau déminéralisée (Laurent et Dunel, 1980 ; Auperin *et al.*, 1994 ,Avella, 1986).

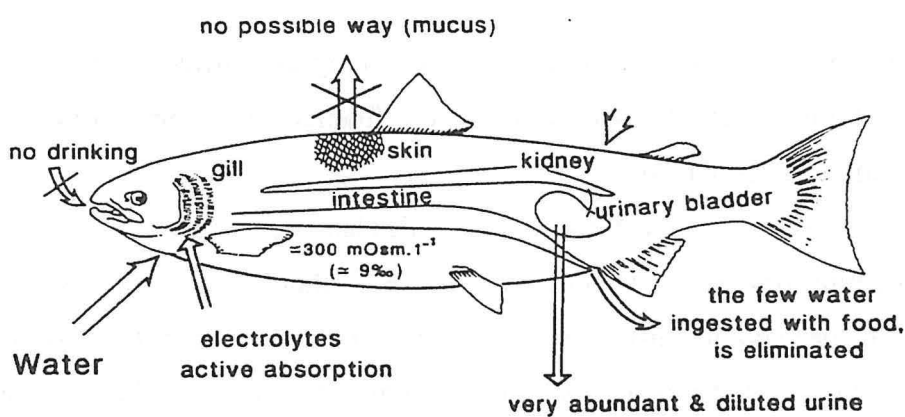
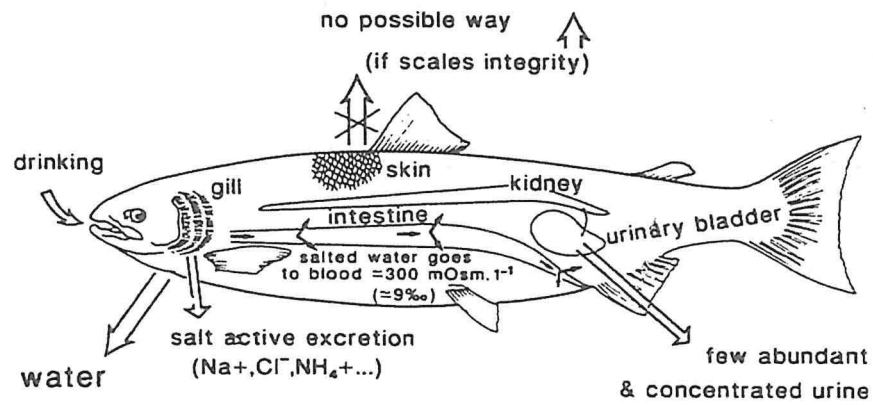


Figure 5 : Osmorégulation chez les poissons (Bœuf, 1993)

2-3-2- Fonctions des branchies

L'appareil branchial chez les téléostéens a plusieurs fonctions très importantes : la respiration, l'osmorégulation et l'élimination de déchets métaboliques.

2-3-2-1- Echanges gazeux

Les branchies jouent un rôle principal sur le plan de l'échange des gaz. Comme chez tous les êtres vivants, les poissons ont besoin de capter l'oxygène, tout en se débarrassant de l'anhydride carbonique (CO₂). Ces gaz sont échangés à l'aide de deux mécanismes : par diffusion, en réponse à la différence de gradients de concentrations, et grâce à une liaison chimique avec l'hémoglobine qui se trouve dans les globules rouges qui agissent comme transporteurs.

2-3-2-2- Balance électrolytique (Figure 5)

En eau douce comme en eau salée, les différences de concentrations en ions entre le sang et le milieu environnant sont importantes. En eau douce, un poisson contient davantage d'ions (représentés en grande partie par les sels, NaCl), que le milieu qui l'entoure. En revanche en eau salée, la concentration en sel est inférieure dans le corps des poissons que dans l'eau. L'eau a tendance à se diriger passivement par osmose vers le milieu à plus forte concentration en sels. Un poisson vivant en eau douce doit donc constamment se débarrasser de l'eau qui tend à l'envahir au niveau de tout son corps et plus particulièrement via ses branchies; dans le même temps, il doit conserver les sels nécessaires à son bon fonctionnement. Il existe en eau douce des mécanismes adaptés pour l'absorption des ions dans les organes osmorégulateurs des branchies et dans le rein. Un poisson vivant en eau salée est confronté à une situation inverse, et il aura donc tendance à se déshydrater car l'eau de son corps est attirée vers le milieu extérieur. Le surplus en ions devra être éliminé vers l'extérieur du poisson par des mécanismes actifs d'osmorégulation au niveau des branchies. L'osmorégulation et le maintien de l'équilibre hydrominéral reposent sur des mécanismes de contrôle de l'eau et des ions ou « sels » dans le sang. Ces sels sont principalement le sodium (Na⁺), le potassium (K⁺) et le chlore (Cl⁻) mais aussi des ions bivalents tel que le Ca⁺⁺. Les principaux organes osmorégulateurs sont les branchies, le rein et l'intestin. Les déséquilibres

électrolytiques peuvent entraîner des désordres des systèmes nerveux, digestifs et musculaires.

Le saumon, qui passe d'un environnement d'eau douce pour sa période juvénile, à un environnement d'eau salée, pour sa période d'engraissement en mer, est un bel exemple d'adaptation physiologique au maintien de l'équilibre osmotique. En effet, lorsque les jeunes saumons se préparent à quitter l'eau douce pour l'eau de mer, (donc à passer d'un milieu où l'eau cherche constamment à les envahir vers un milieu où, à l'inverse, les fluides corporels tendent à s'échapper vers l'extérieur), un mécanisme naturel d'adaptation, (la smoltification) s'enclenche en préparation de la migration des saumons vers la mer (Bœuf, 1993). Le nombre de cellules à chlorure augmente alors progressivement au niveau des branchies, jusqu'au moment du transfert vers l'eau salée. Cette prolifération de cellules à chlorures va aider les saumons à traverser la période critique de migration de l'eau douce vers l'eau salée, en maintenant l'équilibre électrolytique de leur sang.

Certaines espèces de tilapias sont euryhalines comme les saumons et peuvent aussi s'adapter à des changements de salinité. Ils développent des mécanismes physiologiques appropriés dans les organes osmorégulateurs (les branchies, le rein, l'intestin) sous régulation du cerveau pour s'adapter et vivre en eaux saumâtres. A niveau des branchies, ces mécanismes impliquent des changements structuraux et fonctionnels (pour les poissons acclimatés à l'eau saline). Ils sont caractérisés, entre autres, par une augmentation des flux branchiaux avec des excrétions d'ions sodium et d'ions chlorure, une augmentation de l'activité Na^+K^+ -ATPase dans les tissus branchiaux et une augmentation du nombre de cellules à chlorures dans les filaments branchiaux (Bœuf, 1993 ; Kültz et Jürss, 1993). La fonction d'osmorégulation s'installe très tôt chez les tilapias. En effet, une étude des cellules à chlorure et de l'activité de Na^+ , K^+ -ATPase branchiale a été réalisée sur les larves de *Oreochromis mossambicus* à dix jours post-éclosion (Li *et al.*, 1995) : au stade larvaire, la fonction osmorégulatrice des branchies se met en place bien avant la fonction d'échanges gazeux.

Des hormones comme, l'hormone de croissance (GH), la prolactine (Yada et Hirano, 1991 ; Aupérin *et al.*, 1994) et le cortisol (McCormick, 1990) joueraient un rôle régulateur dans ces processus d'acclimatation (Suresh et Lin, 1992 ; McCormick, 2002).

2-3-2-3- Rejet des déchets

Les branchies jouent un rôle important dans l'élimination des déchets métaboliques. La dégradation des protéines, qui constituent l'élément principal de l'alimentation des poissons et leur transformation en de nouvelles protéines corporelles produisent un sous-produit toxique appelé ammoniac (NH_3).

2-4- MECANISME D'ADAPTATION DES POISSONS A L'EAU DE MER

2-4-1- Cellules à chlorure

Les cellules à chlorures, encore appelées ionocytes ou cellules riches en mitochondries (MR), ont été identifiées et décrites pour la première fois en 1932 par Keys et Willimer. Ils ont découvert en examinant les branchies de téléostéens de grandes cellules ovoïdes (d'environ $15 \mu\text{m}$ de diamètre) riches en mitochondries s'étendant du milieu intérieur au milieu extérieur, localisées dans les régions interlamellaires (entre deux lamelles) et parfois dans les lamelles. Ces cellules constituent environ 10 % du volume des cellules branchiales et jouent un rôle important dans le transport ionique à travers les branchies (**figure 6**).

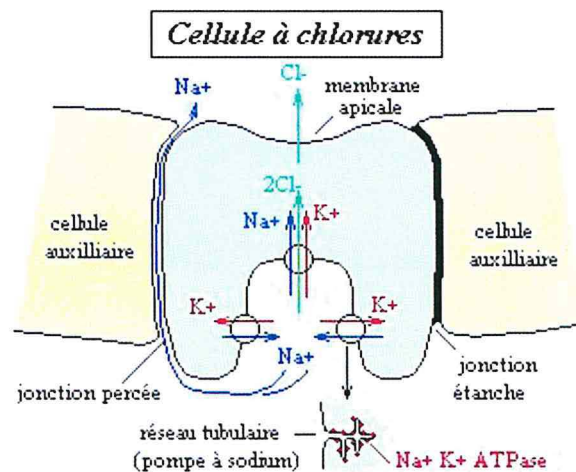


Figure 6: (empruntée à « Physiologie animale », ouvrage scientifique en ligne).

<http://www.ulg.ac.be/physioan/chapitre/>

Les cellules à chlorures se trouvent au niveau des branchies et également dans l'opercule chez le tilapia. Les transferts ioniques se font sous l'action d'une enzyme: la " $\text{Na}^+/\text{K}^+ \text{ATPase}$ " présente de manière abondante dans le système tubulaire des cellules à chlorure. Selon le modèle de Silva et al (1977), les mouvements ioniques en eau salée sont possibles grâce à

l'enzyme Na^+/K^+ -ATPase, qui permet les échanges de Na et Cl par un échangeur Na/Cl/K. Le sodium est aussi excrété via les réseaux tubulaires de la cellule vers le sang par la Na^+/K^+ -ATPase (il y a échange de trois ions Na^+ pour 2 ions K^+) puis rejeté vers l'extérieur de manière passive, et para-cellulaire, par les « leaky junctions » présentes entre les cellules à chlorure et les cellules accessoires. L'excrétion du chlore se fait par la membrane apicale, elle est également liée à l'activité enzymatique Na^+/K^+ -ATPase (Marshall *et al.*, 1995).

Pendant longtemps, on a pensé qu'il n'existait qu'un type de cellules à chlorures dans la branchie quelque soit le milieu dans lequel pouvait vivre le téléostéen. Cette cellule augmentait en taille, en nombre et subissait des modifications quand les poissons étaient transférés de l'eau douce à l'eau de mer. Ces caractéristiques ont fourni un argument en faveur d'un rôle de ces cellules dans l'excrétion ionique en eau de mer.

Cependant, certaines observations ont pu localiser chez des téléostéens vivant en eau douce (exemple de *Japanese eel*, Shirai et Utida en 1970 ; *guppy*, Franklin et Davison en 1989 ; la loche et le tilapia ; Pisam *et al.*, 1995) deux sous-types de cellules à chlorures (α et β). Ils ont observé que la différence structurelle entre ces deux types de cellules est en relation avec la composition ionique de l'eau avec une grande prédominance des cellules α en eau de mer chez les poissons acclimatés et une domination des cellules β en eau douce.

Pendant l'adaptation à l'eau de mer, il apparaît progressivement dans l'épithélium primaire, à côté des cellules à chlorures, des cellules dites accessoires (Laurent et Dunel, 1980 ; Hoottman et Philpott, 1980). Si l'on compare l'ultrastructure de ces cellules à celle des cellules à chlorures, on remarque que le système tubulaire est moins anastomosé et le système vésiculaire moins développé. Une des caractéristiques de la cellule accessoire est qu'elle est étroitement associée à l'apex d'une cellule à chlorure par des interdigitations apicales (Caroff-Andre, 1987). Ainsi il y a une multiplication des contacts entre les deux types cellulaires. Cette liaison semble participer aux échanges ioniques des cellules à chlorures.

Un grand nombre de techniques a été appliqué pour quantifier les cellules à chlorures. Les techniques de DASPEI (2-(4(diméthylamino)Styryl)-N-éthylpyridinium) et DASPMI (Diméthylaminostrylméthylpyridiniumiodine) sont utilisées pour l'identification des cellules à chlorures, lesquelles contiennent une abondante quantité de mitochondries (Li *et al.*, 1995). Ces approches ne permettent pas de faire une discrimination entre les différentes variétés de sous-types de cellules à chlorures. D'autres techniques utilisent des dérivés radioactifs ou fluorescents.

Lors du transfert de l'eau douce vers des eaux de plus forte salinité chez les poissons euryhalins, on observe des augmentations de l'activité de l'enzyme de Na^+/K^+ -ATPase

branchiale (McCormick, 2002). Cette enzyme est localisée au niveau des systèmes tubulaires des cellules à chlorure. Des techniques utilisant des inhibiteurs spécifiques de la Na^+/K^+ -ATPase comme la ouabaïne (Karnaky *et al.*, 1976) et des anticorps ayant des affinités spécifiques pour la Na^+/K^+ -ATPase ont été appliqués en microscopie optique pour visualiser les cellules à chlorures grâce à leur contenu élevé en Na^+/K^+ -ATPase.

Plusieurs études indiquent que les cellules à chlorures sont présentes déjà au stade larvaire chez les poissons. Dans une étude réalisée chez les tilapias, Wendelaar et Vander (1989) concluent que les cellules à chlorures se développent à travers les stades larvaires et matures, et disparaissent éventuellement lors de la mort des cellules.

Li *et al* (1995) ont identifié et quantifié des cellules à chlorures branchiales chez la larve en développement et chez les juvéniles de *Oreochromis mossambicus* en eau douce. Ils ont relevé une densité de cellules à chlorures d'environ 6000/mm² et parallèlement une augmentation de l'activité de la Na^+/K^+ ATPase spécifique. Ces données indiquent que durant les stades larvaires, les branchies constituent un organe fonctionnel de régulation avant d'entamer leur fonction d'organe d'échange.

2-4-2- Enzyme Na^+/K^+ -ATPase

Sa localisation au niveau de la membrane basolatérale a pu être démontrée grâce à l'utilisation de l'ouabaïne tritiée qui est un inhibiteur spécifique de l'activité de cette enzyme (il se fixe sur le site de liaison du K^+). Ainsi par autoradiographie la Na-K-ATPase a été exclusivement localisée sur les membranes basolatérales des cellules à chlorures (Karnaky *et al.*, 1976).

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

I- MATERIEL

1-1 Matériel biologique

Les alevins qui ont servi à la réalisation de cette étude proviennent de deux populations de tilapias *Sarotherodon melanotheron heudelotii*, originaires du Sénégal et qui sont naturellement inféodées à deux salinités extrêmes 0 ‰ et 94 ‰. Cette espèce de poisson est caractérisée par une forte euryhalinité (capable de vivre aussi bien en eau douce qu'en eau de mer), une protection buccale paternelle des œufs et des alevins, ainsi que par une croissance lente et un très faible dimorphisme sexuel entre mâle et femelle.

La population du Saloum a été collectée à Foundiougne du 18 au 20 août 2003, sur l'estuaire du Saloum où la salinité mesurée était de 48 g/l et varie de 48 à 94 g/l en fonction de la saison. Après un passage direct en eau de mer (36 ‰) puis progressif en eau douce, ces poissons ont été transportés en France (Montpellier) pour être stockés en eau douce dans des aquariums de la serre du GAMET (Groupe Aquaculture Méditerranéenne et Tropicale).

La population de Saint Louis a été capturée à Ross-Bethio (région de Saint-Louis) en amont du barrage de Diama sur le fleuve Sénégal, où la salinité était de 2 g/l, le 13 août 2003. Ces poissons ont été transportés en eau douce.

1-2- Matériel expérimental

Les alevins récupérés à la serre du CIRAD-GAMET sont répartis dans des aquariums rectangulaires de 37 litres contenant de l'eau douce au laboratoire d'aquaculture du CIRAD-Baillarguet. Les aquariums sont munis de bulleurs, de filtres et de thermostats.

Les pesées sont réalisées à l'aide d'une balance de précision (Sartorius) à 0,1 mg et la taille est mesurée à l'aide d'une règle graduée de 20 cm.

II- METHODES

2-1- Techniques expérimentales d'élevage

2-1-1- Traitement de l'eau

Les aquariums sont alimentés en eau de robinet déchlorée pendant 24h à l'aide de bulleurs. Ils fonctionnent avec un système de filtrage mécanique et sont thermorégulés à 27°C. Ce traitement systématique se fait au moins 48 heures avant l'installation des poissons. Une eau de réserve traitée dans les mêmes conditions est conservée dans des bidons pour les remises à niveau après évaporation dans les aquariums.

2-1-2- Préparation de l'eau de mer artificielle

L'eau salée est préparée avec du sel de mer synthétique (INSTANT OCEAN®). Ainsi, nous avons utilisé 8 kg de sel pour préparer 100 litres d'eau à 80 ‰ de salinité. Ce stock d'eau, traité comme précédemment et constamment renouvelé, est dilué (selon la formule $C1V1=C2V2$, C1 et V1 étant respectivement la concentration et le volume de l'eau salée préparée, C2 et V2 étant la concentration et le volume d'eau salée à obtenir) pour obtenir les différentes salinités appliquées aux poissons.

2-1-3- Transfert des poissons

Le transfert des alevins dans les aquariums se fait avec beaucoup de précaution pour limiter au maximum les effets de stress. Les poissons élevés en eau douce sont maintenus en l'état dans les aquariums après la période d'acclimatation. Pour les poissons transférés en eau salée, le volume de l'eau douce à retirer est progressivement aspiré à l'aide d'un tuyau puis remplacé par de l'eau salé.

2-1-4- Protocole expérimental

Pour chacune des deux populations, les expériences ont été réalisées avec des alevins issus d'une seule fécondation et élevés en milieu contrôlé.

2-1-4-1- Expérience I

L'objectif de cette première expérience était de suivre l'évolution du nombre de cellules à chlorures, de leur taille ainsi que de leur localisation, pour déterminer s'il existe entre les deux populations de *Sarotherodon melanotheron heudelotii* des mécanismes différents d'adaptation à la salinité.

Les alevins utilisés sont âgés de 58 jours post-fécondation pour la population de Saloum et de 67 jours pour la population de Saint Louis.

Les poissons au nombre de 50 sont transférés directement en eau de mer, mais avec beaucoup de précaution pour éviter au maximum de les stresser. Pour chaque population, les alevins sont repartis selon trois modalités :

- Un lot témoin en eau douce
- Un lot transféré en eau de mer (35 ‰)
- Un lot transféré en eau hypersaline (70 ‰).

Les alevins ont été nourris avec le même régime alimentaire (BIOMAR-SA) à raison de trois repas par jour et à volonté. La composition de l'aliment est récapitulée en.

Durant les 10 jours d'expérimentation, des contrôles de la salinité à l'aide d'un réfractomètre, de la température à l'aide d'un thermomètre d'aquariophilie, du niveau de l'eau maintenu à 30 litres, du débit et de la qualité de la filtration, du comportement des poissons ont été effectués tous les matins avant la distribution de l'aliment.

Remarque : Tous les alevins transférés à 70 ‰ sont morts quelques heures après avec néanmoins une meilleure résistance des alevins de Saloum.

2-1-4-2- Expérience II

Cette deuxième expérience a pour objectif de suivre les performances de croissance afin de réaliser une étude comparée d'abord au sein d'une même population en fonction des modalités de traitement et ensuite entre les deux populations.

Les alevins utilisés sont âgés de 46 jours post-fécondation pour la population de Saint Louis et 43 jours pour la population de Saloum.

Les alevins sont répartis au nombre de 15 par aquarium avec les mêmes précautions que dans la première expérience et selon les modalités suivantes par population :

- Un lot témoin en eau douce
- Un lot transfert directement en eau de mer (35 ‰)

- Un lot en transfert progressif en raison d'une salinité de 7 ‰ chaque deux jours.

En fonction de la disponibilité des alevins, un lot supplémentaire, transféré directement à 35 ‰ et après une semaine à 70 ‰ a été ajouté chez la population de Saint Louis.

Les alevins sont nourris avec le même aliment en raison de 10 % de leur poids corporel moyen.

L'expérience a duré 30 jours et en plus des contrôles effectués précédemment, les filtres sont nettoyés deux fois par semaine et les mortalités comptabilisées.

Un contrôle de poids et de longueur totale est effectué avant le transfert des poissons. Tous les dix jours, un suivi de croissance est réalisé (pesée et mesure de taille) sur chacun des 15 individus. A la veille de chacune de ces pesées, les poissons sont mis à jeun pendant 24 heures.

2-2- Evaluation des performances zootechniques

2-2-1- Taux de survie

Lors des contrôles quotidiens, les morts sont retirés et comptés par aquarium. A la fin de l'expérience, le taux de survie est calculé comme suit :

$$\text{Taux de survie (\%)} = (\text{Nombre initial de poissons} - \text{Nombre de morts}) \times 100 / \text{Nombre initial de poissons}$$

2-2-2- Contrôle de la croissance

Des mesures de poids et de la longueur totale sont effectuées tous les 10 jours. Ces résultats (poids) sont utilisés pour le calcul de la nouvelle ration à raison de 10% de la biomasse totale par aquarium.

2-2-3- Traitement statistique des données

Les résultats obtenus ont été analysés à l'aide du logiciel R. Mais compte tenu du fait que les poissons n'ont pas été marqués au début de l'expérience, nous n'avons pas pu utiliser de test statistique pour faire une étude différentielle de la croissance.

2-3- Histologie classique et immunocytochimie

Les cellules à chlorures sont associées à l'excrétion des ions Na^+ et Cl^- dans les branchies grâce à l'activité de l'enzyme Na^+/K^+ ATPase. Une étude immuno-histochimique a été réalisée pour suivre l'évolution du nombre, de la taille ainsi que la localisation des cellules à chlorures afin de déterminer une éventuelle différence dans les mécanismes d'adaptation à la salinité des deux populations.

2-3-1- Prélèvement des échantillons

Les prélèvements de branchies sont réalisés sur cinq alevins de chaque lot à 8 heures, 24 heures, 48 heures, 3 jours et 10 jours après le début de la manipulation. Les poissons sont pesés individuellement et leur poids varie entre 0,1 et 0.6g.

Les protocoles de prélèvement sont définis de manière à limiter au maximum les effets de stress lors des pêches. Les animaux sont anesthésiés par une solution de 2-phénoxy éthanol à raison de 4 ml par 2 litres d'eau.

2-3-2- Fixation et conservation des branchies

Les tissus prélevés sont immédiatement fixés dans du liquide Bouin pendant 4 heures et sous agitation. Ils sont ensuite rincés et conservés dans de l'alcool 70° à 4°C.

Pour l'étude histologique proprement dite, deux branchies ont été utilisées par traitement sur lesquelles deux arcs branchiaux ont été prélevés.

2-3-3- Déshydratation et inclusion

Les arcs branchiaux sont déshydratés par passages successifs dans deux bains d'alcool 90° de 30 minutes chacun, deux bain d'alcool 100° de 15 minutes chacun et un bain d'alcool butylique de 12 à 20 heures.

L'inclusion est faite dans une étuve (Nicht dresseur, Memmert) réglée à 60°C, dans trois bains de paraffine liquide à raison de 2 heures chacun. L'inclusion définitive s'est faite dans un quatrième bain de paraffine pendant toute une nuit et suivie de la mise en bloc dans des barres de Leuckart. L'échantillon est identifié à l'aide d'une étiquette. Après un refroidissement à la température ambiante, le bloc est démoulé.

2-3-4- Coupes

Des coupes longitudinales séries de 4 μm d'épaisseur sont réalisées au moyen d'un microtome   rasoir (Marque : Leitz). Les rubans sont mont es sur des lames porte-objet (Préalablement préparées) et dans de l'eau distillée. Les coupes sont ensuite étalées grâce à une plaque chauffante réglée à 40 C. Les lames totalement égouttées sont séchées à l'étuve à 37 C pendant au moins 24 Heures.

2-3-5- Coloration polychrome des coupes

Cette coloration dite « topographique » permet une étude rapide des organes et des tissus. Pour l'étude des cellules branchiales, nous avons utilisé la **tripe coloration de Prenant, variante de Gabe**. L'hémalun selon Mayer a été toutefois utilisé à la place de l'hématoxyline.

► Préparation des réactifs

H malun (  chaud)

Un mélange composé de 100 ml d'eau distill e et de 0,1 g d'hématoxyline cristallis e est dissout à chaud dans une étuve à 37-40 C durant 6 à 8 heures. Après refroidissement, on ajoute 5 g d'alun de potassium et 0,02 g d'iodate de sodium et le tout est filtré pour obtenir une solution homogène.

Eosine/Vert lumière (  froid)

Avec 100 ml d'eau distill e, nous avons préparé une solution compos e d'1 g d'éosine jaunâtre, de 0,2 g de vert lumière et de 0,5 g d'acide phosphotungstique. Ce mélange est agit  et complété par 0,5 ml de solution aqueuse d'acide acétique.

► Mode opératoire

Les coupes sont déparaffinées par passages successifs dans deux bains de LMR de 10 minutes chacun suivis d'un bain d'alcool 100 , 90  et 70  de 5 minutes chacun. Elles sont ensuite lav es dans un bac d'eau courante pendant 10 minutes et sont plong es dans l'hémalun pendant 5 minutes.   la sortie de ce colorant, les lames sont lav es à l'eau courante dans un bac jusqu'à un virage brun noir avant de passer dans la solution Eosine/vert lumière pour 10 minutes. Cette étape est suivie d'un rinçage très rapide dans de l'eau ac tif e et les coupes sont d shydrat es par des bains d'alcool 70  (très

rapide), 90° (5minutes), 100° (5 minutes) et de butanol (5minutes). Enfin, les coupes sont plongées dans deux bains de LMR de 10 minutes chacun et sont montées entre lames et lamelles avec un liquide de montage (Eukitt). Les lames obtenues sont séchées à température ambiante.

2-3-6- Immunolocalisation de l'ATPase Na⁺/K⁺ par immunofluorescence

Les cellules à chlorures ont été identifiées par immunofluorescence indirecte avec deux anticorps :

-Le premier anticorps (provenant de souris) anti-Na⁺, K⁺ ATPase permet de marquer les cellules à chlorures

-Le second anticorps (provenant de chèvre) anti-souris et qui est fluorescent se fixe sur le premier anticorps.

➤ Préparation des solutions (pour 20 lames)

Deux sachets de PBS (poudre Dako) sont dissous dans 2 litres d'eau autoclavée pour obtenir une solution à 20 millimoles (mM) dont le PH= 7,3 est ajusté avec du NaOH 1 M.

- 200 ml de PBS (eau autoclavée) sont dilués de moitié pour obtenir une solution de 400 ml de PBS à 10 mM à laquelle on ajoute 3,5 g de NaCl à 150 mM.

Le jour de la manipulation, on ajoute 40 µl de Twen 20.

La solution (solution A) ainsi préparée dans 400 ml de PBS à 10 mM à pH=7,3 contient 0,01 % de Twen 20 et 150mM de NaCl.

- Solution BS.

Dans 1 l de PBS (20mM, pH=7,3) on ajoute 10 g de BSA. 50 ml de cette solution est réservée pour la dilution de l'anticorps et au 950 ml restants on ajoute 0,95 g de gélatine.

- Anticorps I (préparé le jour de la manipulation)

On prépare des aliquots à partir de 107,5 µl de solution mère et 892,5 µl de BS pour obtenir une solution à 200 µg/ml. On prend ensuite 200 µl des aliquots et on y ajoute 1 800 µl de BS pour obtenir 2 ml à 20 µg/ml.

- Anticorps II (préparé le jour de la manipulation)

On prépare deux fois 5 µl d'anticorps mélangée à 995 µl de PBS-BSA le tout homogénéisé et centrifugé.

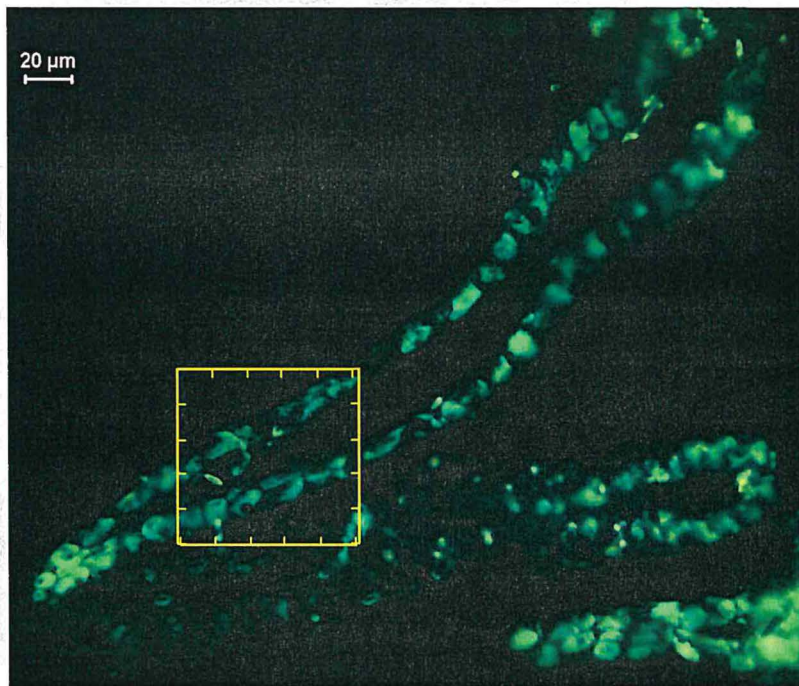


Figure 7 : Grille de $2500 \mu\text{m}^2$ utilisé pour le comptage des cellules à chlorures

➤ Mode opératoire

Les coupes sont déparaffinées par passages successifs dans deux bains de LMR (solvant) de 5 minutes chacun. Elles sont ensuite plongées dans des bains d'alcools 100°, 90°, 70°, 50° de 5 minutes chacun avant de passer dans la solution A pendant 10 minutes pour les rendre perméables. Après cette étape, les coupes sont introduites dans une solution de PBS/R à 5 % pendant 20 minutes et rincées au PBS seul pendant 2 minutes.

Les coupes sont ensuite placées dans une chambre humide et on y applique l'anticorps I à 11 µg/l dilué dans du PBS/R à 0,5 % pendant 2 heures à 37 °C. A leur sortie, elles sont rincées au PBS seul pendant 2 minutes et replacées dans la chambre humide pour être traitées avec l'anticorps II pendant 1 heure à 37°C.

Enfin, elles sont rincées dans trois bains de PBS de 2 minutes chacun avant d'être montées et observées.

2-3-7- Observation des coupes

Les coupes observées au microscope photonique (Marque : Leitz Type : Diaplan) muni d'une camera (Marque : Leica, Type : DC 300 F) et d'un ordinateur (Marque : Leica, Type : FW 4000). Pour la photographie, nous avons utilisé un fluorochrome de type Brightfied pour les images de topographie et un filtre FILT pour la fluorescence.

2-3-8- Techniques d'analyse des images

Les images sont observées pour déterminer la localisation et faire le dénombrement des cellules à chlorures. Le comptage s'est fait manuellement à l'aide d'une grille d'une surface de 2500 µm². Selon la taille du filament sur l'image, la grille est disposée 2 à 7 fois par filament (**Figure 7**).

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

I - PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES

1-1- Taux de survie

| Traitements | Population de Saloum | | | Population de Saint-Louis | | |
|-------------|----------------------|-----------|----------------|---------------------------|-----------|----------------|
| | Effectif total | Mortalité | Taux de survie | Effectif total | Mortalité | Taux de survie |
| ED | 16 | 2 | 87,5 | 15 | 1 | 93,33 |
| TD | 16 | 0 | 100 | 15 | 1 | 93,33 |
| TP | 15 | 2 | 86,67 | 15 | 2 | 86,67 |

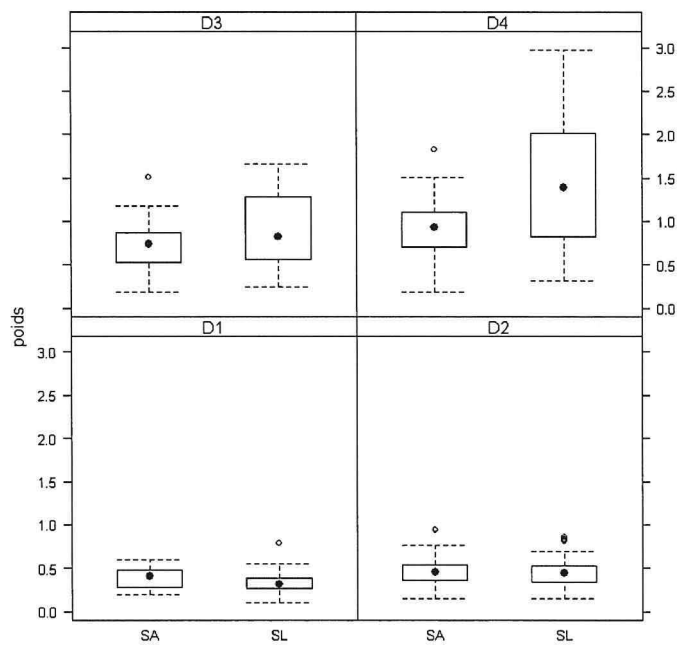
Tableau 1 : Taux de survie en fonction des conditions d'élevage chez les deux populations. ED= Eau douce, TD= Transfert direct, TP= Transfert progressif. Les pesées se sont effectuées tous les 10 jours et sur une période de un mois. Certaines mortalités sont survenues après les manipulations de pesée (2 morts en eau douce chez Saloum) tandis que d'autres sont dus aux sauts des alevins hors des aquariums (1 mort en transfert direct chez Saint-Louis).

Malgré ces mortalités accidentelles, les taux de survie sont élevés et le plus faible observé en transfert progressif n'est que de 86,76% et cela chez les deux populations. Les taux de survie ne sont donc pas significativement influencés par les différents traitements.

Tous les alevins transférés directement à 70 ‰ sont morts quelques heures après ; néanmoins dans la population de Saloum, les mortalités sont intervenues près de deux heures après celles de la population de Saint-Louis.

1-2- Croissance pondérale

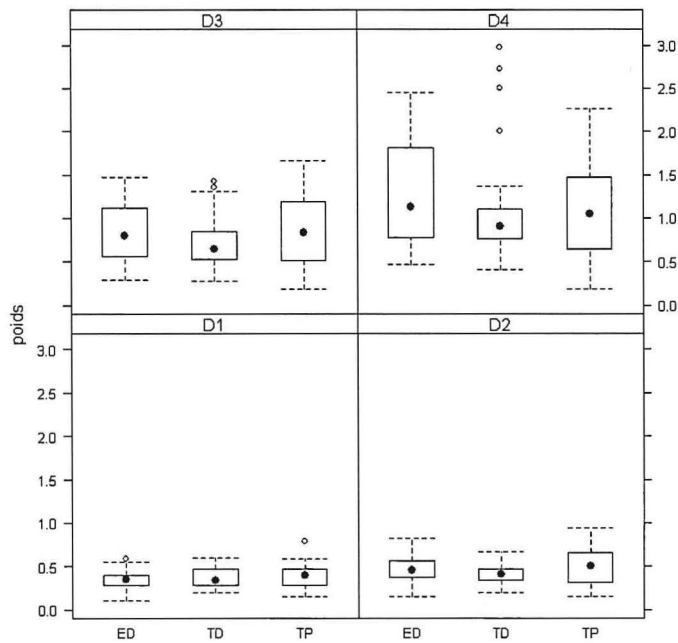
Par défaut de calcul d'un poids différentiel (individus non marqués en début d'expérience) qui reste la seule valeur utile pour étudier la croissance des poissons, nous avons fait une étude descriptive par des graphiques pour chaque date de mesure. Les résultats n'ayant donc pas été analysés statistiquement ne sont pas significatifs.



Graphique 1 : Comparaison de la distribution du poids entre les deux populations.

SA= population de Saloum, SL= population de Saint-Louis, D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée.

Bien que non significative, la croissance de la population de Saint-Louis a tendance à être supérieure à celle de la population de Saloum. Chez les deux populations, la croissance ne s'est accélérée qu'à partir du vingtième jour de l'expérience.

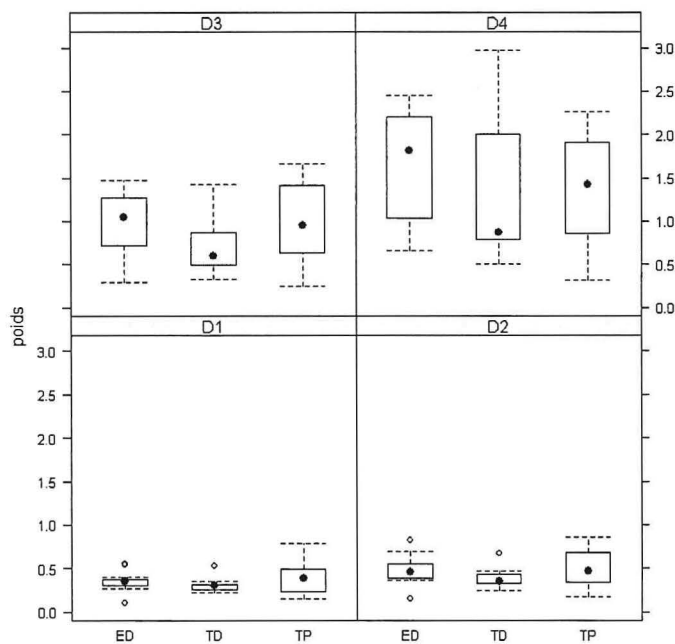


Graphique 2 : Comparaison de la distribution du poids entre conditions d'élevage.

ED=Eau douce, TD= Transfert direct, TP= transfert progressif. D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée.

A la fin de l'expérimentation, une meilleure croissance semble être observée en eau douce.

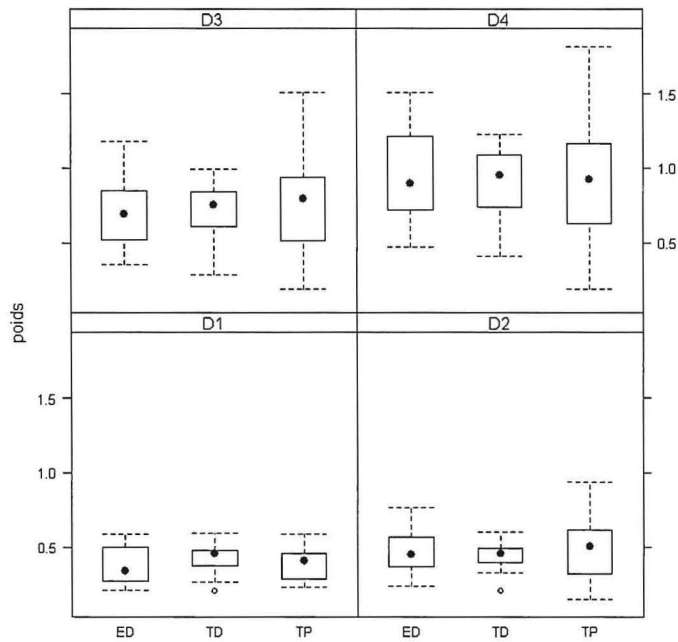
Cependant il faut noter un démarrage de croissance plus rapide en transfert progressif.



Graphique 3 : Comparaison de la distribution du poids entre conditions d'élevage pour la souche Saint-Louis.

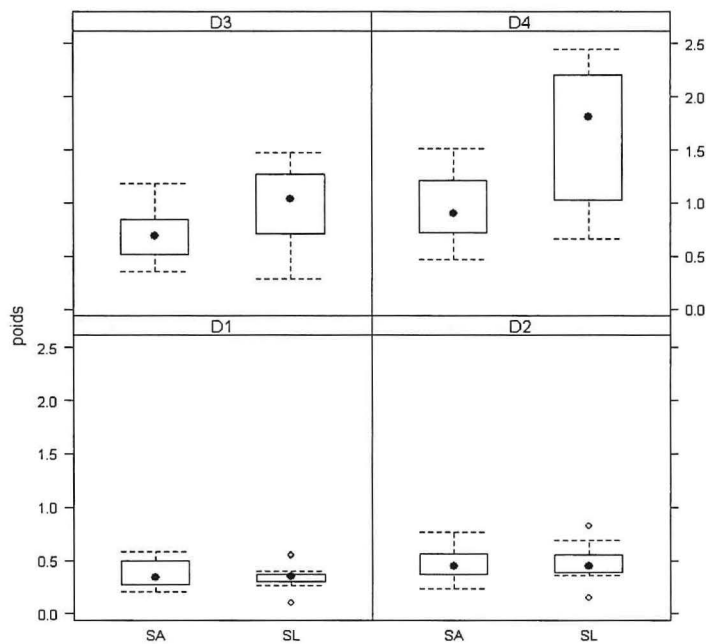
ED=Eau douce, TD= Transfert direct, TP= transfert progressif. D (1, 2, 3, 4)=dates de pesée.

En transfert direct, une grande hétérogénéité apparaît entre les différents individus.

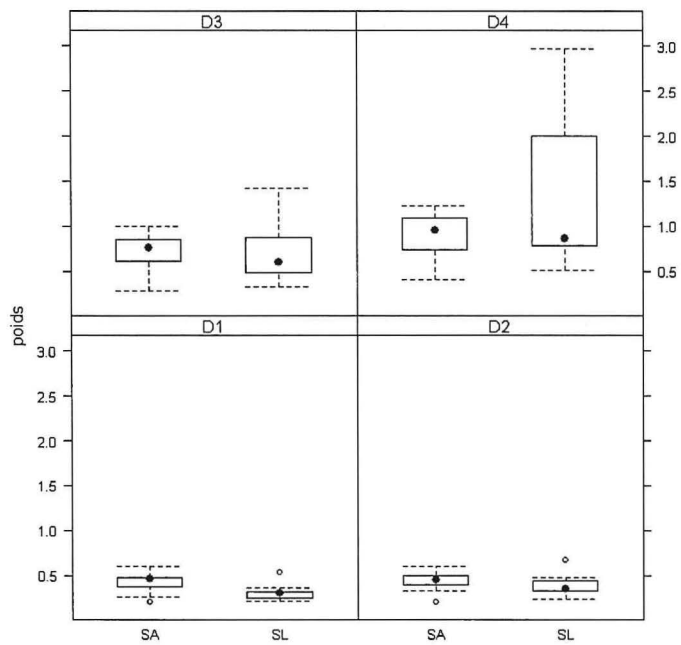


Graphique 4 : Comparaison de la distribution du poids entre conditions d'élevage pour la souche Saloum. ED=Eau douce, TD= Transfert direct, TP= transfert progressif
D (1, 2, 3, 4)=dates de pesée.

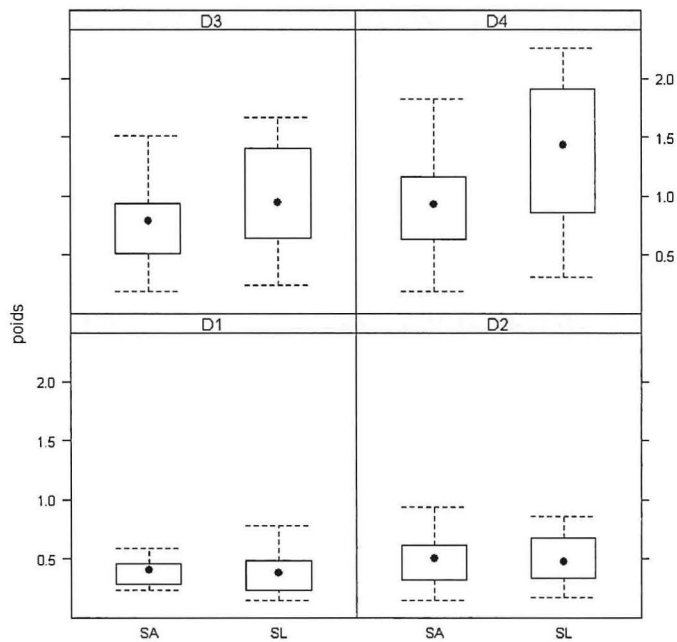
Quelle que soit la condition d'élevage, la croissance est homogène. Les poids des individus pour la plupart sont concentrés autour de la médiane.



Graphique 5 : Comparaisons de la distribution du poids entre populations en eau douce.
SA= population de Saloum, SL= population de Saint-Louis. D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée.

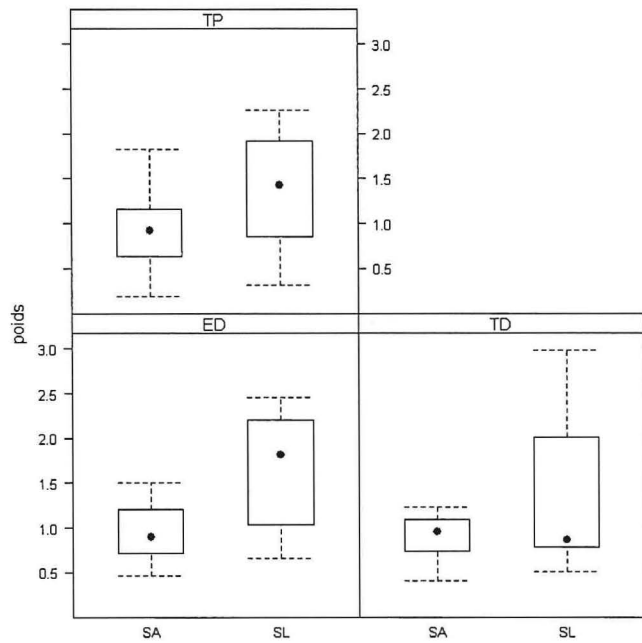


Graphique 6 : Comparaisons de la distribution du poids entre souches en transfert direct. SA= population de Saloum, SL= population de Saint-Louis. D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée.



Graphique 7 : Comparaisons de la distribution du poids entre souches en transfert progressif.

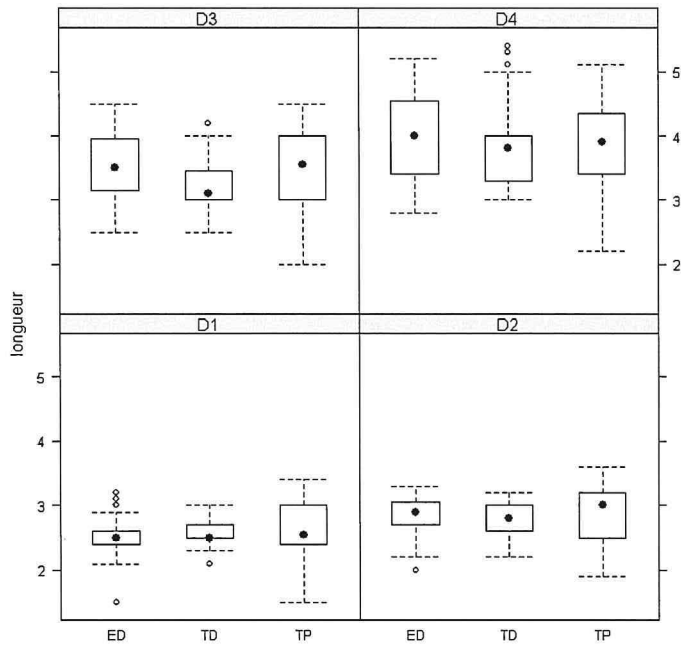
SA= population de Saloum, SL= population de Saint-Louis. D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée.



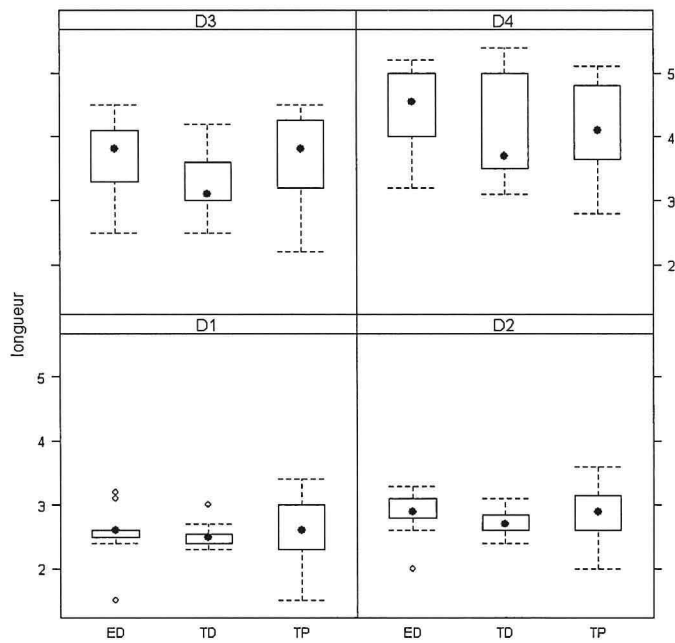
Graphique 8 : comparaison des souches dans les différentes conditions d'élevage à la date 4. SA= population de Saloum, SL= population de Saint-Louis

Bien que non significative, la croissance de la population de Saint-Louis a tendance à être supérieure à celle de la population de Saloum. Chez les deux populations, la croissance ne s'est accélérée qu'à partir du vingtième jour de l'expérience.

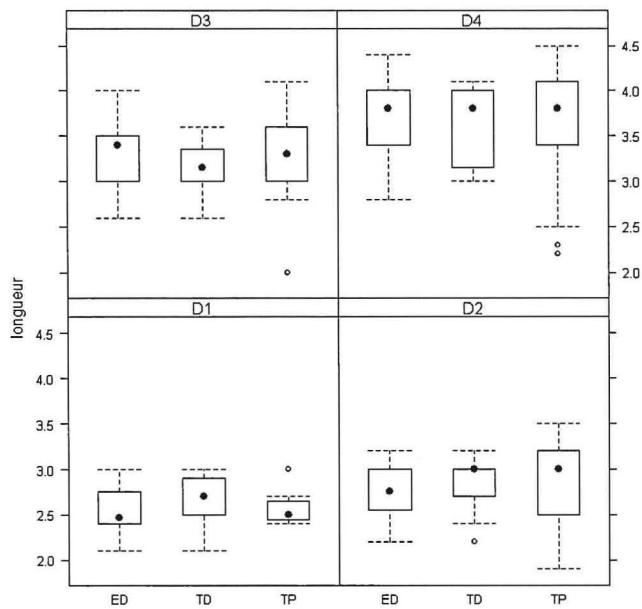
1-3- Longueur totale



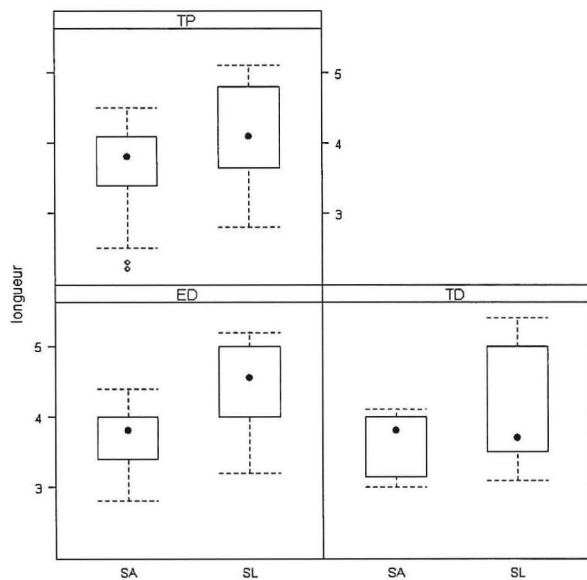
Graphique 9 : Comparaison de la distribution de la longueur entre conditions d'élevage. ED=Eau douce, TD= Transfert direct, TP= transfert progressif. D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée



Graphique 10 : Comparaison de la distribution de la longueur entre conditions d'élevage pour la souche Saint-Louis. ED=Eau douce, TD= Transfert direct, TP= transfert progressif. D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée



Graphique 11 : Comparaison de la distribution de la longueur entre conditions d'élevage pour la souche Saloum. ED=Eau douce, TD= Transfert direct, TP= transfert progressif. D (1, 2, 3, 4) = dates de pesée



Graphique 12 : comparaison des souches dans les différentes conditions d'élevage à la date 4. SA= population de Saloum, SL= population de Saint-Louis, ED=Eau douce, TD= Transfert direct, TP= transfert progressif.

II. - TOPOGRAPHIE DES BRANCHIES

Comme chez la plupart des téléostéens, la branchie de *Sarotherodon* est formée de quatre paires d'arcs branchiaux. Les coupes histologiques révèlent également que chaque arc branchial porte une double rangée de filaments ou lamelles primaires qui portent à leur tour des lamelles secondaires (**Figure 8**).

III - Modifications des cellules à chlorure lors de l'adaptation A des salinités plus élevées

3-1- Localisation des cellules à chlorures

L'analyse des images par population et par modalité de traitement indique une différence dans la localisation des cellules à chlorures au niveau des branchies.

Ainsi, pour la population de **Saloum (figure 9)**, les cellules à chlorures sont localisées uniquement tout le long des filaments avec une forte concentration à la base chez les témoins élevés en eau douce. Après 8 heures de transfert en eau de mer (35 ‰) la concentration basale s'accroît et on observe un début de migration des cellules à chlorures à la base des lamelles (**figure 10**). Cette tendance se confirme après 24 heures de transfert et quelques cellules à chlorures sont nettement identifiées dans les lamelles (**figure 11**). Au troisième jour de transfert (**figure 12**), les cellules à chlorures se présentent en plusieurs couches dans les lamelles si bien qu'au dixième jour on observe une abondance de cellules aussi bien dans les filaments que dans les lamelles (**figure 13**).

Chez la population de **Saint Louis (figure 14)**, contrairement à ceux de Saloum, les témoins élevés en eau douce présentent très peu ou presque pas de cellules à chlorures sur toute la longueur des filaments. Elles sont nettement concentrées à la base des filaments juste avant les premières lamelles. Les images après 8 heures de transfert en eau de mer n'ont pas pu être observées à cause de leur mauvaise qualité. Par contre, après 24 heures de transfert, on observe une répartition des cellules à chlorures sur toute la longueur des filaments et dans les lamelles (**figure 15**). Les images de 48 heures, 3 jours et 10 jours après le transfert montrent une accentuation de la concentration à la base et la présence de quelques cellules à chlorures dans les lamelles (**figures 16, 17, 18**). Signalons que la relative qualité de ces images n'a pas permis une analyse fine des cellules à chlorures.

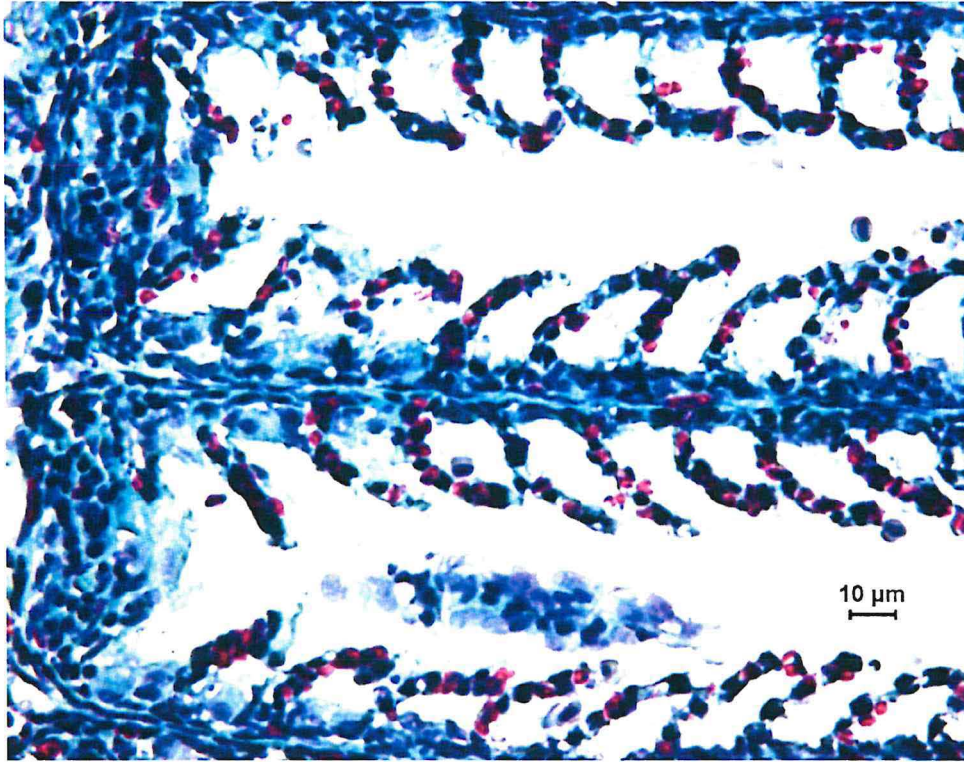


Figure 8 : Topographie des branchies de *S. melanotheron heudelotii* (Photo OUATTARA N'Golo).

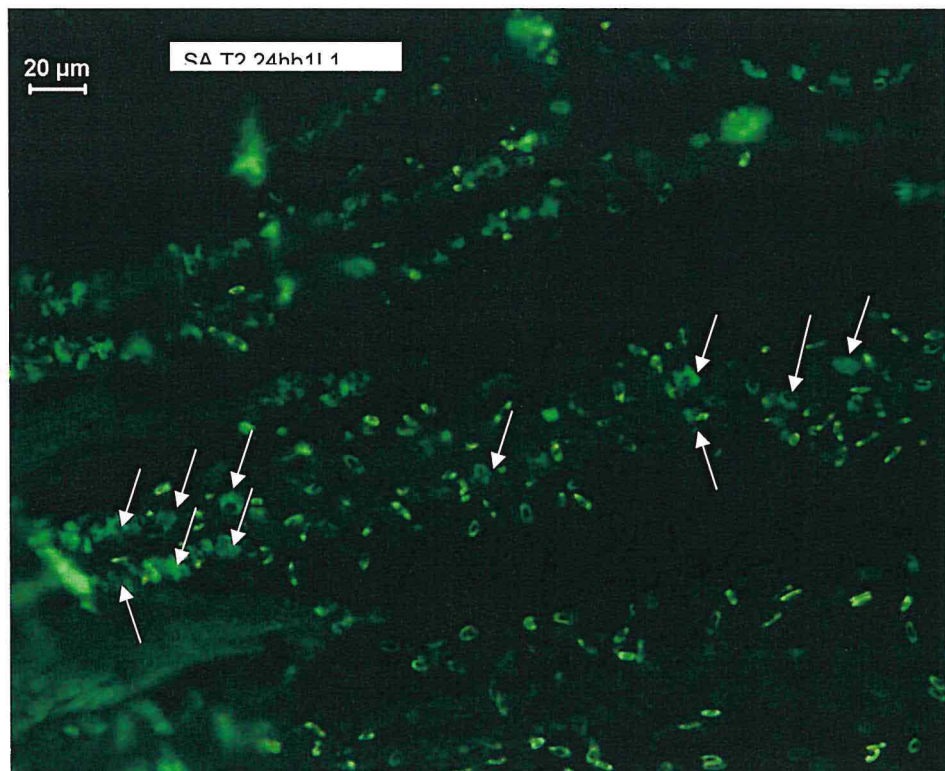


Figure 9: Localisation des cellules à chlorures en eau douce chez Saloum. Les cellules sont localisées tout le long des filaments avec une forte concentration à la base. (Photo OUATTARA N'Golo).

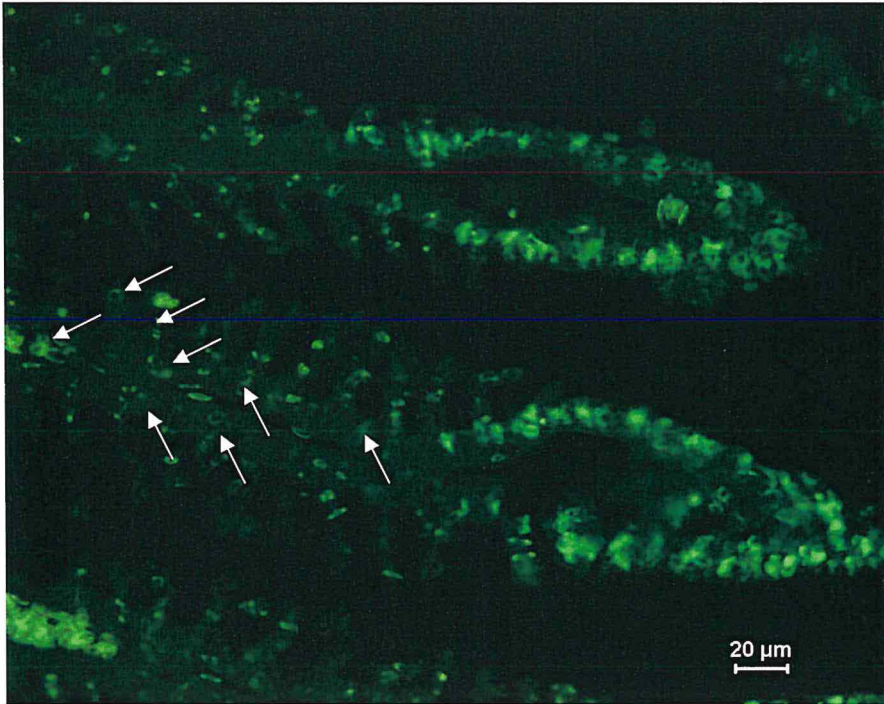


Figure 10 : Localisation des cellules à chlorures après 8 heures de transfert en eau de mer chez Saloum.
Les cellules à chlorures sont sur toute la longueur du filament et certaines sont déjà observées dans les lamelles. (Photo OUATTARA N’Golo).

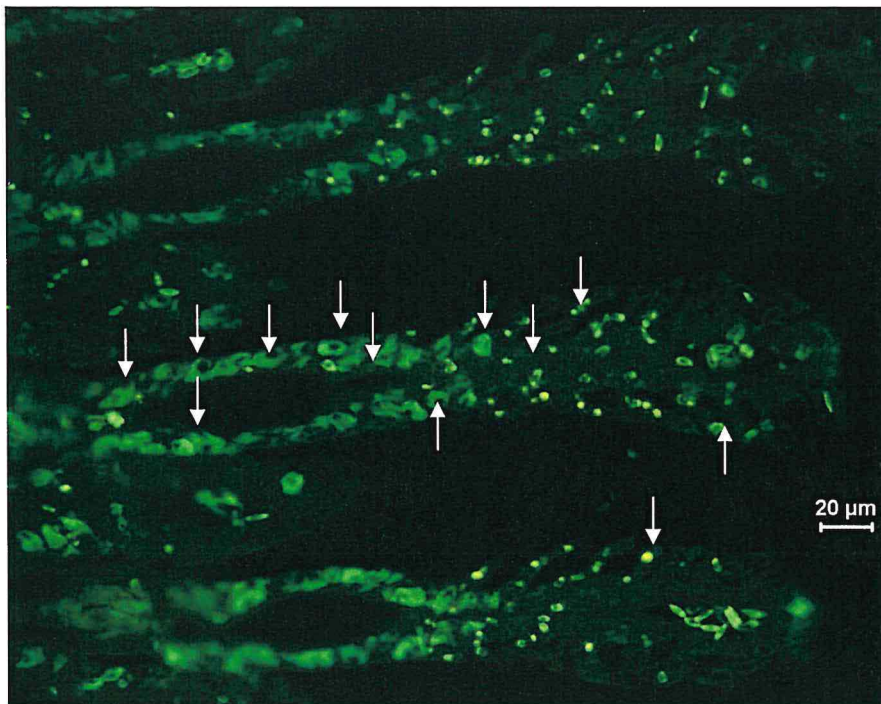


Figure 11 : Localisation des cellules à chlorures après 24 heures de transfert en eau de mer chez Saloum. (Photo OUATTARA N’Golo).

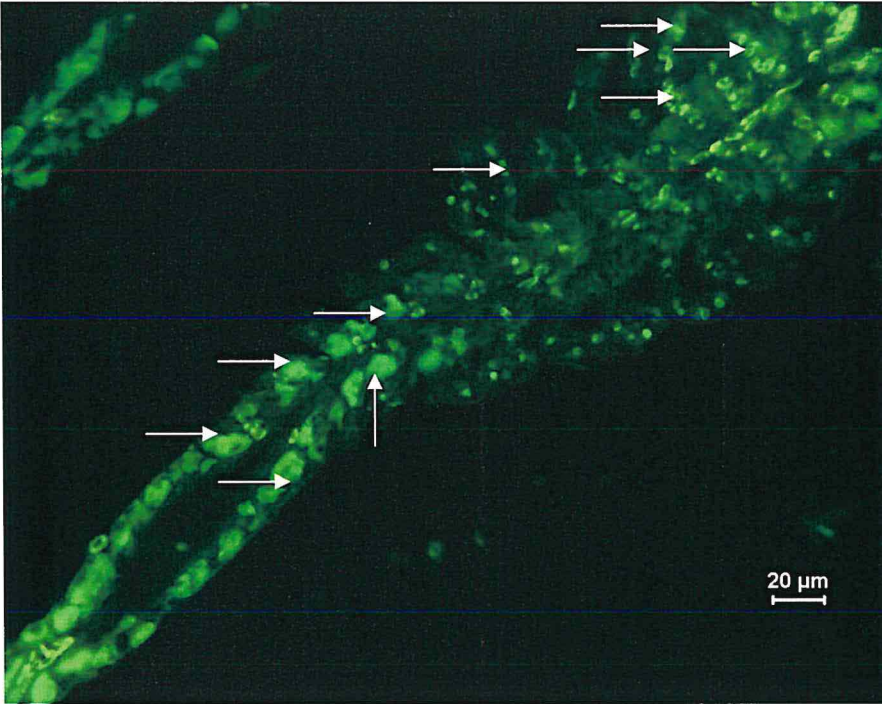


Figure 12 : Localisation des cellules à chlorures après 3 jours de transfert en eau de mer chez Saloum. (Photo OUATTARA N’Golo).

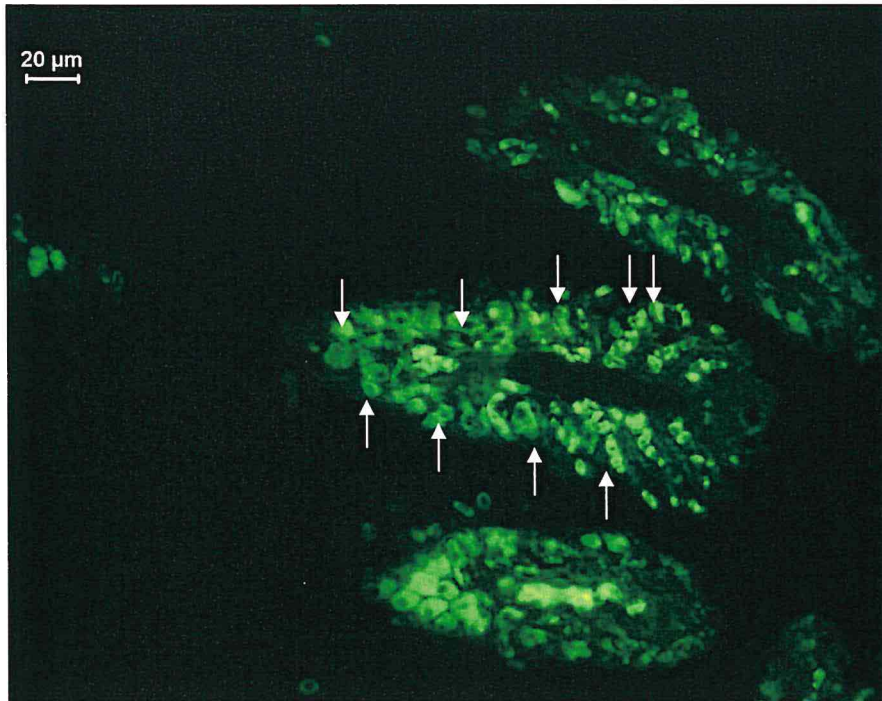


Figure 13 : Localisation des cellules à chlorures après 10 jours de transfert en eau de mer chez Saloum. (Photo OUATTARA N’Golo).

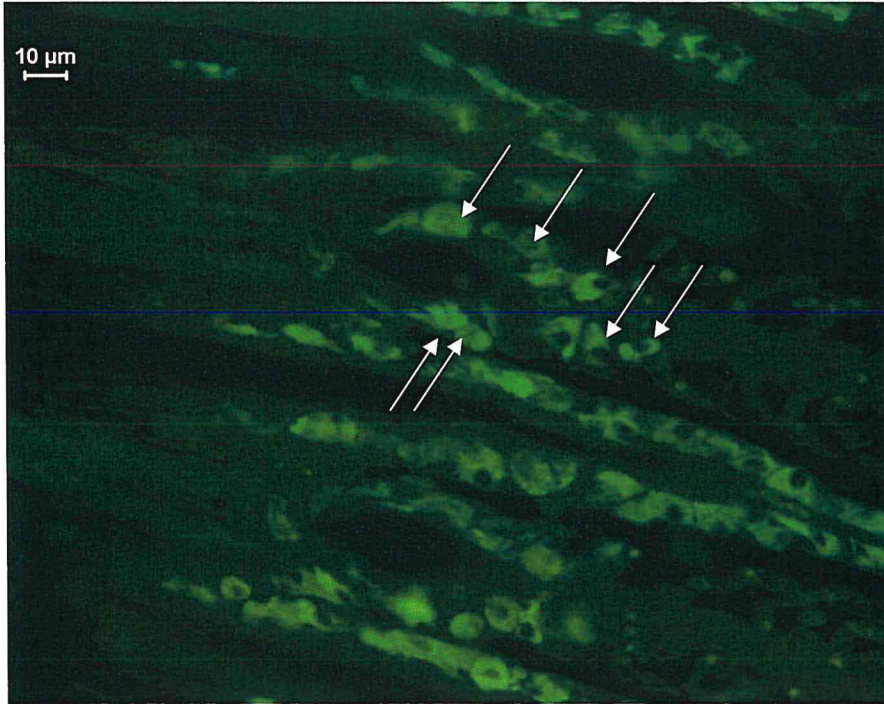


Figure 14 : Localisation des cellules à chlorures chez les témoins Saint-Louis. (Photo OUATTARA N’Golo).

Les cellules à chlorures sont localisées à la base des filaments.

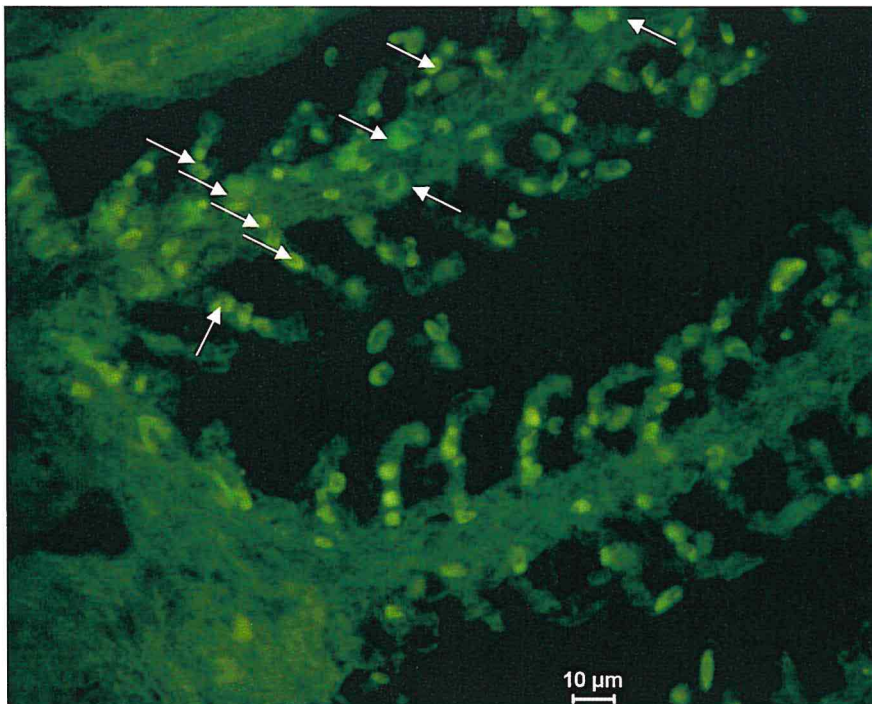


Figure 15 : Localisation des cellules à chlorures après 24 heures de transfert en eau de mer chez Saint-Louis. (Photo OUATTARA N’Golo).

Les cellules sont localisées tout le long du filament et dans les lamelles.

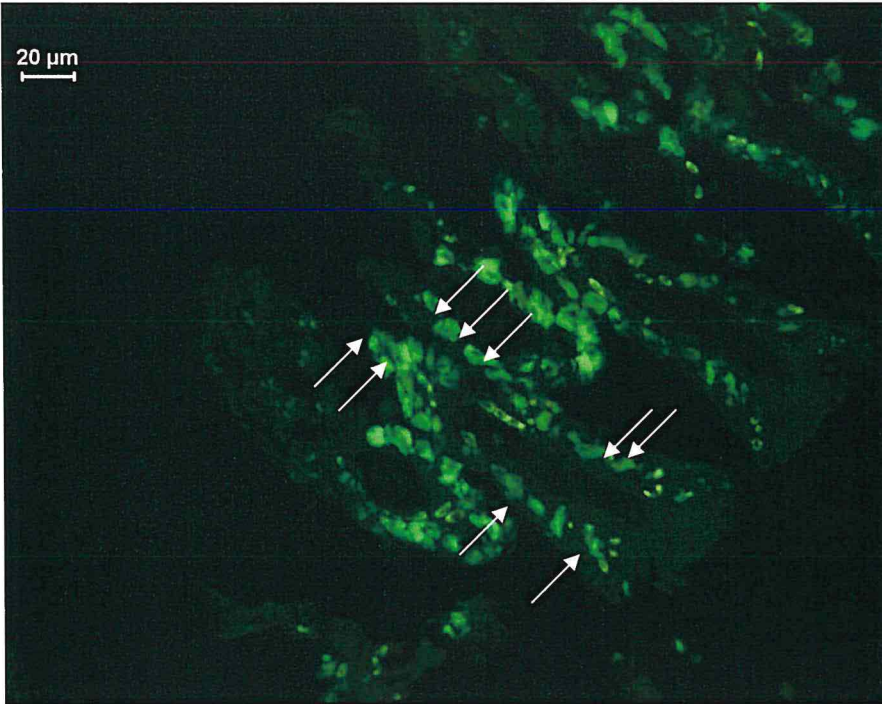


Figure 16 : Localisation des cellules à chlorures après 48 heures de transfert en eau de mer chez Saint-Louis. (Photo OUATTARA N'Golo).

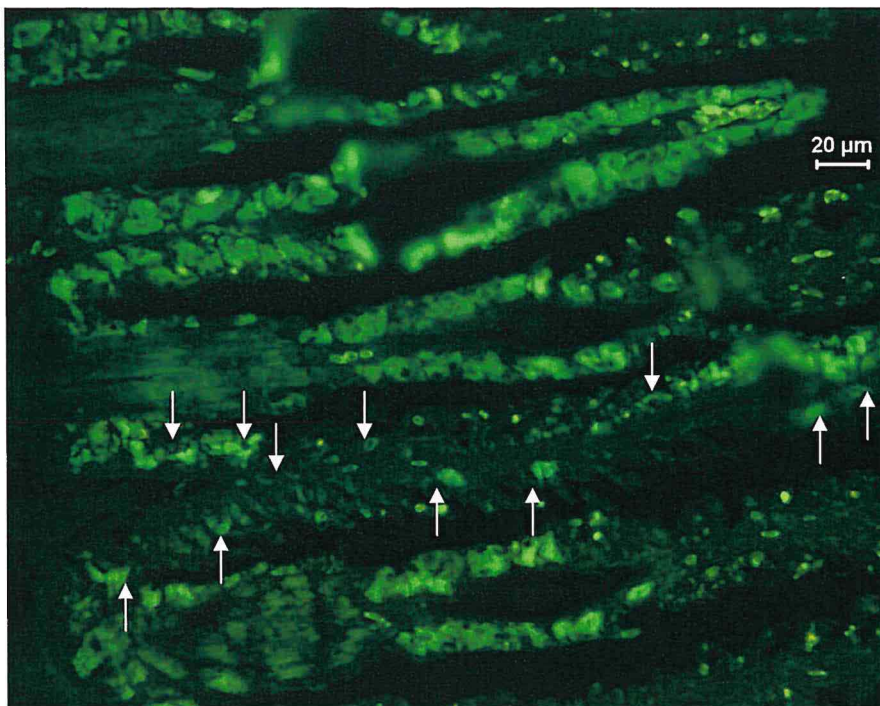


Figure 17 : Localisation des cellules à chlorures après 3 jours de transfert en eau de mer chez Saint-Louis. (Photo OUATTARA N'Golo).

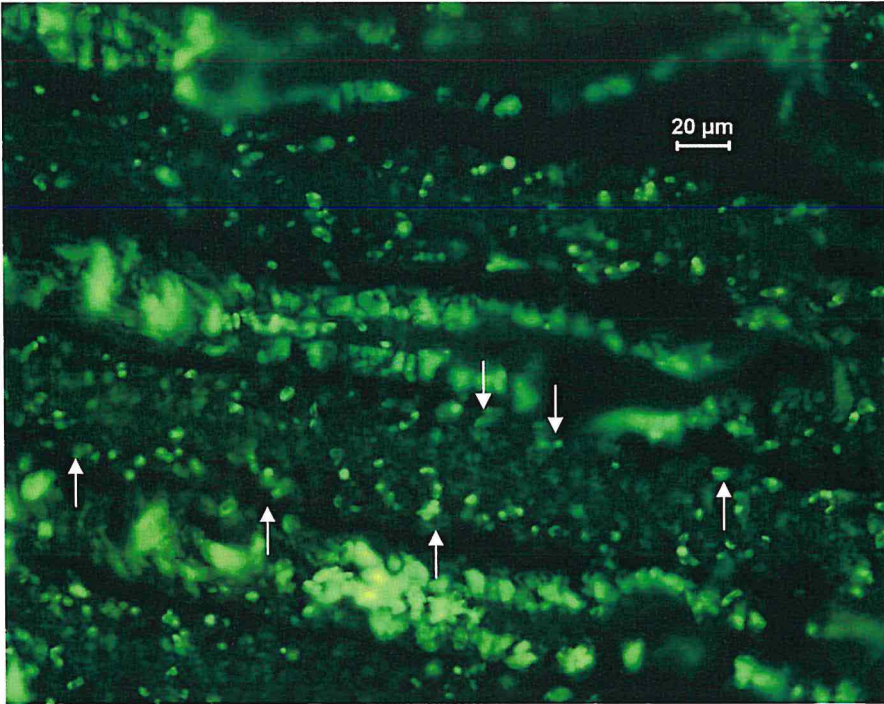


Figure 18 : Localisation des cellules à chlorures après 10 jours de transfert en eau de mer chez Saint-Louis. (Photo OUATTARA N’Golo).

3-2- Nombre de cellules à chlorures

Les résultats de comptage des cellules à chlorures après le transfert des poissons en de mer sont représentés dans le tableau ci-dessous.

| Nombre de cellules à chlorures/2500 μ m ² | | |
|--|----|----|
| Temps | SL | SA |
| T0 | 4 | 5 |
| 8 heures | 5 | 7 |
| 24 heures | 9 | 7 |
| 48 heures | 9 | 7 |
| 3 jours | 11 | 7 |
| 10 jours | 11 | 11 |

Tableau 2: Nombre de cellules à chlorures.

T0 correspond au temps avant le transfert en de mer (eau douce), SL= Population de Saint-Louis, SA= population de Saloum.

L'analyse de ces résultats montre que le nombre de cellules à chlorures augmente avec le temps de séjour des poissons en eau de mer. Aussi il ressort qu'il n'y a pas de grande différence de nombre entre les deux populations. Par contre, l'on peut noter une augmentation plus rapide du nombre de cellules à chlorures chez la population de Saloum. La taille des cellules n'a pas pu être déterminée.

IV- DISCUSSION

4-1- Caractéristiques des cellules branchiales lors de l'adaptation à l'eau de mer

En eau douce, les cellules à chlorures sont réparties sur toute la longueur des filaments chez la population de Saloum tandis qu'elles sont concentrées uniquement à la base du filament chez la population de Saint-Louis. Par ailleurs, leur nombre semble être relativement plus élevé chez Saloum que chez Saint-Louis. Cette bonne prédisposition pourrait expliquer la meilleure résistance observée chez la population de Saloum dès les premières heures d'exposition des alevins à de fortes salinités (70 ‰) avec des mortalités survenues 3 heures après celles des poissons de la population St. Louis.

Le passage des cellules à chlorures dans les lamelles après le transfert des poissons en eau de mer est un résultat comparable à celui obtenu chez *Lateolabrax japonicus* (Narisato *et al.*, 1999). Leur étude indique que, chez cette espèce, le passage de l'eau de mer à l'eau douce est marqué par une migration des cellules à chlorures des filaments branchiaux vers les lamelles.

Les résultats du nombre de cellules à chlorures en eau douce chez nos deux populations sont inférieurs (1600 à 2000/mm²) à ceux de Li *et al.* (1995) obtenus dans une étude réalisée chez l'alevin et les juvéniles de tilapia d'eau douce, *Oreochromis mossambicus*. Ces auteurs ont trouvé des densités de 4630±489/mm², de 6280±271/mm² et 6600±219/mm² respectivement à 3 jours, 10 jours et 24 jours post éclosion. Cela est en parfait accord avec le rôle d'organe fonctionnel de régulation ionique des branchies de ces poissons. L'augmentation du nombre de cellules à chlorures après le transfert en eau de mer serait accompagné d'une augmentation de l'activité de la Na⁺/K⁺ ATPase et d'un développement des lamelles secondaires (Li *et al.*, 1995). Connaissant le rôle important que joue cette enzyme dans l'osmorégulation des poissons en eau salée, la relative bonne adaptation des deux populations étudiées pourrait être expliquée par ce phénomène.

Toutefois, il convient de pondérer ces résultats préliminaires. En effet, nous avons utilisé des temps de fixation sur la base de travaux antérieurs réalisés chez des alevins de tilapia. Cependant une fixation pendant 4h sous légère agitation s'est révélée trop sévère pour les arcs branchiaux. Malgré la relative petite taille des tissus, ce temps pourrait s'avérer insuffisant et inversement, l'agitation même légère pourrait provoquer des éclatements cellulaires. En conséquence le nombre d'arcs branchiaux exploitables a été très réduit.

4-2- Performances zootechniques

Chez le tilapia, l'une des difficultés majeures dans les expériences qui nécessitent de nombreux individus réside dans la faible taille de ponte, les géniteurs dont nous disposons étant de petite taille. De plus, nos deux populations de *Sarotherodon* ne sont pas synchrones dans leurs reproductions. Nous avons donc utilisé les pontes au fur et à mesure des reproductions naturelles, le nombre d'alevins produits dépendant des géniteurs impliqués dans la reproduction.

Une distribution aléatoire des poissons a été effectuée pour chaque lot sans toujours pouvoir parvenir à un poids équivalent entre chacun de ces lots. Par ailleurs, le faible nombre d'individus (n=15) nous a conduit à mesurer la totalité des individus pendant le suivi de croissance, générant ainsi des données non indépendantes entre 2 pesées successives. En conséquence les analyses statistiques ont reposé sur une analyse des moyennes et non sur une analyse ANOVA basée sur des mesures indépendantes. Compte tenu de la petite taille des poissons, un marquage individuel n'était pas possible. Dès lors, il était également impossible de calculer un poids ou une longueur différentielle, variables importantes pour étudier la croissance des poissons.

Les analyses comparatives de la survie des deux populations indiquent de bonnes performances lors des transferts progressifs comme des transferts directs en eau de mer. Ces résultats sont conformes avec ceux obtenus par Al Amoudi (1987). En effet, dans une étude comparative de la tolérance à la salinité par transfert direct et par transfert progressif chez *Oreochromis aureus*, *Oreochromis spirulus*, *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis mossambicus* et l'hybride *Oreochromis aureus* x *Oreochromis niloticus*, il a montré qu'une pré-acclimatation à de faibles salinités offrait de meilleurs taux de survie pour toutes les espèces. Selon Watanabe *et al* (1988), un accroissement quotidien de 5 ‰ de la salinité rend plus efficace l'acclimatation à l'eau de mer (32 ‰) du tilapia hybride rouge de Floride (*Oreochromis hornorum* x *Oreochromis mossambicus*). La même méthode a été utilisée avec succès dans des tentatives d'acclimatation de *Oreochromis aureus* et *Oreochromis spirulus* à des salinités variant entre 39 ‰ et 41 ‰ (Hopkins *et al.*, 1989).

Le taux de survie chez les deux populations après le transfert direct en eau de mer est élevé (100% pour Saloum et 93,33% pour saint -Louis). Cela pourrait s'expliquer par la minimisation du stress lors du transfert. En effet, selon Baroiller *et al.*, (1997), chez *Sarotherodon melanotheron*, pour un passage direct de l'eau douce à l'eau de mer sans manipulation (changement rapide de la salinité de l'aquarium contenant les poissons), c'est-à-

dire sans stress causé par celle-ci, le taux de survie est de 100% après 5 mois, alors qu'après un transfert des poissons avec stress (les poissons passent d'un aquarium d'eau douce à un autre aquarium d'eau de mer), la mortalité s'élève à 90% au bout de 7 heures.

Ce travail a aussi démontré que les poissons de la population de Saint-Louis présentent, dans toutes les conditions d'élevage, une meilleure croissance, que ceux de la population du Saloum. Cette différence de croissance entre les deux populations est très visible en eau douce. Même en eau salée, où les efforts d'osmorégulation ralentissent habituellement la croissance (Watanabe et Burnett, 1989), la population de Saint-Louis présente une meilleure croissance que celle du Saloum. La population de St. Louis dans son milieu naturel n'a pas été confrontée à l'eau salée depuis des centaines ou milliers de générations; cependant les individus de cette population présentent, en milieu contrôlé, une adaptabilité aussi bonne que ceux de Saloum provenant d'un milieu naturel où la salinité est comprise entre 35 et 100 ‰.

Lors du transfert direct en eau salée à 35‰, les individus du Saloum aussi bien que ceux de St. Louis se sont acclimatés sans problème (aucune mortalité). *S. melanotheron* présente donc une meilleure adaptation à 35‰ que *O. mossambicus* ou que des hybrides de tilapia rouge de la souche Red Florida (hybride 4 voies : *O. Niloticus*, *O. aureus*, *O. mossambicus*, *O. hornorum*) chez qui le passage en eau de mer nécessite au minimum une acclimatation en deux temps (Erudel communication personnelle; Sardella *et al.*, 2004). Cependant les poissons du Saloum semblent avoir une certaine prédisposition à s'adapter à de fortes salinités puisqu'ils ont déjà en eau douce des cellules à chlorure localisées tout au long du filament et que le nombre de cellules semble augmenter plus rapidement que chez ceux de Saint-Louis.

CONCLUSION

Les résultats des différentes expériences montrent que les alevins du tilapia *Sarotherodon melanotheron heudelotii* possèdent de réelles capacités d'adaptation à l'eau salée.

Ces adaptations semblent impliquer des changements structuraux et fonctionnels des branchies caractérisés entre autres, par une redistribution des cellules à chlorures dans les filaments et les lamelles branchiales et une augmentation du nombre de ces cellules qui est probablement accompagnée par une augmentation de l'activité de la Na^+/K^+ ATPase. Ces modifications branchiales s'installent très tôt chez ces deux populations et particulièrement chez la population de Saloum (vivant naturellement en milieu hypersalé) où déjà après 8 heures seulement de transfert en eau de mer, un changement dans la distribution des cellules à chlorures a été observé. Cette capacité de réaction rapide pour faciliter son adaptation à l'eau de mer, désigne cette espèce comme un potentiel candidat à l'aquaculture en milieu salée.

L'étude comparative de croissance dans les trois types de traitements donne les meilleurs résultats pour la population de Saint-Louis (vivant naturellement en eau douce); cependant une forte hétérogénéité de croissance est observée entre les différents individus particulièrement lors de transfert direct en eau de mer. Inversement, la population du Saloum présente une croissance moins importante mais plus homogène. Par ailleurs, les différences de croissance entre les deux populations ne sont pas significatives et les raisons de l'hétérogénéité constatée chez la population de Saint-Louis restent à définir.

Les taux de survie pour tous les traitements sont sensiblement égaux à 100%. Ce résultat montre que les traitements n'ont pas affecté la survie des poissons et cela témoigne d'une bonne adaptation de *Sarotherodon melanotheron heudelotii* à l'eau de mer.

En comparaison, les deux populations ont donné les meilleurs taux de croissance lors du transfert progressif par rapport au transfert direct en eau de mer et cela suggère qu'une exposition précoce de ces poissons à l'eau salée pourrait permettre d'optimiser leur potentiel aquacole en environnement salé.

En définitive, ces deux populations présentent des avantages pour être élevées en eau douce mais surtout en eau salée. Dans ce domaine où les candidats se font rares, *Sarotherodon melanotheron heudelotii* se présente comme une espèce candidate pour

relever le défi de l'aquaculture en milieu saumâtre ou marin. Cependant, des études plus fines devraient confirmer ses potentialités aquacoles en eau salée.

PERSPECTIVES

La différence de localisation des cellules à chlorures branchiales entre les deux populations en eau douce mérite d'être confirmée. En effet, une identification claire de cette disposition pourrait apparaître comme une base pour mieux comprendre l'éventuelle différence d'adaptation de ces deux populations en eau salée.

Chez les deux populations, le transfert progressif s'est traduit par une relative bonne croissance par rapport au transfert direct en eau de mer. Il serait intéressant de mener une étude de croissance avec des individus marqués pour mieux estimer les potentialités aquacoles de ces populations.

Les trois types de milieux d'élevage expérimentés [eau douce, transfert direct en eau de mer (35 ‰) et transfert progressif], semblent indiquer une meilleure croissance pour la population de Saint-Louis. Cependant, une grande hétérogénéité a été notée au sein de cette population surtout en transfert direct. Une autre étude réalisée avec de plus grands effectifs devrait permettre de caractériser l'origine de cette hétérogénéité (sexe ?).

BIBLIOGRAPHIE

- **Agnèse, J.F., 1996.** La recherche au service du développement : l'exemple du programme GENETICS. Bull. CE Coopération Pêche 9(3) : 16-17.

- **Al Amoudi M. M., 1987.** Acclimation of commercially cultured *Oreochromis* species to seawater- an experimental study. Aquaculture 65, 33-342.

- **Aronson, L. R., 1945,** Influence of stimuli provided by the male Cichlid fish *Tilapia macrocephala* (Bleeker). Zoologica 34, pp 133-158.

- **Auperin, B., Rentier-Delrue, F., Martial, J.A., Prunet, P. 1994.** Evidence that two tilapia *Oreochromis niloticus* prolactins have different osmoregulatory functions during adaptation to a hyperosmotic environment. J. Mol. Endocrinology 12: 13-24.

- **Avella M., 1986.** Rôle des cellules à chlorures de la lame secondaire dans l'entrée branchiale de sodium chez la truite d'eau douce. Importance de l'échange Na⁺/H⁺. Thèse de doctorat de l'Université de Nice. 79p.

- **Babiker, M.M. and H. Ibrahim, 1979.** Studies on the biology of reproduction in the cichlid *Tilapia nilotica* (L.): gonadal maturation and fecundity. J. Fish Biol. 14: 437-448.

- **Baroiller J. F., Clota F., D'Cotta H., Derivaz M., Lazard J., Vergnet A., 1997.** Seawater adaptability of two species (*S. melanotheron* and *O. niloticus*) and their reciprocal F1 hybrids. The Fourth International Symposium on Tilapia in Aquaculture (ISTAIV) , pp303. Edité par K. Fitzsimmons. Orlando, USA, 808p.

- **Boeuf G., 1993.** Seawater adaptation strategies in salmonids. In: "Aquaculture: fundamentals and applied research" (pp. 61-80), B. and V. Lahlou. Washington DC, USA: American Geophysical Union.

- **Boeuf G., Payan P., 2001.** How should salinity influence fish growth? Comp. Biochem. Physiol. C, 130, 411-423.

- **Campbell, D., 1987.** A review of the culture of *Sarotherodon melanotheron* in West Africa. UNDP/FAO African Regional Aquaculture Centre, Aluu, Port Harcourt, Nigeria. Working Paper ARAC/87/WP/5, 20p.

- **Canagaratnam P. 1966.** Growth of *Tilapia mossambicus* Petres in different salinities. Bull. Fish. Res. Stn. Ceylon 19, 47-50.

- **Caroff- André A., 1987.** Etude des différents types cellulaires de l'épithélium branchial de deux poissons euryhalins : le guppy (*Lebites reticulatus*) et la truitelle (*Salmo gairdneri*) et d'un poisson sténohalin : le turbot (*Scophthalmus maximus*), leurs significations fonctionnelles. Thèse de doctorat de l'Université Paris VI, 119p.

- **Chervinski J., 1961a.** Laboratory experiments on the growth of *Tilapia nilotica* in various saline concentrations. Bamidgeh 13 (1): 8-13.

- **Chervinski J., 1961b** On the spawning of *Tilapia nilotica* in brackish water during experiments in concrete tanks. Bamidgeh 13 (1): 30.

- **Chervinski J., 1980.** Environmental physiology of tilapias. In The biology and culture of tilapias, pp. 119-128. Edité par R. S. V. Pullin et R. H. Lowe-McConnell: ICLARM Conf. Proc. 7, 360p.

- **Chervinski J., Hering E., 1973.** *Tilapia zillii* (Gervais) (piscies, cichlidae) and its adaptability to various saline conditions. Aquaculture 2, 23-29.

- **Conte, F. P., 1969.** Salt secretion. In : Fish Physiology, vol. I. W. S. Hoar and D. J. Randall, eds. Academic Press, New York, pp. 241-292.

- **Eyeson, K. N., 1983.** Stuntint and reproduction in pond-reared *Sarotherodon melanotheron*. Aquaculture 31, pp 257267.

- **FAO, 2004.** Situation mondiale des pêches et de l'aquaculture (SOFIA). <http://www.fao.org/fi>

- **Fryer G., Illes T. D., (EDS) 1972.** The Cichid fishes of the great Lakes of Africa- their biology and evolution.

- **Foskett, J. K., C. D. Logsdon, T. Turner, T. E. Machen, and H. A. Bern, 1981.** Differentiation of the chloride extrusion mechanism during seawater adaptation of a teleost fish, the cichlid *Sarotherodon mossambicus*. J. Exp. Biol., 93:209-224.

- **Foskett, J. K., and C. Scheffey, 1982.** The chloride cell: Definitive identification as the saltsecretory cell in the teleost. Science, 215: 164-166.

- **Franklin C. E. and Davison W., 1989.** S. E M. Observations of morphologically different chloride cells in freshwater adapted sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. J. Fish Biol. 34. 803-804.

- **Gilles, S., J.B. Amon-Kothias et J.-F. Agnèse, 1998.** Comparison of brackishwater growth performances of *Sarotherodon melanotheron* (Cichlidae) from three West African population, p. 199-210. In J.-F. Agnèse (éd.) genetics and aquaculture in Africa.

- **Gourène G., Teugels G.G., Thys van den Audenaerde D. F. E., 1995.** Manuel d'identification des poissons du lac d'Ayamé (Rivière Bia, Côte d'Ivoire), Arch. Scient. Cent. Rech. Océanogr. OSSTROM, Abidjan 14 1-41.

- **Hem, S., J.L.B. Avit, 1996.** Acadja-enclos: un système d'exploitation piscicole extensive en Côte d'Ivoire, p. 48-55. In R.S.V. Pullin, J. Lazard, M. Legendre, J.B. Amon-Kothias et D. Pauly (éds). Le troisième symposium International sur le tilapia en Aquaculture. ICLARM Conf. Porc. 41, 630p.

- **Hopkins K., Ridha M., Leclercq D., Al-Ameeri A. A., Al-Ahmad T., 1989.** Screening tilapia for seawater culture in Kuwait. Aquaculture Fish Management 20, 389-397.

- **Hootman S. R. and Philpott C. W., 1980.** Accessory cells in teleost branchial epithelium. Am. J. Physiol. 238, R199-R206.

- **Hughes G. M., 1984.** General anatomy of the gills. In "fish physiology" edited by W. S. Hoar and D. J. Randall vol XA, 1-63.

- **Jennings, D.P., 1991.** Behavioral aspects of cold tolerance of blackchin tilapia, *Sarotherodon melanotheron* (Pisces, Cichlidae) at different salinities. *Environmental Biology of fishes* 31:185-195.

- **Jennings, D.P., and J.D. Williams, 1992.** Factors influencing the distribution of blackchin tilapia, *Sarotherodon melanotheron* (Osteichthyes: Cichlidae) in the Indian River system, Florida. *Northeast Gulf Science* 12 (2): 111-117.

- **Karnaky, K. J., S. A. Ernst, and C. W; Philpott, 1976.** Teleost chloride cell. I. Reponse of pupfish *Cyprinodon variegatus* gill Na, K-ATPase and chloride cell fine structure to various high-salinity environments. *J. Cell Biol.*, 70:144-156.

- **Keys A. and Willer E. N., 1932.** Chloride secreting cells in the gill of fishes with special references to the common eel. *J. Physiol.* 76, 368-377.

- **Koné, T., Teugels, G. G., 1999.** Données sur la reproduction d'un tilapia estuarien *Sarotherodon melanotheron* isolé dans un lac de barrage ouest-africain. *Aquaculture Living Ressource*, pp 289-298.

- **Kültz, D., Jürss, K. 1993.** Biochemical characterization of isolated branchial mitochondria-rich cells of *Oreochromis mossambicus* acclimated to fresh water or hypersaline sea water. *J. Comp. Physiol B* 163: 406-412.

- **Laurent, P. And S. Dunel, 1980.** Morphology of gill epithelia in fish. *Am. J. Physiol.*, 238: R147-R159.

- **Laurent P., 1984.** Gill morphology. In « Fish physiology » edited by W. S. Hoar and D.J. Randall vol. XA, 73-172.

- **Legendre, M., Trebaol, L. 1996.** Efficacité de l'incubation buccale et fréquence de ponte de *Sarotherodon melanotheron* (Rüppel, 1852) en milieu d'élevage (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire).

- **Lemarié, G., Baroiller, J.F., Clota, F., Lazard, J., and Dosdat, A. 2004.** A simple test to estimate the salinity tolerance of fish with specific application to *O. niloticus* and *S. melanotheron*. *Aquaculture*, 240: 575-587.96-100.

- **Li J., Eygensteyn R. A., Lock P. M; Verbost, Van der heijden A. J. H., Wendelaar S. E., Bonga A., Flick G., 1995;** Mitochondria-rich cells in gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) adapted to fresh water or seawater: quantification by Confocal Laser scanning Microscopy. *J. Exp. Biol.* 198, pp2177-2184.

- **Lotan R., 1960** Adaptability of *Tilapia aurea* to various saline conditions. *Bamidgeh* 12,

- **Marshall, W. S., S. E. Bryson, Midelfart A., Hamilton W.F., 1995.** Low conductance anion channel activated by cyclic AMP in teleost Cl⁻ secreting cells. *Am J. Physiol* 268: R963-R969.

- **Marshall, W. S., S. E. Bryson, P. Darling, C. Whitten, M. Patrick, M. Wilkie, C. M. Wood, and J. Buckland-Nicks, 1997.** NaCl transport and ultrastructure of opercular epithelium from a freshwater-adapted euryhaline teleost, *Fundulus heteroclitus*. *J. Exp. Zool.*, 277: 23-37.

- **Mbow, A., D'Cotta, H., Baroiller, J.F., Legendre, M., Laë, R., 2005.** Comparison of osmoregulatory characteristics of four wild populations of the black-chinned tilapia, *Sarotherodon melanotheron* living in different salinities and under salinity fluctuations. (Soumis à *Comparative Biochemistry and Physiology*).

- **McCormick S., 1990.** Cortisol directly stimulates differentiation of chloride cells in tilapia opercular membrane. *Am. J. Physiol.* 259, R857-R863.

- **McCormick S., 2002.** Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *Am. Zoologist* 41, 781-794.

- **Morgan P. R., 1972.** Causes of mortality in the endemic tilapia of lake Chilwa (Malawi), *Hydrobiologia*, pp101-119.

- **Narisato, H., M. Tagawa, T. Kaneko, T. Seikai, and M. Tanaka, 1999.** Distribution changes in branchial Chloride Cells during Freshwater adaptation in Japanese sea Bass *Latealabrax japonicus*. Zool. Science 16:43-49.

- **Panfili, J., Mboww, A., Duxand, J.D., Diop, K., Thior, D., Ndiaye, P., and Lae, R., 2004.** Influence of salinity on the life history traits of the West African black-chinned tilapia (*Sarotherodon melanotheron*): comparison between the Gambia saloum estuaries. Aquat. Living Resour. 17:65-74.

- **Pauly, D., Lichatowitch T.,1976.** The biology fishery and potential for aquaculture of *Tilapia melanotheron* in a small west African Lagoon. Aquaculture 7, pp 33-49.

- **Philippart, J-CL. And J-CL. Ruwet, 1982.** Ecology and distribution of tilapias, p. 15-59. In R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnell (eds.) The biology and Culture of tilapias. ICLARM Conference Proceedings 7, 432p. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.

- **Pisam, M., Le Moal, C., Auperin, B., Prunet, P. Rambourg, A. 1995.** Apical structures of « Mitochondria-Rich » α and β cells in euryhaline fish gill: their behaviour in various living conditions. Anatomical Record 241:13-24.

- **Popper D. and Lichatowitch T., 1975.** Preliminary success in predator control of *tilapia mossambica*. Aquaculture 5 pp213-214.

- **Sardella, B.A., Matey, V., Cooper, J., Gonzalez, R.J. and Brauner C.J., 2004.** Physiological, biochemical and morphological indicators of osmoregulatory stress in 'california' Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus* X *Oreochromis urolepis hornorum*) exposed to hypersaline water. The Journal of Experimental Biology 207, 1399-1413.

- **Shirai, N., and S. Utida, 1970.** Developpment and degeneration of chloride cell during seawater and freshwater adaptation of the Japanese eel *Anguilla japonica*. Z. Zellforsch., 103:247-264.

- **Silva P., Solomon R., Spokes K., Epstein F., 1977.** Ouabain inhibitor of gill Na^+/K^+ ATPase activity relationship to active chloride transport. J. Exp. Zool. 199, 419-426.

- **Springer V. G., and J. H. Finucane, 1963.** The african cichlid, *Tilapia heudoleti* Dumeril, in the commercial fish catch of Floride. Transactions of the American Fisheries society 92 (3): 317-318.

- **Suresh A. V. and Lin C. K., 1992.** Tilapia culture in saline waters. A review. Aquaculture 106, 201-226.

- **Thomson, A. J., and J. R. Sargent, 1977.** Changes in the levels of chloride cell and $(\text{Na}^+, \text{K}^+)$ depend ent ATPase in the gills of yellow and silver eels adapting to seawater. J. Exp. Zool., 200:33-40.

- **Trewavas E., 1983.** Tilapiine fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. British Museum of Natural History, Publ. Num. 878. Comstock Publishing Associates. Ithaca, New York. 583pp.

- **Uchida , R. N. And J.E. King, 1962.** Tank culture of tilapia. Fish. Bull. 62: 21-52.

- **Watanabe W. O., Burnett K. M., 1989.** The effects of Salinity on Reproductive Performance of Florida Red Tilapia. Journal of the world aquaculture society. Vol. 20, n^o. 4.

- **Watanabe W. O., Burnett K. M., Olla B. L., Wicklund R. I., 1989.** The effects of salinity on reproductive performance of Floride red tilapia. J. Wold Aquacult. Soc. 20, 223-229.

- **Watanabe W. O., French K. E., Ernst D. H., Olla B. L. and Wicklund R. I., 1988.** Further investigation on the effects of salinity on growth and survival of Florida red tilapia : eviden ce for the influence of behaviour. In: RS.III Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J. L. Maclean (Editors), The second International Symposium on tilapia in Aquaculture. ICLAR M Conference Proceedings 15. Department of Fisheries, Bangkok,

Thailand and international Center for Living Aquatic Resources Management, Philippines, p525-530.

- **Watanabe W. O., Kuo C. M., Huang M. C., 1985.** Salinity tolerance of Nil tilapia fry (*Oreochromis niloticus*) spawned and hatched at various salinities. *Aquaculture* 48, 159-176.

- **Wendelaar B. S E and Van Der Meij J. C. A., 1989.** Degeneration and death, by apoptosis and necrosis, of the pavement and chloride cells in the gills of the teleost *Oreochromis mossambicus*. *Cell tissue Res.* 255, pp235-243.

- **Wohlfarth G. W., Hulata G. I., 1981.** Applied Genetics of Tilapias. In ICLARM Studies and Reviews 6, 26pp. International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.

- **Wood, and J. Buckland-Nicks, 1997.** NaCl transport and ultrastructure of opercular epithelium from a freshwater-adapted euryhaline teleost, *Fundulus heteroclitus*. *J. Exp. Zool.*, 277: 23-37.

- **Yada, T. and Hirano, T. 1991.** Influence of seawater adaptation on prolactin and growth hormone release from organ-cultured pituitary of rainbow trout. *Zool. Sci.* 9:143-148.

- **Zamora L., 2000.** Etude de la reproduction du tilapia Sénégalais *Sarotherodon melanotheron heudelotii*. Diplôme d'Etudes Supérieures d'Université en science de la Vie. Université de Montpellier II, p3-35.