

Premières observations sur la structure ovarienne et la fécondité de *Barbus holotaenia* Boulenger, 1902 (Pisces : Cyprinidae) récoltés dans le bassin de la rivière Luki (Zaïre)

S. Mutambue¹
J.-N. Tourenq¹

Mots clés : *Barbus*, ovaire, vitellogenèse, fécondité, follicules.

L'examen macroscopique, histologique et cytologique des ovaires de *Barbus holotaenia* adultes récoltés dans le bassin de la Luki entre juillet 1986 et septembre 1988 a permis de décrire six stades de développement des ovaires et sept stades au niveau des ovocytes et des follicules. Quelques conclusions biologiques et écologiques sont tirées de ces différentes observations. La fécondité individuelle partielle est comprise entre 0,005 et 0,018 ovocytes par kg de la masse du poisson.

First observations about ovarian structure and fecundity of *Barbus holotaenia* Boulenger, 1902 (Pisces Cyprinidae) from the Luki river basin (Zaire)

Keywords : *Barbus*, ovary, vitellogenesis, fecundity, follicles.

The cyclical changes in ovarian activity of adult *Barbus holotaenia* fished in the Luki basin from July 1986 to September 1988, have been studied by macroscopical, histological and cytological methods. The annual ovarian cycle is divided into six stages and the cyclical changes in the oocytes and in the follicles into seven stages. Biological and ecological conclusions have been deduced from this study. The partial individual fecundity varies from 0,005 to 0,018 oocytes per kg total weight of fish.

1. Introduction

Barbus holotaenia est une des espèces de Cyprinidae qui se rencontre régulièrement et souvent en grand nombre dans de nombreuses rivières et fleuves de la région guinéenne.

En dehors des études descriptives et/ou systématiques (Daget et al. 1984), aucun autre travail de grande envergure n'a été consacré à la biologie ni à l'écologie de ce petit poisson dont la longueur standard n'excède pas 142,5 mm.

Dans le présent travail nous avons axé notre attention sur la structure et l'organisation de ses ovaires ain-

si que sur sa fécondité relative en relation avec sa taille, sa masse totale et celle des gonades.

2. Matériel et méthode

Les observations présentées ici portent sur 156 poissons capturés entre juillet 1986 et septembre 1988 dans le bassin de la Luki (756 km² environ), situé entre 12°53' - 13°13' E et 5°30' - 5°47' S (Fig.1). Outre la pêche électrique qui n'a pu être réalisée que dans les stations à accès aisé, la technique de pêche utilisée est la pêche aux filets maillants (10 - 30 mm de vide de mailles) associée à la pêche à l'ichtyotoxique local, le «Bumi», préparé à partir des feuilles et des fruits des arbres suivants: *Bremania spathulifolia*, *Cissus araleoides*, *Dioscorea pterocaulon*, *Goyera cedrata*, *Palisota ambigua* et *Tetrapleura tetraptera*.

Pour chaque poisson observé, nous avons relevé: le sexe, la longueur standard (Ls, cm), la masse totale (g), et celle des gonades (g). Nous avons encore examiné les différentes gonades en notant leur aspect général,

¹ Centre d'Ecologie des Systèmes Aquatiques Continentaux. UMR C 5576 CNRS/ Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, F-31062 Toulouse Cedex.

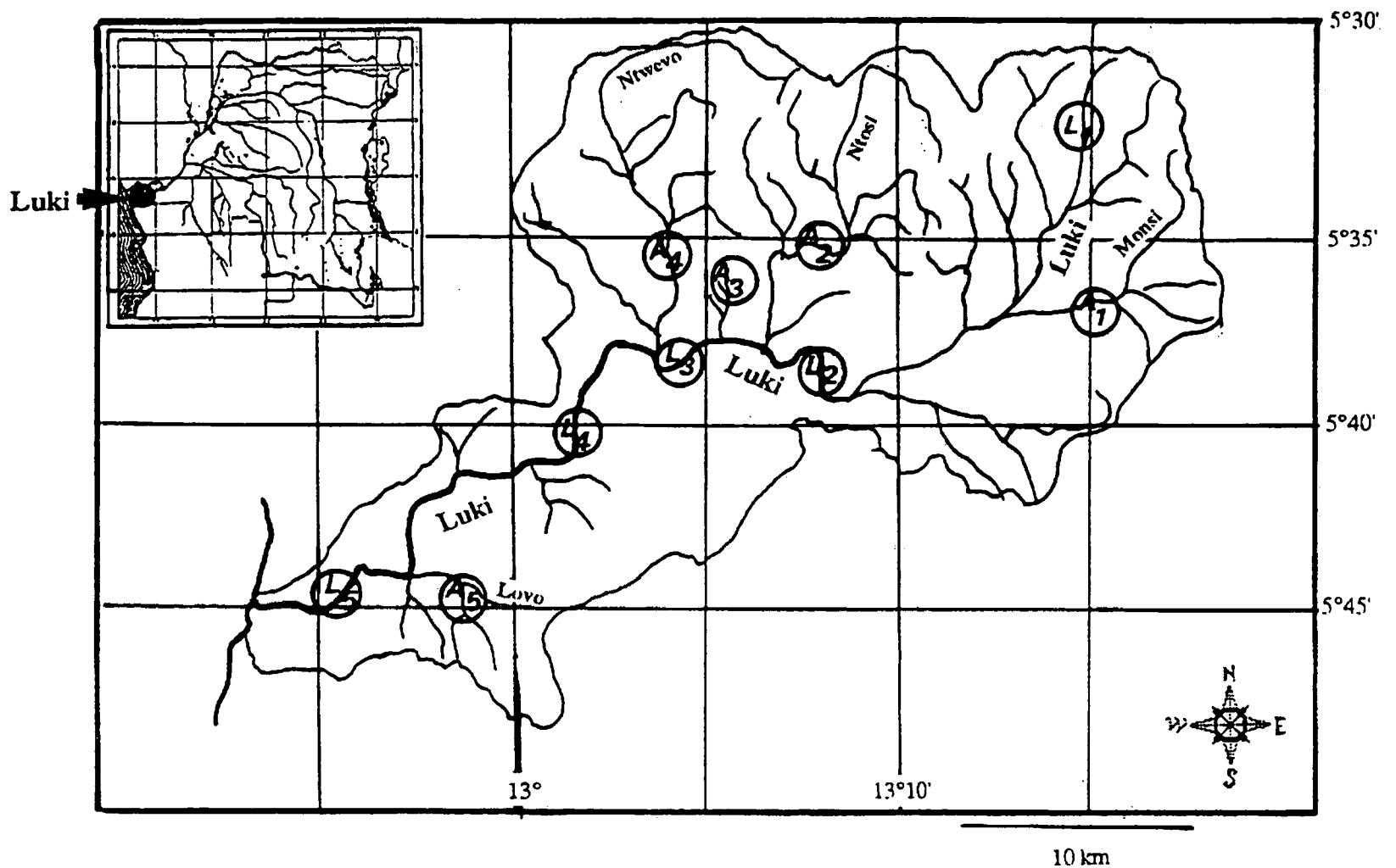


Fig. 1. Situation géographique du bassin de la rivière Luki.

Fig. 1. Geographical situation of Luki river basin.

leur coloration et la visibilité des ovocytes à travers la membrane ovarienne des femelles fraîchement capturées.

La taille à la première maturation a été définie comme étant la taille minimale à laquelle on trouve des mâles et des femelles en maturation sexuelle (Srin Kim You 1976).

Le rapport «gonado-somatique» a été déterminé par la relation: $R.G.S. = m \times 100 / M$ reliant la masse de gonades (m) à celle du poisson (M) et la période d'activité sexuelle par l'étude des fréquences relatives des femelles à maturation avancée ainsi que par l'évolution du R.G.S..

L'échelle de maturité des ovaires a été déterminée à la suite de l'examen macroscopique des gonades. L'échelle adoptée s'inspire de celle utilisée par Durand & Loubens (1970) mais aussi de celle mise au point par Aboussouan & Lahaye (1979).

L'étude histologique a été réalisée à partir de coupes d'ovaires de 5 à 7 μm d'épaisseur colorées à l'Azan de Romeis et au trichrome de Masson-Goldner. La colo-

ration au bleu alcian à pH 2,5 ainsi que les réactions signalétiques d'Hartig-Zhakarias et à l'APS, ont été utilisées pour préciser la nature chimique de certains constituants. La combinaison de la coloration au bleu alcian (pH 3) et à la réaction APS positive a permis encore de séparer les polysaccharides porteurs de groupements acides de ceux qui en sont dépourvus; la coloration de Mann-Dominici a servi à la mise en évidence des zones acidophiles et basophiles.

La fécondité partielle individuelle a été estimée à partir de fragments d'ovaires de 20 à 350 mg pris dans la partie médiane d'un des deux ovaires. Les mesures et les comptages de différents ovocytes ont été faits sous la loupe binoculaire à l'aide d'un micromètre oculaire après leur immersion dans le liquide de Gilson. Pratiquement, nous n'avons considéré que les ovocytes d'un diamètre supérieur à 100 μm .

Connaissant le nombre d'ovocytes dans l'échantillon considéré (n), la masse de gonades (Mg) et la masse de l'échantillon (mg), la fécondité absolue (F) a été calculée à partir de la relation $F = n \times Mg / mg$

Pour permettre une évaluation approximative de cette fécondité, nous l'avons mise en relation linéaire avec la longueur standard du poisson, sa masse corporelle et celle de sa gonade (Philippart 1975, Conand 1979).

3. Résultats

3.1. Sexualité

A l'absence d'un dimorphisme sexuel externe, le sexe des individus examinés n'a pu être déterminé que par l'examen des gonades. La taille à la première maturation (L0) est de 38 mm pour les femelles et de 43 mm pour les mâles. Tous les individus sont mûrs (L100) à partir de 48 mm.

3.2. Reproduction

- Structure des gonades

Les ovaires sont allongés et compacts. Ils mesurent 3,5 à 10 mm chez les femelles de 38 à 103 mm de longueur standard. Leur surface, recouverte d'une membrane transparente, est granuleuse. Sur les ovaires fixés au formol, les follicules sont de couleur grise.

- Stade de maturation des ovaires

L'examen macroscopique des gonades fraîches et/ou formolées a permis de reconnaître six stades de développement bien distincts.

Stade 0. Femelle immature: ovaires en forme de bandelettes transparentes et sans vascularisation. Ovocytes et lamelles ovariennes invisibles à l'œil nu.

Stade I. Femelle prépubère ou en repos sexuel: ovaires peu développés en forme de bandelettes. Ovocytes visibles et enveloppés par un tissu d'apparence spongieuse. Lamelles ovariennes présentes et vascularisation externe non marquée.

Stade II. Femelle en maturation: ovaires développés, fermes, peu vascularisés et opaques. Ovocytes bien visibles mais adhérents encore aux lamelles ovariennes.

Stade III. Femelle à maturation avancée: ovaires bien développés, vascularisés et remplis d'ovocytes visibles à l'œil nu sous la *tunica albuginea*.

Stade IV. Femelle mûre ou prête à pondre: ovaires bourrés d'ovocytes translucides et libres ainsi que d'autres catégories d'ovocytes décrites précédemment. Ils occupent toute la cavité abdominale et compressent les autres organes internes.

Stade V. Femelle venant de pondre ou épuisée: ovaires flasques et sanguinolents renfermant quelques ovules mûrs et/ou à maturation avancée ainsi que de

petits ovocytes en repos ou en voie de maturation. Certains ovaires sont pourvus de corpuscules noirâtres dispersés dans toute la masse de l'ovaire. Leurs follicules sont flasques, aplatis et déformés.

- Détermination des stades de développement des follicules

La plupart des ovaires observés renfermaient des follicules à différents stades de développement. Pour les classer, nous nous sommes fondés sur leur taille, l'aspect du cytoplasme et du noyau de l'ovocyte ainsi que sur la structure des enveloppes périphériques. Sept stades de maturation ont pu être définis:

Stade 0. Cellules germinales non discernables à l'œil nu ni au microscope optique.

Stade I (Fig. 2A). A ce stade, les ovocytes sont petits (40 à 90 μm) et renferment chacun un cytoplasme homogène, très basophile et coloré en noir violacé par l'hématoxyline de Groat. Les membranes ovocytaires sont simples et les noyaux, de forme variable, sont pourvus de plusieurs nucléoles; l'un d'entre eux étant basophile et plus volumineux que les autres. Le rapport diamètre du noyau / diamètre de l'ovocyte (d/D) est de l'ordre de 0,62.

Stade II (Fig. 2B). Les ovocytes mesurent 90 à 350 μm . Leur cytoplasme présente de nombreuses granulations intensément colorées par l'hématoxyline de Groat et des vacuoles corticales. Certaines vacuoles sont vivement colorées en bleu à la suite de leur coloration au bleu alcian - APS; d'autres sont soit roses soit grises. Sous la couche des cellules folliculaires, on distingue une membrane APS positive séparée du cytoplasme par une zone hyaline acidophile. Les nucléoles sont appliqués contre la membrane du noyau qui devient sphérique. C'est à ce niveau qu'apparaît dans le cytoplasme, une plage sphérique et très basophile dénommée «noyau de Balbiani». Le rapport d/D diminue sensiblement mais reste voisin de 0,50.

Stade III (Fig. 2C). Le diamètre des ovocytes se situe entre 350 et 700 μm . Leurs zones périphériques sont occupées par les vacuoles corticales et le reste du cytoplasme par des globules, futures plaquettes vitellines ainsi que par des gouttelettes lipidiques. Les vacuoles les plus internes sont de nature lipoprotéique et indiquent, en accord avec la présence de microvilosités folliculaires, le début de la vitellogenèse exogène. Nous avons parfois remarqué après Yamamoto (1956), Bara (1960), Malsevisi & Magnin (1968), la fusion de certaines de ces gouttelettes en une masse homogène s'isolant d'un seul côté du noyau. Les noyaux deviennent irréguliers et leurs nucléoles dispersés à travers tous les nucléoplasmes. Le rapport d/D varie entre 0,23



Fig. 2. Histologie de l'ovaire de *Barbus holotaenia* A: follicule au stade I; B: follicule au stade II; C: follicule au stade III, D: follicule au stade IV (Legende: N= noyau; NN= nucléoles; C= cytoplasme; Pv =plaquette vitelline, Vc = vacuole corticale).

Fig. 2. Histology of the ovary of *Barbus holotaenia*. A: follicle in stage I, B: follicle in stage II, C: follicle in stage III; D: follicle in stage IV (N= nucleus; NN= nucleolus; C= cytoplasm; Pv = yolk plaquette; Vc =cortical vacuole).

et 0,30. De la périphérie vers l'ovocyte on distingue 4 types de membranes ovocytaires: la thèque, la membrane basale, la zona radiata et la membrane cytoplasmique.

Stade IV (Fig. 2D). A ce stade les ovocytes ont une taille qui varie entre 700 et 960 μm . Leurs cytoplasmes sont envahis par des granulations fuchsinophiles et orangiophiles ainsi que par des gouttelettes lipidiques assez volumineuses. Les membranes cytoplasmiques sont identiques à celles décrites au stade III. A la périphérie, entre les gouttelettes lipidiques, les granulations cèdent peu à peu la place aux plaquettes vitellines. Au terme de ce stade, les inclusions lipidiques diminuent de volume et sont repoussées à la périphérie où elles ne forment plus qu'une rangée d'alvéoles corticales. Les noyaux deviennent invisibles. Les follicules apparaissent comme des grains et des plages translucides sur un fond pointillé de blanc.

Stade V. Les ovocytes ont atteint la taille maximale (950 à 1100 μm environ). Ils sont presque tous polyédriques bien que plus ou moins aplanis au contact avec les autres. Les membranes cytoplasmiques sont identiques à celles du stade précédent. Les cytoplasmes sont remplis de plaquettes vitellines entre lesquelles s'entremêlent des gouttes de lipides.

Stade VI. Les follicules sont vides et forment des masses flasques souvent jaunâtres. Certains renferment des ovocytes à cytoplasme foncé correspondant à autant d'ovocytes gorgés de vitellus et dont la maturation s'est arrêtée. Leurs noyaux forment chacun une masse irrégulière et leurs vitellus sont résolus en grosses gouttelettes, réparties dans le cytoplasme. Au stade avancé, l'ovaire reprend l'aspect qu'il gardera pendant toute la phase d'accroissement lent.

- Cycle annuel des différents stades de maturité

La présence de femelles à maturation avancée (Tableau 1), à rapport gonado-somatique élevé (Fig. 3) ainsi que l'apparition d'alevins dans les différents cours d'eau durant toute la saison des pluies, a conduit à supposer que *Barbus holotaenia* se reproduit pendant cette époque.

3.3. Fécondité

La fécondité a été déterminée en comptant dans les ovaires de 56 femelles le nombre d'ovocytes avec un diamètre supérieur à 100 µm. Les valeurs obtenues varient d'une femelle à une autre, la différence allant parfois du simple au quintuple.

Cette fécondité augmente en fonction de la longueur standard de la femelle (LS), de sa masse totale (M) et de celle de ses gonades (mg) suivant les équations de régression suivantes:

$$F = 9,4LS - 503,57 \quad (n = 56; r = 0,35)$$

$$F = 51,92Mg + 295 \quad (n = 56; r = 0,51)$$

$$F = 628,7m + 45,35 \quad (n = 56; r = 0,86)$$

La fécondité relative correspondant au nombre d'ovocytes produits par une unité de masse totale de la femelle (Bagenal 1973, Wootton 1979, Kartas et Quignard 1984) varie entre 1994 et 15920 ovocytes.

Tableau 1. Pourcentage mensuel de différents stades de maturité chez les femelles de *Barbus holotaenia*.

Table 1. Monthly percentage of different stages of maturity of *Barbus holotaenia*.

Stades	Janv.	Fév.	Mars	Avr.	Mai	Juin	Juil.	Août	Sept.	Oct.	Nov.	Déc.
I-II	8	10	7		30	92	78	77	62	28		
III	16	2	10	2	25	8	22	20	26	30		10
IV	14	20	16	6	12			3	12	6	6	14
V	38	40	41	39	23					15	41	30
VI	24	28	26	53	10					21	53	46

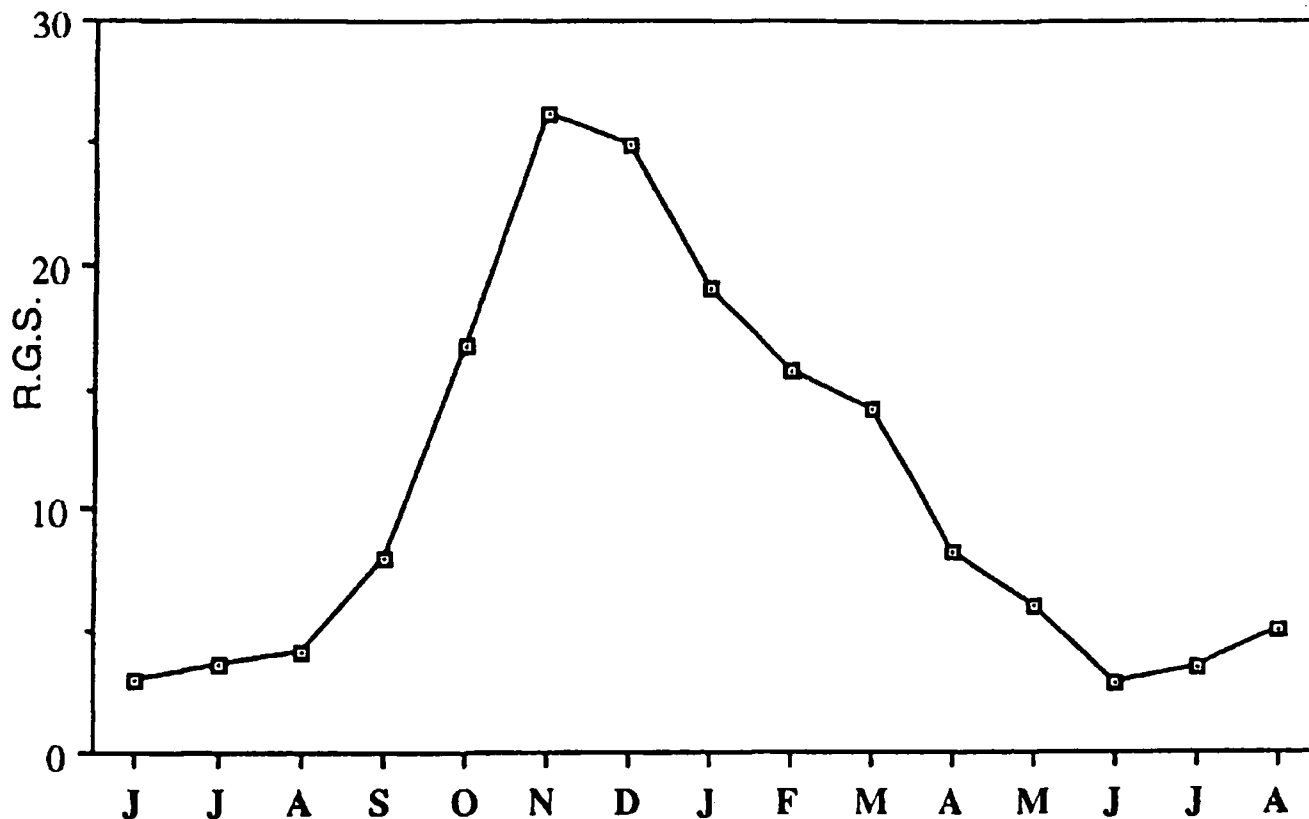


Fig. 3. Variation du rapport gonado-somatique chez *Barbus holotaenia*.

Fig. 3. Variation of gonadosomatic index of *Barbus holotaenia*.

4. Conclusion et discussion

Les résultats obtenus montrent que *Barbus holotaenia* se reproduit pendant la saison des pluies (Fig. 4). Ce phénomène a été également signalé chez *Barbus sublineatus* Daget, 1954, *B. trispilos* (Bleeker, 1863) et *B. ablables* (Bleeker, 1863a) de Côte d'Ivoire par Albarret (1982). La biologie de la reproduction de ce poisson étant jusque là inconnue, il semble difficile, à l'heure actuelle, d'évaluer l'impact et le rôle précis du facteur «hautes eaux» sur son cycle de reproduction mais on peut cependant se demander s'il ne s'agit pas d'une «valeur adaptative» car les disponibilités en nourriture pour l'élaboration des produits sexuels et

pour l'alimentation de jeunes alevins sont maximales en cette saison.

L'étude histologique et cytologique des ovaires a montré que la maturation se fait en deux temps: phases de vitellogénèse endogène et de vitellogénèse exogène.

La première phase consiste essentiellement à la mise en place de la machine métabolique indispensable à la croissance ultérieure de l'ovocyte. Il s'agit notamment de la formation des vacuoles corticales au stade II et de celle des gouttelettes lipidiques et des plaquettes vitel- lines, sièges de synthèse d'acides aminés (Nagahama 1983) au stade III. D'autres auteurs ont montré que

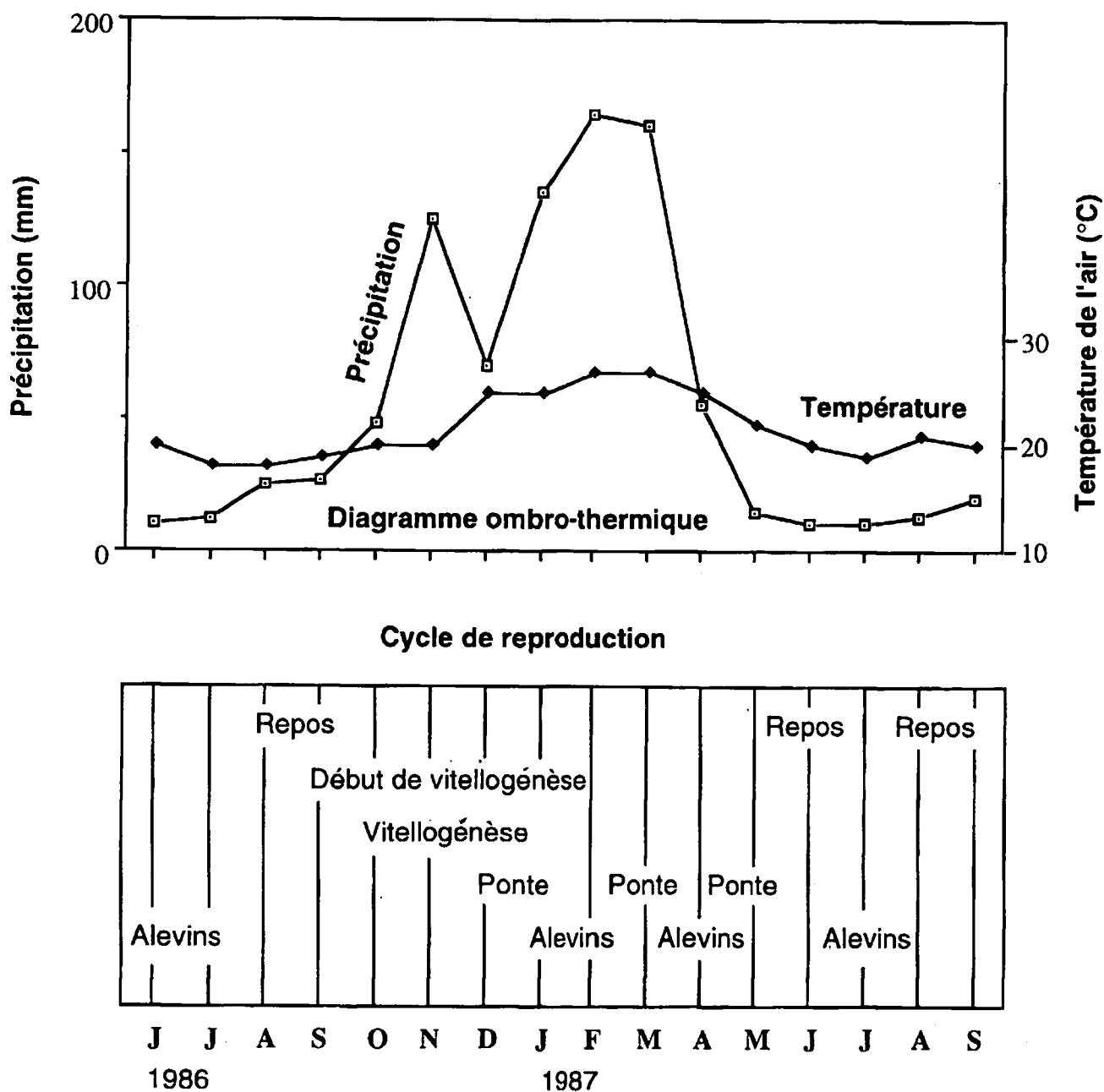
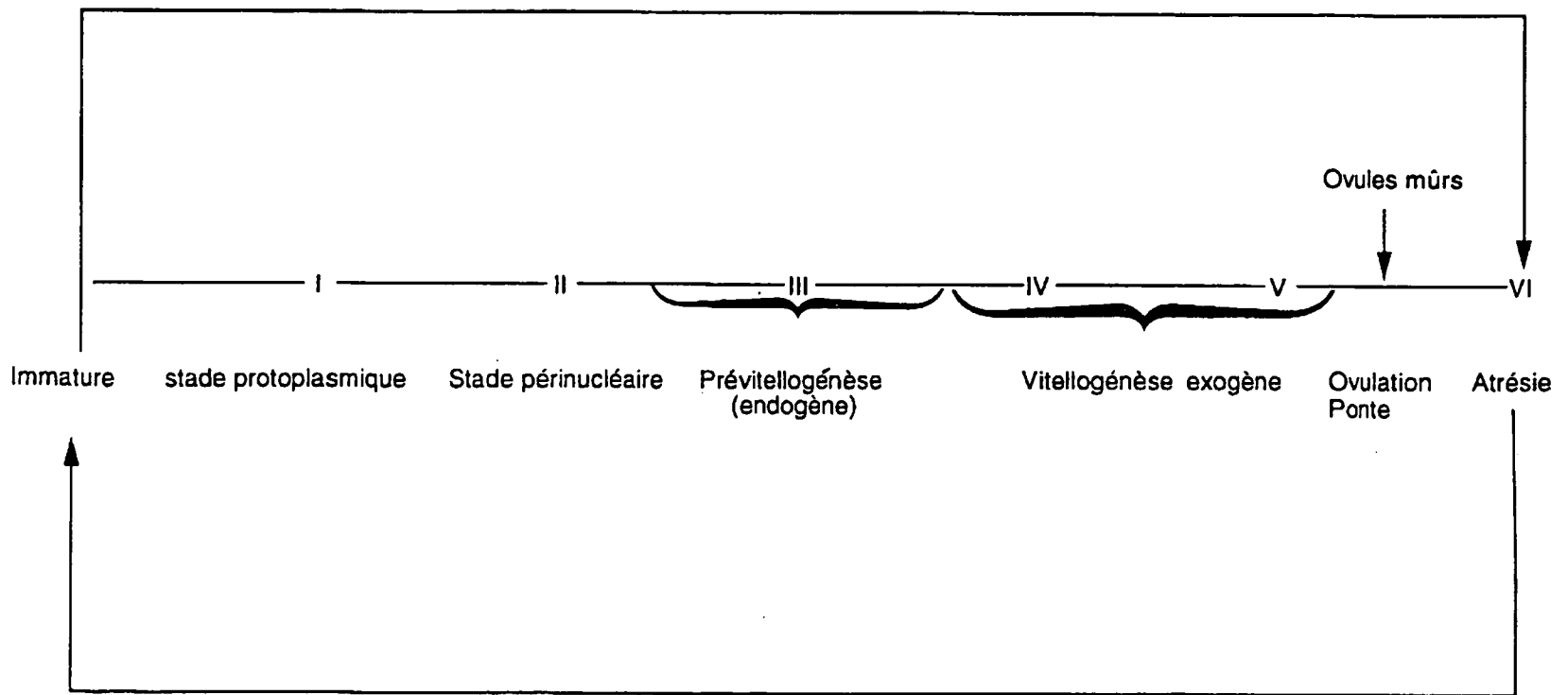


Fig. 4. Relation entre le cycle de reproduction de *Barbus holotaenia* et les conditions climatiques du bassin de la Luki. (données tirées de la station météorologique de l'INERA, Luki).

Fig. 4. Relationship between the reproductive cycle of *Barbus holotaenia* and the climatic conditions of Luki river basin (data from the meteorological station of INERA, Luki).

Fig. 5. Schéma général du cycle sexuel de *Barbus holotaenia*.Fig. 5. General scheme of sexual cycle of *Barbus holotaenia*.

l'apparition des vacuoles se situe au stade I (Bengen et al. 1991) et celles de gouttelettes lipidiques après celles des vésicules vitellines (Yamamoto et al. 1965) et/ ou après des vésicules et globules vitellins (Yamamoto 1956).

La deuxième phase est observée vers la fin du stade III et se caractérise par la présence des nombreuses plaquettes vitellines orangiophiles et donc acidophiles. Ces plaquettes sont constituées en grande partie de vitellogénine, grosse molécule lipoprotéique synthétisée par le foie, circulant dans le sang et pénétrant dans l'ovocyte par le micropinocytose (Wallace 1978, Droller & Roth 1966, Anderson 1964, Gupta & Yamamoto 1972, Legendre & Jalabert 1988).

Ce résultat nous a permis d'établir un schéma d'évolution globale des follicules et des ovocytes conforme au modèle général décrit chez d'autres poissons téléostéens (Fig. 5) (Legendre & Jalabert 1988). Après sa maturation normale (du stade 0 au stade V), la gonade passe au stade VI (atrésie) puis revient au stade I (repos) avant de recommencer un nouveau cycle sexuel. Ce phénomène se renouvelle durant toute la durée de vie de l'animal par divisions mitotiques successives.

La mise en évidence des polysaccharides acides dans certaines vacuoles à la suite de leur coloration au bleu alcian - APS positive a permis encore de noter que les ovocytes de poissons étudiés diffèrent de ceux des poissons anadromes qui ont à la fois des polysaccha-

rides acides et neutres et de ceux de poissons marins qui n'ont que de polysaccharides neutres (Yamamoto 1956).

Travaux cités

- Aboussouan A. & Lahaye J. 1979. — Les potentialités des populations ichtyologiques: Fécondité. *Cybium*, 3^e sér., (6): 29-46.
- Albaret J.J. 1982. — Reproduction et fécondité des poissons d'eau douce de Côte d'Ivoire. et ichthyoplancton. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 15(4): 347-371.
- Anderson E. 1974. — Comparative aspects ultrastructure of female gamete. *Int. Rev. Cytol., suppl.* 4, 1-70.
- Bagenal T.B. 1973. — Fish fecundity and its relation with stock and recruitment. *Rapport P.V. Reun. Cons. perm. inter. explor. Mer.*, 164: 186-198.
- Bengen G., Kugler J. & Pequignot J. 1991. — Etudes des ovocytes d'*Alosa alosa* L. (Clupeidae) au cours de sa migration anadrome en Garonne. *Cybium*, vol. 15, n° 3: 229-238.
- Bara G. 1960. — Histological and cytological changes in the ovaries of the mackerel, *Scomber scomber* L. during the annual cycle. *Rev. Fac. Sci. Univ. Ist., B.*, 25(1-2): 49-91.
- Daget J., Gosse J.P. & Thys van den Audenaerde D.F.F. 1984. — Cloffa 1: *Catalogue des poissons d'eau douce d'Afrique*, Marc/Orstom (ed) : 410 p.
- Droller M.J. & Roth T.T. 1966. — An electron microscope study of yolk formation during oogenesis in *Lebistes reticulatus* L. Guppyi. *J. Cell. Biol.*, 28: 209-232.
- Durand J.R. & Loubens G. 1970. — Observations sur la sexualité et la reproduction des *Alestes baremoze* du bas Chari et du lac Tchad. *Cah. ORSTOM, sér. Hydrobiol.* vol. IV, 61-81.
- Gupta N.N. & Yamamoto K. 1972. — Electron microscope study on the fine structural changes in the oocytes of the goldfish, *Carassius auratus*, during yolk formation stage. *Bull. Fac. Fish Hokkaido Univ.*, 22: 187-206.

- Kartas F. & Quignard J.P. 1984. — *La fécondité des poissons téléostéens*. Masson, Paris: 121p.
- Legendre M. & Jalabert B. 1988. — Physiologie de la reproduction. p. 153-175, in Lévêque C., Bruton M.N. & Ssentongo. G.W. (eds). *Biologie, Ecologie des poissons d'eau douce africains*. ORSTOM.
- Malvervisi A. & Magnin E. 1968. — Changements cycliques annuels se produisant dans les ovaires de *Perca fluviatilis flavescens* (Mitchill) de la région de Montréal. *Naturaliste Can.*, 95: 929-945.
- Nagahama Y. 1983. — The functional morphology of teleost gonads. p. 223-275, in Hoar W.S., Rendall D.J. & Donaldson E.M. (eds). *Fish physiology, IX*, A. Acad. Press. N-Y, London.
- Srinn Kim You. 1976. — Biologie d'*Hydrocynus forskalii* (Pisces, Characidae) du bassin tchadien. Thèse doct. 3^e Cycle, Univ. Paul Sabatier, Toulouse: 126 p.
- Wallace R.A. 1978. — Oocyte growth in nonmammalian vertebrates. p. 469-502, in Jones R.E. (ed.). *The vertebrate ovary*, Plenum New York.
- Yamamoto K. 1956. — Studies on the formation of fish eggs. III. Localization of polysaccharides in oocytes of *Liopsetta obscura*. *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser.*, 4 (12): 391-399.
- Yamamoto K., Oota I., Takano K. & Ishikawa T. 1965. — Studies on the maturing process of the rainbow trout, *Salmo gairdneri iridius* I. maturation of the ovary of a one year old fish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 31: 123-132.
- Wootton R.J. 1979. — Energy costs of egg production and environment determinant of fecundity in teleost. In Miller P.J. *Fish phenology; anabolic adaptiveness in teleost*. Symp. Zool. Soc. Lond. 44: 133-159.