

Développement et tolérance à la température des oeufs de *Heterobranchus longifilis*, et comparaison des développements larvaires de *H. longifilis* et de *Clarias gariepinus* (Teleostei, Clariidae)

Marc Legendre⁽¹⁾ et Guy G. Teugels⁽²⁾

⁽¹⁾ Centre de Recherches Océanographiques, BP V18, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Adresse actuelle : ORSTOM, BP 5045, F-34032 Montpellier Cedex 1, France.

⁽²⁾ Laboratoire d'Ichtyologie, Musée Royal de l'Afrique Centrale, B-3080, Tervuren, Belgique.

Reçu le 8 mars 1991 ; accepté le 24 septembre 1991.

Development and thermal tolerance of eggs in *Heterobranchus longifilis*, and comparison of larval developments of *H. longifilis* and *Clarias gariepinus* (Teleostei, Clariidae).

Legendre M., G. G. Teugels. *Aquat. Living Resour.*, 1991, 4, 227-240.

Abstract

The embryonic and larval development of the African catfish *Heterobranchus longifilis* (Clariidae) has been described chronologically up to 17 days of age, and has been compared to that of another clariid, *Clarias gariepinus*. Both species show great similarities in their early development, differing merely in the ontogeny of the dorsal fin, unique and elongated in *C. gariepinus*, shorter and followed by a large adipose fin in *H. longifilis*. In *H. longifilis*, the thermal tolerance limits of the eggs have been established: they are situated between 22 and 24°C and between 34 and 35°C, no hatching being observed at either 21°C or 36°C. Hatching rate was highest between 25 and 29°C and this optimal temperature range is recommended for egg incubation in hatcheries. Incubation time varied with the temperature. Hatching took place after 26 to 33 hours and 14 to 18 hours after fertilization at temperatures of 25 and 33°C respectively.

Keywords : *Heterobranchus longifilis*, *Clarias gariepinus*, ontogeny, temperature, incubation, hatching.

Résumé

Une description chronologique du développement embryonnaire et larvaire du poisson-chat africain *Heterobranchus longifilis* (Clariidae) a été effectuée jusqu'à l'âge de 17 jours. Une comparaison avec le développement ontogénique d'un autre Clariidae, *Clarias gariepinus*, a été faite. Les deux espèces présentent de grandes similitudes dans leur développement et diffèrent surtout par la genèse de la nageoire dorsale, unique et allongée chez *C. gariepinus*, plus courte et suivie d'une grande nageoire adipeuse chez *H. longifilis*. Les limites inférieure et supérieure de tolérance thermique des oeufs de *H. longifilis* ont été déterminées. Elles se situent entre 22 et 24°C et entre 34 et 35°C respectivement, aucune éclosion n'étant obtenue à 21°C comme à 36°C. L'optimum thermique pour lequel les pourcentages d'éclosion sont les plus élevés se situe entre 25 et 29°C. Cet intervalle de température est donc recommandé pour l'incubation des oeufs dans la pratique piscicole. La durée de l'incubation varie avec la température. L'éclosion des oeufs se situe entre 26 à 33 heures et 14 à 18 heures après la fécondation pour des températures d'incubation de 25 et 33°C respectivement.

Mots-clés : *Heterobranchus longifilis*, *Clarias gariepinus*, ontogenèse, température, incubation, éclosion.

INTRODUCTION

Heterobranchus longifilis Valenciennes, 1840 est une espèce de poisson-chat africain, appartenant à la famille des Clariidae, dont le potentiel aquacole est à présent bien établi (Legendre, 1983 et 1991; Legendre *et al.*, 1991). Récemment, une technique de reproduction contrôlée a été définie pour ce poisson (Legendre, 1986). Pour ce qui concerne l'influence des facteurs de l'environnement, on sait notamment que la salinité a un effet défavorable sur l'incubation des oeufs, aucune éclosion n'étant obtenue lorsque la salinité dépasse 6 g.l^{-1} . En revanche, l'optimum thermique pour l'incubation des oeufs et la relation existant entre la durée du développement embryonnaire et la température n'ont fait l'objet d'aucune étude précise chez *H. longifilis*. Ces données font encore défaut pour une standardisation complète de la technique de production des larves en captivité.

Outre l'acquisition de données de bases utiles en pisciculture, l'étude du développement embryonnaire et larvaire de *H. longifilis* présente aussi un intérêt écologique important : les stades embryonnaires et larvaires sont considérés comme des indicateurs très sensibles aux perturbations de l'environnement. Aussi, une bonne connaissance de la biologie de ces stades peut contribuer à la gestion des populations. Enfin, l'étude ontogénique peut mettre en évidence toute une série de caractères, absents chez l'adulte, susceptibles de contribuer à une meilleure définition de la phylogénie des Clariidae.

Jusqu'à présent, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) (avec ses synonymes *C. lazera* Valenciennes, 1840 et *C. mossambicus* Peters, 1852, voir Teugels, 1982 et 1986) est la seule espèce africaine de la famille des Clariidae pour laquelle le développement embryonnaire et larvaire a été étudié. Cambray et Teugels (1988) présentent une bibliographie annotée sur ce sujet, dont nous ne citerons que les travaux de Bruton (1979), Zaki et Abdula (1983); Janssen (1985). Parmi les Clariidae asiatiques, le développement de *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758) et de *C. macrocephalus* Günther, 1864 a fait l'objet d'études par Aprieto (1976), Thakur (1980) et Mollah et Tan (1982). En ce qui concerne les espèces du genre *Heterobranchus*, aucune étude sur le développement n'a été réalisée.

Le présent travail décrit le développement embryonnaire et larvaire ⁽¹⁾ de *Heterobranchus longifilis* jusqu'au dix-septième jour, âge auquel les poissons ont déjà acquis la morphologie de l'adulte. Une comparaison avec *Clarias gariepinus*, autre espèce d'intérêt aquacole en Afrique, est présentée.

⁽¹⁾ Une redéfinition des principales périodes du développement ontogénétique chez les poissons a été proposée par Balon (1984a, b). Cette terminologie n'a pas été adoptée dans la présente étude principalement par souci d'homogénéité avec la littérature antérieure sur les Clariidae.

Enfin, l'influence de la température de l'eau sur la durée de l'incubation et la qualité de l'éclosion est étudiée chez *H. longifilis*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a été réalisée en novembre 1989 à la station d'aquaculture expérimentale de Layo (Côte d'Ivoire), située au bord de la lagune Ebrié à 40 km à l'ouest d'Abidjan.

Les *Heterobranchus longifilis* utilisés comme géniteurs proviennent de Layo et descendent d'un stock sauvage ayant spontanément colonisé les étangs de la station en 1982 (Legendre, 1983). Les *Clarias gariepinus* sont originaires de la station piscicole de l'Institut des Savannes (IDESSA) à Bouaké (Côte d'Ivoire). Ces géniteurs ont été élevés en enclos lagunaires (Hem, 1982) et nourris avec un aliment granulé contenant 35 % de protéines brutes. Au moment de l'étude, la salinité de la lagune était voisine de zéro et sa température fluctuait entre 28 et 32°C.

La maturation ovocytaire et l'ovulation ont été provoquées par une seule injection de gonadotrophine chorionique humaine (HCG), avec une dose de 1,5 U.I./g de poids de femelle chez *H. longifilis* (Legendre, 1986) et de 4,0 U.I./g de poids de femelle chez *C. gariepinus* (Eding *et al.*, 1982). Le temps de latence entre l'injection et la collecte des ovules a été fixé à 12 h, les poissons étant maintenus à une température de 29-30°C. Les méthodes de choix des géniteurs, de collecte des gamètes et de fécondation artificielle ont été présentées antérieurement (Legendre, 1986).

Développement embryonnaire et larvaire

Le développement embryonnaire de *H. longifilis* a été suivi sur des lots d'une cinquantaine d'oeufs provenant de deux femelles et répartis séparément en boîtes de Pétri, dans 100 ml d'eau douce maintenue à la température ambiante du laboratoire (28-30,5°C). Après l'éclosion (J0) et jusqu'à l'âge de 17 jours (J17), les larves de *H. longifilis* et de *C. gariepinus* ont été élevées simultanément, par groupe de 500, en bacs de 60 litres alimentés en eau douce recyclée à une température comprise entre 27 et 29°C. A partir de l'âge de 2 jours (J2), les poissons ont été nourris *ad libitum* quatre fois par jour avec des nauplii d'*Artemia salina* congelés puis, à partir de J9, avec des microgranulés (Trouvit 000) contenant 50 % de protéines brutes.

Les observations ont été effectuées simultanément par les deux auteurs sous deux loupes binoculaires Wild, l'une de type M5 équipée d'une chambre claire et l'autre de type M3 équipée d'un appareil photographique. Le développement des oeufs a été suivi en continu jusqu'à l'éclosion et celui des larves jusqu'en fin de résorption vitelline (J2) sur des échantillons

prélevés toutes les 3 à 5 heures. Au delà de J2, les prélèvements et observations ont été quotidiens.

Des échantillons d'oeufs et de larves conservés, représentatifs de l'ensemble des séries de croissance correspondantes, ont été déposés au Musée Royal de l'Afrique Centrale à Tervuren sous la référence MRAC 89-56-P-1-32 (*H. longifilis*) et MRAC 89-56-P-33-42 (*C. gariepinus*). Pour chaque espèce, une série de croissance a été colorée selon la technique de Taylor et Van Dyke (1985), adaptée à la taille des larves, afin d'étudier le développement ostéologique des nageoires.

Influence de la température d'incubation

Immédiatement après la fécondation *in vitro*, des lots d'oeufs de *H. longifilis* ont été incubés respectivement aux températures constantes ($\pm 0,1^\circ\text{C}$) de 21, 25, 29, 33 et 36°C , ainsi qu'à la température ambiante extérieure ($27-29^\circ\text{C}$). Cette gamme de températures correspond aux extrêmes enregistrés saisonnièrement dans les différentes structures de la station de Layo.

Pour chaque température, 4 lots de 150 à 200 oeufs provenant de quatre femelles différentes ont été répartis et incubés simultanément dans des récipients en plastique contenant 350 ml d'eau de ville déchlorée. Ces récipients étaient préalablement placés en surface de bacs couverts où l'eau était ajustée aux différentes températures expérimentales. Dans tous les cas, l'incubation a été conduite en eau stagnante et à l'obscurité. L'oxygène n'était pas limitant et sa concentration est toujours restée supérieure à 5 mg.l^{-1} .

Dans chaque lot, y compris 4 lots témoins d'ovules non fécondés incubés à 29°C , le nombre des oeufs morts (oeufs blancs) a été compté toutes les 2,5 heures. De même, l'évolution du nombre de larves écloses a été suivie par comptage toutes les demi-heures, à partir du moment où les premières éclosions étaient constatées. Après complet achèvement des éclosions, les proportions de larves normales et de larves déformées ont été déterminées par observation et dénombrement au-dessus d'une table lumineuse.

Les pourcentages d'éclosion et les proportions de larves déformées obtenus aux différentes températures d'incubation (sauf 21 et 36°C) ont été comparés respectivement par une analyse de variance à un facteur. Une transformation angulaire des données a été effectuée pour satisfaire au critère de normalité et stabiliser la variance résiduelle. Les lots expérimentaux homogènes ont été recherchés par le test de Duncan.

RÉSULTATS

Développement embryonnaire et larvaire

De la fécondation à la résorption vitelline

Les principales étapes du développement embryonnaire et larvaire de *H. longifilis* jusqu'en fin de résorp-

tion de la vésicule vitelline sont résumées dans le tableau 1. Le développement des oeufs est illustré dans la figure 1.

Les ovules, collectés à sec, ont un diamètre moyen de 1,5 à 1,8 mm. Après transfert en eau douce, ils subissent une hydratation rapide qui conduit à la formation de l'espace périvitellin, et atteignent en quelques minutes un diamètre de 1,7 à 2,1 mm dans leur plus grand axe. On assiste simultanément au gonflement d'un important disque adhésif qui présente en son centre une dépression en forme d'entonnoir, laquelle est située à l'aplomb du micropyle et du pôle animal de l'ovule. A ce stade, qu'ils soient fécondés ou non, les oeufs ont une couleur vert-olive, le pôle animal étant marqué par une capsule brun-rougeâtre. Ils se présentent sous la forme d'une sphère aplatie selon un axe perpendiculaire au plan formé par le disque adhésif. Ce dernier permet aux oeufs de se fixer sur toute sorte de supports. Une fois l'espace périvitellin formé, l'oeuf, désolidarisé du chorion, est susceptible d'effectuer des rotations pouvant rapidement conduire le pôle animal à ne plus se trouver en face du disque adhésif.

Après la fécondation, un important remaniement du cytoplasme de l'oeuf est rendu visible par une condensation de matériel cytoplasmique sous le pôle animal (fig. 1 A). A $28-30,5^\circ\text{C}$, la première division cellulaire intervient entre 38 à 52 minutes après la fécondation (fig. 1 B). La segmentation se poursuit ensuite au rythme d'une division toutes les 10 à 15 minutes.

Après 2 h 50 mn à 3 h 30 mn, la morula à la forme d'un bourgeon cellulaire proéminent juché sur le vitellus (fig. 1 C). De lentes ondes de contraction de la membrane vitelline sont alors observées.

Durant la gastrulation, entre la 5^e et la 8^e heure, les cellules embryonnaires recouvrent progressivement la totalité de la masse vitelline (fig. 1 D). Au moment de la fermeture du blastopore (fig. 1 E), les crêtes neurales sont visibles et un épaississement cellulaire marque nettement l'ébauche céphalique. L'apparition des premiers somites s'effectue peu après (8 h 30 mn) et leur nombre augmente rapidement : 8 à 10 h (fig. 1 F) ; 16 à 11 h ; 24 à 12 h ; 34 à 13 h.

La 11^e heure voit l'apparition des otocystes (vésicules paires contenant chacune deux petits otolithes) au niveau du tiers antérieur de l'embryon. A partir de la 13^e heure, la partie caudale se décolle de la surface du vitellus (fig. 1 G). Les premiers mouvements embryonnaires sont alors observés. Les contractions de l'embryon gagnent ensuite progressivement en intensité et, peu avant l'éclosion, elles s'effectuent par saccades très rapides entrecoupées de pauses. Prenant appui sur sa queue, l'embryon pousse ainsi sur le chorion qui se déforme et se déchire à l'opposé, au niveau de la région céphalique. Il s'échappe de son enveloppe la tête la première (fig. 1 H). La jeune larve possède alors 55 somites et

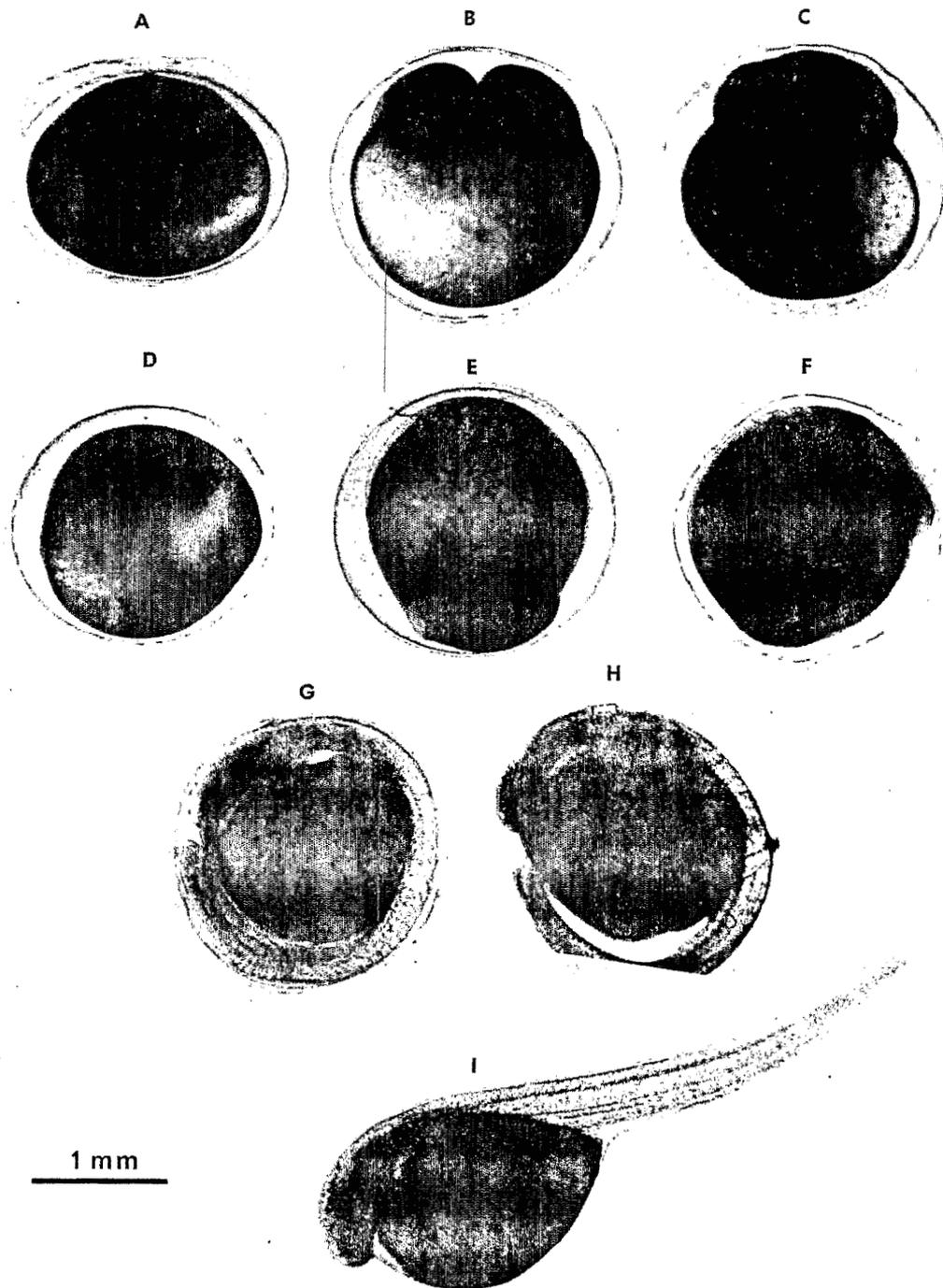


Figure 1. — Illustration de différents stades du développement embryonnaire de *H. longifilis* (température 28-30,5°C). A : 25 mn après fécondation; B : stade deux cellules (43 mn); C : morula (2 h 30); D : gastrulation (6 h 30); E : fermeture du blastopore (7 h 30); F : formation des premiers somites (10 h); G : le coeur bat (14 h); H : éclosion (19 h); I : larve éclos (20 h).

Different stages in the embryonic development of H. longifilis (temperature 28-30.5°C). A: 25 min after fertilization; B: two cell-stage (43 min); C: morula (2 h 30); D: gastrulation (6 h 30); E: blastopore closing (7 h 30); F: formation of first somites (10 h); G: the heart beats (14 h); H: hatching (19 h); I: hatched larvae (20 h).

Tableau 1. — Chronologie des principales étapes du développement embryonnaire et larvaire de *Heterobranchus longifilis* jusqu'à la résorption des réserves vitellines (observations effectuées à une température ambiante de 28-30,5°C).

Timing of the main steps in the embryonic and larval development of *Heterobranchus longifilis* up to complete resorption of the yolk sac (observations made at ambient temperature of 28-30.5°C).

| Age (h, min) | LT (mm) | Descriptif |
|-----------------|----------|---|
| 0 | 1,5-1,8 | Fécondation. |
| 0 à 40 min | 1,7-2,1 | Formation de l'espace périvitellin, remaniement cytoplasmique, gonflement du disque adhésif et fixation de l'oeuf. |
| 38 à 52 min | 1,7-2,1 | Stade 2 cellules. |
| 60 min | 1,7-2,1 | Stade 4 cellules. |
| 1 h 15 | 1,7-2,1 | Stade 8 cellules. |
| 1 h 25 | 1,7-2,1 | Stade 16 cellules. |
| 1 h 45 | 1,7-2,1 | Stade 32 cellules. |
| 2 h 00 | 1,7-2,1 | Stade 64 cellules. |
| 2 h 50 à 3 h 30 | 1,7-2,1 | Stade morula avancé, contractions de la membrane vitelline. |
| 4 h 00 à 5 h 15 | 1,7-2,1 | Stade blastula, poursuite des contractions de la membrane vitelline. |
| 5 h 00 à 8 h 00 | 1,7-2,1 | Recouvrement du vitellus par les cellules embryonnaires : gastrulation. |
| 8 h 15 | 1,7-2,1 | Fermeture du blastopore, présence des crêtes neurales et épaissement de l'ébauche céphalique. |
| 8 h 45 | 1,7-2,1 | 4 à 5 somites bien visibles. |
| 11 h | 1,7-2,1 | 16 somites, formation des otocystes. |
| 12 h à 13 h | 1,7-2,1 | 24 à 34 somites, le bourgeon caudal se détache du vitellus, formation de la cavité péricardique, premières contractions de l'embryon. |
| 14 h | 1,7-2,1 | Premiers battements cardiaques. |
| 16 h | 1,7-2,1 | L'extrémité caudale dépasse le niveau de l'ébauche céphalique. |
| 18 h | 1,7-2,1 | Contractions embryonnaires en saccades, déformation du chorion au niveau de la partie céphalique de l'embryon. |
| 19 h à 24 h | 1,7-2,1 | Eclosion. |
| | 4,5-5,5 | Larves avec 55 somites, ébauches du tube digestif et de l'aorte dorsale. |
| 26 h | | Le coeur a migré en avant de la vésicule vitelline, les otocystes migrent également vers l'avant, pastille adhésive présente, formation des fentes branchiales. |
| 29 h | 6,1-7,3 | Pourtour de la bouche et opercules en formation, fentes branchiales en place, ébauches des barbillons maxillaires et des yeux, le tube digestif commence à se remplir de vitellus dégradé. |
| 32 h | 7,2-7,6 | Pigmentation des yeux, rougissement du sang, début d'ossification du crâne. |
| 36 h | 7,7-7,9 | Apparition de mélanophores sur le dessus de la tête, ossification de la mâchoire inférieure, ébauches des feuillets branchiaux et des barbillons nasals. |
| 43 h | 8,0-8,1 | Accroissement de la pigmentation de la tête, tube digestif rempli de vitellus dégradé, canal de Wolff bien visible. |
| 47 h | 8,2-8,5 | Ébauches des 3 ^e et 4 ^e paires de barbillons, apparition de bourgeons sensoriels sur la face antérieure des barbillons maxillaires et nasals; mélanophores abondants sur la tête, les lèvres et les opercules; les arcs branchiaux, portant chacun une dizaine de feuillets branchiaux, sont totalement recouverts par les opercules, les yeux paraissent fonctionnels. |
| 51 h | 8,3-8,5 | La pigmentation très dense sur la tête s'étend à la partie dorsale du sac vitellin et à la base de la nageoire, le crâne et la bouche sont en formation très avancée, les otocystes intégrés au crâne sont peu visibles, allongement des barbillons, ébauche des narines, circulation sanguine bien visible le long des myomères. |
| 58 h | 8,6-9,1 | Net développement des feuillets branchiaux, face antérieure des barbillons et bord des lèvres couverts de bourgeons sensoriels, vascularisation des barbillons maxillaires, apparition d'une ligne continue de vésicules (organes sensoriels?) sur toute la périphérie de la nageoire. |
| 69 h | 9,6-10 | Formation des rayons branchiostèges, bourgeons des nageoires pectorales apparents. |
| 73 h | 9,6-10 | Ouverture de l'anus et de l'orifice urogénital, villosités intestinales apparentes, longueur des barbillons maxillaires et nasals dépassant la longueur de la tête, la pigmentation se densifie sur tout le corps, régression complète de la pastille adhésive. |
| 78 h | 9,6-10,6 | Villosités intestinales développées, reste de vitellus peu abondant mais encore notable, narines formées, comportement de prise alimentaire très actif. |

les ébauches du tube digestif et de l'aorte dorsale sont bien visibles (fig. 1 D).

La cavité péricardique, initialement située entre la larve et la vésicule vitelline, va rapidement migrer pour se retrouver, vers la 26^e heure, en avant de cette dernière. Simultanément, une pastille adhésive se développe à la base de la vésicule vitelline et permet

aux larves de se fixer au substrat. Celles-ci, généralement immobiles, peuvent toutefois se déplacer pour échapper à des conditions défavorables, notamment pour éviter les zones de fort éclaircissement. Ce comportement photophobe est très marqué chez les larves de 48 h (8 à 9 mm LT) dont les yeux sont formés. Celles-ci, beaucoup plus vives malgré une pastille adhésive

persistante, se concentrent en paquet dans les coins plus obscurs des structures d'élevage. Elles présentent un comportement benthique, mais en l'absence de perturbations elles ne se déplacent que peu ou pas.

A 72-78 h après fécondation, les grandes étapes de l'organogenèse sont achevées. Les larves (9,5 à 10,5 mm) présentent des villosités nettement visibles dans le tube digestif. L'anus et l'orifice urogénital s'ouvrent. La pastille adhésive disparaît et les larves se déplacent dans toute la colonne d'eau, à la recherche de nourriture. Elles restent toutefois très sensibles à la lumière. La première prise d'aliment s'effectue alors que les réserves vitellines ne sont pas encore totalement résorbées. Le régime alimentaire est essentiellement zooplanctonophage et, à ce stade, les larves dont la largeur de la bouche avoisine 1 mm (fig. 2) sont déjà capables d'ingérer des proies de grande taille (cladocères et copépodes de 600 à 800 μm ; Legendre, 1991).

De la résorption à l'âge de 17 jours

Plusieurs stades du développement larvaire de *H. longifilis* sont illustrés dans la figure 3.

La pigmentation (mélanofores isolés) apparaît en premier lieu au niveau de la tête dès le jour suivant l'éclosion (J1). Quelques mélanofores sont visibles aussi sur le dessus de la vésicule vitelline. Le jour suivant (J2), la pigmentation s'étend à tout le corps et s'intensifie sur la tête. Le bord extérieur de la nageoire larvaire, qui s'étend en position verticale de l'arrière de la tête à la partie postérieure de la vésicule vitelline, est pourvu d'une ligne continue de vésicules. Le rôle de ces vésicules n'est pas identifié, mais il a été envisagé qu'elles puissent avoir une fonction sensorielle chez *C. gariepinus* (Bruton, 1979). A l'issue du troisième jour (fin de J2), les bourgeons des nageoires pectorales apparaissent au niveau de l'extrémité postérieure des opercules. Les barbillons sont très développés; leur bord antérieur est couvert de nombreux bourgeons sensoriels, qui sont également présents sur le bord des lèvres (fig. 2).

A partir de J3, les premiers rayons apparaissent dans la nageoire caudale. Les narines sont bien visibles au-dessus du museau. La taille est de 6,8 à 8,1 mm LT.

Le cinquième jour (J4), les larves atteignent 7,8 à 8,3 mm LT. Une bande cartilagineuse se forme au niveau de la partie antérieure de la nageoire dorsale, et en particulier au voisinage de son bord inférieur; elle aboutira à la formation des rayons dorsaux. Une bande similaire est présente au niveau du début de la nageoire anale. Le nombre de rayons dans la région caudale augmente. Chez quelques spécimens, la première ébauche des rayons de la dorsale peut être observée.

Le sixième jour (J5; 8,6 à 10,0 mm LT), l'ébauche des premiers rayons de la nageoire dorsale est nettement visible: leur nombre varie suivant la taille (entre 9; et dans un exemplaire de 9,5 mm LT, et 12, dans

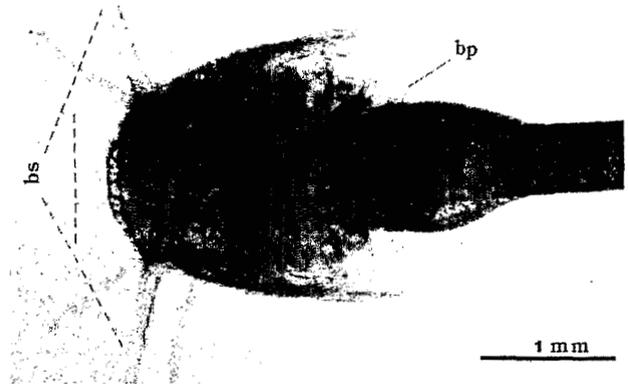


Figure 2. — Larve, 78 h après la fécondation. La largeur de la bouche avoisine 1 mm. Les lèvres et la face antérieure des barbillons sont couvertes de bourgeons sensoriels (bs). bp: bourgeon de la nageoire pectorale.

Larvae, 78 h after fertilization. Mouth width is approximately 1 mm. Taste buds (bs) are visible on the lips and on the anterior part of the barbels. bp: pectoral fin bud.

un exemplaire de 10,0 mm LT). La formation des rayons de la caudale est bien avancée. Une intensification de la pigmentation est notée sur le corps et à la base des nageoires. Le bord extérieur des mâchoires est pourvu d'une série de dents coniques. Un petit groupe de dents est aussi présent dans la cavité branchiale; il formera la bande dentaire pharyngienne. Sept rayons branchiostèges sont comptés de chaque côté de la partie inférieure de la tête.

Lors du septième jour (J6; 9,2-10,6 mm LT), un creusement apparaît au niveau du tiers antérieur du bord de la nageoire dorsale, il correspond au début de la formation de la nageoire adipeuse. 19 ou 20 rayons sont comptés dans la dorsale rayonnée. Les pectorales sont bien développées, alors que les nageoires pelviennes restent encore rudimentaires. Les mélanofores sur le dessus de la tête sont en forme de grosses étoiles; sur le corps, à la base des nageoires et sur le dessous de la tête, ils sont plus fins.

Le huitième jour après l'éclosion (J7; 10,8-11,3 mm LT), le creusement de la nageoire dorsale est bien marqué. Les premiers rayons de la nageoire anale commencent à se former. Sur la tête, les canaux sensoriels sont bien visibles. L'estomac et l'intestin sont parfaitement individualisés. Le nombre de branchiostèges est d'environ 10 de chaque côté, ce qui avoisine le nombre définitif. La formation de l'appareil branchial est bien avancée: les cinq arcs branchiaux sont parfaitement discernables.

Le neuvième jour (J8; 10,5-13,0 mm LT), la dorsale rayonnée comporte environ 25 rayons. Les nageoires pelviennes sont bien développées. Les branchiostèges deviennent visibles sur les arcs branchiaux.

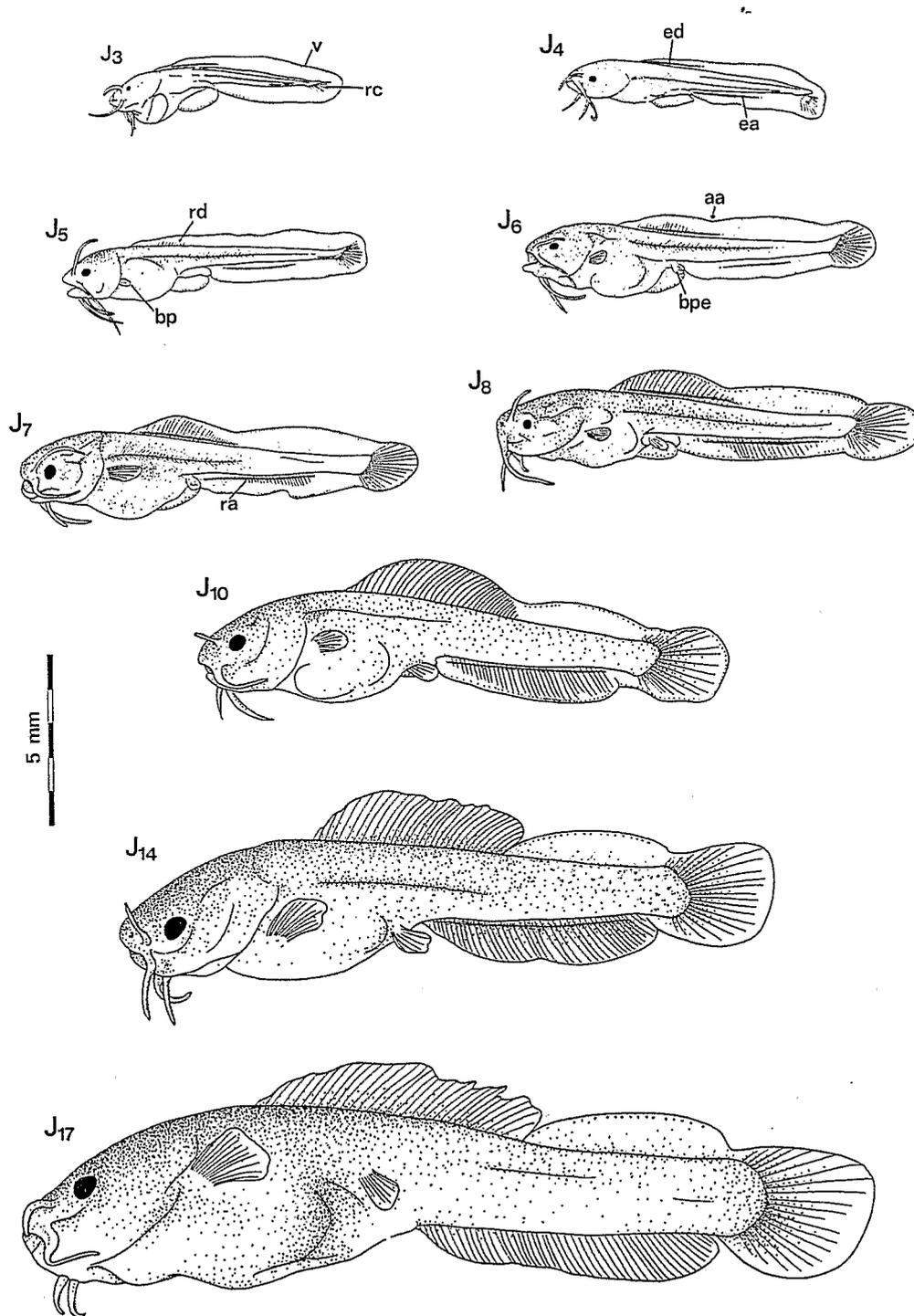


Figure 3. — Illustration de plusieurs stades du développement larvaire de *H. longifilis* jusqu'à l'âge de 17 jours. *aa.* amorce de la nageoire adipeuse; *bp.* bourgeon de la pectorale; *bpe.* bourgeon de la pelvienne; *ea.* ébauche des rayons de l'anale; *ed.* ébauche des rayons de la dorsale; *ra.* rayons de l'anale; *rc.* rayons de la caudale; *rd.* rayons de la dorsale; *v.* vésicules.

Different stages in the larval development of *H. longifilis*. *aa.* beginning of the adipose fin; *bp.* pectoral fin bud; *bpe.* pelvic fin bud; *ea.* rudimentary anal fin rays; *ed.* rudimentary dorsal fin rays; *ra.* anal fin rays; *rc.* caudal fin rays; *rd.* dorsal fin rays; *v.* vesicles.

Le onzième jour (J10; 13,4-15,3 mm LT), un début de séparation est observé entre la nageoire adipeuse et la nageoire caudale, et entre la caudale et l'anale. Le nombre de rayons à la nageoire dorsale est d'environ 30. Les vésicules situées sur le bord extérieur de la nageoire caudale se concentrent à l'extrémité des rayons. Les mélanophores sur le dessus de la tête et sur le dos sont tellement nombreux qu'ils deviennent jointifs.

Le treizième jour (J12; 16,3-18,3 mm LT), les poissons présentent déjà un aspect général proche de celui de l'adulte. La dorsale rayonnée (30 à 32 rayons) et l'adipeuse sont bien distinctes. Les échancrures entre l'adipeuse et la caudale, et entre la caudale et l'anale, deviennent de plus en plus marquées.

Le quinzième jour (J14; 16,6-18,6 mm LT), toutes les nageoires paires sont entièrement individualisées ou presque. Le nombre de rayons à la nageoire dorsale ne dépasse pas 33.

Les dernières observations ont été effectuées le dix-huitième jour après l'éclosion (J17). A ce stade, les poissons ont acquis la morphologie définitive de l'adulte. La longueur totale est de 18,8 à 24,2 mm et la différence de taille entre les individus devient de plus en plus importante. Les épines neurales des vertèbres situées derrière le dernier rayon de la nageoire dorsale s'étendent jusqu'à la base de la nageoire adipeuse. Ultérieurement, ces épines, poursuivant leur croissance, parviendront jusqu'au bord extérieur de la nageoire adipeuse (Teugels, 1983).

Comparaison avec *Clarias gariepinus*

Plusieurs stades du développement larvaire de *C. gariepinus* sont illustrés dans la figure 4.

Aucune différence notable n'a été observée dans le développement des oeufs de *Heterobranchus longifilis* et de *Clarias gariepinus* jusqu'à éclosion. Le jour de l'éclosion, les larves présentent aussi une taille et une morphologie très voisines et aucun critère distinctif n'a pu être identifié. Dans les jours qui suivent, la principale différence entre les deux espèces tient à la pigmentation et en particulier à la forme des mélanophores. Dès le deuxième jour (J1), la plupart des mélanophores présents sur le dessus de la tête chez *C. gariepinus* apparaissent comme de larges étoiles à branches courtes. Chez *H. longifilis* en revanche, la majorité des mélanophores sont plus contractés, en forme de petits grains finement étoilés. Vers le cinquième jour (J4), les mélanophores présentent des formes diverses chez *H. longifilis*; certains deviennent jointifs. Néanmoins, la pigmentation reste beaucoup plus fine pour cette espèce, ce qui rend les spécimens plus clairs que ceux de *C. gariepinus*. Outre cette différence de pigmentation, le développement larvaire des deux espèces est très similaire jusqu'au sixième jour. A ce moment, *C. gariepinus* a déjà de 11 à 23 rayons à la dorsale (contre 9 à 12 chez *H. longifilis*). A partir du sixième jour, les différences de tailles entre individus deviennent beaucoup plus

importantes chez *C. gariepinus* que chez *H. longifilis*, qui semble avoir une croissance plus homogène.

Le septième jour (J6), le creusement entre la nageoire dorsale et l'adipeuse, tel qu'il a été observé chez *H. longifilis* n'apparaît pas chez *C. gariepinus*. Le nombre d'ébauches de rayons dorsaux est nettement plus élevé chez cette espèce (jusqu'à 23). Le huitième jour, ce nombre varie déjà entre 40 et 50 chez *C. gariepinus*. Il augmente jusqu'à environ 70 vers le dix-huitième jour (J17). Les épines neurales prolongées, présentes chez *H. longifilis* dès l'instant où la nageoire adipeuse commence à s'individualiser, ne sont jamais observées chez *C. gariepinus* (fig. 5).

Influence de la température sur l'éclosion

La gamme des températures testées dépasse les limites de tolérance des oeufs de *H. longifilis* et, aux deux températures extrêmes (21 et 36°C), aucune éclosion n'est observée.

Les cinétiques de blanchiment et d'éclosion des oeufs aux différentes températures d'incubation sont remarquablement voisines pour les quatre femelles utilisées (fig. 6). La période de mortalité maximale est fonction de la température d'incubation. Le blanchiment de la grande majorité des oeufs s'effectue entre 8 et 18 h à 21°C, 6 et 10 h à 25°C, 5 et 8 h à 29°C, 3 et 8 h à 33°C, et 3 et 5 h à 36°C. Le nombre des oeufs blancs reste ensuite quasiment constant. Les observations ont montré que le blanchiment correspond à une rupture de la membrane vitelline, provoquant une échappée puis une précipitation du vitellus dans l'espace périvitellin (fig. 7).

A 29°C, le blanchiment des ovules dans les lots non fécondés intervient aussi après 5 à 8 h (fig. 6). Ceci indique que dans les lots fécondés et incubés à 29°C, les oeufs blancs peuvent correspondre aussi bien à des ovules non fécondés qu'à des oeufs ayant avortés en phase de gastrulation (tabl. 1), aucun critère ne permettant *a posteriori* de distinguer ces deux situations. Après 18 h d'incubation à 21°C, soit à l'issue de la période de mortalité maximale (fig. 6), la faible proportion d'oeufs encore vivants se trouve également en cours de gastrulation. Cette étape du développement apparaît donc comme particulièrement critique. A cette température, les embryons les plus résistants n'ont pas dépassé le stade de formation des premiers somites.

Dans les limites de tolérance thermique des oeufs, la vitesse du développement embryonnaire augmente avec la température (fig. 8). La relation entre la température (T) et la durée d'incubation moyenne conduisant à 50% des éclosions (D en heures) est : $D = 34\,724\ T^{-2.20}$ ($r = 0.99$). Pour une même température, une forte asynchronie est constatée dans l'éclosion des oeufs (fig. 8). La durée totale de l'éclosion correspond à environ 23% de la durée d'incubation moyenne, cette proportion étant indépendante de la température d'incubation.

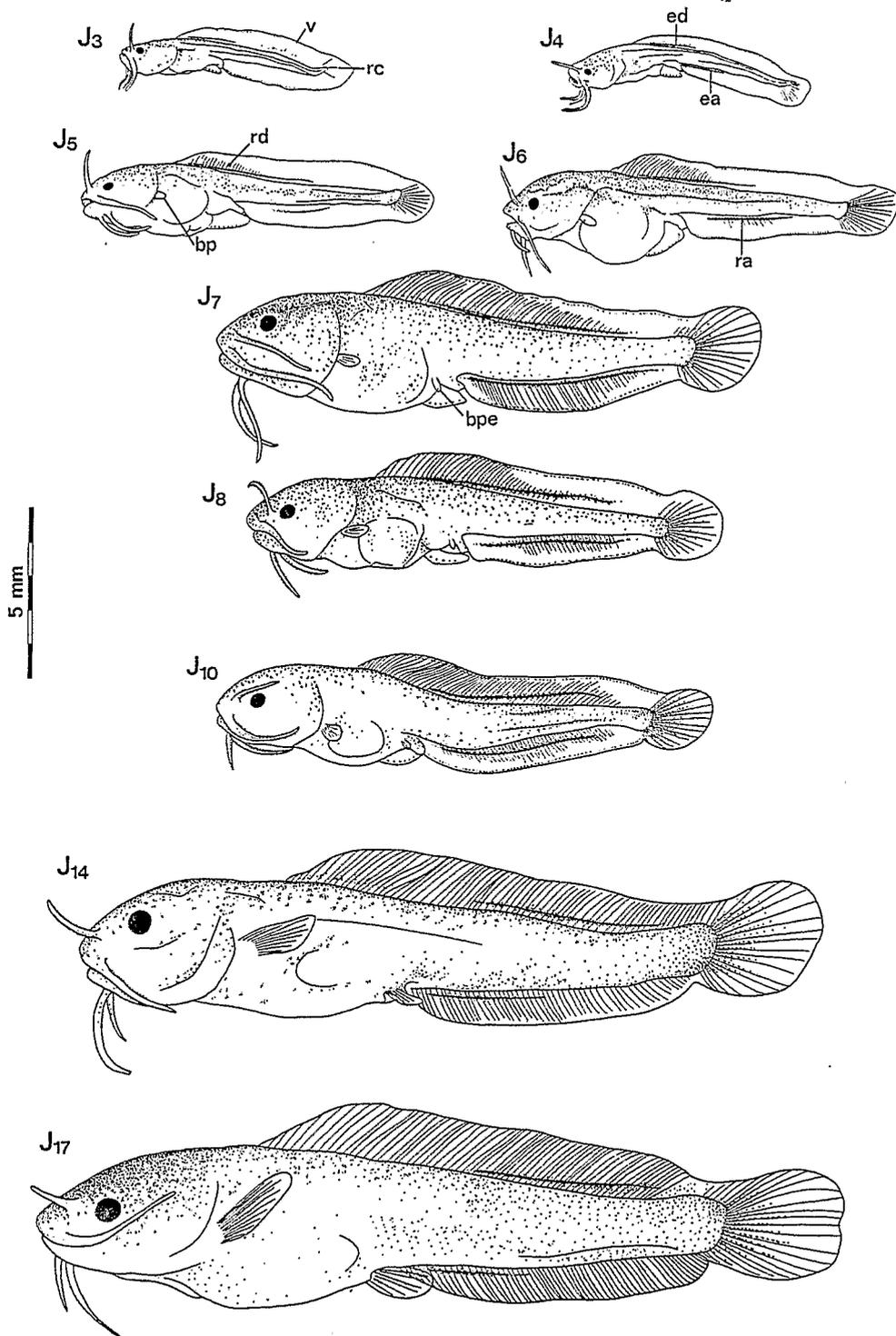


Figure 4. - Illustration de plusieurs stades du développement larvaire de *C. gariepinus* jusqu'à l'âge de 17 jours. Pour l'explication des abréviations, voir la légende de la figure 3.

Different stages in the larval development of *C. gariepinus* up to 17 days of age. For the explanation of the abbreviations see text to figure 3.

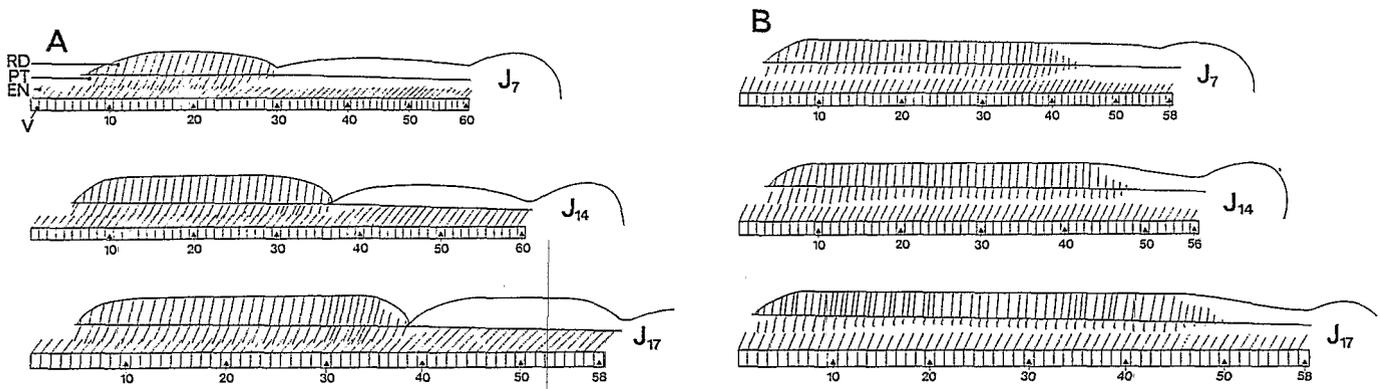


Figure 5. — Schéma illustrant différents stades (J7, J14 et J17) du développement ostéologique de la région dorsale chez *H. longifilis* (A) et chez *C. gariepinus* (B). EN, épines neurales; PT, ptérygiophores; RD, rayons dorsaux; V, vertèbres.

Schematic illustration of different stages (days 7, 14 and 17) in the osteological development of the dorsal region in *H. longifilis* (A) and *C. gariepinus* (B). EN, neural spines; PT, pterygiophores; RD, dorsal fin rays; V, vertebrae.

Excepté pour les lots incubés à 21 et 36°C où l'éclosion est nulle, les pourcentages d'éclosion moyens obtenus aux différentes températures d'incubation sont tous supérieurs à 75 % (fig. 9). L'éclosion est cependant plus faible à 33°C qu'à 25°C, 29°C ou à température ambiante ($p < 0,05$). De plus, à 33°C, un accroissement très hautement significatif ($p < 0,001$) est constaté dans la proportion des larves déformées. Les difformités observées consistent le plus souvent en un raccourcissement ou une torsion de la partie postérieure des larves.

DISCUSSION

Une accélération du développement embryonnaire avec l'augmentation de la température d'incubation des oeufs est un phénomène très général chez les poissons, décrit chez de nombreuses espèces (Braun, 1978; Woynarovich et Horvath, 1980; Herzig et Winkler, 1986; Marangos *et al.*, 1986; Wallace et Heggberget, 1988; Rana, 1990). C'est également le cas chez *H. longifilis*, pour lequel on note en outre une forte asynchronie des éclosions au sein d'un même lot d'oeufs. Ainsi, le délai séparant la fécondation de l'éclosion est compris entre 26 et 33 h à 25°C et entre 14 et 18 h à 33°C.

Chez cette espèce, les limites inférieure et supérieure de tolérance des oeufs à la température sont relativement proches; elles se situent entre 22 et 24°C et entre 34 et 35°C respectivement, aucune éclosion n'étant obtenue à 21°C comme à 36°C. L'optimum thermique qui conduit aux pourcentages d'éclosion les plus élevés, se situe entre 25 et 29°C. A 33°C, la moins bonne éclosion et la forte élévation constatée dans la proportion des larves déformées indiquent qu'un développement embryonnaire anormal constitue une

étape intermédiaire entre deux situations extrêmes, bonne éclosion et absence d'éclosion. L'existence d'une relation inverse entre pourcentages d'éclosion et proportions de larves déformées a aussi été mise en évidence chez différentes espèces, dont *H. longifilis*, en fonction du vieillissement des ovules après l'ovulation (Hogendoorn et Vismans, 1980; Fortuny *et al.* 1988; Legendre et Otémé, en préparation). Une forte occurrence de difformités larvaires peut donc aussi bien résulter d'une médiocre qualité initiale des ovules que de conditions environnementales d'incubation défavorables. Dans le cas présent, tous les ovules utilisés ont été collectés et fécondés juste après l'ovulation.

Dans cette étude, les oeufs provenaient de femelles élevées dans une eau de température comprise entre 28 et 32°C. De ce fait, il se pourrait que l'absence d'éclosion observée à 21°C soit la conséquence d'un choc thermique appliqué aux oeufs et n'ait pas une valeur de limite absolue pour l'espèce. Il est cependant remarquable que l'optimum thermique identifié ici pour l'incubation, correspond de manière étroite aux températures de l'eau relevées dans différentes localités lors de la saison de reproduction naturelle de *Heterobranchus* (Daget, 1954; Motwani, 1970; Micha, 1973).

La gamme de températures favorables au développement des oeufs de *H. longifilis* apparaît plus étroite que celle enregistrée pour *C. gariepinus* (19 à 30°C au moins; Bruton, 1979). Cette meilleure tolérance des oeufs de *C. gariepinus* aux « basses » températures peut être logiquement mise en relation avec une aire de répartition géographique plus large chez cette espèce (de l'Afrique du Sud au sud de la Turquie; Teugels, 1986) que chez *H. longifilis* dont la présence est limitée à la zone intertropicale de l'Afrique (Teugels *et al.*, 1990).

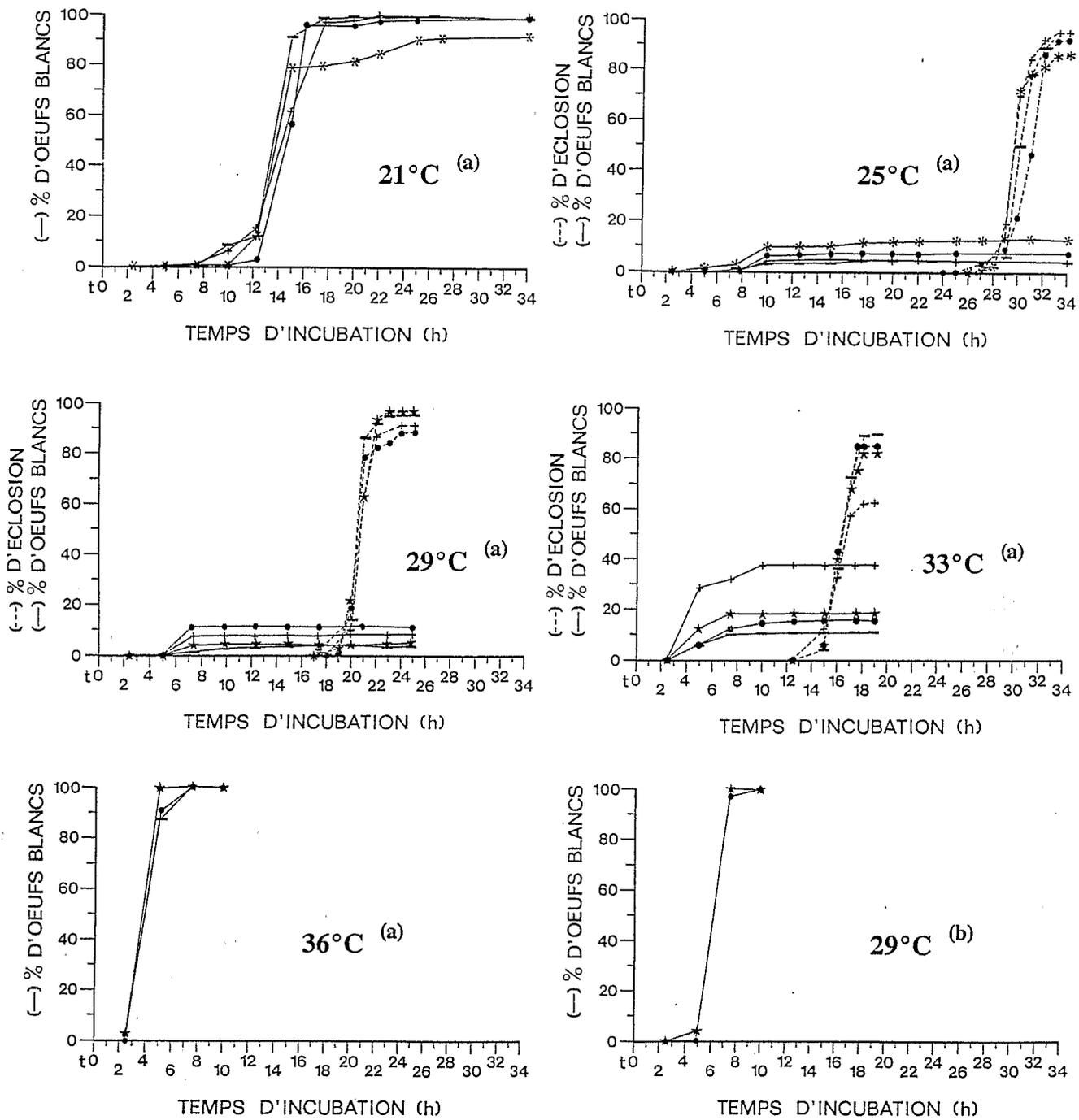


Figure 6. — Cinétiques individuelles de blanchiment et d'éclosion (pourcentages cumulés) des oeufs incubés à différentes températures chez quatre femelles de *H. longifilis*. t_0 : fécondation ou transfert en eau douce pour les ovules non fécondés. (a), oeufs fécondés; (b), ovules non fécondés.

Individual kinetics of white eggs appearance and hatching (cumulated percentages) for eggs of four females of *H. longifilis* incubated at different temperatures. t_0 : fertilization or transfer to freshwater for unfertilized eggs. (a), fertilized eggs; (b), unfertilized eggs.

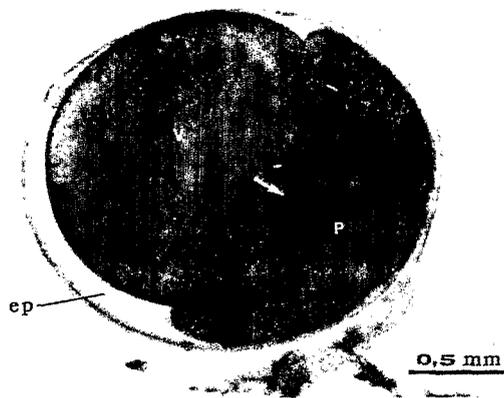


Figure 7. — Ovule en cours de blanchiment. Après rupture de la membrane périvitelline, le vitellus (v) s'échappe et précipite (p) dans l'espace périvitellin (ep).

Egg in course of whitening process. After breaking of the vitelline membrane, the yolk (v) escapes and precipitates (p) within the perivitelline space (ep).

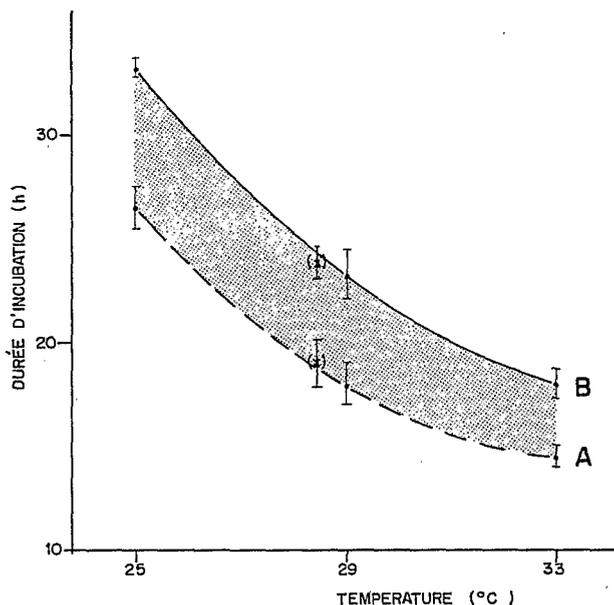


Figure 8. — Durée de l'incubation des oeufs de *H. longifilis* en fonction de la température de l'eau. A, début des éclosions; B, fin des éclosions. Moyennes (\pm I.C. à 95%) de 4 observations. (x): observations à une température ambiante de 27-29°C (moyenne 28,3°C).

Duration of incubation for *H. longifilis* eggs in relation to water temperature. A, beginning of hatching, B, end of hatching. Means (\pm confidence interval at 95%) for 4 observations. (x): observations at ambient temperature of 27-29°C (mean 28.3°C).

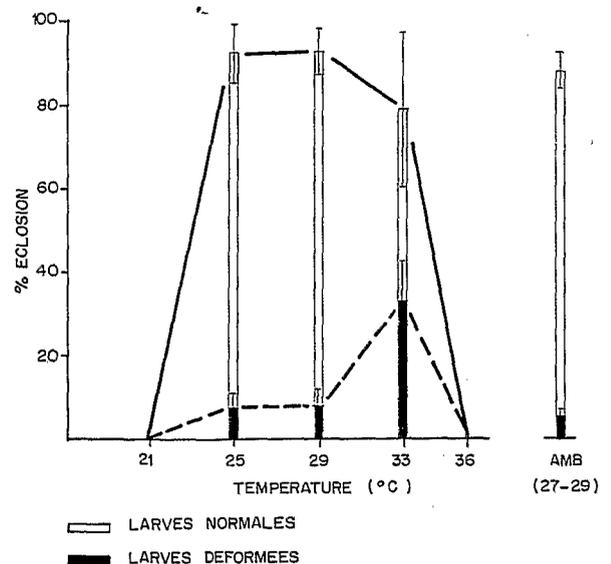


Figure 9. — Proportions de larves normales et de larves déformées obtenues après éclosion des oeufs de *H. longifilis* incubés à différentes températures. Moyennes (\pm I.C. à 95%) de 4 observations. AMB: température ambiante de 27-29°C (moyenne 28,3°C).

Proportions of normal larvae and deformed larvae obtained after hatching of *H. longifilis* eggs incubated at different temperature. Means (\pm confidence interval at 95%) for 4 observations. AMB: ambient temperature of 27-29°C (mean 28.3°C).

Les deux espèces montrent en revanche une très grande analogie dans leur développement embryonnaire. Leurs oeufs sont munis d'un large disque adhésif et ont une taille équivalente. A une même température, la durée de l'incubation est similaire et, la taille et la morphologie des larves à l'éclosion sont également très voisines (Legendre *et al.*, 1991). Les développements larvaires de *H. longifilis* et de *C. gariepinus* se ressemblent également beaucoup. En fait, à l'exception de la différence dans la formation des nageoires dorsale et adipeuse, nous n'avons pu indiquer d'autres critères dans le développement qui permettent de distinguer nettement les deux espèces. Les premiers stades se déroulent de façon presque identique pour les deux espèces, jusqu'au moment de l'apparition du creusement dans la nageoire larvaire (J6) qui marquera le bord postérieur de la nageoire dorsale rayonnée chez *H. longifilis*. Contrairement à la situation retrouvée dans l'ontogenèse de beaucoup d'espèces de poissons pourvues d'une dorsale rayonnée, ce creusement n'apparaît pas chez *C. gariepinus*. Chez cette espèce, la bande cartilagineuse qui mènera à la formation des rayons, se prolonge vers l'arrière jusqu'au niveau de la base de la nageoire caudale. C'est ainsi que la nageoire dorsale devient très allongée, un caractère considéré comme une autapomorphie par Howes (1985). Chez

H. longifilis, la partie de la nageoire larvaire située entre le creusement et la partie caudale, formera une grande nageoire adipeuse, et sa taille ne diminuera que peu ou pas. L'apparition d'épines neurales prolongées est un caractère unique pour les Clariidae pourvus de nageoire adipeuse (Teugels, 1983).

RÉFÉRENCES

- Aprieto V. L., 1976. Early development of the common catfish *Clarias macrocephalus* Günther reared in the laboratory (Pisces, Clariidae). *Fish Res. J. Philipp*, **1**, 30-42.
- Balon E. K., 1984a. Patterns in the evolution of reproductive styles in fishes. In: G. W. Potts and R. J. Wootton eds., *Fish reproduction - Strategies and tactics*. Academic Press, London, p. 35-53.
- Balon E. K., 1984b. Reflections on some decisive events in the early life of fishes. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **113**, 178-185.
- Braum E., 1978. Ecological aspects of the survival of fish eggs, embryos and larvae. In: D. Gerking ed., *Ecology of freshwater fish production*. Blackwell, Oxford, 177-252.
- Bruton M. N., 1979. The breeding biology and early development of *Clarias gariepinus* (Pisces; Clariidae) in Lake Sibaya, South Africa, with a review of breeding in species of the subgenus *Clarias* (*Clarias*). *Trans. Zool. Soc. Lond.*, **35**, 1-45.
- Cambay J. A., G. G. Teugels, 1988. Selected annotated bibliography of early developmental studies of African freshwater fishes. *Ann. Cape Prov. Mus.*, **18**, 31-56.
- Daget J., 1954. Les poissons du Niger supérieur. *Mém. I.F.A.N.*, No. 36, 391 p.
- Eding E. H., J. A. L. Janssen, G. H. J. Kleine Staarman, C. J. J. Richter, 1982. Effects of human chorionic gonadotropin (HCG) on maturation and ovulation of oocytes in the catfish *Clarias lazera* (C. & V.). In: C. J. J. Richter, H. J. Th. Goos eds., *Proc. Int. Symp. on reproductive Physiology of Fish*, PUDOC, Wageningen, p. 195.
- Fortuny A., A. Espinach Ros, V. G. Amutio, 1988. Hormonal induction of final maturation and ovulation in the Sabalo, *Prochilodus platensis* Holmberg: Treatments, latency and incubation times and viability of oocytes retained in the ovary after ovulation. *Aquaculture*, **73**, 373-381.
- Hem S., 1982. L'aquaculture en enclos : adaptation au milieu lagunaire ivoirien. *Aquaculture*, **27**, 261-272.
- Herzig A., J. Winkler, 1986. The influence of temperature on the embryonic development of three cyprinid fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chalcoides mento* and *Vimba vimba*. *J. Fish Biol.*, **28**, 171-181.
- Hogendoorn H., M. M. Vismans, 1980. Controlled propagation of the African catfish, *Clarias lazera* (C. & V.). II. Artificial reproduction. *Aquaculture*, **21**, 39-53.
- Howes G. J., 1985. The phylogenetic relationships of the electric catfish family Malapteruridae (Teleostei: Siluroidei). *J. Nat. Hist.*, **19**, 37-67.
- Janssen J., 1985. Elevage du poisson-chat africain *Clarias lazera* (Cuv. & Val., 1840) en République Centrafricaine. II. Alevinage en éclosérie. FAO, Proj. GCP/CAF/007/NET, Doc. Techn. No. 21, 31 p.
- Legendre M., 1983. Examen préliminaire des potentialités d'un silure africain *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840) pour l'aquaculture en milieu lagunaire. *Doc. Sci. Cent. Rech. Océanogr. Abidjan*, **14**, 97-107.
- Legendre M., 1986. Seasonal changes in sexual maturity and fecundity, and HCG-induced breeding of the catfish, *Heterobranchus longifilis* Val. (Clariidae), reared in Ebrié lagoon (Ivory Coast). *Aquaculture*, **55**, 201-213.
- Legendre M., 1991. Bilan des premiers essais d'élevage d'un silure africain, *Heterobranchus longifilis* (Clariidae), en milieu lagunaire (lagune Ebrié, Côte d'Ivoire). Atelier International sur la Recherche Aquacole en Afrique, nov. 1988, Bouaké, Côte d'Ivoire. Compte rendu du Centre de Recherches pour le Développement International (CRDI), Ottawa, Canada, (sous presse).
- Legendre M., Z. Otémé, en préparation. Influence du temps de latence après induction hormonale de l'ovulation sur la quantité et la qualité des ovules récoltés chez le silure africain, *Heterobranchus longifilis* (Clariidae).
- Legendre M., G. G. Teugels, C. Cauty, B. Jalabert, 1991. A comparative study on morphology, growth rate and reproduction of *Clarias gariepinus*, *Heterobranchus longifilis* and their reciprocal hybrids (Pisces, Clariidae). *J. Fish Biol.*, (sous presse).
- Marangos C., H. Yagi, H. J. Ceccaldi, 1986. Rôle de la température et de la salinité sur le taux de survie et la morphogenèse au cours du développement embryonnaire chez les oeufs du loup de mer *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (Pisces, Teleostei, Serranidae). *Aquaculture*, **54**, 287-300.
- Micha J. C., 1973. Etude des populations piscicoles de l'Ubangui et tentatives de sélection et d'adaptation de quelques espèces à l'étang de pisciculture. Centre Technique Forestier Tropical, Paris, 110 p.
- Mollah M. F. A., E. S. P. Tan, 1982. Effects of incubation temperature on the hatching of the catfish (*Clarias macrocephalus* Günther) eggs with an illustration on the larval stages. *Malay. Nat. J.*, **36**, 123-131.
- Motwani M. P., 1970. Report to the Government of Nigeria on the fishery investigations on the Niger and Benue rivers in the Northern region and development of a program of riverine fishery management and training. FAO Fish. UNDP (TA) Rep No. 2771, 196 p.
- Rana K. J., 1990. Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry. I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development. *Aquaculture*, **87**, 165-181.
- Taylor W. R., G. C. Van Dyke, 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, **9**, 107-119.
- Teugels G. G., 1982. Preliminary results of a morphological study of the African species of the subgenus *Clarias* (*Clarias*) (Pisces, Clariidae). *J. Nat. Hist. Lond.*, **16**, 439-464.
- Teugels G. G., 1983. La structure de la nageoire adipeuse dans les genres *Dinotopterus*, *Heterobranchus* et *Clarias* (Pisces; Siluriformes; Clariidae). *Cybium*, **7**, 11-14.

- Teugels G. G., 1986. A systematic revision of the African species of the genus *Clarias* (Pisces, Clariidae). *Ann. Mus. Roy. Afr. Centr.*, No. 247, 199 p.
- Teugels G. G., B. Denayer, M. Legendre, 1990. A systematic revision of the African catfish genus *Heterobranchus* Geoffroy-Saint-Hilaire, 1809 (Pisces, Clariidae). *Zool. J. Linn. Soc.*, 98, 237-257.
- Thakur N. K., 1980. Notes on the embryonic and larval development of an air-breathing catfish *Clarias batrachus* (Linn.). *J. Inland Fish. Soc. India*, 12, 40-43.
- Wallace J. C., T. G. Heggberget, 1988. Incubation of eggs of Atlantic salmon (*Salmo salar*) from different Norwegian streams at temperatures below 1°C. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 45, 193-196.
- Woynarovitch E., L. Horvath, 1980. The artificial propagation of warm-water finfishes. A manual for extension. *FAO Fish. Tech. Pap.*, No. 201. 183 p.
- Zaki M. I., A. Abdula, 1983. The reproduction and development of *Clarias gariepinus* (Clariidae) from Lake Manzala (Egypt). *J. Ichtyol.*, 23, 48-58.