

Les pièces calcifiées ont des origines ontogéniques et des propriétés différentes. C'est pourquoi, dans le but d'évaluer les utilisations potentielles des otolithes, des écailles et des tissus squelettiques pour les études de sclérochronologie, il est important de bien comprendre la nature et la formation des accroissements dans ces différentes structures. Dans ce chapitre, nous décrirons la fonction, la morphologie et la structure des différentes pièces calcifiées. Puis, nous ferons une revue des conceptions actuelles des processus d'accrétion et montrerons comment ils sont influencés par les facteurs internes et externes.

A. Otolithes

P.J. Wright, J. Panfili, B. Morales-Nin, A.J. Geffen

1. Description et fonction

L'oreille interne, qui existe chez tous les Vertébrés Gnathostomes, fonctionne à la fois comme un système auditif qui détecte les ondes sonores et comme un système vestibulaire qui détecte les accélérations linéaires et angulaires, permettant aux organismes de maintenir leur équilibre. Chez les poissons, l'oreille interne est une structure paire noyée dans le crâne, de chaque côté de la tête, près de l'encéphale moyen. Chaque oreille est un ensemble complexe de canaux et de sacs remplis d'endolymphe, un liquide aux propriétés de viscosité spéciales (fig. II.A.1). L'anatomie de ces labyrinthes et la structure des mécanorécepteurs labyrinthiques sont connues chez de nombreuses espèces de poissons (Lowenstein, 1971). Les Téléostéens ont trois canaux semi-circulaires en position orthogonale les uns par rapport aux autres, ce qui permet la détection des accélérations angulaires. Les canaux s'ouvrent dans une série de grandes chambres d'interconnexion ou sacs otiques qui contiennent un tissu sensoriel, la *macula*, qui détecte les accélérations linéaires et les sons.

Chez les Ostéichthyens, il y a trois sacs otiques par oreille, chacun contenant une structure calcaire, l'otolithe, qui agit comme un mécanorécepteur stimulant les kinocils de la *macula*. Les trois sacs otiques sont le *sacculus* (saccule), l'*utricle* (utricle) et la *lagena*, qui contiennent respectivement la *sagitta*, le *lapillus* et l'*asteriscus* (fig. II.A.1). Chaque otolithe est fixé au-dessus de la *macula* par une membrane otolithique, dans laquelle se projettent les cils sensoriels. D'après Dunkelberger *et al.* (1980), la membrane otolithique est divisée en deux zones : a) une zone à structure gélatineuse qui couvre la région sensorielle de la *macula* et qui présente habituellement une architecture réticulée (en nid d'abeille), b) une zone sous-cupulaire qui est un réseau très lâche de fibres couvrant des régions sensorielles et non sensorielles de la *macula*. La zone gélatineuse s'étend de la surface de l'otolithe à l'extrémité des

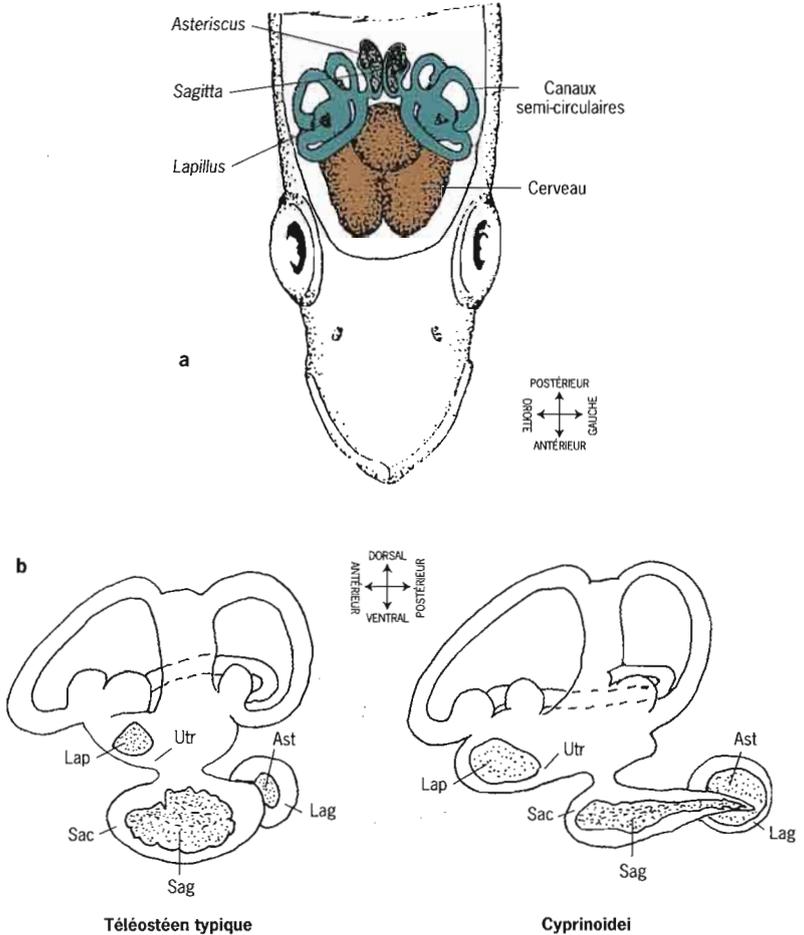
cils sensoriels et sa fonction première est probablement la mécanoréception. La lumière du système entier est remplie d'endolymphe. Chez les Ostariophyses, la vessie natatoire intervient dans la stimulation auditive de l'oreille interne (Popper & Fay, 1993).

Figure II.A.1
Position des otolithes à l'intérieur de l'oreille interne des poissons Téléostéens (modifié d'après Secor *et al.*, 1992).

a) Vue dorsale de l'appareil vestibulaire chez une espèce de Téléostéen typique. La partie supérieure du crâne a été enlevée (en section frontale).

b) Otolithes à l'intérieur du système du labyrinthe chez un poisson Téléostéen typique et chez un Ostariophyse.

Ast = asteriscus;
Lag = lagena (vestibule);
Lap = lapillus;
Sac = sacculus (vestibule);
Sag = sagitta;
Utr = utriculus (vestibule).



1.1: Description

Les otolithes des trois paires de sacs otiques diffèrent en taille et en forme (fig. II.A.2). Les différences morphologiques des otolithes tendent à refléter leur phylogénie et leur développement, bien qu'il y ait une variation considérable inter- et intra-spécifique (fig. II.A.3). Des différences inter-spécifiques de la forme apparaissent être dues à des influences génétiques et environnementales (Lombarte & Leonart, 1993; Nolf, 1995; Torres *et al.*, 2000). À cause de leur variation morphologique inter-spécifique, les otolithes se sont avérés utiles en taxonomie (Hecht, 1979), permettant, par exemple, l'étude de la ration alimentaire à partir de contenus stomacaux partiellement digérés (Suter & Morel, 1996; Olsson & North, 1997; Watanabe & Saito, 1998; Alonso *et al.*, 1999, *inter alia*). De même, les otolithes issus de

sites archéologiques et paléontologiques permettent-ils de reconstruire les paléo-environnements et les paléofaunes (Nolf, 1995). La morphométrie des otolithes a aussi été utilisée pour l'identification et l'étude des variations géographiques des populations et des stocks de poissons (Messieh *et al.*, 1989; Castonguay *et al.*, 1991; Campana & Casselman, 1993; Friedland & Reddin, 1994).

Figure II.A.2

Les trois paires d'otolithes de *Vinciguerria nimbaria* (Photichthyidae). S, *sagitta*; L, *lapillus*; A, *asteriscus*. Échelle = 300 µm (d'après Tomás & Panfili, 2000).

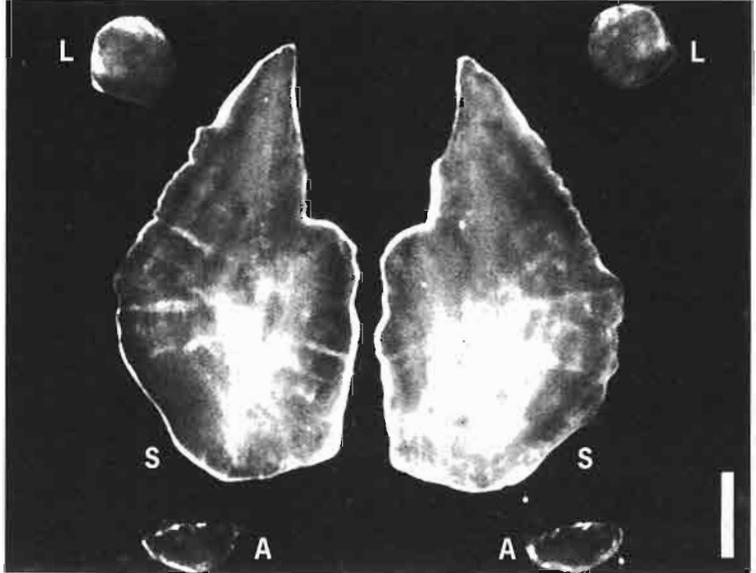
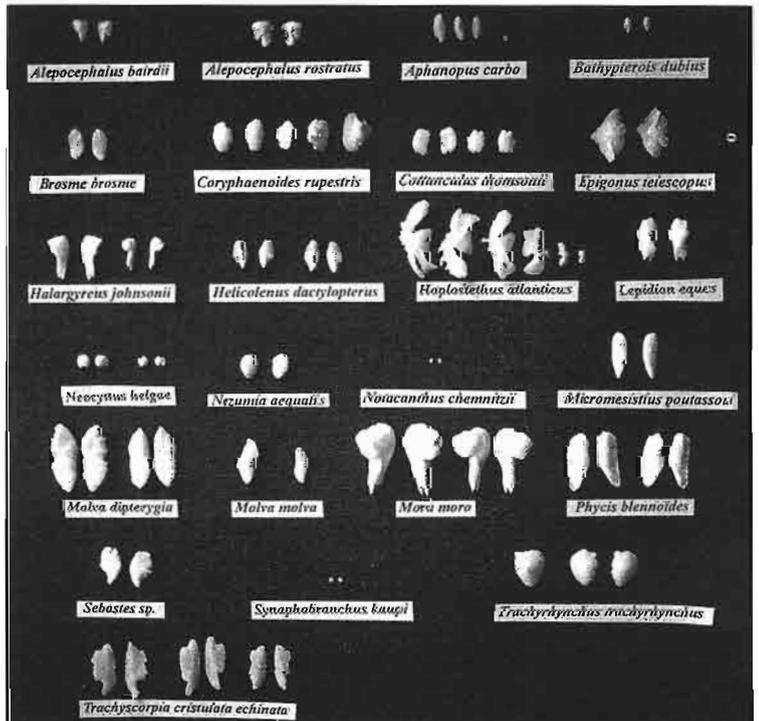


Figure II.A.3

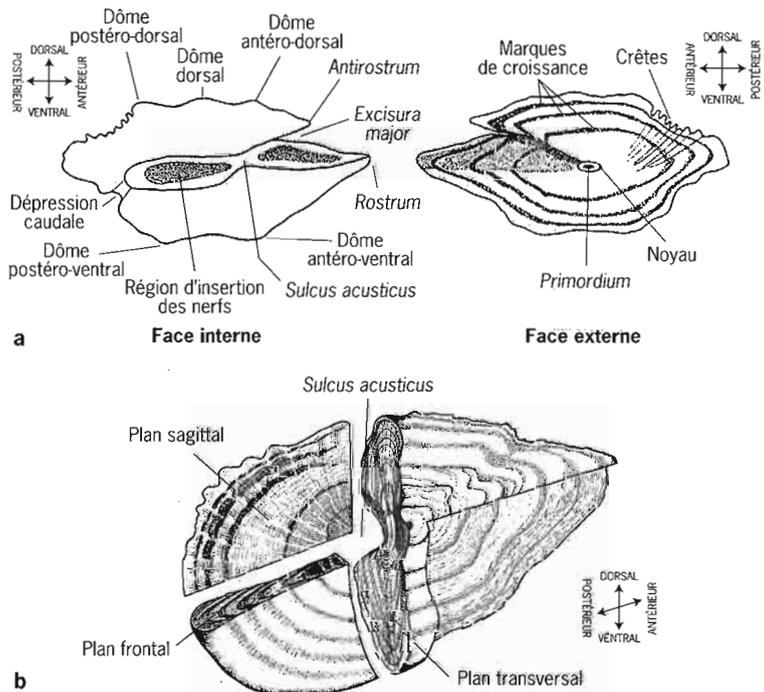
Exemples de formes variées parmi les otolithes d'espèces de poissons profonds (photo V. Allain). Échelle = 10 mm.



Chez la plupart des espèces, la *sagitta* est le plus grand des otolithes et c'est donc le plus utilisé dans les études d'estimation de l'âge. Cependant, chez les Ostariophyses, c'est l'*asteriscus* qui est l'otolithe le plus grand (Adams, 1940). La majeure partie des études sur la formation des otolithes s'est focalisée sur la *sagitta* et le *sacculus*. Dans la littérature, le terme « otolithe » est souvent utilisé pour décrire une seule des trois paires, généralement la paire de *sagittae*, d'où la nécessité de le définir dans toute étude.

Les otolithes, généralement comprimés latéralement, sont symétriques (droite-gauche), excepté chez les poissons plats (Pleuronectiformes) et les poissons-chats. Des détails de la terminologie utilisée dans la description morphologique des otolithes sont donnés dans la figure II.A.4a. Un otolithe a trois plans d'orientation, les mêmes que ceux du poisson : sagittal, frontal et transversal (fig. II.A.4b). Cette orientation doit être définie soigneusement en décrivant toute préparation d'otolithe et les références doivent toujours être faites à la terminologie standard (exemple : section transversale, sagittale ou frontale). La face proximale de la *sagitta* possède une gouttière, le *sulcus acusticus* (fig. II.A.4a, b), qui est en contact avec l'épithélium sensoriel (*macula*) du *sacculus* (Dunkelberger *et al.*, 1980; Fay, 1980; Platt & Popper, 1981). Une *sagitta* typique a une forme elliptique sur son plan sagittal; elle est comprimée selon son axe interne-externe, avec une face convexe proximale et une face distale concave et son axe principal de croissance est orienté dans une direction antéro-postérieure (fig. II.A.4). Cependant, chez plusieurs espèces épipélagiques et pélagiques

Figure II.A.4
Section à travers une *sagitta* typique montrant les différentes parties de cet otolithe (modifié d'après Pannella, 1980).
a) Faces interne et externe d'une *sagitta* typique.
b) Les trois plans d'orientation d'une *sagitta* typique.



comme les thons, les espadons, les coryphènes, les Cyprinidae et les espèces de profondeur, les faces dorsale et ventrale des otolithes sont asymétriques, leur donnant une forme de papillon.

Les otolithes, formations extracellulaires, sont constitués d'aragonite, une forme cristallisée de carbonate de calcium, fixée sur une matrice organique composée largement d'une protéine proche de la kératine, l'otoline, qui est riche en résidus aspartate et glutamate (Degens *et al.*, 1969; Watabe *et al.*, 1982; Morales-Nin, 1987a). L'otolithe s'accroît par l'addition de couches concentriques de protéines et de carbonate de calcium, donnant une structure quelque peu comparable à celle d'un bulbe d'oignon (chap. III.C).

1.2. Fonction

Le labyrinthe des poissons est impliqué dans le maintien de l'équilibre et il possède des cellules nerveuses qui sont sensibles à la pression, à la gravité, aux mouvements angulaires et aux vibrations sonores (Grassé, 1958; Lowenstein, 1971; Blacker, 1974). La *pars superior* du labyrinthe (canaux semi-circulaires et *utricle*) est concernée par les informations posturales alors que la *pars inferior* (*sacculus* et *lagena*) est le récepteur sonore (fig. II.A.1). Les otolithes des Téléostéens sont similaires, mais en beaucoup plus grand, aux otoconies des autres Vertébrés. Les otolithes sont impliqués dans la mécano-réception, agissant comme transducteurs de sons électromécaniques et de déplacements, convertissant les forces de cisaillement en impulsions électriques par déformation des kinocils de l'organe nerveux terminal ou *macula* dans l'oreille interne du poisson (Popper & Hoxter, 1981). Les mouvements relatifs entre l'épithélium sensoriel et l'otolithe tordent les paquets de cils et stimulent le nerf crânien VIII. Les otolithes ajoutent leur inertie de masse à la couche gélatineuse des trois sacs otiques, augmentant leur sensibilité aux forces de gravitation et d'accélération linéaire (Ross & Pote, 1984). Le *sulcus acusticus* de l'otolithe a une relation directe avec la *macula* de l'épithélium vestibulaire qui est directement connectée avec le nerf auditif (Grassé, 1958). Les systèmes récepteurs sont assez différents chez les Ostariophyses, chez qui l'oreille interne est en contact avec la vessie natatoire par l'intermédiaire d'un complexe d'os connu comme l'organe de Weber (Grassé, 1958).

Il a été supposé que les sons atteignent l'oreille interne des poissons par deux moyens différents. Puisque la densité du corps des poissons est approximativement la même que celle de l'eau, il se meut dans celle-ci en réponse à une variation de champ sonore. L'otolithe, cependant, est plus dense que le reste du corps et il bouge avec une amplitude et une période différentes de celles de la *macula* sensorielle et du corps. Ainsi, la source sonore stimule directement l'oreille interne. De plus, les parois de la vessie natatoire vibrent car elle contient du gaz moins dense que le corps. Ceci produit une stimulation indirecte par suite d'un ample déplacement de l'otolithe (Popper & Lu, 2000).

2. Accroissements périodiques

Les otolithes montrent une série de structures d'accroissement qui se forment régulièrement sur une échelle de temps s'étalant d'un rythme journalier à un rythme annuel. Contrairement au calcium squelettique qui peut être mobilisé pour l'homéostasie (Simkiss, 1974), les otolithes ne semblent pas sujets à des résorptions minérales, excepté en cas de stress extrême (Mugiya & Uchimura, 1989). En conséquence, les otolithes apparaissent hautement appropriés pour l'estimation de l'âge.

L'estimation de l'âge des poissons dépend des changements visibles de la croissance de l'otolithe. Les patrons de croissance les plus intéressants se situent à quatre niveaux de résolution :

- accroissements primaires, permettant une résolution des jours ;
- zones saisonnières, permettant une résolution de plusieurs mois ou d'une saison de croissance ;
- accroissements annuels, permettant une résolution des années ;
- discontinuités (ultra) structurales dans l'otolithe, correspondant à des stress variés qui ne sont pas nécessairement réguliers durant la vie des individus.

Les mécanismes qui produisent ces patrons reconnaissables sont légèrement différents, bien qu'au niveau opérationnel ils soient le résultat de variations de la quantité relative de calcium et de protéines sur les accroissements ou les zones (Dannevig, 1956 ; Morales-Nin, 1987a).

2.1. Accroissements primaires

Les accroissements primaires sont formés par dépôts successifs de couches riches en minéral et de couches riches en matrice protéique autour du noyau de l'otolithe (Watabe *et al.*, 1982 ; Morales-Nin, 1987a ; Mugiya, 1987 ; Zhang & Runham, 1992a). Des noms variés ont été donnés aux deux types de couche qui forment ces accroissements primaires. Une revue de la terminologie présentée lors du premier symposium international sur les otolithes a proposé les termes de « zone-L » et « zone-D » (Kalish *et al.*, 1995), respectivement pour les couches riches en minéral et les couches riches en matrice organique. Ces termes se réfèrent à la dualité d'aspect des accroissements, les zones-L et les zones-D apparaissant respectivement claires et sombres quand on les observe en lumière naturelle transmise (fig. II.A.5a, b).

La différence de composition chimique des deux types de zone conduit également à leur apparence différente au microscope électronique à balayage après une attaque acide superficielle. La zone-L est riche en carbonate de calcium et apparaît en relief au MEB tandis que la zone-D, plus riche en protéines et plus pauvre en calcium, apparaît comme une dépression au MEB (fig. II.A.5c, d, e). C'est cette terminologie qui sera utilisée dans la suite de cet ouvrage.

Pannella (1971, 1974) a été le premier à décrire les accroissements primaires dans les otolithes et il a suggéré qu'ils sont déposés quotidiennement. L'abondante littérature sur les accroissements journaliers a

conduit de nombreux chercheurs à affirmer que les accroissements primaires sont bien des structures journalières. Cependant, une telle affirmation n'est pas toujours valide pour de nombreuses raisons. Le dépôt des accroissements des otolithes n'est pas toujours journalier ou n'est pas toujours discernable chez toutes les espèces (Geffen, 1982; McGurk, 1984; Al-Hossaini & Pitcher, 1988; Morales-Nin, 1992). Des comparaisons entre différents observateurs ont montré que les structures des otolithes sont souvent interprétées différemment par chaque lecteur (Campana & Moksness, 1991). Par ailleurs, les accroissements primaires peuvent ne pas être quotidiens jusqu'à un certain temps après l'éclosion (Geffen, 1987).

Des dépôts sub-journaliers et des discontinuités dans l'enregistrement des accroissements peuvent se produire (Campana & Neilson, 1985). Le dépôt journalier des accroissements semble généralement s'arrêter chez l'adulte et/ou au cours des stades juvéniles tardifs chez les poissons longévifs (Pannella, 1971, 1980). Dans certains cas, cet arrêt apparent de la périodicité journalière peut être relié à la formation d'accroissements très étroits en dessous de la limite de détection du microscope photonique (Morales-Nin, 1988; Morales-Nin & Ralston, 1990).

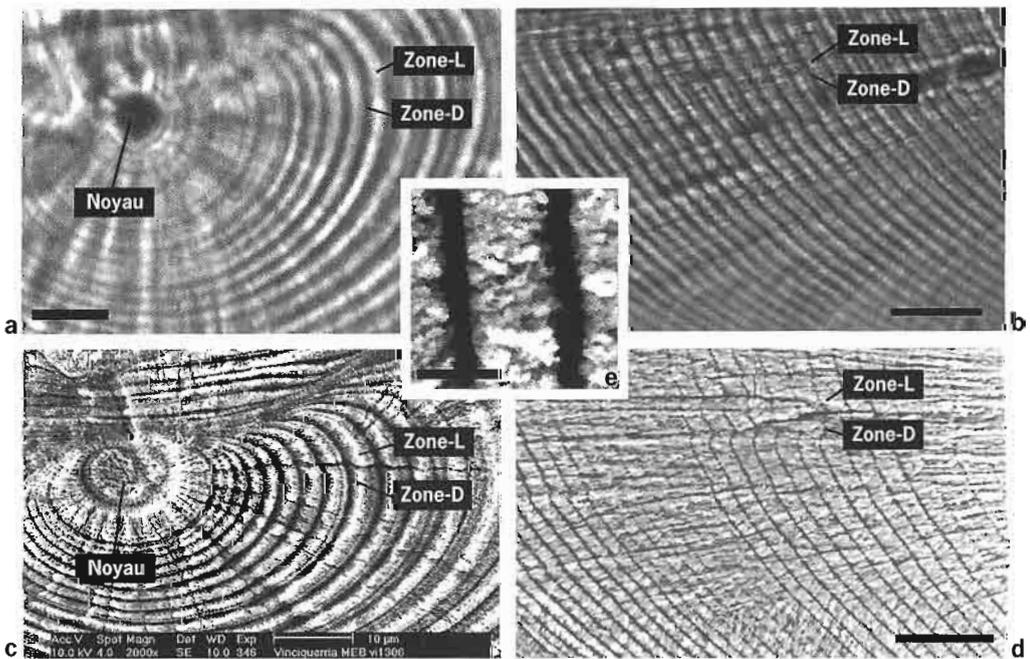


Figure II.A.5 - Coupe fine transversale d'un otolithé de *Vinciguerria nimbaria* (Photichthyidae). Les marques de croissance primaires, composées de zones-D et -L, sont clairement visibles.

a) Détail de la région du noyau sous une lumière transmise en microscopie photonique. Échelle = 10 µm (photo J. Panfili).

b) Détail de la zone de croissance adulte sous une lumière transmise en microscopie photonique. Échelle = 10 µm (photo J. Tomás).

c) Détail de la région du noyau sous le MEB après une attaque acide. Échelle = 10 µm (photo L. Marec & E. Dabas).

d) Détail de la zone de croissance adulte sous le MEB après une attaque acide. Échelle = 10 µm (photo J. Tomás).

e) Détail des marques de croissance primaires après une attaque acide sous le MEB. La zone-L est riche en cristaux d'aragonite alors que la zone-D correspond à une profonde dépression. Un accroissement primaire est égal à la somme de 1 zone-L + 1 zone-D. La figure montre une zone-L complète et 2 zones-D complètes. Échelle = 1 µm (photo L. Marec & E. Dabas).

Cependant, des investigations ultrastructurales ont aussi démontré que les accroissements primaires ne sont pas déposés quotidiennement chez certaines espèces (Volk *et al.*, 1995). Il est clair alors que l'interprétation des patrons de croissance de microstructures chez les espèces sauvages requiert une compréhension des processus physiologiques et de régulation de la croissance des otolithes et des facteurs qui les influencent (Campana & Neilson, 1985). Pour que les accroissements primaires des otolithes soient utilisables dans l'estimation de l'âge, les processus impliqués dans leur régulation doivent soit être synchronisés à des événements environnementaux cycliques, soit posséder un rythme circadien endogène, relié à un cycle extérieur journalier (Geffen, 1987). De plus, la formation des accroissements doit être indépendante de la croissance somatique. Des expériences ont montré que les otolithes continuent leur accréation même quand la croissance somatique cesse naturellement (Brothers, 1981 ; Wright *et al.*, 1990 ; Mugiya & Tanaka, 1992) ou quand elle a été artificiellement réduite (Mosegaard *et al.*, 1988). Cette continuité peut être reliée à des différences entre la croissance des systèmes sensoriels tels que l'oreille interne et celle d'autres parties de l'organisme.

Les accroissements primaires sont seulement visibles aux forts grossissements (microscopie photonique ou électronique). Ils varient en épaisseur de moins de 1 μm à 12 μm (Pannella, 1974). La largeur d'une zone-D est toujours inférieure à 1 μm (environ 200 à 500 nm) tandis que celle d'une zone-L est plus variable (de 0,4 μm à 10 μm environ). Cependant, comme les otolithes ne grandissent pas uniformément, la largeur des accroissements dépendra aussi de l'axe le long duquel sont faites les mesures et du plan de section de l'otolithe (chap. III.C). Les accroissements sub-journaliers peuvent être déposés particulièrement pendant les périodes de croissance rapide. Ces structures peuvent généralement être différenciées des accroissements journaliers car elles sont moins bien définies et distinctes que ces derniers (Campana, 1992).

2.1.1. *Primordium*

Les otolithes se développent à partir d'un ou plusieurs élément(s) granulaire(s) partiellement calcifié(s), expulsé(s) (exocytose) par les cellules épithéliales de l'oreille interne (Mann *et al.*, 1983). Ces noyaux ont été appelés granules primordiaux et ils sont les composants primaires du *primordium*. Dans les *sagittae*, les granules peuvent être composés de vaterite, tandis que le reste du *primordium* est typiquement de l'aragonite. Des exemples de ces différents types de *primordium* sont montrés dans la figure II.A.6. Le *primordium* peut être sphérique, allongé ou multiple, selon les espèces. Dans le cas de *primordia* multiples, les unités constitutives fusionnent pour former le noyau de l'otolithe (fig. II.A.6). Le terme *nucleus* a aussi été utilisé pour décrire la région du noyau de l'otolithe, bien que ce terme soit déconseillé puisqu'il a été aussi utilisé pour décrire un secteur central nettement plus large (voir glossaire).

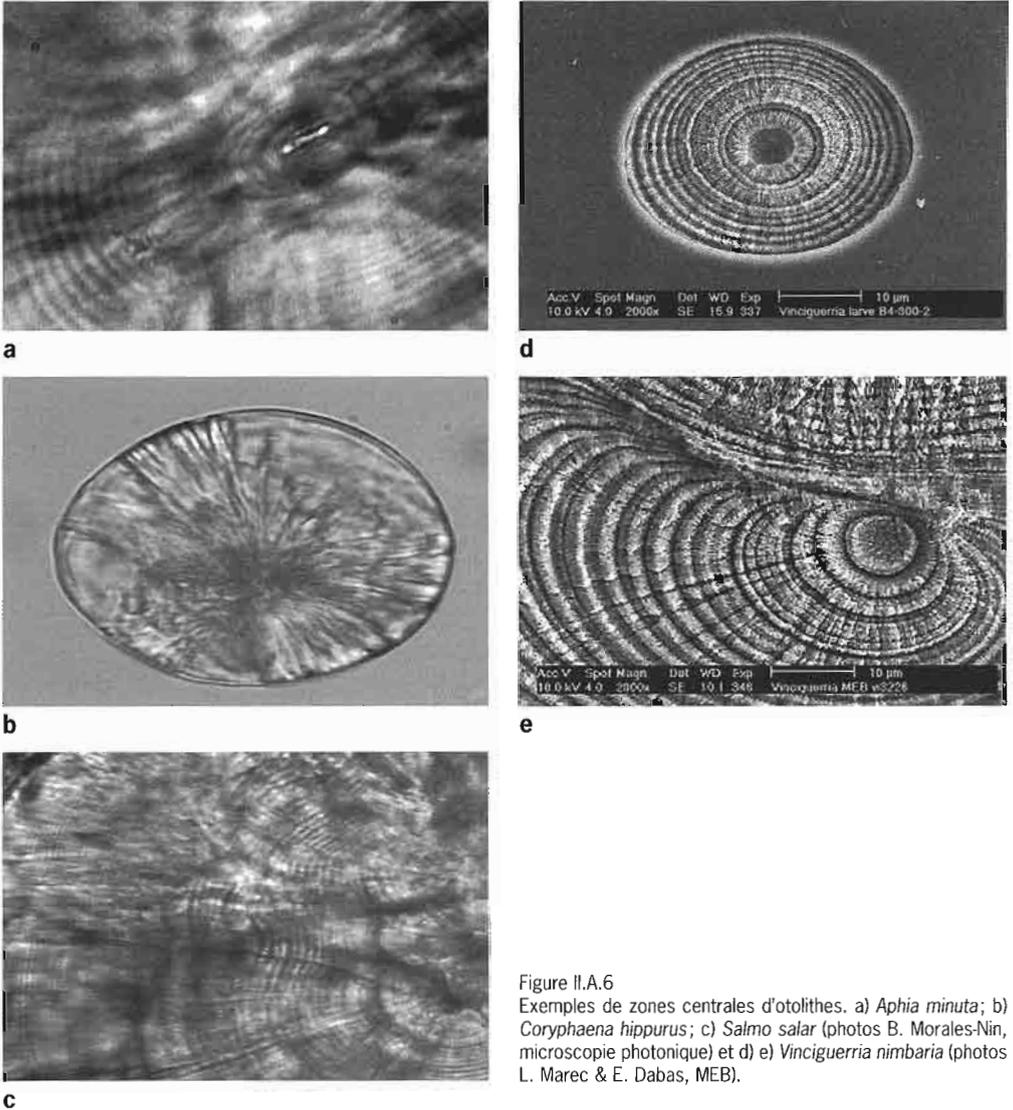


Figure II.A.6
Exemples de zones centrales d'otolithes. a) *Aphia minuta*; b) *Coryphaena hippurus*; c) *Salmo salar* (photos B. Morales-Nin, microscopie photonique) et d) e) *Vinciguerria nimbaria* (photos L. Marec & E. Dabas, MEB).

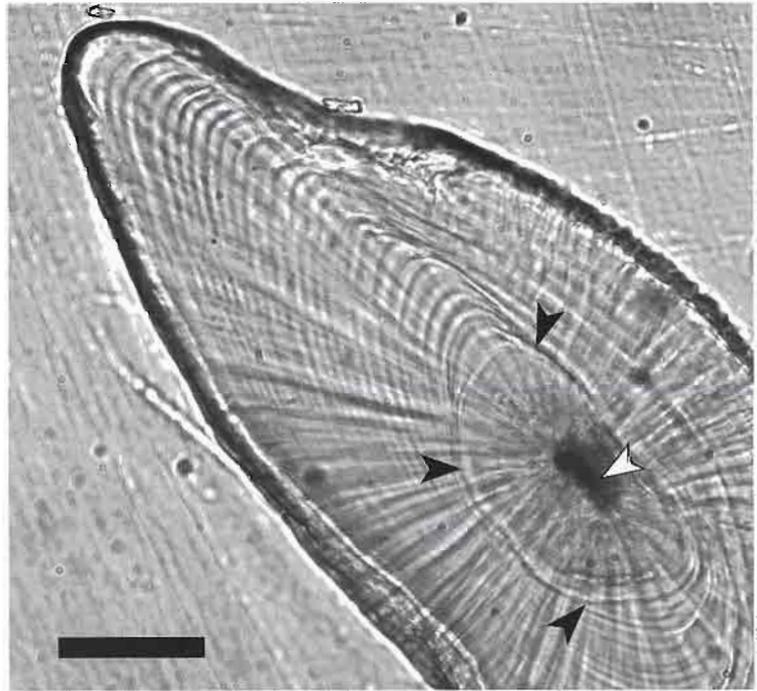
2.1.2. Premier anneau

Les otolithes se développent lors de la dernière partie du stade œuf du poisson. Quelque temps après leur formation, les otolithes grandissent continuellement et, la plupart du temps, sans marques d'accrétion caractéristiques. Le moment où le dépôt de ces marques commence à se différencier varie d'une espèce à l'autre. Ce point temporel est souvent marqué par une structure distincte, habituellement une forte discontinuité (fig. II.A.6d, e). Il y a une confusion considérable à propos de la terminologie utilisée pour nommer cette structure comme pour ce qui concerne sa réelle signification biologique et temporelle. Ce premier accroissement peut ne pas avoir la même base physiologique

chez toutes les espèces. Cependant, il y a des avantages pratiques dans une standardisation des procédés de comptage utilisant cette marque comme point de référence (Neilson & Geen, 1982).

Chez plusieurs espèces, les accroissements ont été signalés comme s'étant assurément formés avant l'éclosion (fig. II.A.7). Il n'a pas été démontré de façon définitive si ces accroissements sont de véritables structures ou simplement des artefacts optiques. L'opacité des accroissements d'avant éclosion est assez différente de celle des accroissements primaires post-éclosion (fig. II.A.7). Ces structures sont plus apparentes chez de jeunes larves à petits otolithes. L'éclosion n'est pas réellement un stade de développement chez la larve de poisson, puisqu'une même ponte peut éclore à différents stades de développement morphologique. Chez de nombreuses espèces, le premier accroissement ou la première discontinuité de l'otolithe peut se former le jour de l'éclosion et on peut alors parler de marque d'éclosion.

Figure II.A.7
Exemple de marque d'éclosion sur l'otolithe de *Megalechis thoracata*. Les flèches noires indiquent la marque d'éclosion et la flèche blanche le noyau avec ses multiples *primordia*. La discontinuité due à l'éclosion a été localisée après une expérience de validation. Quelques micro-accroissements sont aussi visibles à l'intérieur de cette discontinuité et correspondent donc à des événements précédant la naissance. Échelle = 50 µm. (photo D. Ponton).



Cependant, chez d'autres espèces, le premier accroissement peut être formé en association avec un stade de développement particulier, que l'embryon soit éclos ou non. Par exemple, chez *Solea solea*, l'accroissement qui se forme quand la bouche s'ouvre est plus proéminent qu'aucun des accroissements précédents, et cet accroissement est utilisé comme base de référence pour le comptage (Lagardère, 1989). Chez *Clupea harengus*, le premier accroissement en relief est formé bien après l'éclosion et vers la fin du stade de résorption du sac vitellin (Geffen, 1982). Dans les deux espèces, le rythme du dépôt de ces accroissements varie et dépend de la vitesse du développement. Dans les otolithes de

Siluriformes juvéniles comme *Hoplosternum littorale* et *Megalechis thorcata*, la discontinuité d'éclosion est bien différenciée (Ponton *et al.*, 2001) (fig. II.A.7). Chez ces espèces, les larves sont bien développées à l'éclosion et les otolithes exhibent quelques accroissements avant la discontinuité d'éclosion (fig. II.A.7). Chez un bon nombre d'autres espèces, la transition alimentaire (prise de nourriture exogène) est représentée par un accroissement en relief. Des exemples de premiers accroissements cités dans la littérature sont présentés dans le tableau II.A.

Tableau II.A - Références bibliographiques à propos des marques de croissance des otolithes associées à des événements du cycle de vie chez différentes espèces. Ces marques correspondent aux *sagittae*, sauf pour celles qui sont suivies d'un astérisque et qui concernent les *lapilli* (d'après Wright *et al.*, 1998).

Espèce	Terme utilisé par l'auteur	Terminologie alternative	Évènement du cycle de vie concerné (temps)	Référence
<i>Ammodytes marinus</i>	Yolk-sac absorption check		Résorption du sac vitellin	(Wright, 1993)
	Secondary growth centre	Accessory <i>primordia</i>	Métamorphose et installation	(Wright, 1993)
<i>Anguilla anguilla</i>	First ring	First check	Fin de la phase vitelline	(Lecomte-Finiger, 1992)
	Deep groove Transition ring	Transition ring	Première ingestion Fin de métamorphose	(Lecomte-Finiger, 1992) (Lecomte-Finiger, 1992)
<i>Chromis atripectoralis</i> *	Check	Settlement check	Moment d'installation	(Thorrold & Milicich, 1990)
<i>Clupea harengus</i>	First heavy ring	First check	Fin de la phase vitelline	(Geffen, 1982)
	Hatch check	First check	Fin de la phase vitelline	(Moksness, 1992)
	Hatch check	First check	Entre l'éclosion et la résorption du sac vitellin	(Hoei, 1997)
<i>Engraulis encrasicolus</i>	Check ring	First check	Fin de la phase vitelline	(Palomera <i>et al.</i> , 1988)
<i>Gadus morhua</i>	Nuclear check	First check	Éclosion	(Bolz & Lough, 1983)
	Yolk-sac check		Fin de la phase vitelline	(Bolz & Lough, 1983)
	Hatch check	First check	Éclosion	(Campana, 1989)
	Check	First check	Éclosion	(Geffen & Nash, 1995)
<i>Halichoeres tenuispinis</i>	Hatch check	First check	Éclosion	(Kishiro & Nakazono, 1991)
<i>Hoplosternum littorale</i> *	Hatch check	First check	Éclosion	(Ponton <i>et al.</i> , 2001)
<i>Melanogrammus aeglefinus</i> *	Nuclear check	First check	Éclosion	(Bolz & Lough, 1983)
	Yolk-sac check		Fin de la phase vitelline	(Bolz & Lough, 1983)
	Hatch check (two)		Éclosion	(Campana, 1989)
<i>Merluccius merluccius</i>	Accessory <i>primordia</i>	Accessory <i>primordia</i>	Métamorphose et installation	(Morales-Nin & Aldebert, 1997)
<i>Microstomus pacificus</i>	Accessory <i>primordia</i>	Accessory <i>primordia</i>	Métamorphose (migration de l'œil jusqu'à l'installation)	(Toole <i>et al.</i> , 1993)
Myctophidae (55 espèces)	Accessory <i>primordia</i>	Accessory <i>primordia</i>	Transformation larvaire	(Linkowski, 1991)
<i>Oncorhynchus keta</i>	Hatching check	First check	Éclosion	(Volk <i>et al.</i> , 1984)
	Seawater transfer ring	Transition ring	Passage à l'eau de mer	(Volk <i>et al.</i> , 1984)
<i>Oncorhynchus gorbushcha</i>	Transition zone	Transition zone	Passage à l'eau de mer	(Volk <i>et al.</i> , 1995)
	Emergence check	Emergence check	Émergence du fond	(Mortensen & Carls, 1995)
<i>Oncorhynchus nerka</i>	Hatch ring	First check	Éclosion	(Marshall & Parker, 1982)
	First feeding check		Période critique	(Marshall & Parker, 1982)

<i>Oreochromis niloticus</i>	Hatching check	First check	1 jour après l'éclosion	(Zhang & Runham, 1992a)
<i>Pleuronectes americanus</i>	Accessory growth centres	Accessory <i>primordia</i>	Durant et pendant la métamorphose	(Jearld <i>et al.</i> , 1993)
	Secondary growth centre	Accessory <i>primordia</i>	Changement d'habitat Métamorphose	(Sogard, 1991)
<i>Pleuronectes platessa</i>	Accessory <i>primordia</i>	Accessory <i>primordia</i>	Métamorphose	(Al-Hossaini <i>et al.</i> , 1989)
	Accessory <i>primordia</i>	Accessory <i>primordia</i>	Installation	(Karakiri & Westernhagen, 1989)
<i>Pollachius virens</i>	Hatch check	First check	Éclosion	(Campana, 1989)
<i>Pomacentrus coelestis</i> *	Check	Settlement check	Installation	(Thorrold & Milicich, 1990)
<i>Scophthalmus maximus</i>	First heavy ring	First check	Fin de la phase vitelline	(Geffen, 1982)
<i>Sebastes jordani</i>	Extrusion check	First check	Parturition	(Ralston <i>et al.</i> , 1996)
<i>Solea solea</i>	Hatching check	First check	Après l'éclosion	(Lagardère, 1989)
	Mouth opening check		Première prise de nourriture	(Lagardère, 1989)
	Yolk-sac exhaustion check		Jeûne larvaire	(Lagardère, 1989)
<i>Theragra chalcogramma</i>	Check	Check	Changements physiologiques	(Nishimura, 1993)
<i>Trachyrhynchus trachyrhynchus</i>	Accessory <i>primordia</i>	Accessory <i>primordia</i>	Migration	(Massuti <i>et al.</i> , 1995)
<i>Vinciguerria nimbaria</i>	Hatching check	First check	Éclosion	(Tomás & Panfili, 2000)

Comme la terminologie est issue de la littérature anglophone, les termes en anglais sont laissés dans le tableau, et une traduction est donnée ci-après : Accessory growth centres = centres de croissance accessoires ; Accessory *primordia* = *primordia* accessoires ; Deep groove = profonde dépression ; Emergence check = discontinuité d'émergence ; First check = première discontinuité ; First feeding check = discontinuité de première prise de nourriture ; First heavy ring = premier anneau marqué ; First ring = premier anneau ; Hatch check = discontinuité d'éclosion ; Mouth opening check = discontinuité d'ouverture de la bouche ; Nuclear check = discontinuité nucléaire ; Secondary growth centre = centre de croissance secondaire ; Settlement check = discontinuité d'installation ; Transition ring (zone) = anneau de transition ; Yolk-sac (absorption) check = discontinuité de résorption du sac vitellin.

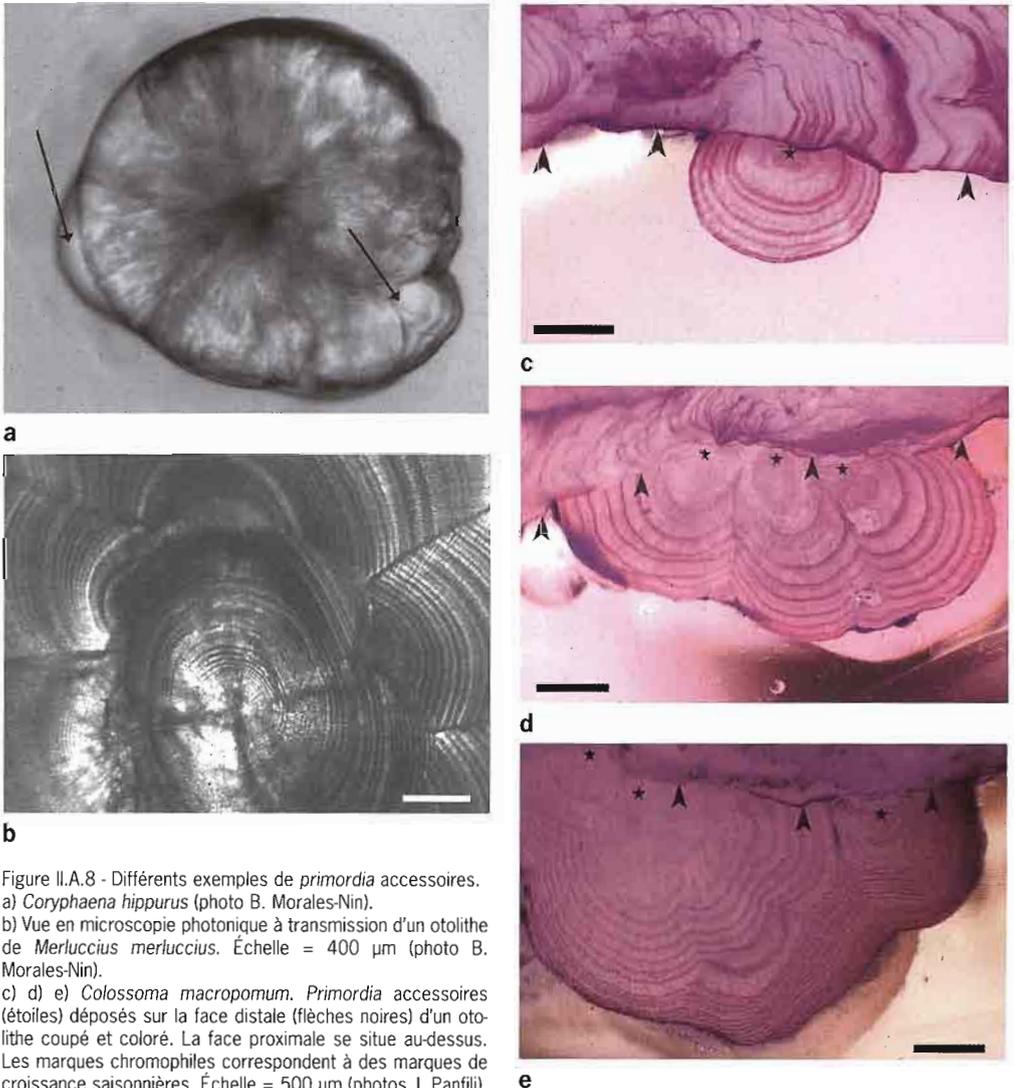
Les otolithes de Salmonidae montrent un certain nombre d'accroissements proéminents, chacun d'entre eux étant relié à un évènement différent du développement. Les premiers accroissements qui entourent l'ensemble des *primordia* coïncident avec la vascularisation du sac vitellin et la différenciation des globules rouges (érythrocytes). Il existe un accroissement proéminent qui marque l'éclosion et un autre qui marque l'émergence du substratum. Lors d'éclosions en élevage, des discontinuités correspondant à la première prise alimentaire ont aussi été observées. Pour les études écologiques, les estimations d'âge sont basées sur des comptages à partir de la marque d'émergence.

2.2. Centres de croissance accessoires

Durant la phase larvaire, la plupart des otolithes continuent de s'accroître autour du *primordium*. Cependant, pour les otolithes de nombreuses espèces, des centres d'accrétion additionnels se forment à des stades de développement plus tardifs et donnent naissance à de nouvelles séries d'accroissements. Ces nouveaux plans de croissance résultent du développement de centres de croissance accessoires. Ces der-

niers sont particulièrement communs dans le plus gros otolithe (*sagitta*) de la plupart des espèces et dans le *lapillus* des Cyprinidae ou l'*asteriscus* des Ostariophyses. Les centres de croissance accessoires sont souvent référencés comme des *primordia* accessoires. Cependant, le terme « centre de croissance accessoire » est préférable dans le but d'éviter la confusion avec les *primordia* qui contiennent les granules primordiaux multiples. La figure II.A.8a, b montre des exemples de *primordia* accessoires chez deux espèces marines.

Puisque la forme de l'otolithe influence la sensibilité aux fréquences sonores (Popper & Hoxter, 1981), la formation de centres de croissance accessoires peut être liée à une transition de la physiologie, de l'habitat ou du comportement. Ces structures sont trouvées chez de nombreuses espèces qui ont entrepris un net changement d'habitat au moment de

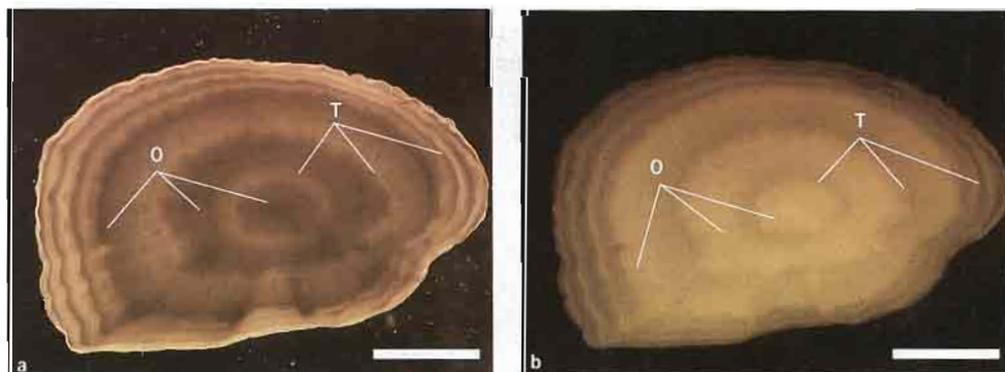


la transition du stade larvaire au stade juvénile. Des exemples de ces structures chez des poissons juvéniles sont montrés dans le tableau II.A. Des *primordia* accessoires peuvent aussi être trouvés sur les otolithes des adultes. Par exemple, ils sont très communs sur la face distale de l'*asteriscus* de *Colossoma macropomum*, où ils apparaissent comme des structures autonomes qui grandissent en même temps que l'otolithe, montrant aussi des accroissements saisonniers (fig. II.A.8c, d, e).

2.3. Accroissements saisonniers et annuels

Des accroissements saisonniers, aussi appelés zones, marques, anneaux ou *annuli* saisonniers, sont souvent distinguables sur les otolithes. Ils sont souvent visibles chez les espèces tropicales comme chez les espèces tempérées. Ces zones sont parfois distinguables sur des otolithes entiers (sans traitement préalable) et/ou après une préparation adaptée (chap. VIII). Les deux principaux types de marque saisonnière ont des opacités différentes. En lumière transmise, les zones opaques sont sombres et les zones translucides sont lumineuses et, en lumière réfléchie, les zones opaques sont lumineuses et les zones translucides sombres (fig. II.A.9). En plus de leur apparence macroscopique, les deux types de zone saisonnière diffèrent par la largeur des accroissements primaires qui les constituent, l'épaisseur et la taille des cristallites d'aragonite (Moraes-Nin, 1987a), la fréquence des discontinuités de croissance et des couches organiques (Mugiya *et al.*, 1985), le rapport carbonate de calcium-matrice protéique (Casselman, 1974, 1982, 1987; Mugiya, 1984) et les quantités d'éléments traces (Casselman, 1982, 1983; Kalish, 1989, 1991a). C'est la combinaison de tous ces facteurs qui contribue aux différences de densités optiques de ces deux types de zone. Les zones saisonnières peuvent atteindre quelques centaines de microns de largeur et sont parfois visibles à l'œil nu ou avec de faibles grossissements (10x - 40x). La différence du taux de matrice organique dans les deux zones peut être soulignée soit par une opération de brûlage qui transforme la matrice organique en une marque opaque brune, soit après coloration avec des colorants spécifiques (fig. II.A.10 et chap. VIII).

Figure II.A.9
Otolithe entier de plie commune, *Pleuronectes platessa* (47 cm LT), montrant les zones opaques (O) et translucides (T) observées sous une lumière transmise (a) et sous une lumière réfléchie sur un fond noir (b). Les zones opaques sont sombres sous une lumière transmise et lumineuses sous une lumière réfléchie, et c'est l'inverse pour les zones translucides. Échelle = 2 mm (photos J. Panfili).



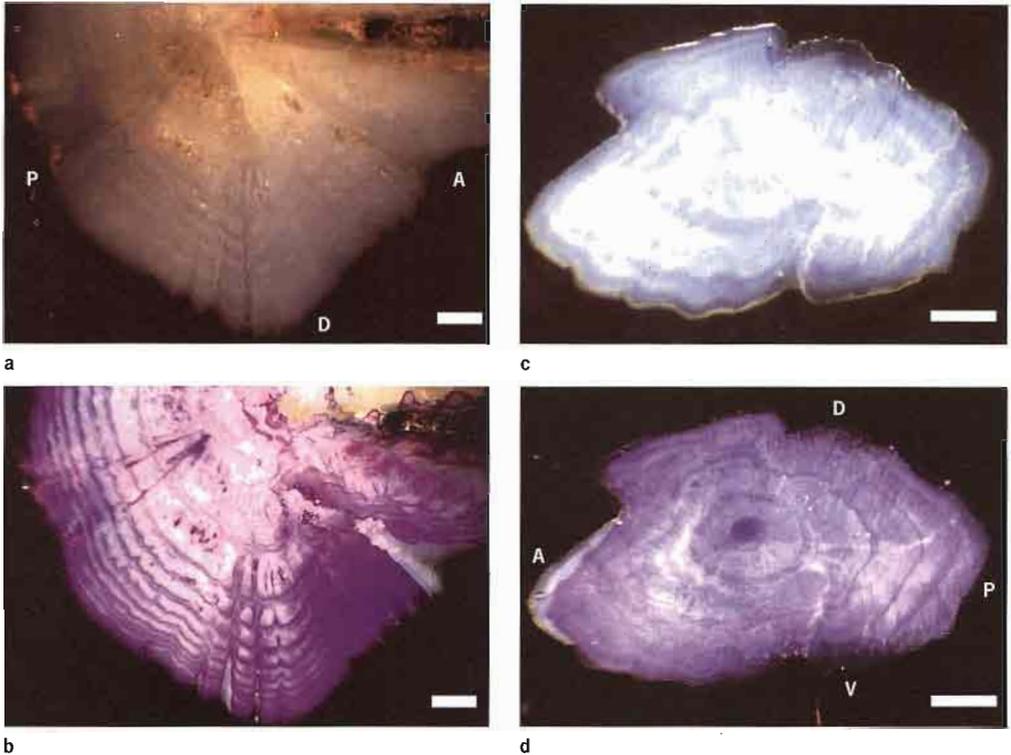


Figure II.A.10 - Amélioration de la visualisation des zones de croissance de l'otolithe après coloration. A, antérieur; D, dorsal; P, postérieur; V, ventral (photos J. Panfili).

a) Section sagittale d'un otolithe (*asteriscus*) de *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae, 63 cm SL). Régions centrale et dorsale observées en lumière réfléchie sur un fond noir. Échelle = 1 mm.

b) Section sagittale de l'otolithe (a) de *Colossoma macropomum* après attaque acide et coloration avec du bleu de toluidine. Régions centrale et dorsale observées en lumière réfléchie sur un fond noir. Les zones de croissance sont nettement plus contrastées. Échelle = 1 mm.

c) Section sagittale d'un otolithe de *Anguilla anguilla* (Anguillidae, 55 cm TL) observée en lumière réfléchie sur fond noir. Échelle = 500 μ m.

d) Section sagittale de l'otolithe (c) de *Anguilla anguilla* observée en lumière réfléchie sur fond noir, après une attaque acide et une coloration avec du bleu de toluidine. Échelle = 500 μ m.

Des accroissements annuels, aussi appelés marques ou anneaux annuels ou *annuli*, sont souvent interprétés lorsque l'on prend en compte la succession de plusieurs accroissements saisonniers. De nombreux poissons de régions tempérées et tropicales montrent des accroissements annuels comprenant, normalement, des zones opaques et translucides. Cependant, chez quelques espèces tropicales, des accroissements bisannuels ont été signalés, probablement reliés à des changements multi-annuels des facteurs environnementaux et hydrologiques (Yosef & Casselman, 1995).

2.4. Structures liées à des cycles lunaires

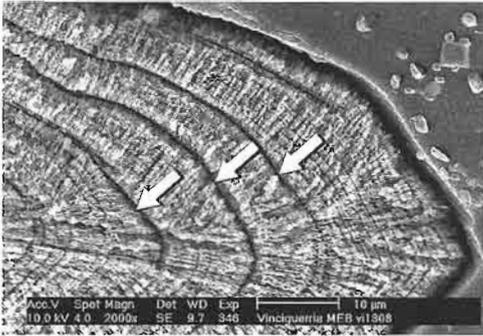
Les otolithes de poissons juvéniles et adultes présentent souvent un patron d'accroissements épais séparés par de nombreux accroissements moins proéminents. Ce patron peut se répéter régulièrement et a été supposé refléter des cycles lunaires. Les meilleurs exemples de marques

de type lunaire ont été observés sur des otolithes de poissons plats juvéniles, sur une assez large gamme d'espèces. Des patrons de structures présumés d'origine lunaire ont aussi été décrits sur des otolithes de poissons bathypélagiques, mettant en question la cause réelle de ces marques et le processus cyclique (physiologique ou comportemental) qu'ils peuvent refléter.

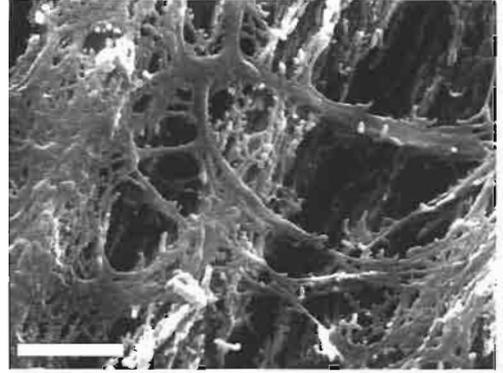
La terminologie utilisée en référence à des patrons de croissance supposés de type lunaire est variable (Pannella, 1980). Les motifs « lunaires » se réfèrent généralement à des séries ou séquences d'accroissements, chacun commençant par un accroissement proéminent, très contrasté, plus souvent appelé « discontinuité » (voir § 2.5) sans égard à la cause de sa formation. La discontinuité est suivie d'un ensemble d'accroissements à faible contraste. Les largeurs des zones-L de cette discontinuité et des accroissements suivants sont usuellement uniformes. Plusieurs auteurs ont utilisé ces patrons répétitifs pour des estimations de l'âge, sur la base de l'affirmation que chaque séquence représente un cycle lunaire de 14 jours. Peu parmi eux ont essayé de découvrir la source du signal environnemental qui imprime ce patron distinctif. Campana (1987) a décrit des organisations alternées d'accroissements à fort et faible contraste, chacune contenant approximativement soit sept soit quatorze accroissements. La formation de ces patrons correspond bien aux variations de cycles tidal et lunaire. Geffen & Nash (1995) ont montré que le patron de croissance chez la plie, *Pleuronectes platessa*, est formé de sept accroissements et que la discontinuité qui sépare les accroissements normaux coïncide avec les dates à mi-chemin entre les marées de vives-eaux et les marées de mortes-eaux. Linkowski (1996) a aussi décrit un cycle lunaire dans les accroissements primaires de quatre espèces du genre *Hygophum* dans l'Atlantique Nord.

2.5. Discontinuités structurales

Des discontinuités structurales, aussi appelées simplement « discontinuités » (“check” en anglais), interrompent l'arrangement régulier des accroissements primaires (Pannella, 1980; Campana & Neilson, 1985; Gauldie, 1987; Morales-Nin, 1987a; Gauldie & Nelson, 1988). Elles peuvent interrompre la succession des accroissements saisonniers ou journaliers d'une façon cyclique ou acyclique. Elles peuvent être distinguées avec de forts ou parfois de faibles grandissements, mais en général après une préparation préalable. Une discontinuité affecte le patron de croissance ou la direction de croissance. Elles sont bien visibles, généralement après une attaque acide superficielle, comme de profondes dépressions à la surface de l'otolithe et, au microscope, elles apparaissent comme de larges zone-D (fig. II.A.11a). La matrice organique est généralement abondante dans ces discontinuités (fig. II.A.11b) (Morales-Nin, 1986b), ce qui explique pourquoi elles sont par ailleurs souvent colorables après une attaque acide de surface par certains colorants histologiques (Pannella, 1980). Une discontinuité précédée par des accroissements de largeur décroissante peut correspondre à un anneau saisonnier (fig. II.A.11c).



a

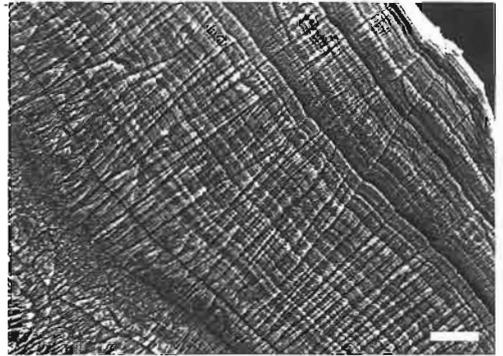


b

Figure II.A.11 - Discontinuités présentes dans les otolithes.
a) Discontinuités (flèches) dans l'arrangement régulier des micro-accroissements primaires des otolithes de *Vinciguerria nimbaria* (Photichthyidae) (photo J. Panfili).

b) Image en microscopie électronique à balayage d'un otolithe déminéralisé de *Dicentrarchus labrax* montrant la matrice organique et des groupes de fibres transversales correspondant à des discontinuités. Échelle = 1 µm (photo B. Morales-Nin).

c) Image en microscopie électronique à balayage d'un otolithe déminéralisé de *Dicentrarchus labrax* montrant une diminution de la largeur des micro-accroissements et la discontinuité structurale correspondant à une marque de croissance saisonnière. Échelle = 10 µm (photo B. Morales-Nin).



c

Les discontinuités sont rencontrées chez toutes les espèces et sont probablement induites par des troubles ou des stress affectant les individus dans leur biotope. Pannella (1980) a proposé une classification des discontinuités selon leurs structures et causes présumées, bien que sans véritable justification. Cependant, des recherches ont démontré que certaines discontinuités étaient liées à des événements ontogéniques, tels qu'un changement de vie pélagique vers une vie démersale ou le recrutement chez les espèces coralliennes. Par exemple, le patron du rythme de croissance et les discontinuités chez *Merluccius capensis*, *M. paradoxus* et *Genypterus capensis* sont liés à des comportements d'activité et différentes stratégies de vie (Morales-Nin, 1987b). Comme une discontinuité représente une interruption de la croissance d'une durée indéterminée, son interprétation peut être ambiguë et peut poser des problèmes pour l'estimation de l'âge en jours (Campana & Neilson, 1985). Quand la durée de formation d'une discontinuité est connue, par exemple lors d'un stress hivernal, de telles structures peuvent être utiles pour estimer l'âge en années.

2.6. Zones de croissance secondaires

Chez de nombreuses espèces, l'estimation des accroissements annuels est rendue difficile par la présence de zones « secondaires » apériodiques. Ce terme s'applique à un éventail de zones non saisonnières

caractérisées par différentes opacités et épaisseurs. Les deux principaux types de zones secondaires sont les faux anneaux et les anneaux dédoublés. Les faux anneaux apparaissent comme des zones translucides à l'intérieur d'une zone opaque. Ils sont particulièrement communs au cours de la première année de croissance de l'otolithe et, dans de nombreux cas, ils se confondent aisément avec le premier accroissement annuel (fig. II.A.12). Par exemple, en fonction de la période de reproduction chez *Trachurus mediterraneus*, le groupe d'âge 0 présente quatre types d'otolithe qui diffèrent par la présence, le nombre ou l'apparence des faux anneaux (Karlou Riga, 2000). Les anneaux dédoublés apparaissent comme des structures doubles, presque comme s'ils étaient composés de deux fines bandes translucides séparées par une très fine bande opaque. Chez certaines espèces, l'accroissement annuel est composé d'anneaux multiples, avec une zone étroite translucide bien définie suivie par du matériel très opaque (fig. II.A.13).

Les difficultés pour distinguer une zone secondaire d'une véritable zone saisonnière sont une des causes majeures d'erreurs dans la lecture d'âge. Il n'y a actuellement pas de critère objectif pour identifier les structures secondaires, en dépit des revues extensives sur cette question. Peu de choses sont connues sur les causes de ces structures secondaires, bien que de nombreux facteurs incluant la température, la prise de nourriture et les transitions ontogéniques aient été impliqués dans leur formation.

Des structures de croissance secondaires sont aussi présentes à l'échelle des accroissements primaires chez les espèces à traits de vie particuliers, comme les Myctophidae et les espèces voisines qui commencent leur vie dans les niveaux superficiels de la colonne d'eau et qui, plus tard, effectuent des migrations verticales journalières entre les eaux profondes le jour et les eaux superficielles la nuit. Des microstructures journalières secondaires ont été décrites chez trois espèces de Myctophidae tropicaux (Gartner, 1991) et chez *Vinciguerria nimbaria* (Tomás & Panfili, 2000). Ces accroissements secondaires apparaissent être des marques sub-journalières. Il est donc important de décrire soigneusement toutes les structures observées en utilisant la terminologie standard (voir glossaire) à cause de la possible variation des marques de croissance discutée auparavant.

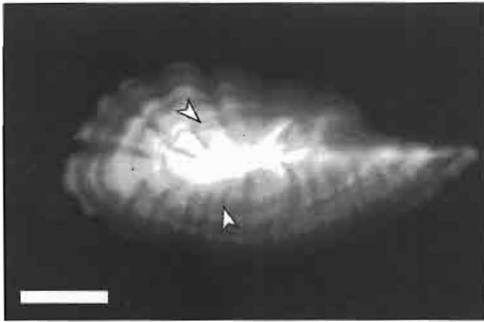
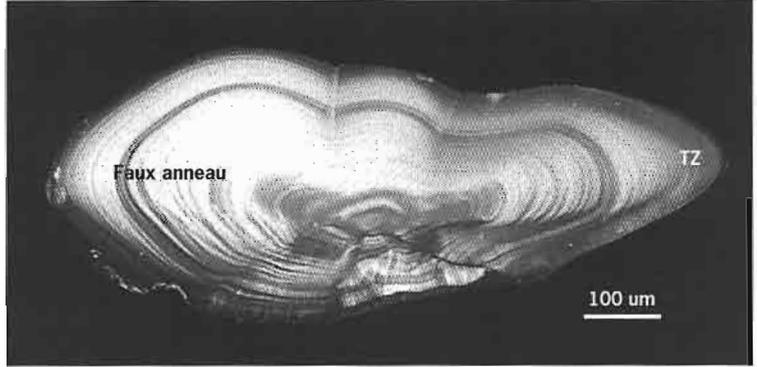
3. Régulation du dépôt des accroissements

3.1. Influences exogènes sur les accroissements périodiques primaires

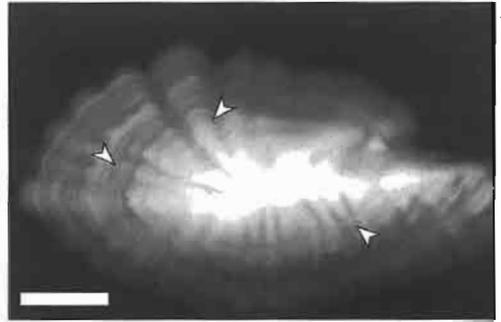
Plusieurs études ont examiné les relations entre la formation des accroissements et des facteurs environnementaux spécifiques : un certain nombre de facteurs de synchronisation possibles ont donc été proposés. Pannella (1980) a suggéré que la périodicité des accroissements pouvait être liée au nombre de pics de l'activité alimentaire. La fréquence de l'alimentation a été rapportée comme influençant la périodicité des accroissements chez quelques espèces, par exemple *Oncorhynchus tshawytscha* (Neilson & Geen, 1982) et *Pleuronectes platessa*

Figure II.A.12

Faux anneau (« false ring ») dans la sagitta d'un merlan, *Merlangius merlangus*, âgé d'une année. La zone translucide (TZ) d'un *annulus* est également montrée à titre de comparaison. Échelle = 0,1 mm (photo P.J. Wright).



a



b

Figure II.A.13

Faux anneaux. Échelle = 1 mm (photos B. Morales-Nin).

a) Sagitta de *Trachurus trachurus capensis* montrant des zones multiples (flèches) dans la région du noyau.

b) Zones multiples de croissance (flèches) dans un otolithe de *Trachurus trachurus capensis*.

(Al-Hossaini & Pitcher, 1988), mais pas chez d'autres comme *Lepomis macrochir* (Taubert & Coble, 1977), *Oncorhynchus nerka* (Marshall & Parker, 1982), *Platichthys stellatus* (Campana, 1983) et *Salmo salar* (Wright *et al.*, 1992). De plus, chez des poissons maintenus à jeun, des accroissements journaliers continuent à se former (Taubert & Coble, 1977 ; Marshall & Parker, 1982 ; Campana, 1983 ; Wright *et al.*, 1990). Tout ceci paraît assez faible pour supporter l'hypothèse de Pannella d'une relation étroite entre périodicité des accroissements journaliers et pics d'activité alimentaire.

La croissance de l'otolithe est sensible à la température chez nombre d'espèces (Brothers, 1981 ; Mosegaard *et al.*, 1988) ; Brothers a d'ailleurs suggéré que les fluctuations de température ont une influence majeure sur la formation des accroissements chez les poissons des cours d'eau tempérés. Des marquages d'otolithes induits par un choc thermique ont démontré comment une forte et soudaine variation de température (choc thermique) peut perturber la croissance de l'otolithe (Volk *et al.*, 1994). Gauldie & Nelson (1990a) ont proposé un système de régulation de l'anhydrase carbonique pour la formation de l'otolithe. Un tel système chimique aurait la température comme principal facteur externe de contrôle. Cependant, le rôle de la matrice organique dans la formation de l'otolithe n'est pas encore bien compris et ce rôle pourrait aussi être étroitement lié à des causes externes variées (chap. II.A.3.4).

Les cycles jour-nuit apparaissent nécessaires pour la formation des accroissements quotidiens chez les larves de *Lepomis macrochir* (Taubert & Coble, 1977) et de *Fundulus heteroclitus* (Radtke & Dean, 1982). Campana & Neilson (1985) ont suggéré qu'une telle dépendance des transitions jour-nuit peut être médiée par l'âge, de la même façon que les cycles jour-nuit apparaissent être essentiels pour le dépôt des accroissements journaliers chez les larves mais pas pour les stades juvéniles de *Porichthys notatus* (Campana, 1984). De nombreux poissons marins de profondeur montrent des accroissements microscopiques avec des rythmes groupés, une structure et une épaisseur similaires à celles trouvées chez des poissons d'eaux peu profondes et ceci en dépit de l'absence de lumière et de rythme alimentaire circadien (Gauldie, 1987, 1990; Lombarte & Morales-Nin, 1989; Morales-Nin *et al.*, 1996a). Chez ces espèces, de petites variations des courants de marée le long du talus continental ou des migrations verticales des proies planctonophages peuvent agir comme un synchroniseur journalier.

Dans une revue des expériences impliquant le contrôle des conditions environnementales, Campana & Neilson (1985) ont suggéré que les rythmes circadiens endogènes contrôlant l'accrétion des otolithes étaient entraînés par la photopériode, mais qu'ils pouvaient être masqués par des cycles de température infra-circadiens ou les phases d'alimentation. Si la périodicité des accroissements est contrôlée par un rythme circadien endogène, alors le dépôt des accroissements pourrait être supposé continuer en l'absence de stimulus « moteur », bien que l'absence d'un tel stimulus devrait éventuellement conduire à une divergence de la vitesse de dépôt journalier. Plusieurs études ont montré un taux de dépôt d'accroissements journaliers continu en l'absence d'un stimulus potentiel de synchronisation tel que la transition jour-nuit. Des taux journaliers constants ont été notés chez des poissons juvéniles élevés sous condition de lumière constante (Campana, 1984), dans l'obscurité (Radtke & Dean, 1982) ou en l'absence de variations cycliques de lumière, de température ou de fréquence d'alimentation (Wright *et al.*, 1991). Cependant, les expériences de manipulation des paramètres environnementaux ne fournissent pas des évidences expérimentales non ambiguës de cycles endogènes de régulation de la formation des marques, puisque les poissons peuvent avoir un rythme endogène de la prise de nourriture. De plus, aucune étude n'a démontré une divergence d'un simple accroissement par jour, comme cela aurait pu être prédit quand il n'y a pas de stimulus d'entraînement, bien que cela puisse refléter la courte durée (< 30 jours) de ces expériences.

Un fait à l'appui d'une transition jour-nuit comme signal synchroniseur provient d'expériences de traceurs radioactifs à l'échelle ultrastructurale. Tanaka *et al.* (1981) ont démontré que, chez *Tilapia nilotica*, l'ordre de formation des zones-L et -D dépendait de la photopériode car une inversion du cycle jour-nuit induit un renversement de l'ordre des deux couches. En utilisant du radio-calcium (^{45}Ca) pour étudier *in vivo* la calcification de l'otolithe chez *Carassius auratus*, Mugiya *et al.* (1981) ont

trouvé un cycle journalier apparent de la calcification qui était associé à la photopériode. Cependant, ces expériences étaient imparfaites car aucune considération n'a été envisagée sur le possible effet de l'équilibre isotopique sur l'incorporation du ^{45}Ca dans l'otolithe. Plus tard, sur des expériences *in vivo* impliquant des juvéniles de *Salmo salar* soumis à une période d'équilibre isotopique, on a démontré que la calcification de l'otolithe était synchronisée par la transition jour-nuit (Wright *et al.*, 1992). Les expériences de radio-marquage isotopique ont aussi démontré des cycles journaliers à la fois de la calcification et de la formation de la matrice organique associés avec la photopériode, à l'intérieur des saccules isolés (Mugiya, 1987).

3.2. Régulation exogène de la périodicité annuelle des accroissements

À l'heure actuelle, la régulation de la formation des accroissements annuels dans les otolithes n'est pas bien comprise, bien que l'on affirme communément que les marques saisonnières soient liées à la saisonnalité de la croissance corporelle et aux facteurs de l'environnement. Une première façon de voir consiste à admettre que les variations saisonnières dans la formation de l'otolithe sont reliées à des changements physiologiques cycliques pour le poisson tels que le démarrage de l'activité de reproduction ou de l'accélération de la croissance somatique au printemps (Johnson, 1983 ; Fowler, 1990). Une proposition alternative est que la physiologie de la formation de l'otolithe est indépendante des autres processus somatiques et reproductifs qui ont lieu chez le poisson et qu'elle est une réponse physiologique aux variations environnementales (Loubens, 1978 ; Fowler & Doherty, 1992). Des évidences pour ou contre ces hypothèses prennent généralement la forme de corrélations dans la chronologie des différents processus, mais les corrélations sont usuellement trop faibles et insuffisantes pour permettre à l'une ou l'autre des hypothèses d'être rejetée. La formation de zones en relation avec l'activité de reproduction est controversée étant donné que, chez plusieurs espèces, la zone opaque coïncide avec le moment de l'année où les poissons sont en pleine reproduction alors que, chez d'autres, la formation de zones translucides régulières a été reliée à la maturation et au frai. Cependant, la formation de zones est fréquemment observée chez les stades juvéniles de nombreuses espèces de poissons (Johnson, 1983 ; Fowler, 1990). De plus, il est difficile d'envisager comment l'activité de reproduction peut directement affecter la composition de l'otolithe puisque, bien que l'activité de reproduction des femelles induise une élévation de la concentration du calcium plasmatique, ceci prend la forme d'une liaison avec une protéine qui n'affecte pas la quantité de calcium ionique de l'endolymphe (Kalish, 1991a). À ce jour, aucune étude expérimentale n'a été tentée pour faire la distinction entre le calcium, les composants organiques plasmatiques et la formation de l'otolithe.

La saison de formation des zones opaque et translucide peut changer durant le développement et en relation avec la distribution géographique. Chez *Gadus morhua* de la mer du Nord, par exemple, la zone

opaque se forme plus tôt au sud de l'ère de répartition de cette espèce et devient progressivement plus tardive en remontant vers le nord. Dans chaque stock, les poissons les plus jeunes commencent le dépôt de la zone opaque jusqu'à 4 mois avant les individus âgés. Le frai se produit quand la zone translucide est bien en cours de formation. Le délai temporel pour la formation d'une zone opaque augmente avec l'âge (Williams & Bedford, 1974). Vianet *et al.* (1989) ont proposé d'autres exemples de différences géographiques chez quatre Pleuronectiformes européens, chez lesquels les zones translucides sont formées durant l'été en Méditerranée mais en hiver dans les eaux du nord de l'Europe. L'époque de formation des zones translucides chez *Sebastes entomelas* des côtes pacifiques nord-américaines varie avec le sexe, le secteur géographique et l'année (Pearson, 1996). Chez cette espèce, un lien entre la température et la formation de la zone translucide est apparent bien que d'autres facteurs liés à la température, comme la disponibilité de la nourriture ou le contenu nutritif des proies, puissent aussi être importants. D'autres évidences d'une liaison de la formation des zones avec la température ont été trouvées chez plusieurs espèces d'Acanthuridae de l'Australie orientale (Choat & Axe, 1996). La recapture de poissons préalablement marqués à la tétracycline a montré que la formation des zones opaques correspond à l'élévation de la température en été.

3.3. Influences sur le taux d'accrétion

La température peut augmenter l'accrétion de l'otolithe au-delà du moment auquel la croissance somatique est freinée (Mosegaard *et al.*, 1988), bien que les fortes températures puissent aussi avoir un effet négatif sur la largeur des accroissements (Gutiérrez & Morales-Nin, 1986; May & Jenkins, 1992; Ralston & Howard, 1995). Des expériences ont montré que les otolithes continuent leur accrétion même quand la croissance somatique s'est arrêtée naturellement (Wright, 1990; Mugiya & Tanaka, 1992) ou qu'elle a été artificiellement réduite (Mosegaard *et al.*, 1988). Cette continuité conduit à des individus à croissance lente avec des otolithes relativement larges. Pour expliquer ce phénomène, Secor & Dean (1989) ont suggéré que l'accrétion de l'otolithe peut être déterminée par l'interaction de deux composantes : la périodicité journalière de la formation des accroissements, qui continue même pendant les périodes sans croissance somatique, et une composante amplitudinale qui varie avec la croissance somatique. Cependant, un certain nombre d'études expérimentales ont montré que l'augmentation du taux d'accrétion de l'otolithe avec la température est plus proche de la tendance à l'augmentation de l'activité métabolique que de l'optimum de la courbe de la vitesse de croissance somatique (Mosegaard *et al.*, 1987, 1988; Hoff & Fuiman, 1993). De plus, les études de Wright (1991a) et Yamamoto *et al.* (1998) ont montré que des différences individuelles de la largeur des accroissements étaient plutôt corrélées avec le métabolisme de repos qu'avec la croissance somatique. Mosegaard *et al.* (1988) ont suggéré

une relation d'isométrie entre le taux métabolique au repos et la croissance de l'otolithe, basée sur les relations entre les changements de poids d'otolithes de groupes de poissons et la température à laquelle ils ont été élevés, et extrapolée d'une relation générale entre la température et ce taux métabolique au repos. Cependant, des mesures récentes des changements individuels de consommation en oxygène et de la taille des accroissements indiquent que l'accrétion de l'otolithe répond de façon plus conservatrice à des changements de température qu'à un taux métabolique de repos (Wright *et al.*, 2001). Le potentiel d'action dynamique spécifique et la réponse métabolique associée avec la prise de nourriture paraissent aussi avoir une influence sur le taux d'accrétion de l'otolithe (Fallon-Cousins, 1999). Le processus qui gouverne le taux d'accrétion apparaît alors lié aux composantes de l'activité métabolique. Étant donnée l'influence de ces composantes dans la vitesse d'accrétion de l'otolithe, les périodes de jeûne sont seulement supposées conduire à un déclin graduel de la largeur des accroissements. Une évidence pour une telle réponse a été trouvée dans un bon nombre de travaux expérimentaux (Neilson & Geen, 1985 ; Eckmann & Rey, 1987 ; Molony & Choat, 1990 ; Umezawa & Tsukamoto, 1991 ; Bradford & Geen, 1992 ; Zhang & Runham, 1992a ; Molony, 1996).

3.4. Régulation physiologique de la formation de l'otolithe dans le saccule

Wilbur (1980) a suggéré que les systèmes de biominéralisation ont trois propriétés communes :

- tous les systèmes impliquent un transport d'ions et produisent des concentrations d'ions sursaturées (c'est-à-dire qui excèdent le taux normal de solubilité) au niveau de la surface de minéralisation. Ceci déclenche la formation d'un noyau de cristallisation et la croissance des cristaux ;
- un pH alcalin suffisant doit être maintenu de façon à ce que, une fois enclenchée, la cristallisation puisse se poursuivre ;
- la formation du cristal est souvent intimement associée au matériel organique.

L'observation selon laquelle les accroissements des otolithes sont composés de zones riches en minéral et d'autres déficientes en minéral (respectivement zones-L et zones-D) suggère qu'une ou plusieurs des propriétés ci-dessus doivent varier. Le dépôt périodique de zones riches en minéral peut par conséquent (i) être lié à une limitation physico-chimique diurne de la cristallisation (impliquant soit une diminution de la concentration des ions calcium et carbonate à la surface de l'otolithe, soit un déclin du pH de l'endolymphe), ou (ii) impliquer la matrice organique. Une analogie avec la minéralisation de la coquille des mollusques suggère que soit la matrice organique insoluble déposée dans la couche déficiente en minéral (zone D) agit comme une barrière à la cristallisation, soit des composés inhibiteurs de la croissance des cristaux dans la matrice organique soluble sont sécrétés dans la couche

déficiente en minéral (Wheeler *et al.*, 1981 ; Wilbur & Saleuddin, 1983). Ces formes possibles de régulation ont été considérées pour les otolithes durant les trois décades passées.

L'otolithe est précipité à partir du liquide du sac endolympatique de l'oreille interne. Le carbonate de calcium de l'otolithe est sous la forme de cristaux jumelés d'aragonite, bien que des otolithes cristallisés anormaux soient composés de calcite (Morales-Nin, 1985) ou de vaterite (Gauldie, 1986). Le calcium atteint primitivement l'endolymphe à partir du plasma sanguin (Kalish, 1989, 1990, 1991a ; Wright *et al.*, 1992). La calcification de l'otolithe est limitée dans sa vitesse par le nombre de sites de nucléation produits par la matrice insoluble (Crenshaw, 1982 ; Mann *et al.*, 1983) aussi bien que par les conditions physico-chimiques à la surface de l'otolithe. Le taux de production de matrice insoluble sera alors le déterminant ultime de la vitesse de calcification de l'otolithe (Saitoh & Yamada, 1989 ; Wright, 1990). Cette matrice est aussi un facteur significatif contrôlant la forme de l'otolithe (Degens *et al.*, 1969 ; Dunkelberger *et al.*, 1980 ; Mugiya, 1987 ; Gauldie, 1991, 1993 ; Zhang & Runham, 1992b ; Payan *et al.*, 1999). Comme dans la coquille des mollusques, les otolithes possèdent une matrice protéinacée soluble qui est capable de réguler le taux de dépôt du minéral (Wright *et al.*, 1991). Des variations dans le taux de production de cette protéine peuvent alors réguler le taux de minéralisation. La matrice de l'otolithe la moins soluble est composée d'une protéine de type collagénique (Degens *et al.*, 1969). La matrice est plus dense lors de la phase de développement précoce et sa composition en acides aminés change avec l'âge (Morales-Nin, 1986a,b).

Des investigations sur des saccules isolés ont indiqué qu'un transport actif et régulé d'ions existe à travers l'épithélium (fig. II.A.14a). La concentration en calcium ionique de l'endolymphe est influencée par un transport actif intracellulaire qui est sensible à la concentration de calcium plasmatique. De même, la sécrétion de protons dans le saccule est dirigée par un mécanisme énergie-dépendant (Na-ATPase) qui est sensible au pH plasmatique (Payan *et al.*, 1999). Des changements de la concentration ionique du plasma pourraient alors être supposés avoir un effet direct sur celle de l'endolymphe. Cependant, le mécanisme précis par lequel le calcium et le pH plasmatiques induisent des changements des conditions physico-chimiques à la surface de l'otolithe n'est pas clair. En effet, les kinocils sensoriels baignés par l'endolymphe sont sensibles aux changements de concentration des ions Ca^{2+} bien en dessous des concentrations de solubilité nécessaires pour la calcification (Mugiya, 1987 ; Wright *et al.*, 1992). La variation saisonnière des ions Ca^{2+} libres dans l'endolymphe de la truite arc-en-ciel est comprise entre 65,4 % du niveau total de calcium pendant la croissance rapide et 79,1 % durant la croissance lente (Mugiya, 1966), ce qui représente probablement la limite au-dessus de laquelle le Ca^{2+} peut varier sans causer de dysfonctionnement physiologique des mécanismes nerveux de la *macula* (Gauldie, 1990). Il est donc nécessaire d'expliquer comment les niveaux

d'ions sont augmentés à la surface de l'otolithe, au-dessus des concentrations de base trouvées dans l'endolymphe. Des gradients proximo-distaux de la concentration d'ions ont été détectés dans l'endolymphe, une condition qui devrait favoriser les processus de biominéralisation (fig. II.A.14b) (Payan *et al.*, 1999). Les sphérules calcaires ont été observées en étroite association avec la surface de l'otolithe chez un certain nombre d'espèces et celles-ci peuvent être impliquées dans l'élévation de la concentration ionique à la surface de l'otolithe (Dale, 1976; Wright, 1990). Ces sphérules sont formées et sécrétées par la membrane otolithique, puis transportées à la surface de l'otolithe au travers du réseau fibrillaire sub-cupulaire (Dale, 1976; Wright, 1990). Une rythmicité diurne de la calcification de l'otolithe peut être contrôlée par une variation journalière de la chimie du plasma, comme cela a été suggéré par Mugiya (1984) et Wright *et al.* (1992) qui ont trouvé un

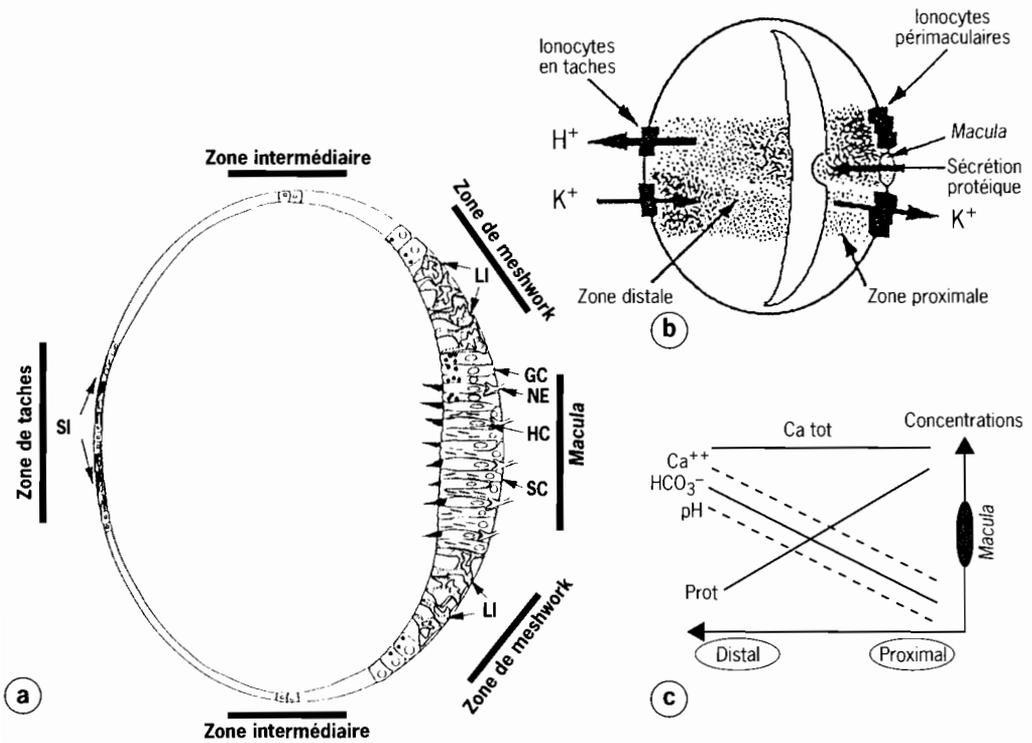


Figure II.A.14 - Représentation schématique de l'épithélium sacculaire (coupe transversale du sacculus) de l'oreille interne d'un poisson Téléostéen et modèle hypothétique du transport des éléments à travers l'épithélium (modifié d'après Pisam *et al.*, 1998; Payan *et al.*, 1999).

a) Cartographie de la distribution des cellules dans l'épithélium sacculaire. La *macula* est constituée de cellules ciliées (HC), qui sont en contact avec les terminaisons nerveuses (NE), de cellules de soutien (SC) et, à sa périphérie, de cellules granuleuses (GC). Elle est entourée par une zone de « meshwork » contenant de larges ionocytes (LI). La zone de taches contient de petits ionocytes (SI).

b) Modèle hypothétique pour le transport des éléments à travers l'épithélium sacculaire. Noter le mouvement d'ensemble des ions H^+ qui conduit globalement à leur excrétion.

c) Représentation schématique des concentrations chimiques dans les régions proximale et distale. L'axe des Y montre des concentrations tandis que l'axe des X représente l'axe proximo-distal de l'otolithe. Les protéines (Prot), le calcium total (Ca tot) et la concentration en HCO_3^- ont été directement mesurés tandis que la concentration en ions Ca^{2+} et le pH ont été estimés.

déclin journalier parallèle de la calcification de l'otolithe et de la concentration plasmatique en calcium libre et total. Mugiya (1984) a aussi observé une réversion saisonnière du rythme de calcification de l'otolithe associée à une réversion du cycle du calcium plasmatique diurne. Cependant, des cycles similaires de la composition du plasma et de l'endolymphe chez *Pleuronectes platessa* (Edeyer *et al.*, 2000) ne sont pas associés avec des changements des gradients ioniques dans l'endolymphe (Payan *et al.*, 1999). Néanmoins, Wright *et al.* (1992) ont trouvé qu'une chute induite du calcium plasmatique conduit à une perte nette de calcium de l'accroissement en cours de minéralisation, ce qui indique que la concentration de calcium ionique à la surface de l'otolithe est sensible à la concentration calcique du plasma.

Alors qu'il peut exister une limitation ionique périodique de la calcification de l'otolithe, celle-ci ne peut cependant expliquer seule l'observation d'une variation journalière de la sécrétion de matrice (Mugiya, 1987; Wright *et al.*, 1990) ou de la formation de couches riches en matrice (Watabe *et al.*, 1982; Morales-Nin, 1987a; Mugiya, 1987). La distribution de la matrice et du minéral dans l'otolithe semble se produire en deux phases. La première est associée avec le double plan du cristal d'aragonite de base (Gauldie & Xhie, 1995). Ce jumelage cristallin est un processus complexe (Bloss, 1971) qui stabilise le polymorphisme du cristal et augmente sa vitesse de croissance (Smith, 1974; Davey *et al.*, 1993). La seconde phase de l'association matrice-minéral apparaît sous la forme d'une bande dense de fibres qui correspondent, en taille et pour leur orientation, aux zones-D des accroissements primaires (Dunkelberger *et al.*, 1980; Morales-Nin, 1987a). Cette observation est cohérente avec la variation journalière de la protéine insoluble de la matrice révélée par des expériences de marquage par radio-éléments (Mugiya, 1987). Les deux phases de la matrice protéique peuvent jouer différents rôles, le premier étant de produire un gabarit pour la croissance des cristaux et le second étant de stabiliser le cristal d'aragonite thermodynamiquement instable (Mann *et al.*, 1983; Gauldie & Xhie, 1995) et, par ailleurs, soluble (Wright *et al.*, 1992). Il est cependant nécessaire de considérer la régulation à la fois des concentrations en ions et de la production de matrice dans le dépôt périodique des zones-L et des zones-D. Étant donnée la corrélation entre la calcification de l'otolithe et la concentration ionique du plasma, la concentration de certains ions dans le plasma peut avoir un effet direct sur les sécrétions cellulaires de matrice ou peut co-varier avec d'autres facteurs distincts. De plus, l'activité neurosécrétoire de calcification dans la *macula* a un cycle journalier qui est lié au dépôt des accroissements journaliers (Gauldie & Nelson, 1990b; Edeyer *et al.*, 2000). Des études récentes ont permis d'identifier la fonction des différentes régions de l'épithélium sacculaire et l'importance de ces régions pour la croissance de l'otolithe (Payan *et al.*, 1997, 1999; Pisam *et al.*, 1998) (fig. II.A.14). Les cellules sécrétrices sont principalement localisées dans la région macu-

laire. Dans l'endolymphe, les protéines sont plus concentrées dans la région proximale alors que le CO_2 total est plus élevé dans la région distale (fig. II.A.14c).

En résumé, l'évidence indique actuellement que la formation d'une zone-L riche en carbonate de calcium est influencée par un transport actif intracellulaire d'ions calcium (Mugiya, 1986) et de protons à travers le saccule (Payan *et al.*, 1997, 1999) qui, en retour, est sensible à la concentration de calcium plasmatique et au pH (Wright *et al.*, 1992; Payan *et al.*, 1997). La sécrétion de la matrice protéinée varie quotidiennement, avec un pic pendant la formation de la zone-D (Mugiya, 1987; Edeyer *et al.*, 2000). La production du substratum de la matrice protéique et de la protéine soluble inhibitrice doit aussi avoir un rôle dans la limitation du taux d'accrétion du minéral durant la formation de la zone-L.

3.5. Régulation hormonale de la formation de l'otolithe

Les mécanismes qui déterminent la minéralisation périodique sont probablement sous contrôle endocrine (Campana & Neilson, 1985; Mugiya, 1987), soit directement, soit indirectement via des influences métaboliques (Geffen, 1983; Mosegaard *et al.*, 1988). L'hormone de croissance (STH) peut aussi être impliquée, puisqu'une hypophysectomie produit une réduction de la croissance de l'otolithe (Mugiya, 1990) et sa déminéralisation (Simkiss, 1974), et que la minéralisation de l'otolithe chez les poissons hypophysectomisés peut être restaurée par l'injection d'extraits hypophysaires (Simkiss, 1974). Une telle régulation hormonale peut influencer à la fois le transport ionique et la production de matrice dans le saccule. Wright *et al.* (1992) ont suggéré que, comme la concentration de calcium plasmatique est régulée par des hormones hyper- et hypo-calcémiantes, des changements journaliers des concentrations plasmatiques de ces hormones peuvent être indirectement responsables du déclin périodique de la calcification de l'otolithe. De plus, la cristallisation du carbonate chez les mollusques implique un contrôle nerveux (Zylstra *et al.*, 1978). Un contrôle nerveux de la concentration de calcium dans le saccule fournit une explication physiologique pour un suivi direct par l'endolymphe, saisonnier et circadien, du niveau de calcium total dans le plasma sanguin (Mugiya & Yoshida, 1995).

L'adaptation à des cycles jour-nuit suggère l'implication d'un complexe pinéal-hypophysaire. La sécrétion endocrine procure une périodicité circadienne chez de nombreux animaux et, au travers de l'activité métabolique, contrôle finalement la plupart des processus physiologiques (Simpson, 1978). Des études endocrinologiques ont démontré des variations diurnes du taux plasmatique de plusieurs hormones chez les Téléostéens (Matty, 1985). Ces dernières incluent la thyroxine (T4) (Eales *et al.*, 1981), une hormone connue pour influencer la croissance squelettique et la calcification chez la truite arc-en-ciel (La Roche *et al.*, 1966).