

B. Validation semi-directe

J. Panfili, B. Morales-Nin

L'une des méthodes de validation les plus utilisées, la validation semi-directe, consiste à observer l'évolution des zones marginales d'une PC au cours du temps. C'est une méthode puissante qui nécessite l'observation de séries chronologiques régulières de marques de croissance sur la période considérée, en fonction du rythme de dépôt qui doit être mis en évidence (journalier, saisonnier ou autre), et sur un grand nombre d'individus. Cette méthode consiste à choisir une marque donnée et, en observant le bord de la PC, à suivre sa formation au cours du temps pour une population donnée. Le résultat sera exprimé comme une moyenne et/ou un pourcentage d'observations au niveau de la population. La marque de croissance sélectionnée doit être suffisamment précise pour permettre la détection de sa formation à l'extrême bord de la PC, ce qui peut parfois se révéler délicat et difficile. La validation semi-directe est en général utilisée pour étudier les rythmes saisonniers des dépôts ; deux types de méthode sont envisageables, l'une utilisant des données qualitatives et l'autre des données quantitatives.

1. Données qualitatives et/ou quantitatives?

1.1. Données qualitatives

Cette méthode consiste à évaluer la présence ou l'absence d'une marque de croissance donnée sur le bord d'une PC et à exprimer les résultats sous la forme de pourcentages pour la population étudiée. L'évolution de ce pourcentage au cours du temps est alors tracée : la figure IV.B.1 montre le résultat pour un seul cycle de croissance annuel (fig. IV.B.1a) et pour deux cycles consécutifs de croissance annuels (fig. IV.B.1b). Le deuxième cas de figure est beaucoup moins commun dans les zones tempérées mais il a déjà été observé pour des espèces de poissons tropicaux (Yosef & Casselman, 1995). En Amérique du Nord, un système de codification de la marge des PC, présenté en premier par Casselman (1987) et amélioré ensuite par Casselman (1996), est maintenant largement utilisé pour les validations qualitatives semi-directes.

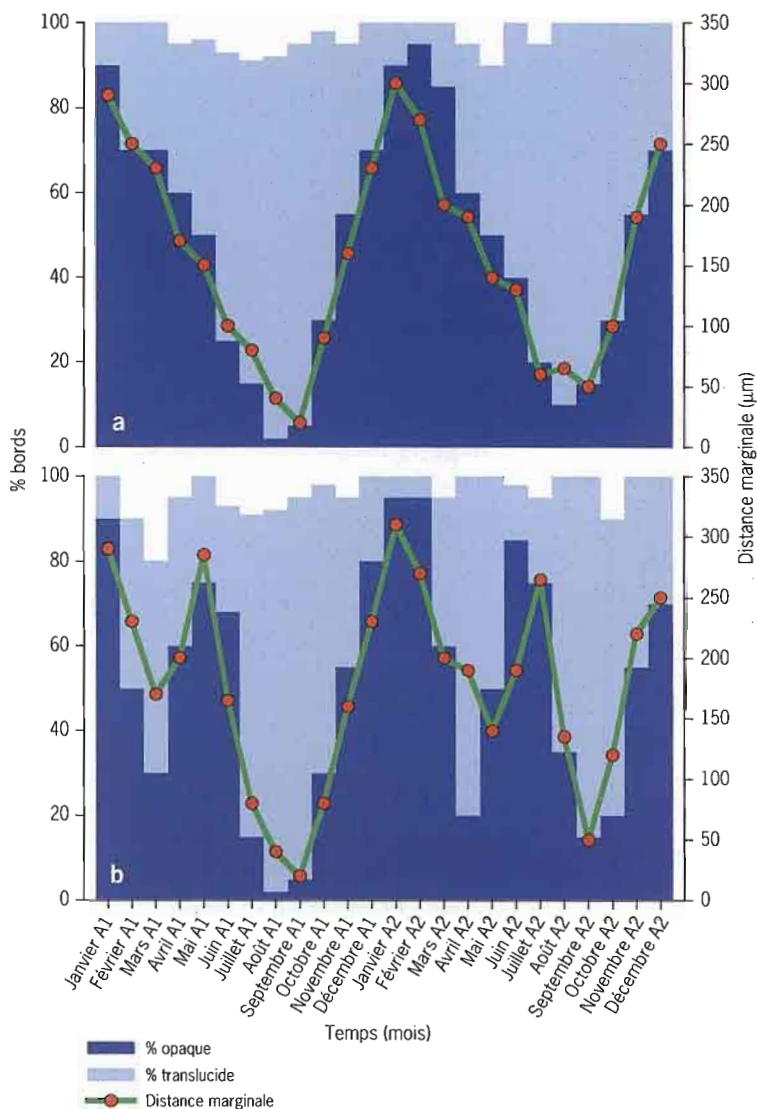


Figure IV.B.1 - Graphique théorique de l'évolution au cours du temps (deux années consécutives) du pourcentage de bords opaques, du pourcentage de bords translucides et de la distance marginale sur une PC. Ces exemples sont complètement artificiels et ne sont donc pas des observations issues du milieu naturel. La nature du bord, opaque ou translucide, est déterminée macroscopiquement. La distance marginale correspond à la distance entre le début de la dernière zone opaque et le bord de la PC.

a) Graphique théorique de l'apparition d'un cycle annuel. La zone opaque est déposée à la fin de chaque année (son pourcentage est maximal) tandis que la zone translucide est totalement formée en août. Pour certaines PC, l'évaluation de la nature du bord n'est pas possible et la somme des pourcentages (opaque + translucide) diffère donc de 100 % (e.g. juillet de l'année 1). La distance marginale correspond à la distance entre le début de la dernière zone opaque et le bord de la PC.

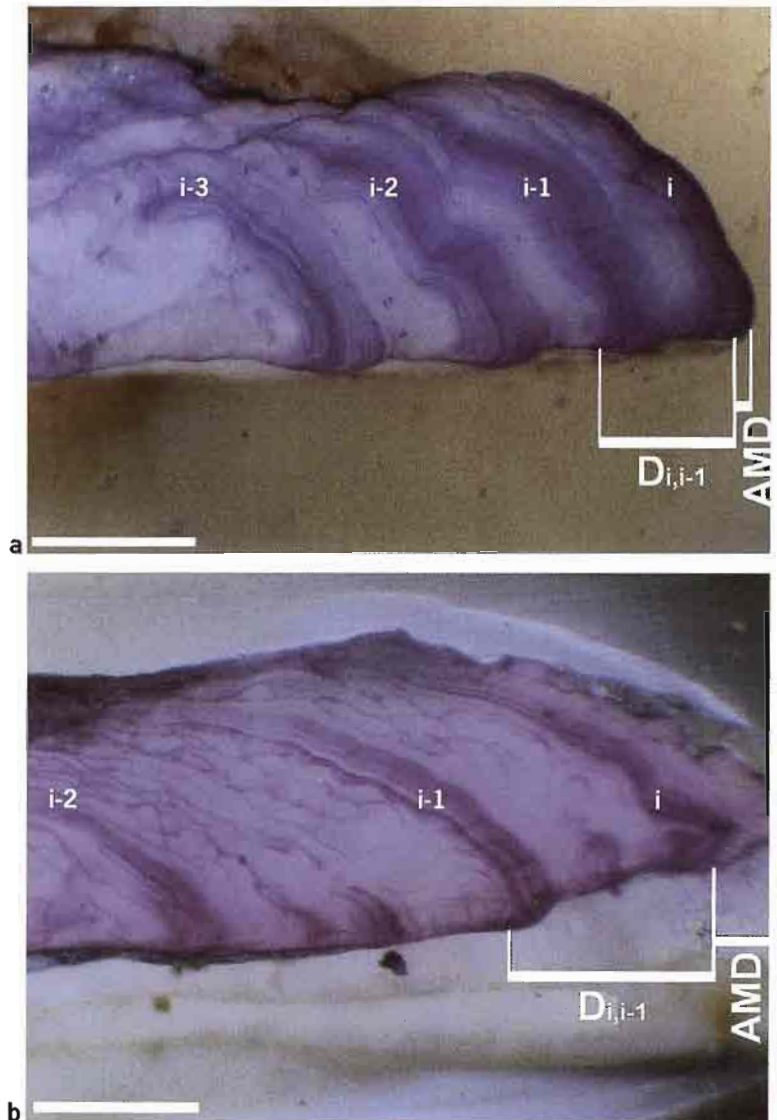
b) Graphique théorique de l'apparition de deux cycles annuels. Les zones opaques sont déposées vers le mois de mai et à la fin de chaque année (pourcentages maximaux) tandis que les zones translucides sont déposées en avril et en août. Une variation inter-annuelle est observée avec un certain glissement de la période des dépôts d'une année à l'autre : la première zone opaque est totalement déposée en mars la première année et en avril la seconde année. Pour certaines PC, l'évaluation de la nature du bord n'est pas possible et la somme des pourcentages (opaque + translucide) diffère donc de 100 % (e.g. mars de l'année 1). La distance marginale suit l'évolution des pourcentages au cours des temps.

1.2. Données quantitatives

Cette méthode consiste à mesurer les distances séparant les dernières marques de croissance sur le bord d'une PC. L'axe de mesure choisi et la description des marques utilisées doivent être rigoureusement standardisés. La distance marginale absolue (AMD) est la distance séparant la dernière marque du bord de la PC (fig. IV.B.2). La distance marginale relative (RMD) est le rapport de la distance marginale absolue sur la distance séparant les deux dernières marques ($D_{i,i-1}$) (fig. IV.B.2) :

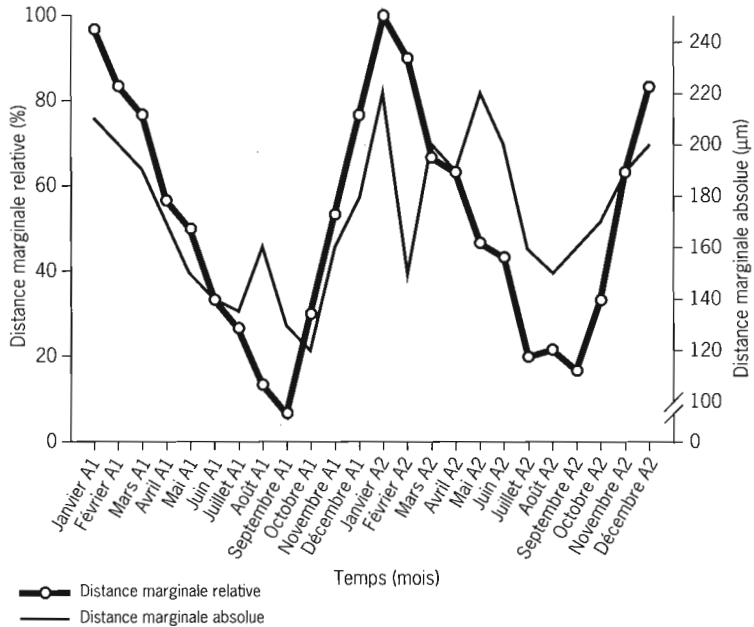
$$(VI.B.1) \quad RMD = \frac{AMD}{D_{i,i-1}}$$

Figure IV.B.2
Aspect des bords des sections transversales colorées des otolithes de *Colossoma macropomum* (Serrasalimidae). AMD, distance marginale absolue; $D_{i,i-1}$, distance entre la dernière zone i et la précédente zone $i-1$. La distance marginale relative est alors $RMD = AMD/D_{i,i-1}$. Échelle = 500 μm (photos J. Panfili)
a) Zone colorée sur le bord de l'otolithe d'un poisson de 455 mm (LS) capturé en septembre dans les eaux boliviennes.
b) Zone non colorée sur le bord de l'otolithe d'un individu de 457 mm (LS) capturé en mars dans les eaux boliviennes.



L'utilisation de l'AMD est recommandée lorsque l'on travaille séparément sur des classes d'âge (ou de marques) différentes. Les différences de taux de croissance entre les individus sont ainsi directement prises en compte. La variable RMD, qui est parfois exprimée en pourcentage, intègre et compense les effets de la diminution de la croissance avec l'âge : elle est moins sensible aux variations des taux de croissance car les mesures sont relatives (fig. IV.B.3). Il est souvent plus difficile de suivre un cycle avec l'AMD qu'avec la RMD. En général, les données quantitatives extraites de la marge d'une PC ne peuvent pas être mesurées pour les individus de la première année (sans marque de croissance saisonnière), sauf s'il a été démontré par ailleurs que la date de naissance des individus correspond exactement à la date de formation des marques de croissance choisies. Sinon, cette méthode quantitative ne peut être utilisée que pour les poissons ayant au moins une année de vie.

Figure IV.B.3
Graphique théorique de l'évolution au cours du temps (deux années consécutives) de la distance marginale de la dernière marque de croissance sur une pièce calcifiée. La distance marginale relative (en pourcentage) est la division de la distance entre le début de la dernière marque de croissance et le bord (AMD) par la largeur de la dernière marque entière ($D_{i,i-1}$). La marque est totalement formée à la fin de chaque année (largeur maximale). Le signal est plus clair pour la distance relative que pour la distance absolue car, dans ce dernier cas, toutes les classes d'âge sont mélangées et la diminution de la croissance avec l'âge n'est donc pas prise en compte.



1.3. Exemples d'études de validation semi-directe

Un exemple est donné ici et concerne l'observation de la marge de sections colorées d'otolithes de *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae) du bassin du Mamoré (Amazonie bolivienne). Pour les données qualitatives, l'otolithe est soit coloré (fig. IV.B.2a) soit non coloré (fig. IV.B.2b). Il peut être parfois assez difficile d'interpréter le bord de l'otolithe à cause d'une accumulation de colorant à l'interface résine-otolithe. Pour les données quantitatives, l'axe de mesure et les points précis de mesure de la marque de croissance (début, milieu, fin) doivent être clairement définis et standardisés au départ. Dans l'exemple présenté, le début d'une zone colorée est choisi comme point de

mesure. Cependant, les largeurs des zones mesurées peuvent varier car un anneau de croissance est en fait constitué de plusieurs bandes chromophiles (fig. IV.B.2a). La validation semi-directe appliquée aux otolithes de *C. macropomum* a permis de montrer que les zones colorées sont déposées annuellement et correspondent à la saison sèche dans les eaux douces de l'Amazonie bolivienne (Loubens & Panfili, 1997).

La méthode d'analyse des accroissements marginaux a été très souvent utilisée pour déterminer les périodes de formation de marques de croissance annuelles sur tous les types de PC (écailles, otolithes, vertèbres, rayons de nageoires) pour des espèces de Téléostéens de régions tempérées (Beall & Davaine, 1988; Robert & Vianet, 1988; Crawford *et al.*, 1989; Schramm, 1989; Vianet *et al.*, 1989; Mann & Beaumont, 1990; Fletcher, 1991; Hales & Hurley, 1991; Hyndes *et al.*, 1992; Tserpes & Tsimenides, 1995; Pearson, 1996; Machias *et al.*, 1998; Vilizzi & Walker, 1999, *inter alia*), de Téléostéens tropicaux (Loubens, 1978; Cayré & Diouf, 1983; Davis & Kirkwood, 1984; Sosa-Nishizaki *et al.*, 1989; Loubens & Panfili, 1992, 1997, 2000; Crabtree *et al.*, 1995; Yosef & Casselman, 1995; Fabre & Saint-Paul, 1998; Chung & Woo, 1999; Morales-Nin *et al.*, 1999), pour les espèces profondes (Massutí *et al.*, 1994; Gordon & Swan, 1996; Morales-Nin *et al.*, 1996b) et même pour les requins (Lessa *et al.*, 1999).

La validation semi-directe des micro-accroissements journaliers a été largement moins utilisée mais elle a pu être testée dans quelques cas (Tanaka *et al.*, 1981; Ré *et al.*, 1985; Geffen, 1987; Gartner, 1991). Cette méthode n'a pas été souvent utilisée car elle est techniquement plus compliquée à mettre en œuvre, impliquant aussi des méthodes lourdes de préparation des otolithes (e.g. lames minces, MEB) et de forts grossissements pour l'observation (nécessitant le MEB plutôt que le microscope photonique et son faible pouvoir de résolution).

2. Problèmes d'interprétation du bord des otolithes

Toutes les études ayant utilisé la validation semi-directe à partir des otolithes ont mentionné des difficultés pour évaluer la nature du bord de l'otolithe : opaque ou translucide, coloré ou non coloré, etc. Cela peut parfois aboutir à un certain nombre d'otolithes « non interprétables » au cours de l'analyse. Trois hypothèses explicatives peuvent être avancées lorsque l'on observe des otolithes entiers :

- l'otolithe est plus épais dans sa zone centrale que sur ses bords où les marques sont moins claires et moins bien contrastées. Sous une lumière transmise, le bord de l'otolithe peut être très réfringent (fig. IV.B.4a). Lorsque c'est le cas, l'otolithe devrait être observé après une préparation (e.g. en section épaisse) pour améliorer l'observation des bords ;
- l'interprétation de la nature du bord se réfère toujours à l'observation des marques précédentes (e.g. opaques et translucides) et la densité relative de ces marques peut varier suivant la région d'observation sur l'otolithe ;

- le taux de croissance est variable en fonction des différents champs de l'otolithe (e.g. antérieur, postérieur, dorsal, ventral) et conduit à des marques de croissance plus épaisses sur certains axes préférentiels (fig. IV.B.4b). L'observation est alors différente en fonction du champ considéré et il est nécessaire de définir au préalable des critères précis d'interprétation (continuité d'une marque sur l'ensemble de l'otolithe, présence ou absence de la marque dans une région donnée). Pour les poissons âgés, la croissance est souvent limitée aux faces interne et dorso-ventrale et les marques de croissance ne sont alors visibles que dans ces champs, la face externe ne pouvant être utilisée pour les analyses. Ces remarques sont également valables pour l'observation des micro-accroissements des otolithes car les plus périphériques tendent aussi à être moins discernables (fig. IV.B.4c).

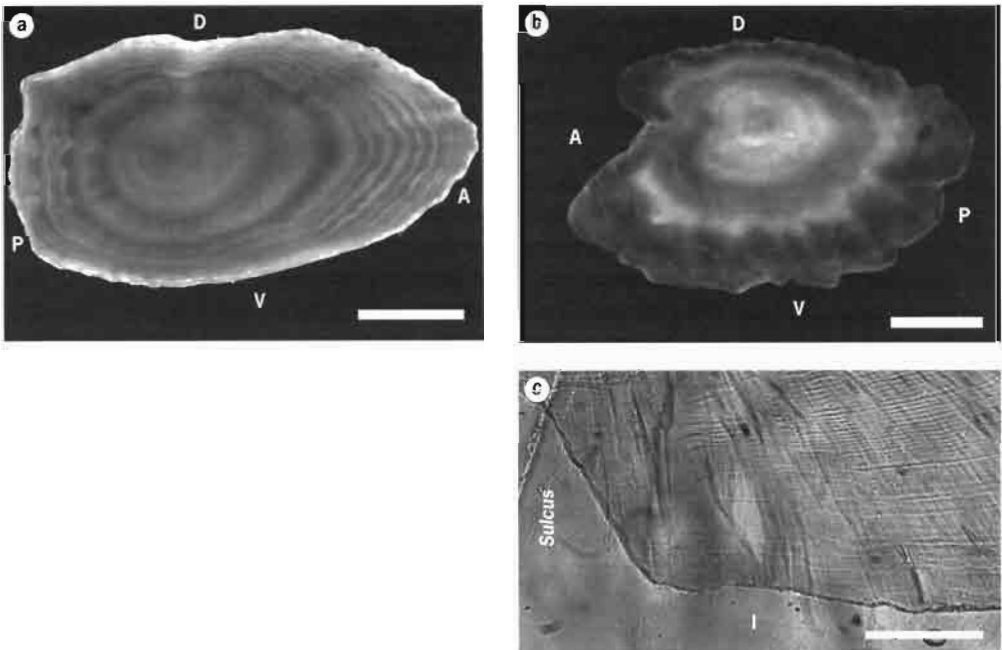


Figure IV.B.4 - Difficultés pour interpréter l'aspect du bord des otolithes. A, antérieur; D, dorsal; I, interne; P, postérieur; V, ventral (photos J. Panfili).

a) Otolithe entier d'une plie (*Pleuronectes platessa*) observé sous une lumière transmise. Le bord de l'otolithe est particulièrement réfringent et il est très difficile à interpréter. Échelle = 2 mm.

b) Otolithe entier d'une anguille européenne (*Anguilla anguilla*) observé sous une lumière réfléchie. L'aspect du bord est opaque sur la face antéro-ventrale et il est plus translucide sur la face postéro-dorsale. Ceci peut être expliqué par deux facteurs : (1) la réduction de l'épaisseur de l'otolithe sur le bord et (2) les différences de taux de croissance entre les faces. Échelle = 500 μ m.

c) Lame mince transversale de l'otolithe de *Selar boops* observée sous une lumière transmise. L'interprétation du bord devient difficile pour les micro-accroissements les plus proches du bord qui perdent alors leur contraste. Échelle = 20 μ m.